

Efectividad de aislados nativos de *Beauveria* y *Metarhizium* de Arteaga, Coahuila, en el control del gusano telarañero *Hyphantria cunea* Drury

Effectiveness of native *Beauveria* and *Metarhizium* isolates from Arteaga, Coahuila in the control of the spider webworm *Hyphantria cunea* Drury



Alejandro de la Cruz-Armas¹, Luis Alberto Aguirre-Uribe,^{1*}
Víctor Manuel Sánchez-Valdés¹, Ernesto Cerna-Chávez, Oswaldo García-Martínez¹,
Yolanda Isabel Hernández-Hernández¹

¹Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, 25315, Saltillo, Coah., México. e-mail luisaguirreu@yahoo.com.mx (*Autor responsable).

RESUMEN

Los hongos entomopatógenos son un amplio grupo de microorganismos que proveen múltiples servicios a los sistemas agroecológicos, entre los que está la capacidad de regular las plagas para mantenerlas en niveles adecuados. Por las condiciones ambientales extremas que prevalecen en buena parte del año, en la región norte del país existen pocos estudios sobre aislados nativos de estos agentes de control. En la presente investigación se describe la efectividad de los hongos *Beauveria* y *Metarhizium* como aislados naturales sobre el gusano telarañero *Hyphantria cunea* Drury, y se pretende como objetivo aislar e identificar cepas de estos géneros de la sierra manzanera de Arteaga, Coahuila, para determinar su efectividad bajo condiciones controladas. Después de realizar el trabajo, los resultados indicaron que el mayor efecto sobre la *H. cunea* lo presentaron las cepas de *Beauveria*, ya que llegaron a alcanzar 100% de mortalidad en seis días después de la aplicación a una concentración de 1×10^7 Unidades Formadoras de Colonia (UFC), en contraste con 72% que se obtuvo con la mejor cepa de *Metarhizium* a esta misma concentración, aunque en un periodo de ocho días. Con tales resultados, se concluyó que *Beauveria*, como formulado, pudiera ser considerada como principal agente de control biológico sobre esta plaga de importancia en diversos cultivos como el manzano y nogal.

Palabras clave: control biológico, Unidades Formadoras de Colonia, cepas, agente

ABSTRACT

Entomopathogenic fungi are a broad group of microorganisms that provide multiple services to agroecological systems. Among these services there is the ability to regulate pests to keep them at appropriate levels. In the northern region of the country there are few studies on native isolates of these control agents due to extreme environmental conditions prevailing in most of the year. The present research describes the effectiveness of the *Beauveria* and *Metarhizium* fungi as natural isolates on the webworm *Hyphantria cunea* Drury. The aim of this study is to isolate and identify strains of these genera from the Arteaga range apple orchard in Coahuila, Mexico, and determine their effectiveness under controlled conditions. The results indicate that the greatest effect on *H. cunea* was presented by *Beauveria* strains reaching 100% mortality six days after application of a concentration of 1×10^7 Colony Forming Units (CFU), in contrast to 72% obtained by the best strain of *Metarhizium* at the same concentration, although in a period of eight days. It is concluded that *Beauveria* as formulated could be considered as the main biological control agent on this pest of importance in various crops such as apple and walnut.

Key words: biological control, Colony Forming Units, strains, agent



INTRODUCCIÓN

El empleo de microorganismos como agentes de control presenta numerosas ventajas: seguridad para la salud humana y para la fauna útil, reducción de la presencia de residuos insecticidas en los alimentos e incremento de la biodiversidad del medio. Los hongos son únicos y sobresalientes entre los entomopatógenos porque infectan a los hospedantes a través del tegumento, acción por contacto, lo que les confiere ventaja para el control de varios grupos de insectos fitófagos de gran relevancia en la agricultura (Telles *et al.*, 2009).

La efectividad que han mostrado los hongos entomopatógenos resulta una alternativa importante del control biológico, ya que poseen características muy especiales que les permiten sobrevivir en forma parasítica sobre los insectos, y sobre material vegetal en descomposición en forma saprofita. La tendencia actual en México es utilizarlos con mayor frecuencia en la agricultura orgánica y muy poco como parte del Manejo Integrado de Plagas (MIP).

En el mundo se han registrado, aproximadamente, 700 especies de hongos entomopatógenos, de las cuales sólo nueve tienen interés comercial por la facilidad con que producen las esporas, y con la que se pueden formular como biopesticidas (Morales, *et al.*, 2009). Para López y Hans (2001), entre los géneros más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium*, mientras que para la FAO (2003), los géneros de importancia son: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium*.

Respecto al cultivo del manzano, los insectos que producen mayores daños son: la palomilla del manzano, pulgón lanígero y arañita roja. Estas plagas pueden considerarse como claves, ya que se encuentran de forma permanente y persistente en este cultivo, mientras que el resto, como los áfidos, los perforadores y el gusano telarañero se consideran ocasionales, ya que producen daños importantes en ciertas épocas, y en muchas ocasiones no pueden dominarse con las prácticas de control (Murray y Alston, 2014).

