

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Determinación de la Susceptibilidad de *Sitophilus zeamais* (Motshulsky) con el Hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) en Condiciones de Laboratorio

TESIS

ISRAEL LEÓN CALVARIO

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Determinación de la Susceptibilidad de *Sitophilus zeamais* (Motshulsky) con el
Hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) en Condiciones de Laboratorio

Por:

ISRAEL LEÓN CALVARIO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

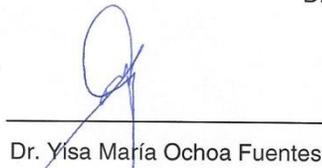
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría



Dr. Ernesto Cerna Chávez

Asesor Principal



Dr. Yisa María Ochoa Fuentes

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 concederme lo más maravilloso de la vida, la vida misma, la de MIS PADRES y MI FAMILIA. Por tender tu mano a ayudar a levantarme, para seguir adelante y obtener un triunfo más, en esta vida; porque tu señor siempre has estado en los momentos más difíciles de mi vida y nunca me abandonas, gracias DIOS MÍO, gracias por tus bendiciones SEÑOR

A MI “ALMA TERRA MATER”

Por abrigarme en su seno a partir desde el primer día que ingrese hasta el final de mi carrera; por permitir superarme, así como enseñarme a trabajar, lo más hermoso que alimenta a nuestro pueblo mexicano “ el campo”, además de obtener la herramienta necesaria para aprovechar al máximo sus frutos

MIS ASESORES

Mi más sincero agradecimiento cordial y sencillo al **Dr. Ernesto Cerna Chávez**. Por aceptarme como su tesista; además de su valioso apoyo,



consejos y dedicación que me brindo durante la realización del presente, y así culminar exitosamente mi tesis profesional.

A la **Dr. Yisa María Ochoa** Fuentes por su colaboración durante todo este proceso de la tesis, así como por formar parte del jurado calificador.

Al **M.C. Omegar Hernández Bautista** que nos apoyo enseñándonos a procesar los resultados obtenidos además de brindarnos su amistad.

A MIS AMIGOS

Sergio Rosales de la Rosa por brindarme su amistad durante toda la carrera y apoyo durante la tesis

Daniela Jiménez López por brindarme su amistad durante toda la carrera y apoyo durante la tesis

A todos los compañeros de la generación **CXX** por todos los buenos momentos que pase con ellos y que hicieron más ligera la estancia fuera de mi hogar



DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Sr. J Jesús León Calvario

Sra. Ma Guadalupe Calvario Meza

A TI PADRE

Por ser una persona muy especial en mi vida, tú que has sabido guiarme por el buen camino, por darme la oportunidad de superarme y de ser una persona de bien y por creer en mí, por todo gracias A TI, PAPÁ.

A TI MADRE

Por ser lo más hermoso de tenerte a ti madre, porque me diste la vida, tu cariño, cuidados, desvelos, sacrificios; porque siempre has estado conmigo en todo, por tus consejos que siempre los tengo presentes; por todo lo que has hecho por mi GRACIAS MADRE MIA.



A MIS HERMANOS

- Irene León Calvario
- Alicia León Calvario
- Irma León Calvario
- José de Jesús León Calvario
- Ana Rosa León Calvario

Alguien con quien siempre he compartido alegrías y tristezas, alguien que siempre está conmigo en las buenas y en las malas, con mucho cariño a ustedes que gracias a su apoyo he concluido mi más anhelado sueño gracias, los quiero mucho y los amo. Que diosito me los guarde y los bendiga

A MIS SOBRINOS

Vanesa, Carolina, Juan, Luis, Moisés, Francisco, Jorge, Rosa, Abril, Lupita, Citlali, Jaqueline, Edwin, Fernanda, Valeria.

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIAS.....	III
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	V
ÍNDICE DE CUADRO.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURA.....	IV
RESUMEN.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
Justificación.....	4
Objetivo.....	4
Hipótesis.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Origen y evolución de los insectos de almacén.....	5
Insectos de los granos almacenados.....	5
Infestación y daños.....	6
El picudo del maíz <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky.....	7
Origen y distribución.....	7
Ubicación taxonómica.....	8
Descripción morfológica.....	8
Larva.....	9
Pupa.....	9
Adulto.....	9
Biología y hábitos.....	10

Importancia económica.....	11
Métodos de control.....	11
Control químico.....	11
Control biológico.....	12
Hongos entomopatógenos.....	13
Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos.....	14
Adhesión de la espora a la cutícula del hospedero.....	14
Germinación de la espora.....	15
Penetración del integumento.....	16
Penetración a través de los cuerpos abiertos.....	17
Replicación en el hemocele.....	18
Dispersión de la espora.....	19
Importancia.....	20
<i>Lecanicillium lecanii</i> Zimmerman.....	20
Ubicación taxonómica.....	20
Origen de <i>Lecanicillium lecanii</i>	21
Reportes en México.....	21
Formulación de hongos.....	23
MATERIALES Y METODOS.....	25
Ubicación del experimento.....	25
Material biológico.....	25
Método de bioensayo.....	26
Preparación de las mezclas.....	27

RESULTADOS Y DISCUCION	28
Porcentajes de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con <i>Lecanicillium</i> <i>lecanii</i> y la mezcla con diferentes potenciadores.....	28
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Análisis de varianza de los Factores tratamiento, concentración y días de exposición de adultos de <i>Sitophilus zeamais</i> contra el hongo <i>Lecanicillium lecanii</i> y sus mezclas....	32
2	Comparación de las medias de los tratamientos evaluados contra adultos de <i>Sitophilus zeamais</i> mediante el método de Tukey.....	33
3	Comparación de las medias de las concentraciones evaluadas contra adultos de <i>Sitophilus zeamais</i> mediante el método de Tukey.	34
4	Comparación de las medias de los días de exposición evaluados contra adultos de <i>Sitophilus zeamais</i> mediante el método de Tukey.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	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>	22
2	Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con respecto a diferentes concentraciones de <i>Lecanicillium lecanii</i>	28
3	Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con respecto a diferentes concentraciones de <i>Lecanicillium lecanii</i> más leche utilizada como potenciador.....	29
4	Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con respecto a diferentes concentraciones de <i>Lecanicillium lecanii</i> más ácidos húmicos utilizado como potenciador.....	30
5	Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con respecto a diferentes concentraciones de <i>Lecanicillium lecanii</i> más adherente utilizado como potenciador.....	31

RESUMEN

A través de la historia, el hombre se ha visto en la necesidad de almacenar y preservar sus cosechas. La conservación y protección de los granos es la parte fundamental en el ámbito alimenticio social y económico; comenzando a acumular reservas de una manera organizada, particularmente las de tipo alimenticio, trataron de buscar los mejores medios para asegurar su subsistencia

En el presente trabajo realizamos un análisis de varianza (ANVA) en el cual determinamos la efectividad del entomopatógeno solo, al paso de los días y con diferentes concentraciones al conocer su efectividad realizamos las siguientes mezclas con adherente, leche en polvo y ácidos utilizados como potenciadores

Los resultados obtenidos nos demostraron que el entomopatógeno mezclado con adherente a los diez días y con una concentración de 1×10^6 logra un control de 100% sobre los adultos de *Sitophilus zeamais*

Correo electrónico; Israel León Calvario, Israel_leon_92@outlook.com

Palabras claves: *Sitophilus zeamais*, *Lecanicillium lecanii*, potenciadores concentración, tratamiento y días.



INTRODUCCIÓN

A través de la historia, el hombre se ha visto en la necesidad de almacenar y preservar sus cosechas. Los nómadas se transformaron en sedentarios cuando aprendieron a sembrar y conservar los frutos resultantes de su arduo trabajo.

