

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO**



**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR  
DE SALVATIERRA**



**CONTROL BIOLÓGICO DE MOSQUITA BLANCA  
(*Trialeurodes vaporariorum* L.) EN TOMATE  
(*Solanum lycopersicum*)**

**TITULACIÓN INTEGRAL  
(TESIS PROFESIONAL)**

**Elaborada por:**

**LUIS ALEJANDRO LEDEZMA ZAVALA**

**Para obtener el título de:**

**INGENIERO EN INNOVACIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

**Directora de Tesis:**

**DRA. MARCIA MARIBEL MARTÍNEZ SCOTT**

**Salvatierra, Gto.**

**Diciembre, 2021**



**FORMATO DE LIBERACIÓN DEL PROYECTO DE TITULACIÓN INTEGRAL**

Salvatierra, Guanajuato. 3 /diciembre/2021.

C. ING. LIZBETH ESTEFANÍA ESCOBAR PANIAGUA

Jefe del Departamento de Servicios Escolares

ITESS

PRESENTE

Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto de titulación integral para para su impresión y realización del acto de examen profesional:

Nombre del estudiante y/o egresado:	Luis Alejandro Ledezma Zavala
Carrera:	INGENIERÍA EN INNOVACIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE
No. de control:	AG15110416
Nombre del proyecto:	"control biológico de mosquita blanca ( <i>Trialeurodes vaporariorum</i> L.) en tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> )"
Producto:	TESIS PROFESIONAL

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica*

Pedro Eduardo Moreno Zacarías

Coordinador de Ing. Innovación Agrícola

DIRECTOR DRA. MARCIA MARIBEL MARTÍNEZ SCOTT	REVISOR* VICTOR ANTONINO CORTÉS PÉREZ	REVISOR* MAYRA GABRIELA ROSAS GALLARDO.

\* solo aplica para el caso de tesis o tesina



Manuel Gómez Morín No. 300 Comunidad de Janicho Salvatierra,  
Guanajuato, C.P. 38900  
Tels. 4666680631 Ext. 128, e-mail: pemorenos@itess.edu.mx.  
www.itess.edu.mx | pemoreno@itess.edu.mx





**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE SALVATIERRA  
COORDINACIÓN DE INNOVACIÓN EN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

TESIS  
Presentada por:

**LUIS ALEJANDRO LEDEZMA ZAVALA**

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

**INGENIERO EN INNOVACIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

Aprobado por

---

Dra. Marcia Maribel Martínez Scott  
Director de Tesis

---

Ing. Mayra Gabriela Rosas Gallardo

Revisor

---

Ing. Víctor Antonino Cortés Pérez

Revisor

---

Dr. Pedro E. Moreno Zacarías

Coordinador de Innovación en Agrícola Sustentable

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A MIS PADRES Y HERMANOS (A)**

Por brindarme desde siempre su apoyo económico y emocional para poder cursar mi carrera universitaria desde el principio hasta el final, por tener esa gran fe en mí, y por siempre apoyarme en cualquier momento difícil, por sus grandes consejos que me han llevado hasta donde estoy.

### **A MI NOVIA**

Tu ayuda ha sido fundamental, has estado conmigo incluso en los momentos más turbulentos, por ser mi felicidad y mi motivación a ser mejor persona día a día y hacer las cosas lo mejor posible, este proyecto no fue fácil, pero estuviste motivándome y ayudándome hasta donde tus alcances lo permitían.

Te lo agradezco muchísimo, amor.

### **A MIS MAESTROS (A)**

En primera instancia agradezco a mis formadores personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro.

Sencillo no ha sido el proceso, pero gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos y dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mi tesis con éxito y obtener una titulación profesional.

### **A MIS AMIGOS**

Por siempre darme ánimos y consejos para seguir de pie luchando por los sueños y no perder la esperanza de algún día llegar a ser la persona que tanto esperaba y así poder avanzar poco a poco con mucho éxito.

# ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>iii</b>
<b>ÍNDICE</b>	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS</b>	<b>viii</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>ix</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>x</b>
1.1 Introducción	1
1.2 Objetivos	3
1.2.1 Objetivo general	3
1.2.2 Objetivo específico	3
1.3 Planteamiento del problema	3
1.4 Justificación	4
1.5 Hipótesis	4
<b>CAPITULO II. MARCO TEÓRICO</b>	<b>5</b>
2.1 Antecedentes del cultivo del tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	5
2.1.1 Importancia del cultivo	5
2.1.2. Descripción taxonómica y botánica	6
2.2 Principales Plagas y enfermedades del cultivo de tomate	7
2.2.1 Plagas que afectan al cultivo	7
2.2.2 Enfermedades	9

2.3	Importancia del control biológico _____	12
2.3.1	Control biológico de plagas _____	12
2.4	Mecanismo de acción de hongos entomopatógenos en insectos _____	14
2.4.1	Adhesión de la espora a la cutícula del hospedero y germinación de la espora _____	14
2.4.2	Penetración en el hemocele _____	15
2.4.3	Replicación en el hemocele _____	16
2.5	Hongos entomopatógenos en el control biológico _____	17
2.5.1	Principales hongos entomopatógenos usados en el control de plagas ____	20
2.5.2	Formulación de hongos entomopatógenos en el control biológico _____	25
<b>CAPITULO III METODOLOGÍA _____</b>		<b>28</b>
3.1	Establecimiento del área experimental _____	28
3.2	Preparación del suelo _____	28
3.3	Preparación del sistema de riego _____	29
3.4	Fecha de trasplante _____	29
3.5	Diseño experimental utilizado _____	29
3.5.1	Tratamientos _____	30
3.6	Material biológico empleado en este experimento _____	31
3.6.1	Aislados nativos _____	31
3.6.2	Identificación de los aislados _____	31
3.6.3	Reproducción del inoculo _____	31
3.6.4	Inoculación en granos de arroz _____	32
3.7	Variables a evaluar _____	32

3.7.1 Densidad de Población de la mosquita blanca	33
3.7.2 Mortandad	33
3.7.3 Persistencia de los hongos entomopatógenos en el invernadero	33
3.7.5 Identificación de los hongos entomopatogenos re-aislados	34
3.8 Monitoreo de plagas y enfermedades	34
3.9 Manejo agronómico del cultivo	34
<b>CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>35</b>
4.1 Reproducción del inocular	35
4.2 Densidad de población de mosquitas blancas por unidad experimental previa y posterior a la aplicación de los tratamientos	36
4.3 Mortandad, melanización y síntomas de enfermedad en mosquita blanca	38
4.4 Persistencia de los entomopatogenos en invernadero	39
4.5 Registro de Temperaturas máximas, mínimas y humedad relativa	40
4.6 Re-aislamiento de identificación de los hongos	41
<b>CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>47</b>
5.1 Conclusiones	47
5.2 Recomendaciones	48
<b>CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>49</b>
<b>CAPITULO VII. ANEXOS</b>	<b>62</b>
ANEXO 1. CONTEO DE INOCULO EN CÁMARA NEUBAUER	62
ANEXO 2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2. Ubicación del invernadero del ITESS. _____	28
Figura 3. Distribución de los tratamientos en invernadero. _____	30
Figura 4. Reproducción de hongos entomopatógenos sobre arroz. _____	32
Figura 5. Reproducción del inóculo de los hongos entomopatógenos en el laboratorio. _____	35
Figura 6. Mosquitas blancas colonizada por <i>Beauveria bassiana</i> . _____	41
Figura 7. Mosquitas blancas colonizadas por <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> . _____	42
Figura 8. Mosquita blanca tratada con cipermetrina. _____	42
Figura 9. Crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> en PDA. _____	43
Figura 10. Estructuras microscópicas del hongo <i>Beauveria bassiana</i> (aumento de 40X). _____	43
Figura 11. Crecimiento de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> a los 12 días en PDA. ____	44
Figura 12. Estructuras microscópicas de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> en PDA. ____	45

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Hongos entomopatógenos utilizados en el control de plagas. Fuente: (Pacheco <i>et al.</i> , 2019) _____	22
Tabla 2. Productos de hongos entomopatógenos utilizados para control biológico.	27

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Densidad de mosquita blanca por planta en cada unidad experimental (promedios por planta muestreada). _____	36
Gráfico 2. Densidades de población de mosquita blanca posterior a la aplicación de tratamientos. _____	36
Gráfico 3. Densidad del segundo monitoreo de mosquita blanca en cada unidad experimental (promedios por planta). _____	37
Gráfico 4. Densidades de población de mosquita blanca posterior a la segunda aplicación de tratamientos. _____	37
Gráfico 5. Contabilización de insectos muertos, melanizados y enfermos (primera aplicación). _____	38
Gráfico 6. . Contabilización de insectos muertos, melanizados y enfermos (segunda aplicación). _____	38
Gráfico 7. Días de persistencia de los tratamientos. _____	39
Gráfico 8. Registro de temperaturas máximas, mínimas y humedades relativas. ____	40

## RESUMEN

El uso de productos químicos para el control de plagas es el método mayormente usado en las producciones extensivas de alimentos como en la agricultura protegida. Esta estrategia ha ocasionado resistencia de las plagas por un gran número de insecticidas. El uso indiscriminado de los mismos ha tenido impactos fuertes en la salud de humanos y animales, así como en las poblaciones de organismos benéficos de los suelos y en la fertilidad de estos, aunado a problemas de contaminación de aire y mantos acuíferos, lagunas y mares. Esta investigación se desarrolló durante el 2020 en el Invernadero de Innovación Agrícola Sustentable perteneciente al Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra, como una estrategia sustentable de control, la cual consistió en la evaluación de dos hongos entomopatógenos que permitieran disminuir las poblaciones de este homóptero en Tomate Saladette del híbrido "Ponny Express". Se estableció un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, hicieron análisis estadísticos con anova a una confiabilidad del 95% y comparaciones de medias a través de la prueba Tukey. Los tratamientos consistieron en la aplicación de  $1 \times 10^9$  conidias de *Beauveria bassiana*,  $1 \times 10^9$  conidias de *Paecilomyces fumosoroseus*, un tratamiento químico de control (i.a. Cipermetrina) y un testigo absoluto. Los resultados mostraron que tanto la cipermetrina como el tratamiento empleando a *Beauveria bassiana* tuvieron comportamientos similares. No obstante, *Paecilomyces fumosoroseus* presentó un 20% de control sobre las poblaciones de mosquita blanca. De igual manera la persistencia de *Beauveria bassiana* duró 25 días posteriores a su aplicación, mientras que *Paecilomyces fumosoroseus* presentó problemas de viabilidad debido a las altas temperaturas y a las humedades relativas del invernadero. De acuerdo a las conclusiones obtenidas el uso de *Beauveria bassiana* es una alternativa en el control biológico de mosquita blanca y más, porque es un hongo nativo de la región de Salvatierra.