Un empleo más eficiente y generalizado de estos agentes en el control depende, en gran medida, de mejorar su velocidad de acción y de reducir los tiempos letales. Por este motivo la presente investigación buscó determinar la efectividad de hongos entomo-

patógenos nativos de la zona manzanera de Arteaga sobre el gusano telarañero *Hyphantria cunea*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para obtener los hongos entomopatógenos primero se realizó un muestreo en diferentes localidades de la zona manzanera de Arteaga, Coahuila. Los puntos de referencia que se muestrearon se ubican en los ejidos siguientes: San Antonio de las Alazanas (25°16'02.30''N 100°34'40.05''O), Huachichil (25°12'56.50''N 100°49'42.87''O) y Los Lirios (25°23'38.13''N 100°33'35.51''O).

Para realizar la investigación, las muestras de suelo se obtuvieron a partir de la selección de una hectárea de cultivo de manzano representativa, con poco laboreo (mínimas o nulas aplicaciones químicas) y con registros de infecciones por hongos entomopatógenos sobre insectos plaga. Los muestreos se realizaron de junio de 2015 a mayo del 2016. Una vez que se obtuvieron las muestras, se trasladaron al Departamento de Parasitología de la UAAAN, en Buenavista, Saltillo, para su procesamiento.

Se seleccionaron cinco puntos al azar en los que se colectaron 10 submuestras, de 10 cm³ de suelo cada una. El material se colocó en bolsas y se homogeneizó en una muestra única, que se trasladó al laboratorio en una bolsa negra, esto para cada localidad (Sun, 2002).

El aislamiento se realizó mediante la técnica de insecto trampa descrita por Quesada y *et al.* (2007) con algunas modificaciones, como colocar en frascos de plástico de 100 gr de suelo cinco larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus y cinco de *Tenebrio molitor* Linnaeus, por separado para cada muestra.

Las muestras se revisaron a diario, durante cinco días, hasta observar un cambio de apariencia en el insecto que indicara alguna infección, luego se separaron y se les proporcionaron las condiciones adecuadas para favorecer el crecimiento del hongo. El micelio que colonizó el insecto se aisló en medios nutritivos: Papa Dextrosa Agar (PDA) y Agar Dextrosa Sabouraud hasta obtener cultivos puros para su posterior identificación.

Una vez purificados los hongos, se reprodujeron en caldo de papa (concentrado líquido de papa a punto de ebullición, extracto de levadura, Mg SO₄·7H₂O y KCl), el cual se inoculó por separado en cada una de las cepas. Posteriormente se indujo el crecimiento sobre una incubadora con agitación

(VWR) a 150 revoluciones/min, a temperatura ambiente por cinco días.

Con la finalidad de conocer la producción de esporas para cada cepa en medio líquido y realizar los cálculos para ajustar las concentraciones, se realizó el conteo con ayuda de un hemocitómetro (Propper). La viabilidad se determinó partiendo de una solución madre ajustada a 1×10^8 Unidades Formadoras de Colonia (UFC) a la que se le realizaron diluciones exponenciales para facilitar el conteo de esporas en la placa, que posteriormente se inocularon en medio nutritivo con 100 μ l por cada concentración. El resultado se obtuvo a las 48 horas, mediante la fórmula:

$$\text{Viabilidad} = \frac{(\Sigma \text{colonias}) (\text{fact. Dilución})}{\text{volumen inoculado}}$$

A partir del resultado del conteo y viabilidad, se seleccionaron las seis mejores cepas para evaluar la efectividad biológica.

La identificación del total de hongos aislados se realizó mediante la detección de sus características morfológicas (conidióforo, esporas, hifas, blastosporas) vistas a través de un microscopio compuesto, de acuerdo a las claves taxonómicas descritas por Alves *et al.*, 1998 y Samson *et al.*, 1988.

Para determinar la acción de control para cada uno de los hongos seleccionados con buena viabilidad se utilizó al gusano telarañero *Hyphantria cunea* –el cual se considera plaga importante del manzano y el nogal– y sus larvas se recolectaron de árboles de nogal en su cuarto estadio, que posteriormente se desinfectaron con hipoclorito a 5%. La técnica que se utilizó para esta evaluación fue la de inmersión descrita por González (1993), que consiste en sumergir la larva por 10 segundos en la concentración de esporas del hongo, para luego retirarle el exceso de líquido y colocarla en placas Petri con discos de papel de estraza. Cada unidad experimental estuvo conformada por cinco larvas impregnadas por las diversas concentraciones del hongo por separado y fueron colocadas en una placa Petri estéril, en tanto que el testigo consistió en impregnar el mismo número de larvas con agua destilada, con tween a 0.05%, bajo condiciones de temperatura ambiente. La variable a obtener fue la mortalidad representada en porcentajes, que se determinó cuando la larva no presentaba ningún movimiento al ser estimulada con una aguja de disección, sin llegar a dañarla. Las evaluaciones se realizaron cada 24 horas, durante ocho días.

Con base en la respuesta mostrada por las diferentes cepas, se seleccionó a la mejor de *Beauveria* y

Metarhizium, con la finalidad de determinar su respuesta en conjunto, que luego se etiquetaron, para fines prácticos, como Mix; la respuesta se confrontó con la que se obtuvo con un producto comercial a base de hongos entomopatógenos Entomaxx 5x de la empresa Green Corp, que se evaluó bajo las mismas condiciones.