La conservación y protección de los granos es la parte fundamental en el ámbito alimenticio social y económico; comenzando a acumular reservas de una manera organizada, particularmente las de tipo alimenticio, trataron de buscar los mejores medios para asegurar su subsistencia, ya que existen evidencias de que el almacenamiento y conservación de los granos data desde el período neolítico en la edad de piedra (8000 años a. c.).

Actualmente, esta práctica sigue jugando un papel de mucha importancia, porque la mayoría de los granos se almacenan antes de ser canalizados hacia las industrias alimentarias (Arias 1996).

La organización de agricultura y alimentación (FAO, 1996) ha estimado que las pérdidas durante el almacenamiento llegan hasta 50% en algunos países subdesarrollados localizados en regiones tropicales y subtropicales del mundo.

La FAO ha determinado que con un eficiente y adecuado control de las altas pérdidas de granos almacenados se podría solucionar el problema de escasez mundial de alimentos, desafortunadamente estas pérdidas son mayores

En países en vías de desarrollo, donde los escasos recursos económicos se traducen en deficientes prácticas de almacenamiento y distribución (Othon, 1996).

Para utilizar alguno de los métodos de combate es necesario conocer correctamente la plaga , su biología, sus hábitos, el lugar donde habita o vive, la época en que se presenta, el daño que causa, la forma en que reacciona a los factores ambientales, su origen, distribución y los productos, materiales u órganos que ataca. Con estos datos se facilita considerablemente programar con un mínimo de error las actividades de índole más conveniente, tendientes a un combate integral que disminuya la abundancia de organismos perjudiciales para reducir el daño que ocasionan. El mejor tipo de combate esperado debe reducir al máximo los daños por plagas en razón directa de la pericia y oportunidad con que se ejecuten estas medidas de combate (Ramírez, 1978).

El *Sitophilus zeamais* Motshulsky es considerado una plaga primaria de gran importancia al ocasionar perforaciones en los granos y semillas almacenadas dando lugar a pérdidas de calidad, físicas, nutritivas, económicas y sociales. A lo largo de los años para su control se utilizó en forma intensiva los plaguicidas sintéticos, provocando un inevitable surgimiento de resistencia, acumulación del producto químico en el medio ambiente e intoxicaciones (Silva *et al.*, 2002).

De esta manera, el uso de insecticidas microbianos a base de: hongos, bacterias, virus y protozoarios; además del uso de nematodos, parasitoides y depredadores, son una alternativa al manejo químico de esta plaga.

Por tal motivo, los insecticidas microbianos, en particular los hongos entomopatógenos poseen un gran potencial para el control de plagas insectiles debido a que es relativamente económico y muy factible desde el punto de vista tecnológico.

Justificación

Esta investigación tiene como finalidad la aportación de información para generar una alternativa de manejo más amable para el ecosistema, contra el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*.

Objetivo

Evaluar el porcentaje de mortalidad que tiene el hongo *Lecanicillium lecanii* con tres diferentes sinergistas en la plaga *Sitophilus zeamais*

Hipótesis

Al menos uno de los cuatro tratamientos tendrá un mayor porcentaje de mortalidad en la plaga. De los tres diferentes sinergistas al menos uno tendrá mayor capacidad sinergista con el hongo y *Lecanicillium lecanii*.

REVISION DE LITERATURA

Origen y Evolución de los Insectos de Almacén

Se cree que los insectos de almacén hacen su aparición en la era neolítica, cuando el hombre empieza a criar los animales domésticos, cultivar plantas y almacenar cereales. Se asume que las especies conocidas hoy como plagas de almacén fueron desarrolladas primeramente en hábitats naturales, y después se trasladaron o fueron trasladadas a los lugares de almacenaje, ya que estos les proporcionaban condiciones adecuadas para su desarrollo (Salomón, 1965). Algunas especies de insectos actualmente asociados con los productos almacenados han sido encontrados en tumbas del antiguo Egipto; insectos como *Tribolium ssp* y *Sitophilus granarius* alrededor del 2300 a 2500 a. C. respectivamente (Chaddick y Leek, 1972).

Insectos de los granos almacenados

Los insectos que atacan los granos almacenados tienen características propias que los distinguen de los que se encuentran en la mayor parte de los cultivos. Son pequeños, prefieren los sitios oscuros, son capaces de esconderse en grietas muy reducidas y se caracterizan por su elevada capacidad de reproducción, lo que permite que pocos insectos formen una población considerable en muy poco tiempo. Por esta razón, una pequeña infestación inicial pueda dañar dentro de pocos meses una gran cantidad de granos almacenados.

Infestación y Daños.

Principalmente la infestación se inicia desde el campo, cuando los granos están alcanzando su madurez fisiológica. Gran parte de los huevecillos dejados por las hembras sobre los granos, sobreviven a las operaciones propias de la recolección, al desgrane y al acondicionamiento posterior hasta que finalmente son depositados en la bodega y si las condiciones son favorables los huevecillos eclosionan. (Ramayo, 1983). Otra causa es cuando permanecen granos o desperdicios infestados de un año a otro en los almacenes, lo que ocasiona que al momento de almacenar el grano, la infestación se reactive fácilmente (Pérez, 1988). A las especies plaga de almacén, se les llama insectos de infestación primaria, cuando tiene la capacidad de atacar el grano sano y producen el primer daño. Al completar su ciclo dejan el grano picado y al emerger la larva empieza a alimentarse, lo cual intensifica el problema

Los insectos que atacan los granos almacenados se dividen en primarios y secundarios, según su tipo de alimentación. Los insectos primarios tienen la capacidad de atacar los granos enteros y sanos. Algunos insectos que pertenecen a este grupo pasan sus etapas inmaduras en el interior del grano y sólo los adultos pueden ser observados en la superficie. Otro grupo de insectos primarios vive y se desarrolla afuera de los granos y se alimenta del embrión o germen (*Sitophilus sp*). Los insectos secundarios son los que no consiguen atacar los granos enteros. Se alimentan de los granos quebrados, partículas de granos y polvos que quedan después del ataque de los insectos primarios. Algunos de los insectos de este

grupo se alimentan también de los hongos que se desarrollan en los granos húmedos.

Los daños y perjuicios provocados por los insectos de los granos almacenados pueden ser similares a los causados a los cultivos. Se estima que del cinco a diez por ciento de la producción mundial se pierde a causa de los insectos, lo que equivale a la cantidad de granos necesaria para alimentar a 130 millones de personas anualmente. Estos valores no consideran otros daños como son el calentamiento de la masa de granos, la diseminación de hongos, los costos de las medidas de control, etc. Se pueden mencionar algunos tipos de daños, tales como: el daño directo, el daño indirecto y daño ocasionado en algunos casos extremos por los tratamientos químicos (<http://www.fao.org/docrep/x5027s/x5027s0h.htm>).

Picudo Del Maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky

Origen y distribución

Existe confusión en cuanto al origen de este insecto, se cree que es originario de la india, lugar del cual se distribuyó a todo el mundo en embarques de granos, convirtiéndose en un insecto cosmopolita (Metcalf y Flint, 1982). Su distribución es mundial, afectando principalmente a las zonas tropicales y subtropicales húmedas, así como en zonas templadas. En el Estado de México se localiza en las zonas sur y noroeste (García, *et al.*, 2007). En México García (1992) reporta la presencia

de *S. zeamais* en los estados de Aguascalientes, Campeche, Coahuila, Edo. De México, Guerrero, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Quinta Roo, Tabasco, Veracruz, Yucatán, por lo que reviste de gran importancia, debido a que se encuentra diseminado en los estados de mayor producción de maíz.