## SUMMARY

The use of chemical products for pest control is the method mostly used in extensive food production as well as in protected agriculture. This strategy has resulted in pest resistance to a large number of insecticides. Their indiscriminate use has had severe impacts on the health of humans and animals, as well as on the populations of beneficial soil organisms and on their fertility, together with problems of air pollution and aquifers, lagoons and seas. . This research was developed during 2020 in the Greenhouse of Sustainable Agricultural Innovation belonging to the Higher Technological Institute of Salvatierra, as a sustainable control strategy, which consisted in the evaluation of two entomopathogenic fungi that allowed to reduce the populations of this homopteran in Tomato Saladette of the hybrid "Ponny Express". A completely randomized design was established with four treatments and four repetitions, statistical analyzes were made with anova at a reliability of 95% and comparisons of means through the Tukey test. The treatments consisted of the application of  $1 \times 10^9$  conidia of *Beauveria bassiana*,  $1 \times 10^9$  conidia of *Paecilomyces fumosoroseus*, a control chemical treatment (i.a. Cypermethrin) and an absolute control. The results showed that both cypermethrin and the treatment using *Beauveria bassiana* had similar behaviors. However, *Paecilomyces fumosoroseus* presented 20% control over the whitefly populations. Similarly, the persistence of *Beauveria bassiana* lasted 25 days after its application, while *Paecilomyces fumosoroseus* presented viability problems due to the high temperatures and relative humidity of the greenhouse. According to the conclusions obtained, the use of *Beauveria bassiana* is an alternative in the biological control of whitefly and more, because it is a native fungus of the Salvatierra region.

## CAPITULO I. GENERALIDADES DEL PROYECTO

### 1.1 Introducción

El cultivo de tomate se ha convertido en una de las actividades productivas agrícolas más importantes en el ámbito mundial. El tomate (*solanum Lycopersicum*) ocupa un lugar importante entre las hortalizas en el mundo su variedad de usos para el consumo en fresco, su sabor universalmente apreciado, su alto valor nutritivo, porque contiene una buena cantidad de vitamina A y C, además de tener un alto valor comercial por unidad de superficie cultivada. La producción mundial de tomate es, aproximadamente, de 36´000,000 de toneladas al año, cultivadas en 1´800,000 hectáreas. La aceptación que tiene en las diversas culturas del mundo se evidencia por ser el segundo producto hortícola en el consumo mundial. Es un importante generador de divisas y generador de empleos para el país. El área cultivada del tomate comprende alrededor de un 30% del total de las hortalizas sembradas en México. Los estados de la República Mexicana que más cultivan el tomate son Sinaloa, sonora, Michoacán, Baja California, San Luis Potosí, y Morelos, siendo el primero el más importante por su mayor explotación para mercado e industria de los Estados Unidos (FAOSTAT, 2021).

La mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) es una de las principales plagas de los cultivos hortícolas y ornamentales en invernaderos a nivel mundial. Es oriunda de las zonas tropicales y subtropicales de América, probablemente de Brasil o México. Cientos de especies de plantas de distintas familias son huéspedes adecuadas de la mosca blanca. Afecta a muchos cultivos incluyendo berenjena, chicharos, pepino, pimiento, tomate, rosa, gerbera y noche buena o flor de pascua. Aunque *Trialeurodes* ha sido considerada como una especie polífaga, se han descubierto poblaciones monófagas (Brown *et al.*, 1995; Perring 2001; Thompson 2003). Al respecto, se sugiere que existe un amplio rango de diferencias genéticas entre las poblaciones que le permiten adaptarse a nuevos hospederos y climas en distintas regiones geográficas (Basu 1995, citado por Oliveira 2001), y que también podrían asociarse con las variaciones morfológicas que sufre la especie en las diferentes especies de plantas (Mohanty y Basu 1986).

En las últimas tres décadas, *Trialeurodes vaporariorum* ha causado millones de dólares en pérdidas de cultivos en agroecosistemas a lo ancho del mundo (Brown *et al.*, 1995; Morales y Anderson 2001; Oliveira *et al.*, 2001). No obstante, la estimación real del impacto económico de sus poblaciones en la agricultura mundial ha sido difícil de obtener debido a la gran cantidad de áreas afectadas, el número de cultivos y plantas ornamentales involucrados, y los diferentes sistemas monetarios. El daño a los cultivos se debe a su alimentación directa en el floema, a los desórdenes fisiológicos causados por el biotipo B, y de modo indirecto, a la excreción de melaza que favorece el crecimiento de hongos (e.g. *Capnodium* spp.), y a la transmisión de virus. Estos son factores que afectan el rendimiento de los cultivos en términos cuantitativos y cualitativos. La magnitud de la infestación, la especie y variedad de planta, la época del año, el sitio geográfico y el biotipo determinan los daños causados sobre un cultivo (Oliveira *et al.*, 2001; Byrne *et al.*, 1990). Igualmente, la magnitud del daño causado por virus, depende de este mismo tipo de factores (Brown y Bird 1992; Cohen 1990; Galvez y Morales 1994a; Morales y Niessen 1988).

La alimentación de unas pocas ninfas por planta induce fitotoxicidad o desórdenes fisiológicos (Costa *et al.*, 1993) en una variedad de especies de plantas, y los síntomas varían de acuerdo con la especie del hospedero y los diferentes cultivares (Brown *et al.*, 1995). El desorden más comúnmente reportado es el plateado de las cucurbitáceas (Costa *et al.*, 1993; McAuslane *et al.*, 2004). Otros desórdenes incluyen la madurez irregular en el tomate, también conocido como arco iris (Schuster *et al.* 1990; Morales *et al.*, 2003), el rayado blanco longitudinal en los tallos de col y la deformación en las hojas y clorosis en el tallo de lechugas (Brown *et al.*, 1995; Quintero *et al.*, 1998), y más recientemente la decoloración o albinismo de los tejidos jóvenes y de las vainas del frijol (Hassan y Sayed 1999; Rodríguez *et al.*, 2005). En condiciones de campo, estos síntomas han sido definitivos para la identificación y confirmación de la presencia del biotipo B (Quintero *et al.*, 1998; Morales *et al.*, 2003).

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo general**

Determinar la patogenicidad de *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* en poblaciones de adultos de mosquita blanca presentes en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero.

### **1.2.2 Objetivo específico**

Determinar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* en mosquita blanca.

Determinar la patogenicidad de *Paecilomyces fumosoroseus* en mosquita blanca.

Determinar los tiempos letales sobre mosquita blanca de los dos aislados.

## **1.3 Planteamiento del problema**

La mosca blanca es una de las principales plagas que afectan al tomate. Los daños principales sobre el cultivo son: a) transmisión de virosis, ya que este es un vector que causa enrollamiento en las hojas o acucharamiento de las mismas, b) succiona la savia de las hojas inyectando una toxina que causa la degradación del tejido y c) secreta una mielesilla también con toxinas, en la cual se postra el hongo fumagina (*Capnodium mangiferae* Cooke & Broome), que interfiere con la fotosíntesis dejando las esporas negras sobre la hoja y afectando rendimientos de cosecha. Además, su control de este se realiza habitualmente con productos químicos que causan resistencia y dejan residualidad en el producto ocasionando problemas en la salud de los consumidores. En la actualidad aparecen confirmadas las resistencias en algunas poblaciones, a compuestos tan importantes como los neonicotinoides, el imidacloprid y los reguladores de crecimiento de los insectos, el buprofezin y el teflubenzuron. Resistencias cruzadas asociadas y presiones de selección vienen a complicar aún más el problema.

#### **1.4 Justificación**

El tomate es uno de los cultivos que se asocia a la cultura de México quien es su centro de origen. Sin embargo, las plagas que lo afectan pueden ir desde insectos chupadores y picadores, hasta gusanos del fruto y del follaje que merman los rendimientos de cosecha. Estas plagas en su mayoría son combatidas con insecticidas químicos, los cuales, dejan residualidad en los frutos y por ende afectan la salud de los consumidores, además de contaminar los mantos freáticos y dañar la diversidad de especies benéficas de microorganismos del suelo e insectos que ejercen un control biológico natural. Por esta razón se planteó este proyecto, para evaluar el uso de hongos entomopatógenos de los géneros *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces=Isaria fumosoroseus* en el control de la mosquita blanca y con ello, al menos reducir las aplicaciones de agroquímicos en un 30% en el invernadero como una medida sustentable.