El bioensayo se realizó bajo un modelo de diseño completamente al azar. La mortalidad en el testigo se utilizó para corregir el resto de las mortalidades registradas mediante la fórmula de Abbott 1925, para determinar si la mortalidad de los insectos tratados se puede atribuir a la aplicación de los hongos. Los datos de la mortalidad de los bioensayos se obtuvieron utilizando el modelo Probit con el programa estadístico “R” (versión 3.2). Se estimaron los tiempos letales TL_{50} y TL_{95} , además de las concentraciones letales CL_{50} y CL_{95} , con sus límites de confianza a 95% para cada de hongo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislados de hongos entomopatógenos que se obtuvieron corresponden a los géneros de *Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp., este último con mayor presencia en las tres localidades muestreadas.

Para el género *Beauveria* se observó el típico moho blanquecino (reverso rojizo) y algodonoso en medio nutritivo y sobre el insecto trampa; microscópicamente se observaron células conidiogenas muy abundantes con grupos densos ensanchados en la parte basal, con terminación en zig-zag, además de las esporas hialinas, pequeñas y globosas, en ocasiones elipsoidales, con un pequeño ápice.

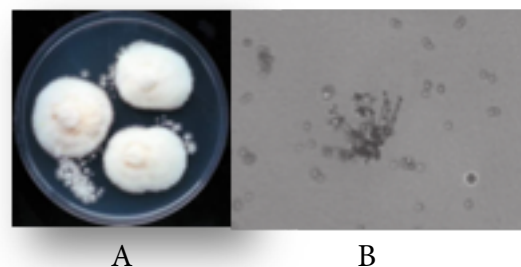


Figura 1. A: Micelio de *Beauveria* en medio nutritivo (PDA), B: Conidióforo y esporas.

Las características macroscópicas que se observaron del *Metarhizium* fueron: el crecimiento de micelio polvoso verde o blanquecino en el medio nutritivo y sobre el insecto trampa; las microscópicas: los típicos conidióforos ramificados en escobilla con 2 a

3 verticilos, esporas cilíndricas a elipsoidales subhialinas ligeramente verdes.

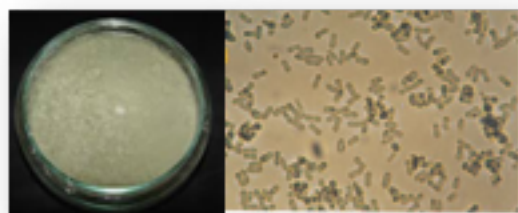


Figura 2. A: Micelio de *Metarhizium* en medio nutritivo (PDA), B: Esporas.

De un total de 36 muestras de suelo procesadas, 13 dieron positivo para la presencia de hongos entomopatógenos en los insectos trampa, de las cuales cuatro correspondieron al género *Beauveria* y nueve al *Metarhizium* (Cuadro 1).

Las condiciones ambientales, como temperatura y humedad, que se presentan entre primavera y verano favorecen el desarrollo de microorganismos (Cañedo y Ames, 2004); en esta investigación fue evidente, ya que durante los meses de abril a agosto se aisló a la mayoría de hongos.

Las cepas de *Beauveria* de la localidad de Huachichil (Bb. Hua. 1) resultaron mejor en conteo y via-

bilidad, según se puede observar en la Cuadro 2, ya que llegaron a alcanzar hasta 1.4×10^7 UFC en medio nutritivo.

Cuadro 2. Conteo y viabilidad para cepas aisladas.

#	Cepa	Conteo	Viabilidad
①	Bb. Lir 1	2.6×10^8	1.2×10^7
2	Bb. Lir 2	1.8×10^8	8.5×10^6
3	Ma. Lir 1	1.1×10^8	1.2×10^6
④	Ma. Lir 2	1.7×10^8	5.8×10^6
5	Ma. Lir 3	1.2×10^8	2.7×10^6
⑥	Bb. SaA 1	2.2×10^8	1.1×10^7
7	Ma. SaA 1	1.2×10^8	4.6×10^6
⑧	Ma. SaA 2	1.7×10^8	6.3×10^6
9	Ma. SaA 3	1.3×10^8	2.9×10^6
⑩	Bb. Hua 1	2.5×10^8	1.4×10^7
11	Ma. Hua 1	1.1×10^8	4.1×10^6
⑫	Ma. Hua 2	1.8×10^8	7.9×10^6
13	Ma. Hua 3	1.4×10^8	3.7×10^6

○ Cepas con mayor viabilidad.

Cuadro 1. Géneros de hongos identificados por localidad.

#	Cepa	Hongo	Localidad	Mes	Huésped
1	Bb. Lir 1	<i>Beauveria spp.</i>	Los Lirios	Julio	Galleria
2	Bb. Lir 2	<i>Beauveria spp.</i>	Los Lirios	Abril	Galleria
3	Ma. Lir 1	<i>Metarhizium spp.</i>	Los Lirios	Septiembre	Tenebrio
4	Ma. Lir 2	<i>Metarhizium spp.</i>	Los Lirios	Agosto	Tenebrio
5	Ma. Lir 3	<i>Metarhizium spp.</i>	Los Lirios	Mayo	Tenebrio
6	Bb. SaA 1	<i>Beauveria spp.</i>	San Antonio de las Alazanas	Junio	Galleria
7	Ma. SaA 1	<i>Metarhizium spp.</i>	San Antonio de las Alazanas	Abril	Tenebrio
8	Ma. SaA 2	<i>Metarhizium spp.</i>	San Antonio de las Alazanas	Mayo	Galleria
9	Ma. SaA 3	<i>Metarhizium spp.</i>	San Antonio de las Alazanas	Octubre	Tenebrio
10	Bb. Hua 1	<i>Beauveria spp.</i>	Huachichil	Junio	Galleria
11	Ma. Hua 1	<i>Metarhizium spp.</i>	Huachichil	Septiembre	Tenebrio
12	Ma. Hua 2	<i>Metarhizium spp.</i>	Huachichil	Agosto	Tenebrio
13	Ma. Hua 3	<i>Metarhizium spp.</i>	Huachichil	Noviembre	Tenebrio