Ubicación taxonómica

Borror *et al* (1989) ubican a *Sitophilus zeamais* de la siguiente manera:

Reino: Animal

Phylum: Artrópoda

Clase: Insecta

Subclase: Pterigota

Orden: Coleóptero

Suborden: Polyphaga

Súper familia: Curculionoidea

Familia: Curculionidae

Subfamilia: Rhincophorinae

Género: *Sitophilus*

Especie: *S. zeamais*

Descripción morfológica

Las características morfológicas del gorgojo del maíz (*S. zeamais*) son como se citan a continuación: Huevo El huevecillo rara vez se observa ya que se desarrolla

en el interior del grano infestado donde se alimenta, es en forma de pera u ovoide de un color blanco opaco, ensanchado de la parte media hacia abajo y con todo redondeado, mide aproximadamente 0.3 mm de ancho.

Larva

La larva es un gusano pequeño de 2.5 a 2.75 mm de largo, blanco aperlado; de cuerpo grueso y apodo, con cabeza pequeña de color café claro, más larga que ancha y cuneiforme; centralmente casi recta y dorsalmente muy convexa. Pasa por cuatro estadios larvales.

Pupa

La pupa es de color blanco pálido al inicio hasta tornarse a color café claro al final, mide de 2.75 mm a 3mm, presenta proboscis larga dirigida hacia la parte anterior y las patas dobladas hacia la parte anterior y las patas dobladas hacia el cuerpo.

Adulto

El adulto mide de 2.5 a 4.5 mm de longitud, es de color café oscuro, cuerpo cilíndrico y alargado, cabeza prolongada en un pico o proboscis curva y delgada, antenas acodadas y de 8 segmentos, alas funcionales, el protórax densamente marcado con punturas del pronoto son más de 20 a lo largo de la línea media del cuello al escutelum (Boudreaux, 1969; Pérez, 1988; Ramírez, 1990; Garcia 1992).

Presenta alas funcionales. El adulto es muy semejante en forma al gorgojo de los graneros pero difieren en color y marcas, además de que este tiene bien desarrolladas el segundo par de alas.

Biología y hábitos

Estos insectos infestan las mazorcas en el campo durante el secado del grano y antes de la cosecha, o cuando el grano es almacenado. Los mayores daños al grano los ocasionan las larvas y los adultos. Los adultos perforan el grano para ovipositar, mientras que las larvas forman surcos en el endospermo al alimentarse. La presencia del gorgojo favorece el ataque de otros insectos. Cuando hay mucha humedad y los insectos atacan el grano, se crea un foco de infección que ocasiona calentamiento en el maíz y, en consecuencia, fuertes infestaciones. Las hembras depositan sus huevos en perforaciones que hacen en el grano y luego los cubren con un mucílago transparente. Una hembra produce hasta 250 huevos en su vida reproductiva. Las larvas se alimentan del endospermo del grano, hasta que se transforman en pupa. Cuando se convierten en adultos, perforan el grano y salen al medio ambiente. Su ciclo de vida depende de la temperatura, pero varía entre 30 y 113 días. En zonas templadas hay de 2 a 3 generaciones por año (García *et al.*, 2007).

Bajo condiciones de laboratorio la temperatura es uno de los factores que afecta el desarrollo de este insecto el rango de temperatura para su desarrollo es entre 26 a

30 °C su ciclo de vida dura de 30 a 42 días bajo condiciones favorables (Sedlacek *et al.*, 1991).

Importancia económica

El maíz, *Zea mays* L. es considerado actualmente como la base de alimentación en los países en desarrollo, sin embargo su producción y conservación está limitada por factores bióticos como las plagas. *S. zeamais* Motsch. (Coleóptera: Curculionidae) o el gorgojo del maíz es el insecto considerado como la plaga de maíz almacenado más importante a escala mundial. En México, la incidencia de esta plaga supera el 80% en regiones húmedas y es la primera causa de daño de postcosecha (Tigar *et al.*, 1994). Así como pérdidas durante el periodo de postcosecha (10-20%) (Bergvinson *et al.*, 2004) y es considerado como plaga primaria ya que es capaz de perforar el grano y favorecer la aparición de otras plagas (Ebecil, 1993).

Métodos de Control

Control químico (Guía para el manejo adecuado de plaguicidas en almacenes de granos 2009).

- a) **Tratamiento de instalaciones:** Generalmente son líquidos o polvos residuales que se pulverizan en pequeñas gotas o se espolvorean sobre las instalaciones.

b) **Tratamiento preventivo:** Se realizan sobre grano en movimiento, tratando de generar condiciones inadecuadas para el desarrollo de las plagas. En este caso, también se trata de líquidos o polvos residuales que se espolvorean o fumigan sobre el grano en movimiento, generalmente se prefiere la pulverización porque de esta manera se logra una distribución más uniforme. En muchos casos, los inertes que acompañan a los plaguicidas en polvo pueden afectar la residualidad del mismo; además, la tensión de vapor de los líquidos les otorga a estos la posibilidad de actuar con mayor rapidez y ejercer control parcial sobre las formas jóvenes u ocultas.

Control biológico

El control biológico fue definido en 1987 por la Academia Nacional de Ciencias (NAS) de Estados Unidos como el uso de organismos naturales o modificados, genes o productos genéticos que reducen el efecto de organismos indeseables (plagas) y favorece a organismos útiles como cultivos, árboles, animales e insectos benéficos y microorganismos (García, 1988).

Según Brower *et al.* (1996), el uso del control biológico en granos almacenados presenta muchas ventajas como es que la liberación de los enemigos naturales en ambientes confinados los protege de las condiciones adversas del clima, además que los agentes controladores que sobreviven hasta las últimas etapas del

almacenamiento no son dañinas como pueden llegar a serlo los residuos de plaguicidas, no se conoce resistencia por parte del insecto plaga (huésped) y no ponen en peligro a los operadores que realizan la aplicación (liberación en este caso). Aunque también estos autores señalan algunas desventajas como por ejemplo que los enemigos naturales son muy específicos y actúan lentamente además de que se requiere de infraestructura permanente para su reproducción y su éxito puede requerir liberaciones demasiado frecuentes lo cual podría producir que el grano se pueda contaminar por la presencia de los restos de los insectos muertos producto de las múltiples liberaciones.

El uso de enemigos naturales para el control de plagas de los granos almacenados puede ser con insectos depredadores o parasitoides.

Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos para algunos autores constituyen una alternativa interesante en la protección de semillas almacenadas. Estos básicamente actúan invadiendo el cuerpo de su huésped penetrando la cutícula o exoesqueleto. Una vez en el celoma, se multiplican rápidamente y se dispersan a través del cuerpo. La muerte del insecto es ocasionada por la destrucción de tejidos y, ocasionalmente, por toxinas producidas por los hongos. Una vez que la plaga muere, los hongos emergen de su cuerpo para producir esporas, las cuales, llevadas por el viento, lluvia o por otros insectos pueden expandir la infección (Boucias y Pendland, 1998).

Por ejemplo, Moino y Alves (1995), de un total de 72 aislamientos de *Beauveria bassiana*, encontraron 10 que demostraron tener efecto sobre *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais* y *Rhizopertha dominica*, llegando en algunos casos hasta una mortalidad cercana al 100%. En un trabajo posterior los mismos autores (1998), obtuvieron reducciones de hasta un 60% de *Sitophilus zeamais* con inoculaciones de este mismo hongo.

Otro antecedente lo aportan Padin *et al.* (1995), quienes evaluaron aislamientos de *Beauveria bassiana*, *Metarhizun anisopliae*, *Nomurea rileyi* y *Verticillium lecanii* sobre *Sitophilus oryzae*, *Rhizopertha dominica* y *Tribolium castaneum*. Los resultados obtenidos mostraron que *Beauveria bassiana* era el hongo más efectivo y que *Sitophilus oryzae* era la plaga más susceptible.

Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos

El desarrollo de micosis puede estar dividido en tres fases: (1) adhesión y germinación de la espora en la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocele y (3) desarrollo del hongo. Lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto.

Adhesión de la espora a la cutícula del hospedero

El primer contacto que hace la espora con la superficie del hospedero es por la cutícula. Las características físicas y químicas de las superficies de la cutícula del

insecto y la espora son las responsables de esta unión. En algunos hongos la adhesión es un fenómeno no específico, mientras en otros esto es un proceso específico. Algunas glicoproteínas pueden servir como un receptor específico para las esporas (Tanada y Kaya 1993).

Germinación de la espora

Se entiende por germinación el proceso mediante el cual una espora emite uno o varios pequeños tubos germinales, los cuales por crecimiento y alargamiento dan origen a las hifas (Volcy y Pardo 1994).

La germinación de las esporas en gran parte depende de la humedad ambiental y temperatura. Y en menor grado de las condiciones de luz y nutricionales (Tanada y Kaya 1993).

El nivel de agua es determinante en el crecimiento de los hongos y pequeñas diferencias en los niveles de humedad relativa después de la aplicación de conidias, pueden determinar de un modo u otro el éxito del hongo en el control de insectos plaga (Guillespie 1988).

El resultado de la germinación y la penetración no depende necesariamente del porcentaje total de germinación sino del tiempo de duración de la germinación, modo de germinación, agresividad del hongo, el tipo de espora y la susceptibilidad del hospedero (Samson *et al.* 1988).

Penetración del integumento

La penetración de la cutícula del insecto por conidias germinadas, ocurre como resultado de una combinación entre la degradación enzimática de la cutícula y la presión mecánica por el tubo germinal (Gillespie 1988). El modo de penetración principalmente depende de las propiedades de la cutícula, grosor, esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales (Charnley 1984).

La fuerza mecánica es notable en el extremo de una hifa invasiva donde la capa cuticular es deformada por presión (Tanada y Kaya 1993). Se produce un tubo germinativo y un apresorio, con éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto. En la penetración participa un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales causan degradación del tejido en la zona de penetración, lo que facilita la penetración física (Monzón 2001).

Las enzimas descubiertas en el tubo germinativo son proteasas, aminopeptidasas, lipasas, esterases, y N-acetil-glucosamidasa (quitinasas). Estudios in vitro indican que en la digestión del integumento sigue una secuencia de lipasa-proteasa-quitinasa (Tanada y Kaya 1993).

Gillespie (1988) reportó que los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Paecilomyces spp.* y *V. lecanii*, producen grandes cantidades de proteasas y quitinasas en medios de cultivo líquido. La producción de proteasa, lipasa y quitinasa sobre la cutícula del insecto, se ha demostrado con *M. anisopliae* mediante coloración de enzimas específicas, recuperadas de moscas previamente inoculadas con conidias del hongo. En varios aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* la enzima principal es una endoproteasa que disuelve la proteína matriz que cubre la quitina cuticular. Por lo tanto, la producción de quitinasa ocurre después del proceso de infección y una vez que el hongo atraviesa la cutícula debe vencer el sistema inmunológico del hospedero antes de entrar a la hemolinfa y desarrollarse dentro del insecto.

Penetración a través de cuerpos abiertos

Los hongos pueden infectar insectos a través de la cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas de un insecto. Puesto que la humedad no es un problema en el tracto alimenticio, la espora puede germinar rápido en este ambiente; por otra parte, los fluidos digestivos pueden destruir la espora o la hifa germinativa. En algunos casos, la digestión de estructuras fúngicas puede causar la muerte por toxicidad más que por micosis (Charnley 1984).

Los hongos pueden infectar insectos a través de los espiráculos y otros cuerpos abiertos, *Metarhizium anisopliae* ocasionalmente infecta larvas a través de los

espiráculos y poros de órganos de los sentidos (Tanada y Kaya 1993). *Beauveria bassiana* infecta varias especies de mosquitos a través del sifón posterior (Clark *et al.* 1968 Citado por Tanada y Kaya 1993); en *Heliothis zea* a través del espiráculo (Pekrul y Gula 1979 Citado por Tanada y Kaya 1993) y en el gorgojo de la alfalfa *Hypera postica* a través de la traquea y no por la delgada cutícula del integumento (Hedlund y Pass 1968 Citado por Tanada y Kaya 1993). La región anal de las larvas del gusano de seda es más frecuentemente infectada 41 por el hongo *Aspergillus flavus oryzae* (Aoki 1961 Citado por Tanada y Kaya 1993).

Replicación en el hemocele

Después de llegar al hemocele, la mayoría de los hongos convierten el crecimiento micelial en una fase de levadura o sea crecimiento por gemación. Se producen toxinas y enzimas, aunque algunos hongos aparentemente no poseen toxinas, matan el insecto al consumir todos los nutrientes o por física destrucción (Bustillo 2001).

Los hongos pueden evitar la defensa inmune de un insecto por (1) desarrollo de protoplastos que no son reconocidos por la población de hemocitos del insecto (Dunphy y Nolan 1982b; Latgé *et al.* 1986 citado por Tanada y Kaya 1993), (2) formando cuerpos hifales multiplicándose y dispersándose rápidamente (Samson *et al.* 1988) y (3) produciendo micotoxinas (Tanada y Kaya 1993).

Las toxinas causan la muerte del insecto debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido (Ferrón 1981)

Posterior al crecimiento del hongo en el hemocele, la micosis induce a síntomas fisiológicos anormales en el insecto tales como convulsiones, carencia de coordinación y comportamientos alterados. Ocurre una competencia entre el hongo y la flora intestinal. En la mayoría de los casos los hongos producen sustancias antibacteriales y cambio de color del cadáver (Ferrón 1978).

Después de muerto el insecto, si la disponibilidad de agua es alta los hongos emergen al exterior a través de la cutícula y esporulan sobre el cadáver produciendo inóculo para infectar a otros insectos. Si las condiciones no son favorables, queda dentro del cadáver del insecto, donde puede sobrevivir por algunos meses y eventualmente producirá esporas cuando lleguen las condiciones favorables. La esporulación ocurre generalmente en cadáveres pero puede también ocurrir en insectos vivos (Tanada y Kaya 1993).

Dispersión de las esporas

La dispersión de la spora puede ser un proceso activo o pasivo y depende de las características de la spora y el esporangio. Cada conidia puede adherirse o pasar de un invertebrado a otro por dispersión (Fletcher 1977; Ingold 1978 citado por Tanada y Kaya 1993).

Importancia

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).

Lecanicillium lecanii

Ubicación Taxonómica

Phylum: Eumycota

Clase: Hyphomycetes

Subdivisión: Deuteromycotina

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Lecanicillium*

Especie: *Lecanicillium lecanii*

Origen de *Lecanicillium lecanii*

El año de 1898, en la isla de Java, Indonesia, Zimmerman descubrió el hongo identificado como *Cephalosporium lecanii*. Sin embargo, hacia el año 1939 el mismo hongo fue reportado como *Verticillium lecanii* por Viegas, quien hizo referencia al característico halo blanco formado sobre el insecto *Coccus viridis* (Green) (Hem: Coccidae) (Samson y Rombach, 1985, Carreño, 2003). Zare y Gams en el año 2001 propusieron que los aislamientos de *Verticillium lecanii* sean renombrados como pertenecientes al Género *Lecanicillium*. *Lecanicillium lecanii* es ahora un nombre aprobado de una especie de hongos entomopatógenos, que fue ampliamente conocido como *Verticillium lecanii* pero ahora se entiende que es una forma anamórfica en el grupo de Cordyceps de géneros en la familia Clavicipitaceae.