#### **1.5 Hipótesis**

Al menos uno de los dos tratamientos utilizados en la evaluación de hongos entomopatógenos puede ser efectivo en el control de la mosquita blanca, disminuyendo las poblaciones hasta en un 70% en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero.

## CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes del cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum*)

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una especie botánica originaria de México, perteneciente a la familia de las solanáceas. La especie es originaria de Mesoamérica, de donde su nombre original en náhuatl es "tomātl" que significa "agua gorda" y pasó al español como "tomate". el hombre la ha venido manejando desde tiempos precolombinos. Diversos hallazgos arqueológicos prueban que su uso en la alimentación y de forma medicinal en la población mexicana se remonta a tiempos precolombinos (Saray y Loya, 1977).

#### 2.1.1 Importancia del cultivo

El tomate es una especie hortícola de importancia en México por su amplio consumo en la alimentación de la población, con amplias perspectivas de mejorar dicha importancia al incrementarse el rendimiento y el consumo per cápita, lo que por consecuencia aumentaría los ingresos económicos al mejorarse la productividad, industrialización y exportación.

En la actualidad, el tomate se ubica entre las principales cinco especies hortícolas cultivadas en México (SIAP, 2019). El tomate es la hortaliza de mayor importancia en todo el mundo y la de mayor valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente al aumento en el rendimiento y en menor proporción al aumento de la superficie cultivada.

La producción mundial de esta hortaliza, según los datos de 2012 de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (F.A.O.) se elevó a 211,021,843 toneladas. Siendo China el primer productor en el mundo con 50,125,055 toneladas, el 27.75% del total. A China le sigue la India como segundo productor

mundial de tomate, con un total de 17,500,000 toneladas (8.29%). El tercer lugar lo ocupa Estados Unidos, que produjo en 2012 más de 13 millones de toneladas de tomate, 13,206,950 toneladas (6.26%) de la producción mundial. El cuarto lugar en productores mundiales de tomate está ocupado por Turquía, con 11,350,000 toneladas (5.38%). Egipto ocupa la quinta posición con 8,625,219 toneladas (4.09%), país al que le sigue Irán en la sexta posición con 6,000,000 toneladas (2.84%). Italia en el séptimo lugar con 5,131,977 toneladas (2.43%), España en la octava posición y una producción de 4,007,000 toneladas (1.9%), Brasil en la novena posición con 3,873,985 toneladas (1.83%). México ocupa el décimo lugar con una producción de 3,433,567 toneladas, el 1.63% de la producción mundial de tomate fresco (INFOAGRO, 2020).

### **2.1.2. Descripción taxonómica y botánica**

**Raíz:** Típica o columna, presenta ramificaciones secundarias profundas que pueden alcanzar hasta 60 cm. o más. En sistema de plantación sufre una modificación transformándose en fibrosas y de poca penetración al suelo, es por eso que se recomienda hacer trasplantes directos de charola, no de almácigo y procurar que la raíz (Ibidem, 1995).

**Tallo:** El tallo es estirado, herbáceo o ligeramente leñoso en la base; ramas primarias de 0.08 a 2.3 cm. de diámetro; en los primeros días de vida se presentan pelos esparcidos en el tallo, hojas y ramas las cuales se pierden a medida que van creciendo (Alvarado, 1995)

**Hojas:** Las hojas son simples, erectas, alternas de forma ovalada de 5 a 10 cm de largo por 4 a 6 cm de ancho, base atenuada, ápice agudo con márgenes irregulares dentados, por lo general presentan 6 dientes por cada lado. Presentan peciolo, el cual es de 4 a 6 cm de largo (Ibidem, 1995).

**Flores:** las flores son bisexuales, perfectas o hermafroditas, solitarias y salen de la dicotomía de las ramas pequeñas, pentámeras, con bordes de color amarillo brillantes,

anteras azules o azules-verdes. La corola mide de 1 a 2,7 cm de diámetro, color amarillo, aunque algunas veces es purpura y descolorida en el centro, acampanulada o circular, presentan lóbulos plegados y estambres insertados en la base de la corola, el estigma presenta dos hendiduras, casi bilobulado, (Ibidem, 1995)

## **2.2 Principales Plagas y enfermedades del cultivo de tomate**

### **2.2.1 Plagas que afectan al cultivo**

#### **Mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*)**

Mosca de alas blancas y cuerpo oscuro que pone sus huevos en el envés de la hoja. Perfora la hoja en diferentes lugares y en algunos se alimenta y en otros pone huevos independientemente en cada hoyo. El síntoma más notorio al revisar las plantas es que la hembra deja un círculo oscuro en las hojas alrededor del punto donde depositó sus huevos (Agroware, 2016).

El daño directo de esta especie es por la succión de savia, lo que en altas infestaciones puede provocar debilitamiento de la planta, deshidratación y disminución del rendimiento. En el cultivo de tomate en invernadero, el principal daño es el indirecto, donde grandes poblaciones de este insecto producen secreción de mielecilla, sobre la cual se desarrolla la fumagina, causada por el hongo *Cladosporium* sp. La fumagina que cubra hojas y frutos disminuye la calidad de la cosecha (Koopert, 2021).

#### **Paratrioza (*Bactericella cockerelli*)**

Es un insecto que pertenece al orden hemíptero, en México se conoce como: pulgón saltador, psílido de la papa, psílido del tomate, salerillo, entre otros. Se encuentra ampliamente distribuido en regiones productoras de cultivos de Solanáceas (papa, tomate, chile, berenjena, tomate de cáscara) y su importancia radica en el daño directo que provoca al succionar la savia de las plantas e inyectar toxinas, además posee amplia capacidad para transmitir enfermedades que se asocian a la punta morada de la papa, permanente del tomate y amarillamiento por psílidos (INAPI 2016).

### **Pulgón (*Myzus persicae*)**

Esta es una de las plagas más comunes que atacan al tomate y el insecto se puede ver a simple vista ya que mide más o menos unos 3 mm. Podemos ver que dejan secuelas en el tomate cuando observamos las hojas enrolladas y pegajosas y sobre todo en los brotes más tiernos. La época del año en la que más atacan los pulgones es a finales de primavera y en verano que es cuando las altas temperaturas les hacen estar agradables y poder reproducirse y actuar bien. Además, requieren una humedad relativamente baja y cuando fertilizamos nuestros tomates les ayudamos a propagarse y extenderse cada vez más. (Rebollar, 2011).

### **Trips (*Frankliniella occidentalis*)**

Este insecto plaga se alimenta del polen de las flores, incidiendo negativamente en la polinización y provocando aborto de flores. Succiona el contenido celular de hojas y frutos provocando con sus picaduras decoloraciones, manchas en la piel y deformaciones.

En cultivos hortícolas, además de los daños directos, el principal daño que produce es indirecto al ser un importante transmisor del virus del bronceado del tomate (TSWV) el cual provoca daños severos especialmente en tomate.

### **Gallina ciega (*Phyllophaga sp.*)**

La gallina ciega es una plaga del suelo, perteneciente al orden Coleóptera, y a la Familia Scarabaeidae y los géneros *Phyllophaga* y *Melolontha*, los cuales cuentan con más de 20, 000 especies. El ciclo de vida. El ciclo de vida de esta plaga varía según especie, y las condiciones climáticas del lugar donde esta se hospeda. El ciclo de esta plaga oscila de ocho a dieciséis meses, algunas incluso tienen ciclos de vida de 36 o más meses. Sin embargo, en algunos casos puede llegar hasta veinticuatro. Normalmente la duración es aproximadamente de un año. Las larvas permanecen en el suelo, especialmente en los primeros 30 cm de profundidad, alimentándose de las raíces (Rodríguez, 2007).

### **Gusano alambre (*Melanotus sp.*)**

Los principales daños son producidos por las larvas. Estos gusanos se alimentan de raíces de plantas, semillas, tubérculos o plantas recién germinadas. En el caso de atacar plántulas o injertos vemos que no se produce germinación al comerse las yemas, tronchar y agujerear los tallos (todo ello bajo tierra).presentando galerías estrechas y poco profundas que deprecian el producto.

## **2.2.2 Enfermedades**

### **Cenicilla**

La cenicilla es causada por el hongo *Oidium sp.*, es una de las enfermedades más comunes en la etapa de fructificación y corte del tomatillo. Su ataque disminuye el rendimiento y la calidad de la cosecha hasta 50%. Los síntomas de esta enfermedad se aprecian en hojas, tallos, pecíolos y en la cáscara de los frutos, se presentan manchas pequeñas de color verde pálido y muestran una capa polvorienta de color blanco harinoso. Se disemina por el aire y es más severo cuando ocurren temperaturas de 20-30° C y con una humedad relativa de aproximadamente 80%; aunque una humedad de 60-70% es suficiente para que se presenten daños importantes (Apodaca-Sánchez, 2005).

### **Mancha de la hoja**

Es causada por el hongo *Cercospora physalidis* Ellis, puede provocar una fuerte defoliación y manchado de frutos cuando el ambiente es favorable, con pérdidas que llegan a alcanzar 20-30%. En las hojas y en los frutos se observan manchas circulares u ovoides delimitadas por las nervaduras; son de color café claro a café canela y al envejecer su centro se torna de color gris y el borde es amarillento. Se dispersa cuando la humedad es de 80-90% y las temperaturas de 18-30° C, la enfermedad inicia un nuevo ciclo afectando inicialmente a las hojas inferiores. (Apodaca-Sánchez, 2005.)