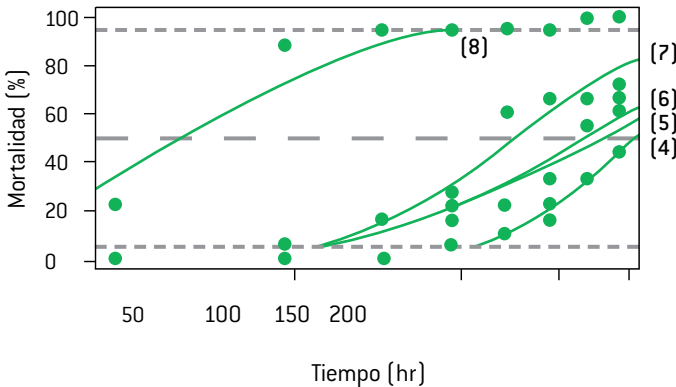
Para mostrar los mejores resultados en viabilidad y determinar su efectividad y caracterización molecular, de esta prueba se seleccionaron tres cepas de *Beauveria*: Bb. Hua. 1, Bb. Ll. 1 y Bb. SaA.1 y tres de *Metarhizium*: Ma. Hua. 2, Ma. Ll. 2 y Ma. SaA. 2.

Con base en el análisis estadístico desarrollado, la respuesta de hongos aislados sobre *Hyphantria cunea* en tiempo letal: 05, 50 y 95%, resultó altamente significativa entre concentraciones y cepas.

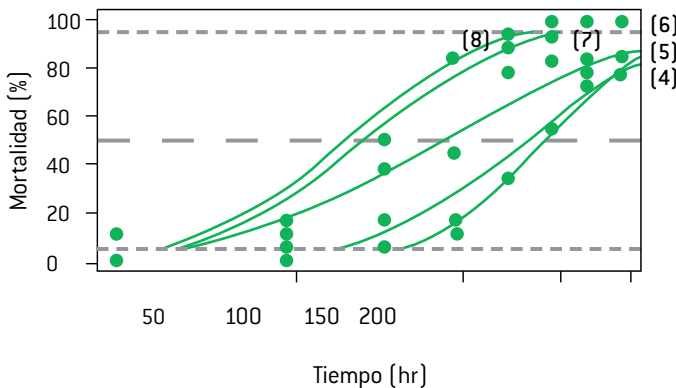
Tiempos letales

Beauveria - Los Lirios (Bb. Ll. 1)

La efectividad mostrada por esta cepa fue contundente a la concentración 1×10^8 UFC, en comparación con el resto de agentes de control, como se muestra en el Cuadro 3, aunque existe un marcado desbalance con las concentraciones menores de hasta 173 horas, según se refleja en la regresión Probit de la Gráfica 1.



Gráfica 1. Regresión Probit para Bb. Ll. 1.



Gráfica 2. Regresión Probit para Bb. Hua. 1

Beauveria - Huachichil (Bb. Hua. 1)

La mayor estabilidad en tiempo de respuesta de los hongos evaluados fue para esta cepa de *Beauveria*, al presentar diferencia entre concentración mayor y menor de sólo 78 horas, según lo muestra el Cuadro 4, lo cual indica que en campo tendría buenos resultados a concentraciones menores.

Beauveria - San Antonio de las Alazanas (Bb. SaA. 1)

El mecanismo de acción de esta cepa sobre *Hyphantria* fue evidente en las dos concentraciones mayores al llegar a alcanzar el TL_{50} antes de las 80 horas, como se muestran en la Gráfica 3, comparado con la dilución siguiente (1×10^6) que requiere más del doble de horas (Cuadro 5).

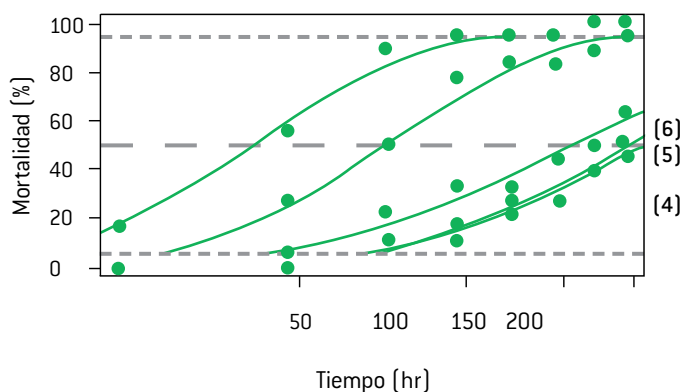
Zibae *et al.* (2013) obtuvieron 90% de mortalidad a los 11 días para *B. bassiana* sobre el gusano telarañero, comparado con el TL_{95} en 151.82 horas, obtenido por la cepa Bb. Hua 1.

Cuadro 3. Tiempo letal medio y P valor para Bb. Ll.