Reportes de *Lecanicillium lecanii* en México

En México hay una diversidad de estudios acerca de *L. lecanii* principalmente usado como agente de control biológico lo cual permite obtener bases sobre la patogenicidad de este hongo. La patogenicidad de *L. lecanii* presentadas en mecanismos enzimáticos utilizando cutícula de *Sphenarium purpurascens* como inductor de las enzimas degradadoras de la cutícula en un medio mineral impregnado en bagazo de caña (Barranco 2004). Se observó la patogenicidad de los conidios de *L. lecanii* evaluada en los áfidos *T. aurantii* y *Aphis gossypii*.

Características de *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas Los conidióforos de las especies de *Verticillium* son pocos diferenciados de las hifas vegetativas, las células conidiógenas (fiálides) están en forma de verticilios de dos a seis, en parejas o solitarias sobre hifas o apicalmente sobre cortas ramificaciones (Samson y Rombach 1985).

Las conidias de *Verticillium lecanii* son pequeñas, hialinas cilíndricas o elipsoidales y redondeadas en sus extremos; con medidas que varían de 2,3 - 10.0 milimicras de largo por 1.0 - 2.5 milimicras de ancho. Estas conidias nacen en forma de gotas filamentosas o en cadenas (Figura 1) (Samson y Rombach 1985).

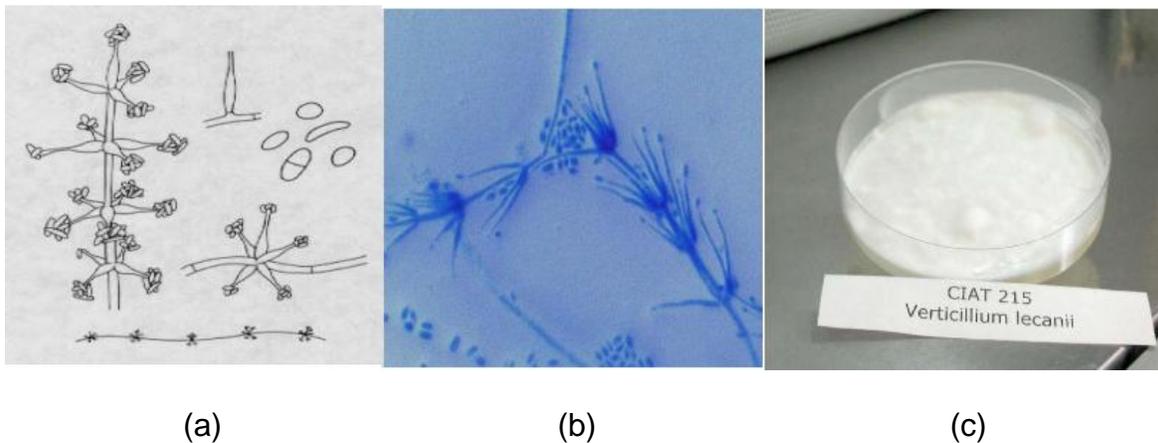


Figura 1. Características microscópicas y macroscópicas de *Verticillium* spp. A. Esquema de conidióforos y conidias de *Verticillium* spp. Dibujo tomado de Malloch (1997). B. Microfotografía de conidióforos y conidias de *Verticillium lecanii*. Fotografía tomada de Herrera (2001) C. Morfología de las colonias de *Verticillium lecanii*. Fotografía: A. Morales.

Formulaciones de Hongos

Entomopatógenos La formulación del hongo es el proceso mediante el cual el ingrediente activo, es decir las conidias del hongo, se mezclan con materiales inertes, tales como vehículos, solventes, emulsificantes y otros aditivos. Estos materiales inertes ayudan a que el hongo este más protegido al momento de la aplicación, así mismo, la facilita evitando que se sedimente fácilmente y/o que forme grumos que tapen la boquillas. Todo esto se hace con el fin de lograr una buena homogeneidad y distribución de las partículas del hongo, para poder ser manipuladas y aplicadas adecuadamente (Monzón 2001).

Hay dos tipos de formulaciones: 1. Seca o polvo mojable en la cual se utiliza un vehículo, el cual puede ser de origen mineral o vegetal, que ayuda a absorber la humedad de las conidias y mantiene la viabilidad por un tiempo considerable. 2. Líquida o emulsificable que utiliza un líquido solvente y un emulsificante. El líquido utilizado tiene la función de mantener suspendidas las conidias en el medio para lograr una mezcla homogénea que garantice una buena aplicación. Además este líquido debe evitar la absorción de agua por las conidias y mantener su viabilidad (Monzón 2001). La comercialización de insecticidas basados en hongos entomopatógenos requiere un control de las propiedades biológicas, físicas y químicas. Para esto se realizan pruebas microbiológicas como concentración de esporas, germinación de esporas y prueba de pureza. Además de las pruebas físico-químicas de determinación de pH, porcentaje de humedad, humectabilidad,

Suspensibilidad y taponamiento de boquillas, que aseguren al usuario un producto con la máxima eficacia de control en el campo (Vélez *et al.* 1997).

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 entomopatógenos, se realizó una solución madre en 100 ml de agua y se le agregó 1 gramo del producto (esporas) del hongo *Lecanicillium lecanii* y 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 dosis restantes se hizo lo mismo tomando 1 ml 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 1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 , 1×10^2 , 1×10^1 y el testigo.

Una vez obtenidas las diluciones (seis), se realizaron los bioensayos con tres repeticiones, utilizando la metodología descrita por Fatiha *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 de 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, esta caja contenía un papel filtro en el fondo con la finalidad de proporcionar humedad, las cajas se metieron en una cámara bioclimática para que tuvieran una temperatura constante y el hongo se lograra desarrollar.

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 *Lecanicillium lecanii* y la mezcla con diferentes potenciadores

En relación a la efectividad de *Lecanicillium lecanii*, podemos observar en la (figura 2) que a los cuatro días los dos mejores tratamientos fueron el 1×10^4 y 1×10^6 con un 7% de mortalidad posteriormente el 1×10^1 , 1×10^2 y 1×10^5 que obtuvieron un 3% y finalmente el 1×10^3 con un mortalidad nula. Así mismo podemos mencionar que en el día siete el tratamiento 1×10^6 continuo siendo el mejor con un 22% de efectividad sobre los insectos, seguido del 1×10^4 y el 1×10^5 con un 17 y 13% respectivamente, el resto no logro superar el 10%. Finalmente en el día diez los dos mejores tratamientos fueron el 1×10^6 que obtuvo un 53% y el 1×10^4 un 40% siendo el más bajo el 1×10^1 con tan solo un 22%.