## **Carbón blanco**

Es causado por el hongo *Entyloma australe* Speg. Es una enfermedad esporádica pero devastadora, con pérdidas que pueden superar al 50%, cuando ocurren abundantes lluvias invernales. Cuando la humedad es alta, por debajo de la mancha se aprecia una vellosidad fina de color blanco-cremoso (esporas del hongo). Este hongo se disemina por el aire o el salpique de la lluvia. Requiere de temperaturas de 15-25° C, así como alta humedad relativa (80-100%), producto de lluvias y niebla frecuente (Armenta-Castro *et al.*, 2000).

## **Moho blanco**

Es una enfermedad provocada por el hongo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, que puede ser devastadora en tomate de cáscara. Se manifiesta como una pudrición blanda y acuosa, de color pardo a café canela, que provoca el ahorcamiento de la base de los tallos y eventualmente la muerte de la planta completa.

El hongo es favorecido por temperaturas frescas (10-25° C) y alta humedad relativa (80-100%), producto de la lluvia, niebla y rocío (Torre-Almaraz *et al*; 2002).

## **Pudrición de la base del tallo**

El hongo *Cercospora* sp., está asociado a esta enfermedad, pero en los tallos dañados generalmente se aprecia también el daño de un insecto barrenador, aparentemente larvas de picudo *Trichobaris* sp. Coleóptera, este insecto es una plaga primaria del tomatillo y el ataque combinado con el hongo, deriva en daños más severos. En los tallos de plantas en floración y fructificación se presentan lesiones alargadas, ascendentes, de 5 a 20 cm de longitud, de color café oscuro, con el centro de color café claro o blanquizco. Esta enfermedad es agresiva en suelos arenosos, con riego por goteo; pero también afecta a tomatillo en suelos arcillosos con alta humedad (Barreras-Soto, 2005).

### **Secadera causada por *Fusarium***

Conocida como marchitamiento o marchitez, es causada por un complejo de hongos que habitan en el suelo, como lo son *Fusarium solani* (Wollenw.) Gerlach, *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Rhizoctonia solani* (Frank) Donk, *Pythium* sp., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid y *Sclerotium rolfsii* Curzi. Se presenta en cualquier etapa de desarrollo del cultivo, con pérdidas que pueden superar 50%. Estos hongos pueden causar una falta de germinación y pudrición de las semillas; a veces estas germinan, pero las plántulas no alcanzan a emerger o cuando nacen muestran desarrollo raquíptico y mueren prematuramente. En campo los hongos se diseminan mediante maquinaria contaminada con suelo infestado, agua de la lluvia o de riego. En los invernaderos, los patógenos sobreviven en las charolas contaminadas, residuos de sustrato, pisos y en la maleza que crece dentro o fuera de las naves (Barreras-Soto, 2005).

### **Mancha bacteriana**

La mancha bacteriana está poco distribuida en la región, pero puede causar daños importantes (20%), particularmente en condiciones lluviosas y de neblinas prolongadas. En las hojas se desarrollan manchas acuosas de forma irregular o redondeada, de color café canela y borde oscuro. Esta enfermedad posiblemente se transmite por semilla y probablemente sobrevive en los residuos de cultivo. Se disemina de plantas enfermas a las sanas, mediante las labores de cultivo (Félix-Gastélum, 2005).

### **Virosis**

La enfermedad puede ser causada por diferentes virus, como lo son: Jaspeado del Tabaco, Mosaico de la Alfalfa, Mosaico del Pepino, Mosaico del Tabaco, "Y" de la Papa, Marchitez Manchada del Tomate, Geminivirus, entre otros. Las plantas enfermas presentan mosaico, moteado, palidez, amarillamiento, achaparramiento y enchinamiento; también bronceado, quemaduras en las punta de las ramas,

deformación de hojas y tallos. Al terminar la temporada de cultivo de tomatillo, durante el verano, los virus permanecen albergados en la maleza, o en las socas de otros cultivos de hortalizas (Pacheco, 1992).

## **2.3 Importancia del control biológico**

El control biológico en un sentido ecológico se puede definir como la regulación, por Medio de enemigos naturales, de la densidad de población de otro organismo a un Promedio menor del que existiría en ausencia de tales enemigos. La utilización Intencional de enemigos naturales de las plagas para regular sus poblaciones involucra una serie de actividades que forman parte del control biológico aplicado.

El control microbiológico es una rama del control biológico y se refiere al tipo de control biológico que involucra la utilización de microorganismos (en el sentido amplio incluyen nemátodos) para el control de plagas (Castillo, 1995).

El control biológico clásico, es una forma del control biológico aplicado que abarca el descubrimiento, importación y establecimiento de enemigos naturales exóticos con el fin de regular poblaciones de plagas introducidas o nativas en un país o región determinada (Quezada, 1989).

### **2.3.1 Control biológico de plagas**

Se entiende como control biológico la manipulación intencional de las poblaciones de los enemigos naturales de los insectos plaga, con el fin de limitar sus poblaciones. A estos organismos se les llama agentes de control y entre ellos se encuentran insectos depredadores y parásitos, así como microorganismos patógenos de insectos (Asaff *et al.*, 2002).

El control biológico pretende en primer lugar, que las plagas no sean erradicadas, sino reguladas o controladas antes de rebasar el umbral económico; en segundo lugar, busca que los enemigos naturales pertenecientes al ambiente del cultivo sean conservados mediante el manejo adecuado del agroecosistema (control biológico

conservativo o natural) o, en caso necesario, por la adición regular de estos (control biológico aumentativo). En ocasiones, especies provenientes de otras regiones son introducidas y establecidas para reducir las poblaciones plaga (control biológico clásico) (García de León y Mier, 2003).

Los diferentes métodos de control biológico constituyen una alternativa segura y sustentable en el manejo de plagas; son una opción deseable, que se ha ido incrementando en detrimento de la dependencia exclusiva de los plaguicidas químicos (Waage, 1991).

El control biológico puede ser natural o inducido, y consiste en utilizar enemigos naturales en el manejo de sus poblaciones. El control biológico es más complejo que el control químico (mediante insecticidas) por depender de organismos vivos y de sus interacciones con la palomilla dorso de diamante. El control biológico incluye la introducción a la región de especies exóticas de enemigos naturales, el manejo de poblaciones naturales endémicas y la programación de liberaciones masivas e inundativas de enemigos de la plaga. En el control de la palomilla del dorso del diamante se han usado insecticidas químicos de síntesis como piretroides, carbamatos, organofosforados y reguladores de crecimiento. Sin embargo, *P. xylostella* ha desarrollado resistencia a todos los insecticidas usados para su manejo (Nyasani *et al.*, 2008).

Los problemas de resistencia de las plagas se han reducido con la introducción de nuevas moléculas o principios activos, no obstante, lejos de resolver la situación, ésta se ha tornado cada vez más compleja, por fenómenos como resistencia cruzada a diferentes grupos de insecticidas (Zhao *et al.*, 2001).

Para el manejo integrado de *P. xylostella* se enfatiza en la reducción de aplicaciones e integrar diferentes métodos de control, como los nematodos entomopatógenos. Los nematodos entomopatógenos de las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae pueden ser una alternativa a los insecticidas químicos ya que han sido reportados causando infección a la polilla dorso de diamante (Baur *et al.*, 1998)

## **2.4 Mecanismo de acción de hongos entomopatógenos en insectos**

Hasta el momento se han descrito más de 750 especies de hongos entomopatógenos y el aislamiento de nuevas cepas continúa. Dentro de los más utilizados a nivel mundial se encuentran *Metarhizium anisopliae* (33.9%), *Beauveria bassiana* (33.9%), *Isaria fumosorosea* (antes *Paecilomyces fumosoroseus*) (5.8%) y *Beauveria brongniartii* (4.1%) (de Faria y Wraight, 2007). El desarrollo de la enfermedad en el insecto está 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, que generalmente resulta en la muerte del insecto (Hajek, 1997).

### **2.4.1 Adhesión de la espora a la cutícula del hospedero y germinación de la espora**

El primer contacto entre el hongo entomopatógeno y el insecto sucede cuando la espora del primero es depositada en la superficie de este último. El proceso de adhesión ocurre en tres etapas sucesivas: adsorción de la espora a la superficie mediante el reconocimiento de receptores específicos de naturaleza glicoproteica en el insecto, la adhesión o consolidación de la interfase entre la espora pregerminada y la epicutícula y finalmente, la germinación y desarrollo hasta la formación del apresorio para comenzar la fase de penetración (Tanada y Kaya, 1993; Pedrini *et al.*, 2007).

El proceso de adhesión de la espora a la cutícula del insecto, está mediado por la presencia de moléculas sintetizadas por el hongo denominadas adhesinas. En el entomopatógeno *Metharizium anisopliae* se ha descrito un tipo de adhesina denominada MAP1 la cual se localiza en la superficie de los conidios. La expresión heteróloga de MAP1 en *Saccharomyces cerevisiae* le confiere a la levadura propiedades adherentes específicamente a la cutícula de los insectos. La disrupción del gen que codifica para MAP1 afecta la germinación y la formación de blastosporas, así mismo reduce considerablemente la virulencia del hongo (Wang *et al.*, 2007). Por otro lado se ha demostrado que los iones divalentes como el  $\text{Ca}^{2+}$  y el  $\text{Mg}^{2+}$  reducen las fuerzas de repulsión electrostáticas promoviendo la adhesión de las esporas (Pucheta Díaz *et al.*, 2006).

#### 2.4.2 Penetración en el hemocele

La forma en la que los hongos entomopatógenos penetran en el insecto depende de las propiedades de la cutícula tales como el grosor, la esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales (Charnley, 1992).