Concentración	TL_{50} (Hr)	P valor
1×10^8 UFC [8]	31.7749	2.080141e-07
1×10^7 UFC [7]	124.4478	6.612895e-13
1×10^6 UFC [6]	166.7255	1.029202e-10
1×10^5 UFC [5]	179.4419	3.804854e-07
1×10^4 UFC [4]	204.6441	9.170487e-32

Cuadro 4. Tiempo letal medio y P valor para Bb.

Concentración	TL_{50} (Hr)	P valor
1×10^8 UFC [8]	61.66274	1.130225e-08
1×10^7 UFC [7]	67.22976	1.716406e-07
1×10^6 UFC [6]	91.73959	1.261288e-06
1×10^5 UFC [5]	129.8062	1.302042e-12
1×10^4 UFC [4]	139.9231	3.947305e-59



Gráfica 3. Regresión Probit para Bb. SaA. 1

Cuadro 5. Tiempo letal medio y P valor para Bb. SaA.

Concentración	TL ₅₀ (Hr)	P valor
1x10 ⁸ UFC (8)	41.80789	1.525376e-23
1x10 ⁷ UFC (7)	71.83279	4.41672e-24
1x10 ⁶ UFC (6)	156.5529	3.2651e-23
1x10 ⁵ UFC (5)	197.0537	2.430991e-1
1x10 ⁴ UFC (4)	209.382	1.600157e-16

Tiempos letales

Metarhizium – Huachichil (Ma. Hua. 2)

Respecto a las cepas de *Metarhizium*, la más estable fue la perteneciente a esta localidad, ya que tuvo menos diferencia en horas entre concentración mayor y menor, según se observa en la Cuadro 6.

Metarhizium – Los Lirios (Ma. Ll. 2)

El tiempo de acción para esta cepa fue claramente contrastante con un TL₅₀ para la concentración mayor de sólo 67 horas; las concentraciones menores rondaron hasta 200 horas para ejercer un control sobre 50% de la población, como se muestra en la regresión Probit de la Gráfica 5.

Metarhizium – San Antonio de las Alazanas (Ma. SaA. 2)

Del total de hongos evaluados, esta cepa fue la que requirió mayor tiempo para ejercer acción sobre el gusano telarañero, ya que fueron necesarias casi 100 horas a 1x10⁸ UFC para obtener el TL₅₀ (Cuadro 8); respecto a la regresión Probit de la Gráfica 6, se observa que después de las 200 horas, el efecto es muy similar en concentraciones menores.

El aislado de *Metarhizium*, que presentó rápida acción sobre *Hyphantria*, fue Ma. Hua. 2, perteneciente a la localidad de Huachichil, con un TL₅₀ de 134.88 horas, comparado con el 78.33% a 1x10⁷ UFC, en 12 días, sobre el gusano telarañero, según reportaron Saruhan y Tuncer en 2016.

De esta prueba se pudo conformar una mezcla entre la cepa de cada género que presentó mejor tiempo letal, para lo cual se seleccionó a la cepa de *Beauveria* Bb. Hua. 1 y la Ma. Hua. 2 de *Metarhizium*, ambas de la localidad de Los Lirios. Para fines prácticos se le nombro a este consorcio como Mix, con la finalidad de evaluar la respuesta de estos hongos en asociación.

Tiempos letales

Mix y Entomaxx 5x

La acción de los hongos en consorcio (Mix) resultó menos eficiente que por separado, ya que fue necesario mayor tiempo para obtener el TL₅₀, comparado con los porcentajes mostrados por *Beauveria*. Sin embargo, el valor de P muestra diferencia significativa entre concentraciones (Cuadro 9) para este Mix.

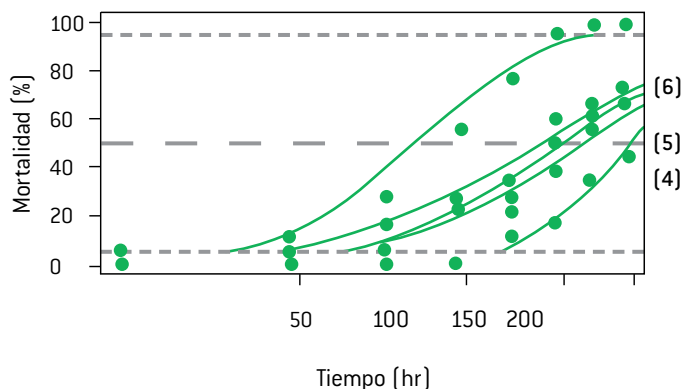
La regresión Probit para Entomaxx 5X (producto comercial) muestra efecto rápido en concentración directa (Gráfica 8); y a menor concentración, el efecto disminuye considerablemente por ello necesita más de 200 horas (Cuadro 10), esto es, cualquiera de las cepas aisladas podrían funcionar mejor en campo, a concentraciones bajas.

En general, las cepas de *Beauveria* fueron más eficaces en concentraciones bajas para el control de *H. cunea*, las cuales estuvieron por arriba de 44% de efectividad, lo que resulta más evidente si se compara con lo ejercido por el producto comercial, que no pasó de 30% en la concentración de 1x10⁷ UFC, como se muestra en la Cuadro 11.

La cepa de *Beauveria* Bb. Hua 1 fue la única que alcanzó la mortalidad de 100%, a una concentración de 1x10⁷ UFC, a diferencia de 76% reportado como máxima por Zibae *et al.*, a la misma concentración de este hongo.