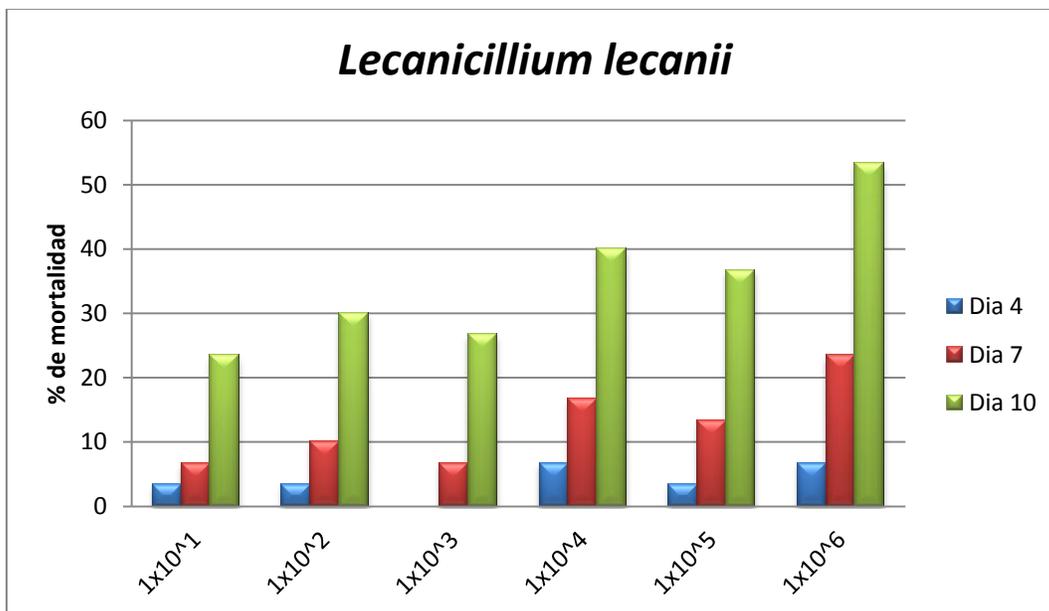


Figura 2.- Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con respecto a diferentes concentraciones de *Lecanicillium lecanii*

Como se puede observar en la (figura 2) con la mezcla de *Lecanicillium lecanii* más leche a los cuatro días el mejor tratamiento fue el 1×10^3 con un 13% de mortalidad seguido del 1×10^4 y 1×10^1 con un 7 y 3% respectivamente, el resto de los tratamientos tuvieron una mortalidad nula; Para el día siete el 1×10^3 continuo siendo el mejor con 33% posteriormente los tratamientos 1×10^1 , 1×10^5 y 1×10^6 alcanzaron un 13% cada uno y finalmente el 1×10^2 y 1×10^4 que obtuvieron tan solo un 10%; En el día diez la mayoría de los tratamientos se elevaron colocándose como el mejor el 1×10^3 con un 33% de mortalidad, después el 1×10^1 y 1×10^2 con un 26% cada uno, los dos peores tratamientos fueron el 1×10^4 y el 1×10^6 que tan solo alcanzaron un 20% de mortalidad.

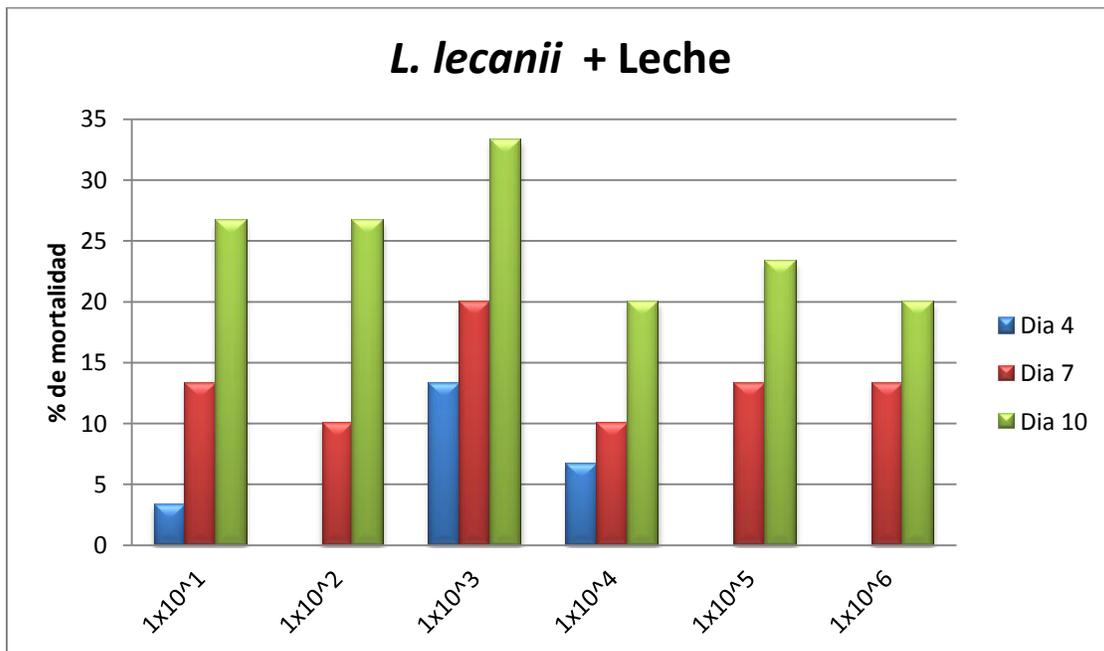


Figura 3.- Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con respecto a diferentes concentraciones de *Lecanicillium lecanii* más leche utilizada como potenciador.

Como se muestra en la (figura 3) con la mezcla de *Lecaniciliium lecanii* más ácidos a los cuatro días los dos mejores tratamientos fueron el 1×10^2 y 1×10^3 con un 7% de mortalidad seguido del 1×10^6 con únicamente un 3% el resto no tuvo efecto alguno sobre la muerte de los insectos. Para el día siete el 1×10^3 se posiciono como el mejor con un 27% posteriormente el 1×10^2 que alcanzo un 23%, los peores tratamientos fueron el 1×10^1 , 1×10^4 y el 1×10^6 que únicamente obtuvieron un 10%. El día diez todos los tratamientos tuvieron un aumento en su mortalidad colocándose como el mejor el tratamiento 1×10^2 que obtuvo un 60% seguido del 1×10^4 y 1×10^5 con un 57% cada uno, finalmente el peor tratamiento fue 1×10^1 con un 40% de mortalidad.

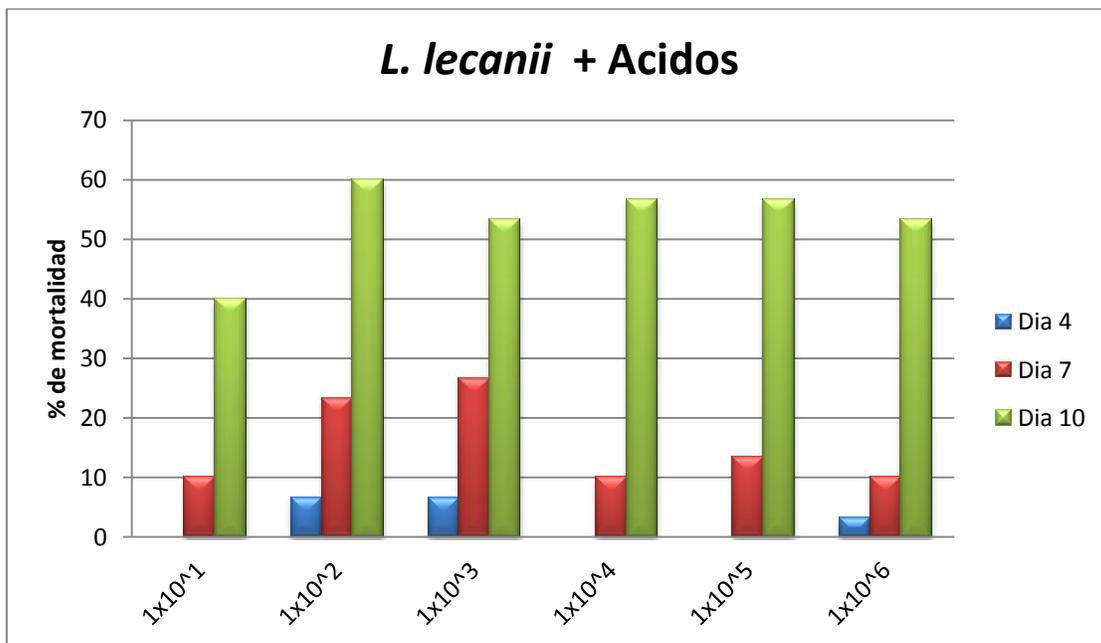


Figura 4.- Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con respecto a diferentes concentraciones de *Lecaniciliium lecanii* más ácidos húmicos utilizado como potenciador