Una vez establecido el proceso de adhesión, continua la penetración la cual es posible gracias a la acción combinada de dos mecanismos uno físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por una estructura fúngica denominada haustorio, la cual deforma primeramente la capa cuticular rompiendo luego las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente de actividades hidrolíticas tales como proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales degradan el tejido en la zona de penetración, facilitando la entrada del hongo (Monzón, 2001). Estudios *in vitro* indican que en la digestión del integumento sigue una secuencia de lipasa–proteasa–quitinasa (Tanada y Kaya, 1993). Se ha observado que la acción enzimática puede ser coadyuvada por la secreción de ácidos orgánicos, como el ácido oxálico (Bidochka y Kachaturians, 1991).

La proteasa Pr1 es considerada un importante factor de virulencia en *Metharizium anisopliae*, la sobreexpresión de esta enzima en el mismo hongo reduce en un 25% el tiempo de muerte en *Manduca sexta*, en comparación con aquellos que fueron infectados con el genotipo silvestre (St. Leger *et al.*, 1996). De la misma forma la sobreexpresión del gen que codifica para la quitinasa de *Beauveria bassiana* acelera el proceso de muerte en los insectos en un 23% (Fan *et al.*, 2007). De esta manera, se demuestra la importancia de la secreción de estas enzimas hidrolíticas en la virulencia de los hongos entomopatógenos, lo cual pudiera ser una herramienta para la selección de mejores cepas para la formulación de insecticidas biológicos.

Otro mecanismo que utilizan los hongos para penetrar al hemocele es a través de la cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas del insecto. Puesto que la humedad no es un problema en el tracto alimenticio, la espora puede germinar rápidamente en este ambiente; aunque los fluidos digestivos pudieran destruirla o

degradar la hifa germinativa. En algunos casos, la digestión de estructuras fúngicas puede causar la muerte por toxicidad más que por la micosis (Charnley, 1992).

### **2.4.3 Replicación en el hemocele**

Después de llegar al hemocele, la mayoría de los hongos realizan transición dimórfica de micelio a levadura y una vez que han evadido el sistema inmune del insecto, se produce una septicemia. La micosis induce a síntomas fisiológicos anormales en el insecto tales como convulsiones, carencia de coordinación, comportamientos alterados y parálisis. La muerte sobreviene por una combinación de efectos que comprenden el daño físico de tejidos, toxicosis, deshidratación de las células por pérdida de fluido y consumo de nutrientes (Bustillo, 2001).

Ya en el interior del insecto, los hongos deben enfrentarse con los mecanismos de respuesta del sistema inmune para lo cual han desarrollado estrategias defensivas e inmunosupresoras, como la producción de toxinas o cambios estructurales en su pared celular. Un tema muy común en la literatura de patología de insectos es la producción de toxinas por diversas especies de hongos entomopatógenos. Existe un considerable número de metabolitos secundarios de bajo peso molecular que han sido aislados de patógenos de insectos, muchos de los cuales han demostrado poseer actividad insecticida marginal (Gillespie y Claydon, 1989).

Aunque menos estudiadas, también se ha observado que diferentes macromoléculas de naturaleza proteica tienen un efecto insecticida notable como las proteínas melanizantes de *B.bassiana* (Fuguet y Vey, 2004; Fuguet *et al.*, 2004), una glicoproteína de *B. sulfurescens* (Mollier *et al.*, 1994) y la hirsutellina A, aislada de *Hirsutella thompsonii* (Wei-Zhen *et al.*, 1995). Los metabolitos insecticidas producidos por hongos tienen varios modos de acción y en muchos casos suelen ser la causa directa de la muerte del insecto, actuando sobre las células especializadas del sistema inmune para evitar su ataque a las estructuras invasivas de los hongos.

También, se ha observado que para evitar el ataque del sistema inmune del insecto, los hongos suelen prescindir de la formación de pared celular y se desarrollan como

protoplastos, evadiendo su reconocimiento por los hemocitos circulantes en el hemocele (Vinson, 1991). Cuando los nutrientes provenientes del insecto, particularmente las fuentes de nitrógeno se van agotando, las fases levaduriformes retoman su crecimiento micelial, tal como fue observado en *Entomophthora thripidum* (Freimoser *et al.*, 2003). Por último, cuando las condiciones de humedad y temperatura son las adecuadas, las hifas del hongo emergen nuevamente al exterior del cadáver del insecto, donde esporula. La esporulación ocurre generalmente en cadáveres, pero puede también ocurrir en insectos vivos (Tanada y Kaya, 1993). Finalmente, la dispersión de la espora puede ser un proceso activo o pasivo y depende de las características de la espora y el esporangio. Cada espora puede adherirse o pasar de un invertebrado a otro por dispersión (Tanada y Kaya, 1993).

## **2.5 Hongos entomopatogenos en el control biológico**

Meyling y Eilenberg (2007), afirman que los hongos entomopatógenos presentan un reconocimiento cada vez mayor en la biodiversidad de los ecosistemas donde prestan importantes servicios ecosistémicos tanto en la producción agrícola porque según Azevedo y Melo (1998) “pueden eliminar o mantener las plagas en niveles que no ocasionan daños a los cultivos”, como en el control biológico, por su capacidad natural para regular las poblaciones de insectos, reiterado por Batista Filho (1989); Alves (1998) y Robbs y Bittencourt (1998), quienes afirman que el 80% de las enfermedades naturales de los insectos en los agroecosistemas son producidos por estos microorganismos, la cual depende de la susceptibilidad del hospedero o de la asociación patógeno-hospedero. En este último caso, el insecto hospedero puede ejercer una presión de selección que favorezca a pocos genotipos del patógeno; es decir, hay una selección natural de estos microorganismos en términos de especialización con respecto al hospedero (Maurer *et al.*, 1997; St. Leger y Roberts, 1997), que pueden ser producidos y utilizados como agentes de control de plagas agrícolas (Alves, 1998). El empleo de hongos entomopatógenos de manera integrada con insectos predadores puede ser una alternativa viable, pues la compatibilidad de los hongos entomopatógenos con predadores y parásitos fue demostrada por Goettel *et al.* (1990), así como por França *et al.* (2006), en un estudio realizado con

*Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en el control de *Podisus nigrispinus* cuya infestación se dio por diversos medios de contacto como la diseminación del hongo o pulverización, al caminar sobre las superficies de las plantas y la ingestión de presas contaminadas. No obstante, la incompatibilidad también es relatada por Cook *et al.* (1996), incluyendo a *Perillus bioculatus* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) (Magalhães *et al.*, 1988; James y Lighthart, 1994; Todorova *et al.*, 2002). Para que la manifestación epizootica de los hongos entomopatógenos tenga lugar, los factores bióticos y abióticos tienen una enorme influencia. Entre los factores abióticos que afectan la viabilidad y la persistencia de los hongos entomopatógenos en el campo se encuentran los rayos ultravioletas, la temperatura, la humedad relativa y los fungicidas. La susceptibilidad y la relación con los hospederos se relacionan con los nutrientes presentes en los insectos, que son el medio para la propagación, dispersión y persistencia de los hongos. Las esporas de los entomopatógenos tienen requerimientos específicos de agua y temperatura, así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno y que les permiten llevar a cabo el proceso infectivo sobre el hospedero (Hajek, 1997). Doberski (1981a), realizó ensayos para determinar el efecto de la humedad y temperatura de hongos entomopatógenos, encontrando que *Paecilomyces farinosus* y *Beauveria bassiana* infestaron a temperatura de 2 °C contrario a *Metarhizium anisopliae* que no tiene efectividad por debajo de los 10 °C, concluyendo que los hongos actúan de manera significativa a temperaturas de 15 a 20 °C pero la óptima es de 25 °C, hallando similitud con los resultados de Hallsworth y Magan (1999), quienes afirman que los rangos de temperatura para el crecimiento óptimo de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces farinosus* son de 25, 30 y 20 °C, respectivamente. De igual manera Doberski (1981a), evaluó humedades relativas que variaron desde el 51 al 100%, hallando que *Paecilomyces farinosus* no tiene efecto en bajas humedades contrario con los otros dos hongos. Los rangos de mayor mortalidad para todos los hongos fueron observados con las humedades relativas más altas. Doberski (1981b), evaluó diferentes aislamientos de los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. farinosus*, para evaluar la patogenicidad en larvas de *Scolytus scolytus*, evidenciando que los

hongos a una concentración de  $10^3$  esporas  $\times$   $\text{ml}^{-1}$  poseen mortalidad limitada; de igual manera, hallaron que las cepas más virulentas fueron las de *B. bassiana* y las menos virulentas *M. anisopliae* y virulencia intermedia fue mostrada por *P. farinosus*. Angel-Sahagún et al. (2005), evaluaron la sensibilidad de huevos, pupas y adultos de *Haematobia irritans* en tres aislados de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroserus* utilizados a una concentración (conidias/ml) de  $1 \times 10^6$  para huevos,  $1 \times 10^8$  para pupas y las dos para adultos, hallando que todos los estadios son susceptibles a la acción de los hongos entomopatógenos con una reducción en la eclosión de 3,8 a 6,3% respecto a un 72% de eclosión del tratamiento testigo, mortalidad entre 50 y 71,3% en pupas y 90% en adultos.

Rodriguez et al. (2006), realizaron ensayos para evaluar la patogenicidad de *M. anisopliae* y *B. bassiana* en el control de los huevos de la polilla del tomate (*Tutta absoluta*), hallando que los aislados con mayor efectividad fueron *M. anisopliae* Qu-M558 y *B. bassiana* Qu-B912 con 80 y 60% de mortalidad respectivamente. Kaaya (1989), evaluó la efectividad de cuatro hongos entomopatógenos, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *P. farinosus*, hallando que la patogenicidad de los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana* generó mortalidad en adultos de *Glossina morsitans* del 100%, de igual manera halló que los machos son más susceptibles que las hembras a la infestación de los hongos.