Mediante el valor de P arrojado por el programa estadístico, se puede deducir que hay diferencia significativa entre agentes de control, aunque existieron datos que no se pudieron analizar correctamente con el producto Entomaxx 5x, debido al contraste entre la concentración mayor y menor (Cuadro 12).

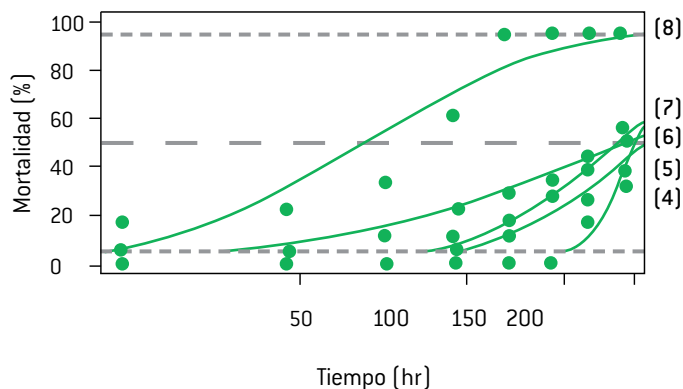
La regresión Probit (Gráfica 9) de las concentraciones letales ubica a la mayoría de los agentes dentro del intervalo 1x10⁵ UFC para la CL₅₀, los que se salieron de este contexto son: la cepa Bb. Hua. 1, que pre-



Gráfica 4. Regresión Probit para Ma. Hua. 2

Cuadro 6. Tiempo letal medio y P valor para Ma. Hua. 2.

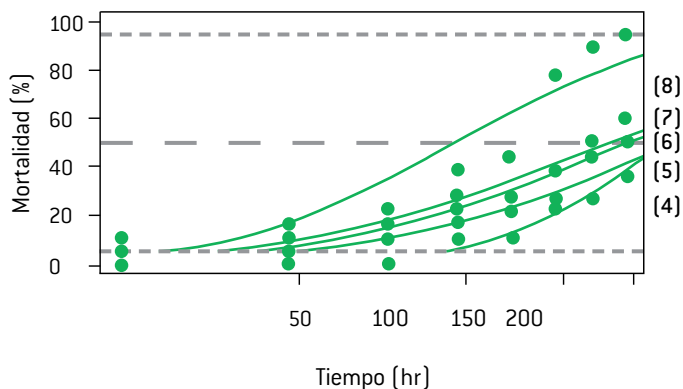
Concentración	TL ₅₀ (Hr)	P valor
1x10 ⁸ UFC (8)	80.77873	2.991401e-08
1x10 ⁷ UFC (7)	134.8862	7.267613e-13
1x10 ⁶ UFC (6)	148.358	1.861863e-29
1x10 ⁵ UFC (5)	161.7794	2.763938e-15
1x10 ⁴ UFC (4)	197.4271	7.259472e-18



Gráfica 5. Regresión Probit para Ma. LI. 2

Cuadro 7. Tiempo letal medio y P valor para Ma. LI.

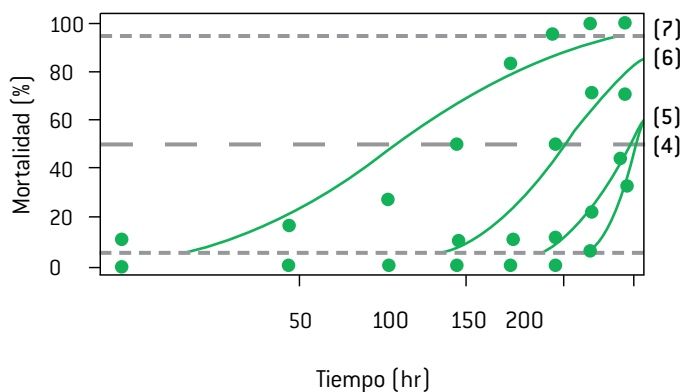
Concentración	TL ₅₀ (Hr)	P valor
1x10 ⁸ UFC (8)	67.05361	7.475041e-07
1x10 ⁷ UFC (7)	203.4199	5.463524e-12
1x10 ⁶ UFC (6)	189.7866	1.421914e-21
1x10 ⁵ UFC (5)	202.8936	1.205255e-16
1x10 ⁴ UFC (4)	212.8795	8.129672e-11



Gráfica 6. Regresión Probit para Ma. SaA. 2

Cuadro 8. Tiempo letal medio y P valor para Ma.

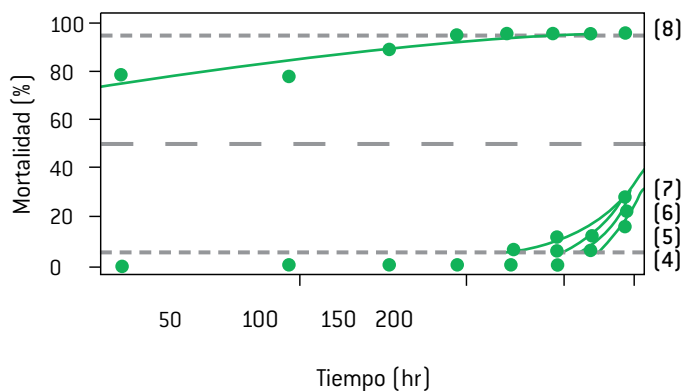
Concentración	TL ₅₀ (Hr)	P valor
1x10 ⁸ UFC (8)	95.52101	1.055084e-05
1x10 ⁷ UFC (7)	180.027	2.862943e-11
1x10 ⁶ UFC (6)	193.756	2.068094e-23
1x10 ⁵ UFC (5)	224.184	5.498319e-10
1x10 ⁴ UFC (4)	239.3192	3.711969e-12



Gráfica 7. Regresión Probit para Mix

Cuadro 9. Tiempo letal medio y P valor para Mix.