Como se puede observar en la figura 4 con la mezcla de *Lecanicillium lecanii* más adherente en el día cuatro solo dos tratamientos resultaron efectivos, siendo el mejor el 1×10^6 con un 100% de control sobre la población de los insectos, seguido del 1×10^5 que obtuvo un 53%, el resto de los tratamientos tuvieron una mortalidad nula; Para el día siete el mejor tratamiento fue el 1×10^6 con un 100% de control, posteriormente el 1×10^5 que obtuvo un 80% de efectividad, los demás tratamientos no lograron superar el 20% de mortalidad; A los 10 días los dos tratamiento mejores fueron el 1×10^6 y 1×10^5 con un 100 y 80% respectivamente, seguido del 1×10^4 con un 27% el resto de los tratamientos no logro superar el 20% de efectividad.

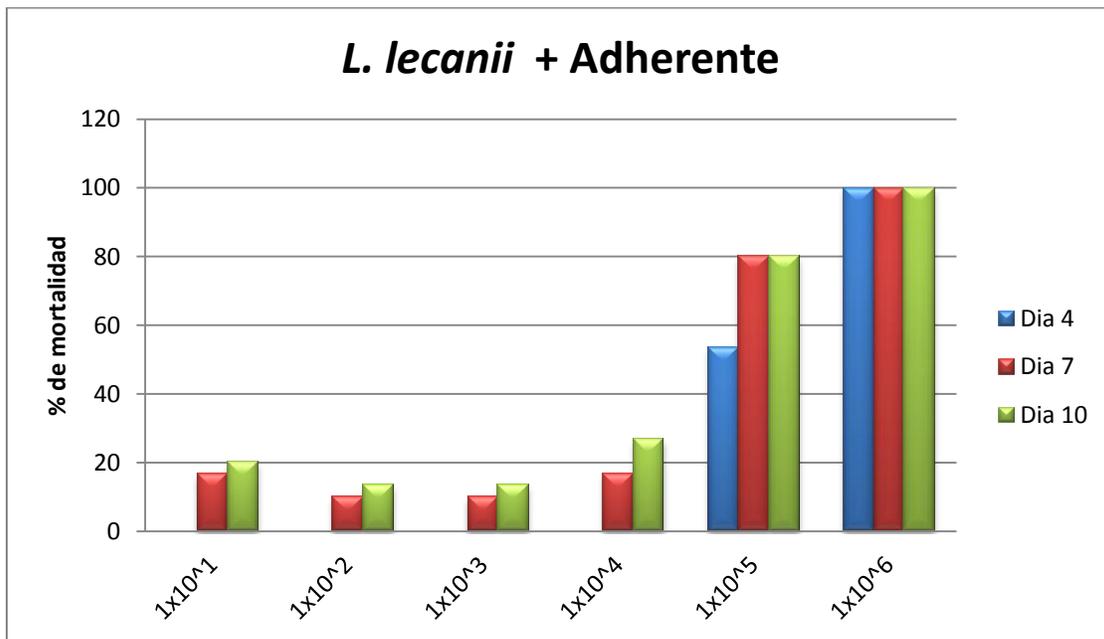


Figura 5.- Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con respecto a diferentes concentraciones de *Lecanicillium lecanii* más adherente utilizado como potenciador

Al realizar un Análisis de varianza (ANVA), por el método factorial podemos observar que existe una diferencia significativa entre los factores, los cuales son los tratamientos (Hongo solo y las mezclas con adherente, leche en polvo y ácidos húmicos), tratamiento-concentración, tratamientos-día, concentración (1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 , 1×10^2 , 1×10^1) y día (4, 7 y 10 días).

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

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Trat	3	1.41615178	0.47205059	45.09	<.0001
Trat*Conc	15	3.84339081	0.25622605	24.47	<.0001
Trat*Día	6	0.54776107	0.09129351	8.72	<.0001
Conc	5	1.41537587	0.28307517	27.04	<.0001
Conc*Día	10	0.05369111	0.00536911	0.51	0.8795
Día	2	3.47379964	1.73689982	165.90	<.0001
Rep	2	0.05576084	0.02788042	2.66	0.0726

Trat= Tratamientos (Hongo solo y las mezclas con adherente, leche en polvo y ácidos húmicos),
 Conc= Concentración (1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 , 1×10^2 , 1×10^1)
 Día= 4, 7 y 10 días

Al realizar una comparación de medias por el método de tukey (P=0.05), podemos observar (cuadro 2); que el factor tratamientos, el que presento un máximo control fue el de la mezcla de *Lecanicillium lecanii* más adherente, con un valor transformado de 0.35274, seguido de *Lecanicillium lecanii* más ácidos con el valor de 0.22962, continuando con el tratamiento *Lecanicillium lecanii* que obtuvo

un valor de 0.17610 y finalmente el tratamiento de *Lecanicillium lecanii* más leche en polvo con 0.13841.

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

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	0.35274	54	4
B	0.22962	54	3
C	0.17610	54	1
C	0.13841	54	2

Tratamientos: 1: Hongo solo, 2: Mezcla con leche en polvo, 3: Mezcla con ácidos húmicos y 4: Mezcla con adherente.

Al respectó Cortez-Madrigal (2006), evaluaron el efecto del aceite de girasol y la glicerina sobre la germinación de *Lecanicillium (Verticillium) lecanii*, en diferentes concentraciones, hallando que la glicerina posee un efecto adverso sobre la germinación del hongo, mientras el aceite al 15% a una humedad relativa del 80% fue el más favorable. En presente investigación encontramos que la mezcla del hongo más leche en polvo no tuvo un buen efecto sobre la mortalidad de la población que solo alcanzo un 34% de control, por el contrario un buen potenciador para *L. lecanii*, fue el adherente que aumento de manera considerable la efectividad de la mezcla logrando un 100% de control.

Al realizar una comparación de medias por el método de Tukey (P = 0.05) podemos observar (cuadro 3), que el factor de concentraciones, la que presento un máximo control fue la concentración 1×10^6 con un valor transformado de

0.36877, seguido de la concentración 1×10^5 con un valor transformado de 0.29417, continuando con las concentraciones 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^2 , 1×10^1 con un valor transformado de 0.19272, 0.18386, 0.17204, 0.13375 respectivamente, las cuales de acuerdo al análisis realizado no existe diferencia significativa entre ellas.

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

Tukey Agrupamiento	Media	N	Concentración
A	0.36877	36	6
B	0.29417	36	5
C	0.19272	36	3
C	0.18386	36	4
C	0.17204	36	2
C	0.13375	36	1

Concentración: 6: 1×10^6 , 5: 1×10^5 , 4: 1×10^4 , 3: 1×10^3 , 2: 1×10^2 y 1: 1×10^1

Fatiha *et al.*, (2007) determinaron la CL_{50} para cuatro cepas diferentes de *L. lecanii*, al tratar poblaciones de la mosquita blanca *Bemisia tabaci* que se encontraban presentes en hojas de tomates sumergiéndolas en una solución de conidias del hongo. Los resultados obtenidos en el estudio con una de las cepas evaluadas dan una CL_{50} de $1,2 \times 10^7$ conidias/ml, algo muy similar a nuestros resultados ya que lo hicimos por el método de sumersión y la concentración que obtuvo mayor control sobre *S. zeamais* fue la de 1×10^6 con un 100% de mortalidad siendo este un valor superior a lo reportado por este autor.