De igual manera Kaaya y Munyinyi (1995), evaluaron la efectividad de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, en el control de larvas de *Glossina morsitans* en campo y hallaron que mezclas del hongo en elevadas concentraciones de esporas generan mayor mortalidad larval entre los días 2 a 10 posinfección; *B. bassiana* a una concentración de  $1,4 \times 10^6$  generó el 97% de mortalidad, mientras que *M. anisopliae* a una concentración de  $2,3 \times 10^6$  ocasionó el 80% de mortalidad. Samuels et al. (2002), determinaron la patogenicidad y virulencia de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* a huevos de *Blissus antillus*, inoculadas por inmersión en concentraciones de  $1 \times 10^4$  y  $5 \times 10^6$  conidias  $\times$   $\text{ml}^{-1}$ . Los aislados de *M. anisopliae* fueron altamente virulentos incluso a concentraciones de  $1 \times 10^4$  conidias  $\times$   $\text{ml}^{-1}$ , llegando a generar

infección de 96,7% mientras los aislados de *B. bassiana* fueron considerados de baja virulencia o avirulentos.

Frazzon *et al.* (2000), evaluaron 12 aislamientos del hongo *M. anisopliae*, donde el aislamiento más patógeno generó 100% de mortalidad a una concentración de  $10^7$  conidiosporas x ml<sup>-1</sup>; los aislamientos reactivados a partir de garrapatas fueron más patógenos que los cultivados en medio sintético. Igualmente, Moreno *et al.* (2001), evaluaron a *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *Verticillium lecanii* sobre teleoginas de *Boophilus microplus*, donde *M. anisoplie* generó inhibición del 87% a concentración de 109 conidiosporas x ml<sup>-1</sup>. Posada y Lecuona (2009), evaluaron la efectividad de 259 aislados de *B. bassiana* obtenidos del suelo, de garrapatas muertas y de colección fúngica para el control de *B. microplus* hallando que la CL50 para 98 de los aislados más virulentos fue de  $1 \times 10^7$  y  $1,15 \times 10^7$  conidias x ml<sup>-1</sup>.

Fernández-Ruvalcaba *et al.* (2005), evaluaron la efectividad in vitro de *M. anisopliae* a diferentes concentraciones en cepas de *B. microplus* resistente y sensible a organofosforados, hallando que a una concentración de  $10^8$  esporas x ml<sup>-1</sup> genera el 100% de mortalidad a los 20 días postinfección en las dos cepas de garrapatas. De igual manera, hubo reducción de los parámetros reproductivos con variación en las diferentes concentraciones.

Sánchez *et al.* (2002), detectaron hongos del género *Cordyceps* infestando naturalmente a hormigas del género *Camponotus* e insectos de los órdenes Diptera, Lepidoptera e Hymenoptera en plantaciones de cacao. Merino *et al.* (2007), evaluaron la efectividad de 29 aislados de *M. anisopliae* y 30 de *B. bassiana*, sobre obreras y machos de *Vespula germanica* a una concentración de 0 a  $1 \times 10^8$  conidias por ml<sup>-1</sup> en medio acuoso azucarado. *B. bassiana* obtuvo mejor desempeño generando mortalidad que osciló entre 70 a 97%, concluyendo que a concentración mayor de  $10^7$  conidios x ml<sup>-1</sup> la mortalidad de la población es superior a 90%.

### **2.5.1 Principales hongos entomopatógenos usados en el control de plagas**

Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plaga. Prácticamente, todos ellos son susceptibles de padecer

las enfermedades causadas por estos hongos. Cuando sus esporas entran en contacto con la cutícula de insectos susceptibles, germinan y crecen directamente a través de ella hacia el interior del cuerpo de su hospedero. Por lo tanto, el hongo prolifera a través del cuerpo del insecto, produce toxinas y consume los nutrientes del insecto, y eventualmente lo destruye. Al inicio de la infección pueden o no observarse síntomas, pero el insecto comienza a perder movilidad y apetito. Al cabo de siete o diez días, muere debido a la deficiencia nutricional (Pérez, 2004).

Las enfermedades que causan se les conoce como “muscardinas”, término que se aplicó por primera vez a *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. La coloración de los conidios es muy variable, de ahí el nombre de muscardina verde para *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin y *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, y muscardina roja para *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith. El uso de estos organismos es una de las mejores alternativas para el control biológico por ser económica, sencilla y desde el punto de vista ecológico, sustentable. No obstante, es fundamental propiciar las condiciones adecuadas de temperatura y humedad para lograr su propósito. Además, cuando se pretende utilizarlos como bioinsecticidas es necesario realizar una caracterización exhaustiva de los aislados, a fin de seleccionar los de alta virulencia y buenas condiciones para su aplicación en campo; la cual incluye estudios referentes a la forma de infección (Godwin y Shawgi, 2000; Arredondo et al., 2008; Caballero, 2014). Hoy en día, además es importante llevar a cabo investigaciones sobre los determinantes moleculares y bioquímicos relacionados con la especificidad hongo - huésped.

Es bien conocido que *B. bassiana* infecta a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, entre las que destacan plagas de importancia económica como el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)), gusano barrenador (*Diatrea magnifactella* Dyar, 1911), broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867). Mientras que, *M. anisopliae*, con un espectro de toxicidad más amplio, se le ha observado en 300 a 400 taxones de lepidópteros, coleópteros, dípteros y homópteros.

En las principales investigaciones llevadas a cabo en los cultivos más importantes del país, en las que se utilizaron hongos entomopatógenos. Destaca el amplio estudio de cepas de *Beauveria bassiana*, especialmente, en el combate de plagas como la broca del café, en las que Gerónimo et al. (2016) observaron una efectividad patogénica de 100 % a las 144 h; Díaz y Roblero (2007) registraron que la época óptima para la aplicación del hongo es en julio, antes de que la broca penetre en el fruto de café.

En la siguiente tabla se muestran los principales hongos entomopatógenos utilizados en control de insectos plaga en diversos cultivos.

Tabla 1. Hongos entomopatógenos utilizados en el control de plagas. Fuente: (Pacheco et al., 2019)

Hongo	Plaga	Cultivo	Referencia
<b><i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill.</b>	Broca del café: <i>Hypothenemus hampei</i> Ferrari, 1867 (Coleoptera: Scolytinae)	Café	<a href="#">Gerónimo, 2016</a>
	Broca del café: <i>H. hampei</i> Ferrari, 1867	Café	<a href="#">Díaz y Roblero, 2007</a>
	Depredadores de <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama: <i>Ceraeochrysa valida</i> Banks y <i>Eremochrysa punctinervis</i>	Cítricos	<a href="#">Gandarilla et al., 2013</a>
	McLachlan		
	Chinche ligus: ninfas de <i>Lygus lineolaris</i> Palisot de Beauvois	Fresa	<a href="#">González et al., 2010</a>
	Conchuela del frijol: <i>Epilachna varivestis</i> Mulsant	Frijol	<a href="#">Castrejón, 2017</a>
	Chapulines: <i>Brachystola magna</i> Girard y <i>B. mexicana</i>	Frijol	<a href="#">Lozano y España, 2006</a>
	Bruner		
	Mosquita blanca: <i>Bemisia tabaci</i> Gennadius	Hortalizas	<a href="#">Ruiz, 2009</a>
	Insecto plaga de los frutos de <i>Jatropha curcas</i> L.: <i>Pachycoris torridus</i> Scopoli	<i>Jatropha curcas</i>	<a href="#">Chávez, 2016</a>
	Palomilla del manzano: <i>Cydia pomonella</i> L.	Manzana	<a href="#">Solís, 2006</a>
	Picudo del nopal: <i>Metamasius spinolae</i> Gyllenhal	Nopal	<a href="#">Sánchez et al., 2016</a>
	Picudo de nopal: <i>M. spinolae</i> Gyllenhal	Nopal	<a href="#">Tafoya, 2004</a>
<b><i>B. bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill. Y <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) Sorokin</b>	Mosca blanca: <i>B. tabaco</i> Gennadius	Más de 500 ornamentales	<a href="#">García et al., 2013</a>
	Picudo del agave: <i>Scyphophorus interstitiales</i> Gyllenhal	Agave pulquero, tequilero y mezcalero	<a href="#">Aquino, 2006</a>
	Gusano barrenador: <i>Diatrea magnifactella</i> Dyar, 1911	Caña de azúcar	<a href="#">Castro et al., 2013</a>
	Bacteria <i>Candidatus Liberibacter</i> spp.	Cítricos	<a href="#">Mellín et al., 2016</a>
	Larvas de gallina ciega: <i>Phyllophaga crinita</i> (Burm.) (Coleoptera: Melolonthidae)	Maíz, áreas verdes, campos de golf	<a href="#">Nájera, 2005</a>
	Gallina ciega: <i>Phyllophaga vetula</i> Horn	Maíz	<a href="#">Hernández et al., 2011</a>