Concentración	TL ₅₀ (Hr)	P valor
1x10 ⁸ UFC (8)	75.50788	1.495169e-14
1x10 ⁷ UFC (7)	116.5698	2.674757e-21
1x10 ⁶ UFC (6)	150.9311	2.960425e-12
1x10 ⁵ UFC (5)	197.1854	1.313171e-44
1x10 ⁴ UFC (4)	201.1833	1.019753e-05



Gráfica 8. Regresión Probit para Entomaxx 5x

Cuadro 10. Tiempo letal medio y P valor para Entomaxx.

Concentración	TL ₅₀ (Hr)	P valor
1x10 ⁸ UFC (8)	6.288577	5.565288e-09
1x10 ⁷ UFC (7)	217.4781	1.077066e-09
1x10 ⁶ UFC (6)	221.7467	4.024388e-22
1x10 ⁵ UFC (5)	224.903	7.800924e-10
1x10 ⁴ UFC (4)	250.4768	6.220473e-19

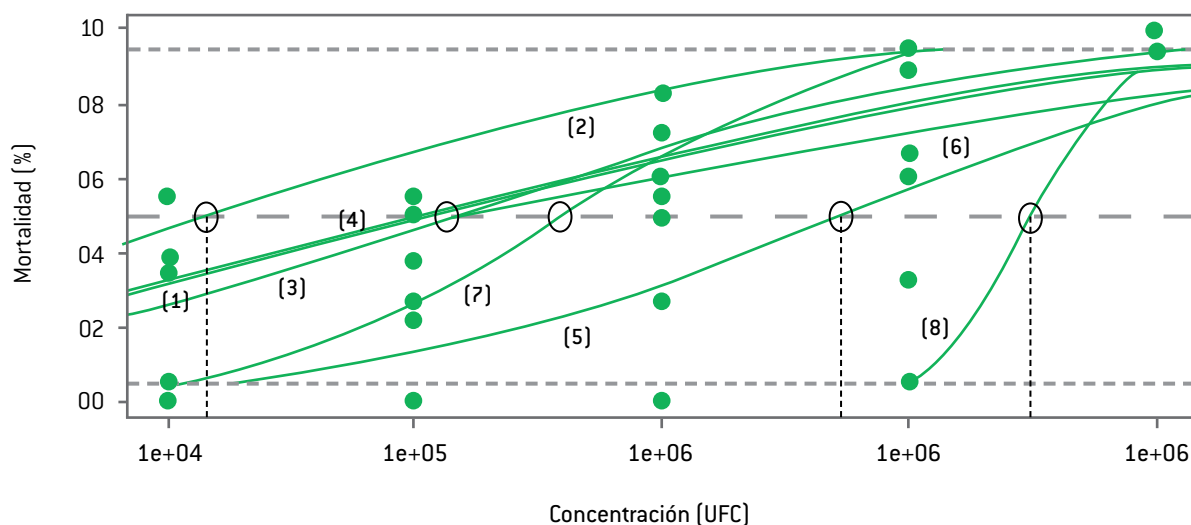
Cuadro 11. Porcentajes de mortandad por agente a los ocho días.

Concentración	Bb.LI.1	Bb.Hua.1	Bb.SaA.1	Ma.Hua.2	Ma.Li.2	Ma.SaA.2	MIX	Entomaxx 5X
1x10 ⁴	44.44	77.77	44.44	44.44	33.33	38.88	33.33	16.66
1x10 ⁵	61.11	83.33	50	66.67	38.88	50	44.44	22.22
1x10 ⁶	66.66	83.33	61.11	66.67	50	50	72.22	27.77
1x10 ⁷	72.22	100	94.44	72.22	55.55	61.11	88.88	27.77
1x10 ⁸	100	100	100	100	94.44	94.44	100	94.44

Cuadro 12. Concentraciones letales y P valor analizados con el programa “R” estadístico.

Trat	CL50	LCL	UCL	CL05	CL95	P valor	Hr
Bb.LI.1	134924.6	451.697	1366864	21.7554	836787802	0.00716373	168
Bb.Hua.1	14924.59	1044.37	57705.24	14.4868	15375614	1.077202e-05	144
Bb.SaA.1	144800.7	4921.042	953264.6	161.6141	129736410	0.001709929	168
Ma.Hua.2	114842.5	686.4481	991087.6	20.52927	642438348	0.00470008	168
Ma.LI.2	5245967	466345.7	437152368	17022.41	1616702408	0.008656967	144
Ma.SaA.2	177523.1	944.2841	1798051	22.724434	11567344795	0.005685304	192
MIX	407928.6	250670.3	657941	10509.45	15833916	9.303296e-22	168
Entomax-5X	31622985	31573533	31672514	9634011	103800289	0.0	120

Trat.: Tratamiento, **CL:** Concentración Letal, **LCL:** Límite fiducial inferior, **UCL:** Límite fiducial superior, **P valor:** Valor de significancia, **Hr:** Tiempo en horas donde cada cepa obtuvo el 100% de mortalidad



Gráfica 9. Regresión Probit para agentes de biocontrol en concentraciones letales. **[1]** Bb.LI.1, **[2]** Bb.Hua.1, **[3]** Bb.SaA.1, **[4]** Ma.Hua.2, **[5]** Ma.LI.2, **[6]** Ma.SaA.2, **[7]** MIX, **[8]** Entomax-5X.