Al realizar una comparación de medias para comparar los días de exposición por el método de Tukey ($P = 0.05$) podemos observar en el cuadro 4, que el factor día que presento un máximo control fue el día 10 con un valor transformado de 0.39207, seguido del día 7 con un valor transformado de 0.19500, y por último el día 4 con un valor transformado de 0.08558.

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

Tukey Agrupamiento	Media	N	Día
A	0.39207	72	10
B	0.19500	72	7
C	0.08558	72	4

Kim *et al.*, (2001), desarrollaron un ensayo con los hongos entomopatógenos *L. lecanii*, *B. bassiana* y *Paecilomyces spp*, en el cual demostraron que *L. lecanii* fue el hongo más virulento contra *Aphis gossypii* provocando un 100% de mortalidad con un TL_{50} de 2,7 días, siendo este valor muy similar al obtenido en el presente estudio ya que nos encontramos que la mortalidad más alta se nos presentó entre los 4 y 7 días después del tratamiento.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados de esta investigación se concluye que:

- El hongo *Lecanicillium lecanii* ejerce un buen control sobre *S. zeamais*
- El mejor control lo ejerce el hongo más un adherente con un concentración de 1×10^6
- La mezcla con adherente potencializo la virulencia del hongo al alcanzar una mayor mortalidad, en comparación con el hongo solo,
- *Lecanicillium lecanii* que logra un mayor control sobre poblaciones de *Sitophilus zeamais* a partir de los primeros tres días de haber estado expuesto con el hongo
- Por lo anterior podemos mencionar que las mezclas de hongos con adherente es una buena opción de control al incrementar la virulencia del hongo.

BIBLIOGRAFÍA

Anónimo(s/f). Control químico de granos almacenados (consulta noviembre del 20015) (<http://www.fao.org/docrep/x5027s/x5027s0h.htm>)

Arias C. 1993. Manual de manejo de poscosecha de granos a nivel rural Oficina Regional de la FAO para America Latina y el Caribe Santiago, Chile. P 369-392

Bustillo, A. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. En: seminario Uso de entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de entomología. Bogotá. pg. 30-53

Bergvinson D. García-Lara S. Diaz-Pontonos D. 2004. Estrategias en postcosecha para reducir las pérdidas en maíz debido a plagas. In: UAM. Nuestra Agricultura en el tercer milenio. Universidad Metropolitana- Xochimilco (In press).

Boucias, D, J. Pendland. 1998. Principles of insect pathology. Kluwer Academics Publishers. Norwell. Massachussets. USA. 550p

Brower, J.; L. Smith. P. Vail. Y P. Flinn. 1996. Biological Control In: ubramanyam, B y D.Hagstrum (Eds). Integrated Management of insects in stored products.Marcel Dekker, Inc. New York. USA p 223-286.

Chaddick, P. R. and F. Leek. 1972. Further specimens of stored products insects found in ancient Egyptian tombs. *J. Stored Prod. Res*, 8; 83-86. U.S.A.

Cortez-madriral, H. Efecto de coadyuvantes en *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare y Gams y su virulencia hacia *Toxoptera aurantii* Boyer. *Revista Mexicana de Fitopatología*, v. 24, p. 59-64, 2006.

Charnley, A. 1984. Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: A speculative review. In: *Invertebrate-microbial Interactions*. Anderson, J.; Rayner, A. and Walton, D. Cambridge University Press. Cambridge. pág. 229-270.

Ebecil, 1993. Evaluación de productos naturales y comerciales para el control del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motsch) en Semilla de Maíz. Tesis Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 60p

FAO. 1991 *Secado de Granos: natural, solar y a bajas temperaturas* Santiago, Chile 1991

Fatiha, L.; A, Shaukat.; R, Shunxiang.; A, Muhammad. 2007. Biological characteristics and pathogenicity of *Verticillium lecanii* against *Bemisia tabaci* (HOMOPTERA: Aleyrodidae) on eggplant. *Pakistan Entomology*. 29 (2).

Ferron, P. 1981. Pest Control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: Burges, H. ed. Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. P.465-482. Academic Press, New York, 949 p.

Ferron, P. 1978. Biological control of insect pest by entomopathogenous fungi. In: Annual review of entomology (United States). (23): 409-442

García L. María de Lourdes. *et al.* 2007. Silo hermético para el control de plagas de granos almacenados en Guanajuato, México. Agricultura técnica en México. Vol. 33. Texcoco, México. Pp. 231- 239.

García, R., L.E. Caltagirone y A.P. Gutiérrez. 1988. Comments on a redefinition of biological control. *BioScience* 38(10):692-694

Gillespie, A. 1988. Use of fungi to control pest of agricultural importance. In: Burge, M. (Ed) *Fungi in biological control systems*. Manchester University Press, Manchester, England. 269 p.

Kim, J.; M, Lee.; C, Yoon.; H, Kim.; J, Yoo.; K, Kim. 2001. Control of cotton aphid and greenhouse whitefly with a fungal pathogen. Internet: www.agnet.org/library/eb/502b/eb502b.pdf (noviembre 25 2015)

Metcalf y Flint, 1982. *Insectos destructivos e insectos útiles*. Trad Del ingles

Por Alonso Blackaller V. Compañía Editorial Continental, segunda Edición, S.A.
México, D.F.

Moino, A. S.B. Alves. 1995. Bioensaios com *Beauveria bassiana* (BALS) Vuill para controle de pragas de granos armazenados. Revista de Agricultura 70 (3):248.

Monzon, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica. (63): 95-103

Padin, S.B. G.M. Dal Bello y A.L. Vasicek. 1995. Potencial bioinsecticida de hongos entomopatogenos de plagas en granos almacenados. Revista Facultad de Agronomía 15(1):1-7p.

Pérez, M. J. 1988. Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones del picudo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleóptera: Curculionidae) de varias localidades de México. Tesis de Maestría. Chapingo, México. Colegio de Posgraduados.142 p

Salomon, M. E. 1965. Archeological records of storage pests: *Sitophilus granarius* (L) (Coleóptera: Curculionidae) from an Egiptaim pyramid tomb. J. Stored prod. Res. 1:105 -107.

Samson, R.; Rombach, M. 1985. Biology of the fungi *Verticillium lecanii* and *Aschersonia*. In: Biological pest control. The glasshouse experience. Blanford Press. England. (2): 34-42

Sedlacek, J. D., R. J. Barney and M. Siddiqui. 1991. Effect of several Management tactics on Adult Mortality and Progeny Production of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on Stored corn in the Laboratory. J. Econ. Entomology. 84(3): 1041 – 1046. USA.

Silva G., O. Orrego, R. Hepp y M. Tapia. 2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, vol. 40, pp.11-17.

Tanada, y.; Kaya, H. 1993. Insect Pathology. Academic Press. San Diego, California. (USA). 666 p.

Tigar, B. J., P.E. Osborn, G. E. Flores-S, and M. Vasquez-A. 1994. Insect post Associated with rural maize stores in Mexico with particular to *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae). J. Stored Prod. Res. 30:267-281.

Ramayo, L. 1983. Tecnología de granos. Departamento de industria agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, México, 216 p.

Ramírez G. M. 1978. Almacenamiento y conservación de granos y semillas, 5 a Edición, México D.F. 201 p.

Volcy. C.; Pardo, V. 1994. Principios de Micología. Centro de Publicaciones, Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 141 p.

Vélez, P; Posada, F.; Marín, P.; González, M.; Osorio, E.; Bustillo, A. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Centro Nacional de Investigaciones de Café Pedro Uribe Mejía. CENICAFE. Chinchiná, Caldas (Colombia). 37 p.