	Insectos escama o escamas (insectos chupadores de savia): <i>Aulacapsis tubercularis</i> Newstead	Mango	<a href="#">Pérez-Salgado, 2013</a>
	Moscas de la fruta: <i>Anastrepha obliqua</i> (Macquart)	Mango	<a href="#">Díaz-Ordaz et al., 2010</a>
	Psílido de la papa: <i>Bactericera cockerelli</i> Šulc.	Papa	<a href="#">Villegas, 2017</a>
<b>M. anisopliae</b> (Metchnikoff) Sorokin	Gusano barrenador: <i>D. magnifactella</i> Dyar, 1911	Caña de azúcar y maíz	<a href="#">Buenosaires, 2013</a>
	Chapulines: <i>Sphenarium purpurascens</i> (Charpentier) y <i>Melanoplus differentialis</i> (Thomas) (Orthoptera: Acrididae)	Maíz y frijol	<a href="#">Tamayo, 2009.</a>
	Langosta Centroamericana: <i>Schistocerca piceifrons piceifrons</i> Walker	Maíz, sorgo, frijol, caña de azúcar, soya, algodón, ajonjolí, plátano y cacahuete	<a href="#">Barrientos, 2005</a>
<b>M. anisopliae</b> (Metchnikoff) Sorokin y nematodos entomopatógenos	Larvas de gallina ciega: <i>Phyllophaga vetula</i> Horn	Maíz	<a href="#">Ruiz, 2012</a>
<b>B. bassiana</b> (Bals.-Criv.) Vuill., <b>M. anisopliae</b> (Metchnikoff) Sorokin y <b>P. Brown &amp; B. bassiana</b> (Bals.-Criv.) Vuill., <b>M. anisopliae</b> (Metchnikoff) Sorokin y <b>P. fumosoroseus</b> Brown & Smith	Picudo: <i>Anthonomus fulvipes</i> Boheman	Cereza de Barbados (Acerola)	<a href="#">Lezama et al., 1997</a>
<b>B. bassiana</b> (Bals.-Criv.) Vuill., <b>M. anisopliae</b> (Metchnikoff) Sorokin y <b>P. fumosoroseus</b> (Wize) Brown & Smith	Mariposa blanca de la col: <i>Pieris rapae</i> Linnaeus, gusano		
	dorso de diamante: <i>Plutella xylostella</i> Linnaeus, gusano	Hortalizas	<a href="#">García y González, 2010</a>
	falso medidor: <i>Trichoplusia ni</i> Hübner, pulgón de la col: <i>Brevycorine brassicae</i> Linnaeus		
<b>B. bassiana</b> (Bals.-Criv.) Vuill., <b>Lecanicillium lecanii</b> (Zimm.) Zare & W. Gams. y <b>P. fumosoroseus</b> (Wize) Brown & Smith	Virus de la tristeza de los cítricos.		
	Pulgón café de los cítricos: <i>Toxoptera citricida</i> Kirkaldy	Cítricos	<a href="#">Hernández et al., 2007</a>
<b>B. bassiana</b> (Bals.-Criv.) Vuill., <b>M. anisopliae</b> (Metchnikoff) Sorokin y <b>P. fumosoroseus</b> (Wize) Brown & Smith Sorokin, <b>N. rileyi</b> (Farlow) Samson, <b>P. fumosoroseus</b> (Wize) Brown & Smith y <b>P. javanicus</b> (Friederichs & Bally) Brown & Smith	Gusano cogollero del maíz: <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith)	Maíz	Lezama et al., 1996a o b
<b>N. rileyi</b> (Farlow) Samson y <b>P. fumosoroseus</b> (Wize) Brown & Smith	Larvas del gusano cogollero del maíz: <i>S. frugiperda</i> (J.E. Smith)	Maíz	<a href="#">Lezama et al., 1994</a>
<b>H. citrifomis</b> Speare	Huanglongbing (HLB). Psílido asiático de los cítricos: <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama	Cítricos	<a href="#">Pérez-González, 2013</a>

<i>Trichoderma</i> spp.	Pudrición radical en cebolla: <i>Fusarium oxysporum</i> Schldl.	Cebolla	<a href="#">Pulido-Herrera et al., 2012</a>
<i>Verticillium</i> y <i>P. fumosoroseus</i> (Wize) Brown & Smith	Mosca blanca: <i>Bemisia argentifolli</i> Bellows y Perring	Algodón	<a href="#">Ceceña et al., 2017</a>

Debido al interés en México por la producción de cítricos, Pérez-González et al. (2013) realizaron estudios contra el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama) en los cuales usaron *Hirsutella citriformis* Speare; Mellín et al. (2016), *Paecilomyces fumosoroseus*; y Hernández et al. (2007), *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & W. Gams. Además de los estudios con *B. bassiana* y *M. anisopliae* (Gandarilla et al., 2013). En todos estos trabajos las cepas analizadas se consideraron como promisorias para el desarrollo de tecnología para el control biológico de *D. citri*, como en el caso de *M. anisopliae*, el cual causó mortalidades de 93 - 100 % en ninfas, mientras que en adultos el intervalo de mortalidad varió de 40 a 95 % (Mellín et al., 2016).

La gallina ciega (*Phyllophaga vetula* Horn, 1887) y el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) son dos de las principales plagas del maíz, cuyo combate se ha probado con *M. anisopliae*, con el que se registró una mortalidad de 80 % a los 30 días (Nájera, 2005). Buenosaires (2013) documentaron una CL50 de  $2.0518 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup>. De igual manera se han explorado cepas del hongo *N. rileyi*, las cuales parasitaron 100 % de las larvas neonatas, con un TL50 entre 4.1 y 6.3 d, así como cepas de *P. fumosoroseus* que parasitaron entre 92.5 y 98.8 %, con un TL50 de 2.5 a 4.3 d (Lezama et al., 1994); estos mismos autores en 2006, publicaron un estudio más extenso en el que evaluaron otras cepas de hongos entomopatógenos y concluyeron que las cepas de *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* y *P. javanicus* (Friederichs & Bally) Brown & Smith fueron altamente virulentas en huevos y larvas, con una mortalidad de 94 y 100 %, y un TL50 de 1.3 a 3.3 d. Las cepas de *B. bassiana* presentaron una virulencia muy variable, con un parasitismo entre 3 - 90 % en huevos y de 54 - 100 % en larvas (Lezama et al., 1996b). Por otra parte, Ruiz et al. (2012) indicaron que *S. carpocapsae* (1.500 JI planta<sup>-1</sup>) en combinación con *M. anisopliae* ( $2 \times 10^8$  esporas planta<sup>-1</sup>) son recomendables para el control de larvas de *P. vetula*.

### **2.5.2 Formulación de hongos entomopatógenos en el control biológico**

Según Alean Carreño (2003), 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 se encuentre protegido al momento de la aplicación, evitar la sedimentación y la formación de grumos que tapen las boquillas.

Para Tanzini *et al.* (2001), el éxito de un bioinsecticida de origen microbiano radica en una buena formulación, que depende de las características del microorganismo, su relación con los componentes de la formulación y el ambiente de almacenamiento. Pero, para Boyetchko *et al.* (1999); Wraight *et al.* (2001), el lento progreso para realizar formulaciones adecuadas es una de las mayores barreras para la producción de bioplaguicidas. “La estabilidad, viabilidad y persistencia en campo de los entomopatógenos es en gran medida determinada por el tipo de formulación” (Cortez-Madrigal, 2006).

Para Carballo (1998), se debe tener en cuenta diferentes aspectos para la producción de productos biológicos tales como un medio de cultivo óptimo, un sistema de obtención masiva del inóculo, garantizar la estabilidad del producto y determinar las condiciones de almacenamiento, así como bioensayos de laboratorio, invernadero y campo que confirmen la efectividad del producto formulado. Así mismo, para Carballo (1998), los materiales utilizados para la formulación no deben tener actividad biológica ni afectar la actividad del hongo, deben ser inocuos al ambiente, presentar características físicas que permita la mezcla de los conidios, facilitar la aplicación del producto y que sean económicamente rentables.

Entre los sustratos descritos por Vélez *et al.* (1997), están el arroz, trigo y medios líquidos. Según Vélez *et al.* (1997), utilizar hongos entomopatógenos como bioplaguicidas requiere de producción masiva del hongo, el cual debe mantener su capacidad infectiva por un periodo de tiempo considerable. Para Medugno *et al.* (2007); Teera-Arunsiri *et al.* (2003), se han desarrollado los polvos humedecibles como formulación seca, debido a su larga vida de conservación, buena miscibilidad en agua

que permite formar una suspensión homogénea de fácil aplicación con un equipo atomizador; sin embargo es necesario realizar pruebas de suspendibilidad, humectabilidad, contenido de humedad y tamaño de la partícula.

Según Monzón (2001), la viabilidad del hongo no debe ser menor de 95% y el contenido de humedad entre cuatro a seis por ciento. Para Fernández y Juncosa (2002), la temperatura y la humedad son las principales limitantes para la eficacia de los hongos que se han contrarrestado con la adición de coadyuvantes que mejoran la germinación de esporas, tales como el aceite de maíz sin refinar que reduce los requerimientos de humedad, así como los surfactantes como Tween 20 que mejora la dispersión de las esporas en gotas, en la germinación, infección y desarrollo.

Según Elósegui y Elizondo (2010), mezclas de aislados fúngicos pueden usarse para aumentar el rango de tolerancia a la temperatura, comparado con la tolerancia a la temperatura de una sola especie fúngica. García Gutiérrez y González Maldonado (2010), evaluaron la efectividad de tres hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus*) para el control de plagas en cultivos de hortalizas, emulsionados en tierra de diatomeas en proporción 1:10 los cuáles fueron aplicados en una concentración de  $1,2 \times 10^{12}$  esporas x Ha-1 generando mortalidad superior al 80% a las 72 horas de aplicación. Cortez-Madrigal (2006), evaluó 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. Samuels *et al.* (2002), determinaron la patogenicidad y virulencia de *Metarhizium anisopliae* a huevos de *Blissus antillus* en condiciones de campo, y verificaron que los formulados en aceite mineral y en Tween 80 generaron el 63,5% y 27,1% de mortalidad respectivamente. Abolins *et al.* (2007), realizaron control in vitro e in vivo del ácaro *Psoroptes ovis* con *M. anisopliae*, en preparados con tierra de diatomeas y seco, este último genera infección superior al 90% por lo que se recomienda para el control de éste ectoparásito.