Figura 3. Larvas de *Hyphantria* a concentraciones de 1×10^8 UFC **A:** Bb. Hua 1, **B:** Mix, **C:** Entomaxx 5X y **D:** Testigo.

sentó los mejores resultados con un CL_{50} a 1.4×10^4 UFC, el caso del mix y el producto comercial, que presentaron los menores porcentajes de mortalidad entre concentraciones.

Bajo condiciones controladas, el efecto de los hongos entomopatógenos es rápido y estable y no presenta afectaciones en su virulencia a causa de condiciones adversas. Según Giraldo, en campo son de acción lenta, dependiendo generalmente de las condiciones ambientales de temperatura y de elevada humedad relativa para que su desarrollo y acción patógena sea la adecuada.

Generalmente tardan una semana, como mínimo, para eliminar a la víctima o, al menos, para que deje de alimentarse. En esta investigación tardaron, aproximadamente, tres días en dejar de alimentarse.

Como se puede observar en la figura 4, la cepa de *Beauveria* presentó un completo micosado sobre la larva, lo mismo que para el Mix. Con el producto Entomaxx 5X la mortalidad fue rápida y efectiva en la concentración mayor, aunque en los insectos no se observó crecimiento de hongo en ninguna de las concentraciones.

CONCLUSIONES

La mayor cantidad de aislados se presentó en la localidad de Los Lirios. Respecto a esta localidad resalta la cercanía de la huerta muestreada con la sierra de Arteaga, por lo que se presume que las condiciones ambientales: humedad alta y materia orgánica favorecieron la proliferación de microorganismos.

Los mejores resultados en Tiempo y Concentración Letal para *Beauveria* (Bb. Hua. 1) y *Metarhizium* (Ma. Hua. 2) fueron las cepas pertenecientes a la localidad de Huachichil, por lo que queda como referencia para posteriores aislamientos de organismos benéficos.

La efectividad mostrada por las cepas del género *Beauveria* reflejan la mayor susceptibilidad de *Hyphantria cunea* a este organismo, lo que resultaría como una importante alternativa de control en campo.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. of Econ. Entomol. 18: 265-267.
- ALVES, S. B., Ferraz, L. C. C. B. y Castello Branco Jr., A. (1998b) Chaves para identificação de patógenos de insetos, in S. B. Alves (ed) Controle Microbiano de Insetos, 2nd edition, FEALQ, Piracicaba Brazil.
- CAÑEDO V., Ames T. 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. pp 62.
- FAO. 2003. Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América Latina. Roma: Dirección de Producción y Sanidad Animal de la FAO, p. 33-35.
- GIRALDO J. 2009. Uso de hongos entomopatógenos en el control de ectoparásitos. Universidad del Tolima. Artículo de divulgación, Revista Ganadero. Tolima, Colombia. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/sanidad/articulos/uso-hongos-entomopatogenos-controlt2540/p0.htm>
- LÓPEZ, V. Hans, J. 2001. Biodiversidad del suelo: control biológico de nematodos fitopatógenos por hongos nematófagos. Cuaderno de Biodiversidad, v. 3, n. 6, p. 12 – 15, 2001. Disponible en: <http://www.ua.es/es/informacion/biodiversidad/cuadbiod06.pdf>.
- MORALES, V., Garay, B., Romero, A., Sánchez, J. 2009. Insecticidas biológicos en el control de insectos plaga: agrícolas, forestales, de almacén y urbanas en México. Artículo científico. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- MURRAY, A. Alston, D. 2014. Plagas frutales: manzana. Entomologista de Extensión. Universidad Estatal de Utah y Laboratorio de Diagnóstico de Plagas de Utah. Utah pest. IPM-006-11.
- QUESADA E., Navas J.A., Maranhao E.A., Ortiz A., Santiago C. 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural.
- SARUHAN, I. Tuncer, C. 2016. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* and Some Entomopathogenic Fungi on Larvae of Fall Webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae). University of Ondokuz Mayıs, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 55139, Samsun, Turkey. Journal of Entomology and Zoology Studies 2016; 4(5): 171-176.
- SAMSON, R. A., Evans, H. C. y Latgé, J. P. (1988) Atlas for Entomopathogenic Fungi, Springer-Verlag, New York.
- SUN, J. 2002. Screening and Characterization of Pathogenic Fungi for Possible Control of *Coptotermes formosanus*. A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty of the
- TÉLLEZ, A. Cruz, R. Flores, M. Asaff, T. Aranacuenca, A. 2009. Mecanismos de acción y respuesta

en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología*, v. 30, p. 73-80.

ZIBAEE, I, Bandani, A. Sendi, J. 2013. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to Fall Webworm (*Hyphan-*

tria cunea) (Lepidoptera: Arctiidae) on Different Host Plants. University of Tehran, Karaj, Iran; Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran. *Plant Protect. Sci.*, 49: 169–176.