Mata y Barquero (2010), evaluaron la factibilidad de producción de *B. bassiana* en medio líquido para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*), hallando que el medio de cultivo consistente en azúcar, extracto de levadura y peptona es en donde ocurre el mejor crecimiento del hongo al cuarto día, sin ser afectado por el pH inicial, ni la temperatura de 28 °C, además genera mortalidad del 86,7%. Es así que a partir de ensayos de producción tanto artesanal como tecnificada se ha producido masivamente hongos entomopatógenos para el control de las plagas de cultivos de interés comercial. Como lo describe Alean Carreño (2003), hay dos tipos de formulaciones, la primera, seca o polvo humedecibles y la segunda, Líquida o emulsificable, de los cuales se han obtenido productos comerciales que se describen en la Tabla 1 incluyendo hongos del genero *Beauveria*, *Ascherstonia*, *Meatrhezium*, *Verticillium*, *Paecilomyces*, *Hirsutella* y *Lagenidium*.

Tabla 2. Productos de hongos entomopatógenos utilizados para control biológico.

<b>Producto</b>	<b>Hongo</b>	<b>País</b>
Botanigard	<i>Beauveria bassiana</i>	Chile
Aseronjia	<i>Ascherstonia aleyrodis</i>	Rusia
Biotrol	<i>B. bassiana</i>	USA
Boverin	<i>B. bassiana</i>	Rusia
ABG-6178	<i>B. bassiana</i>	USA
Mycar	<i>Hirsutella thompsoni</i>	USA
Biotrol FMA	<i>M. anisopliae</i>	USA
Green guard	<i>M. anisopliae</i>	Australia
Metaquino	<i>M. anisopliae</i>	Brasil
Vertalec	<i>V. lecanii</i>	Inglaterra
Mycotol	<i>V. lecanii</i>	Inglaterra
Mycotal	<i>V. lecanii</i>	Holanda
Mycotrol WP	<i>B. bassiana</i>	USA
Preferal	<i>P. fumosoroseus</i>	Bélgica
Bea-SIN	<i>B. bassiana</i>	México
Pae-SIN	<i>P. fumosoroseus</i>	México
Micobiol HE	<i>B. bassiana</i> <i>M. anisopliae</i> <i>Lecanicillium lecanii</i> <i>H. thompsonii</i>	Colombia
Vertisol	<i>Verticillium spp.</i>	Colombia
Couch	<i>Lagenidium giganteum</i>	USA

Fuente: (Mota-Delgado *et al.*, 2011).

## CAPITULO III METODOLOGÍA

### 3.1 Establecimiento del área experimental

Esta investigación se desarrolló en el invernadero del Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra durante el ciclo enero-octubre de 2020. Se estableció planta de tomate (*Solanum lycopersicum* L) con el híbrido Pony Express con una densidad de población de 33,000 plantas por hectárea.

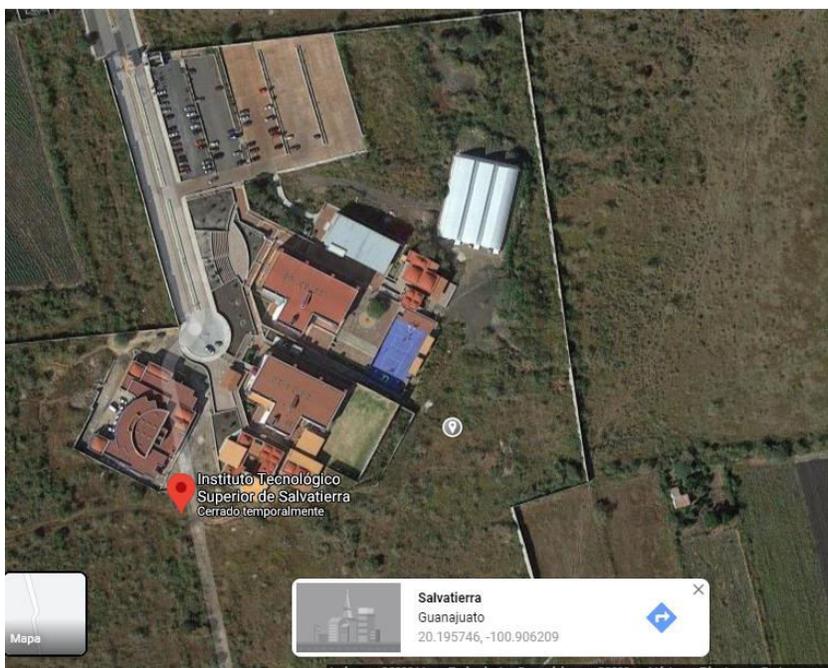


Figura 1. Ubicación del invernadero del ITESS.

### 3.2 Preparación del suelo

Durante las primeras semanas de enero se preparó el suelo del invernadero, es decir se deshiero el área, se sacó la maleza, se metió suelo ya que el invernadero solo tenía una capa de grava y se levantaron los surcos a una distancia de 80 cm de centro a centro.

### 3.3 Preparación del sistema de riego

Durante el mes de febrero se estableció el sistema de riego con cintilla de goteo con un gasto de 1.2 lph y separaciones de gotero de 25 cm. Previo al trasplante se dio un riego con un hongo biocontrolador *Trichodermas* para evitar el desarrollo de hongos fitopatógenos en el suelo donde se establecería el cultivo.

### 3.4 Fecha de trasplante

El trasplante se realizó el 9 de marzo de 2020, las plántulas fueron sumergidas en una solución de *Trichodermas harzianum* y micorrizas  $10^9$  mL<sup>-1</sup> y posteriormente se aplicó un riego pesado durante seis horas, esto para mojar bien el suelo y permitir el establecimiento de las plantas.

### 3.5 Diseño experimental utilizado

Se establecerá un diseño en bloques completos al azar con tres tratamientos y tres repeticiones, y un testigo absoluto. En los dos experimentos se establecerá el mismo diseño para tener una mejor comparación de las variables a evaluar. De acuerdo con los muestreos previos se utilizarán las fórmulas de Henderson-Tilton (1955) y la fórmula modificada de Abbott (1925) para estimar la efectividad de los tratamientos. Cuando las poblaciones de insectos son heterogéneas, se utilizará la fórmula de Henderson-Tilton, pero cuando las poblaciones son homogéneas se utilizará la fórmula de Abbott. Esta última se utiliza también cuando porcentaje de mortalidad es de 5-20%.

$$\text{Porcentaje de eficacia} = \left[ 1 - \left( \frac{Ca}{Ta} \right) * \left( \frac{Td}{Cd} \right) \right] * 100$$

Dónde:

Ta= Infestación en parcela tratada antes de aplicar el tratamiento

Ca= Infestación de parcela testigo antes de aplicar el tratamiento

Td= infestación en parcela tratada después de aplicar el tratamiento

Cd= Infestación en parcela testigo después de aplicar el tratamiento

La fórmula de Abbott (1925):

$$\text{Porcentaje de eficacia} = \left[1 - \frac{\text{Número de individuos muertos}}{\text{Número de insectos muestreados}} \cdot 100\right)$$

Dónde:

Ta= Infestación en parcela tratada antes de aplicar el tratamiento

Ca= Infestación de parcela testigo antes de aplicar el tratamiento

Td= infestación en parcela tratada después de aplicar el tratamiento

Cd= Infestación en parcela testigo después de aplicar el tratamiento

### 3.5.1 Tratamientos

Los tratamientos consistirán en la evaluación de dos aislados *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus*, además se tendrá un tratamiento químico y un testigo absoluto, con tres repeticiones (Figura 2).

En la siguiente imagen se observa la distribución de los tratamientos.

<b>BLOQUE 1</b>	T1	T2	T3	T4
<b>BLOQUE 2</b>	T2	T3	T4	T1
<b>BLOQUE 3</b>	T3	T4	T1	T2

Figura 2. Distribución de los tratamientos en invernadero.

T1= Control químico (i.a Cipermetrina)

T2= *Beauveria bassiana*

T3= *Paecilomyces fumosoroseus*

T4= Testigo absoluto

## **3.6 Material biológico empleado en este experimento**

### **3.6.1 Aislados nativos**

La obtención de aislados nativos de hongos entomopatógenos que se utilizaron en esta investigación, fueron obtenidos en un estudio previo. El aislamiento y purificación de los hongos se realizó en cámara de flujo laminar por transferencia directa de conidios y/o micelio a cajas petri conteniendo medio nutritivo papa dextrosa agar (PDA) y posteriormente transfiriéndolos a cajas petri con medio Agar Sabouraud, conteniendo 100 mg de estreptomicina /L para su esporulación (Tsao, 1970).

### **3.6.2 Identificación de los aislados**

La identificación se realizó de acuerdo a las características morfológicas de los hongos entomopatógenos, tomando en cuenta color de micelio, tipo de estructuras y corroborando la identificación previa, a través de la inoculación y crecimiento de los hongos entomopatógenos usados (*Beauveria* y *Paecilomyces*) sobre los insectos, de los cuales se reaisló el hongo del insecto y se transfirió micelio a caja con medio de cultivo Sabouraud, el cual se dejó incubando a una temperatura de  $26 \pm 1$  °C. Las colonias fueron purificadas en cultivos monopóricos y las estructuras aisladas fueron nuevamente observadas en un microscopio con contraste de fases, para determinar las características morfológicas siguiendo las claves de Humber y Barnett (1998).

### **3.6.3 Reproducción del inóculo**

Éste se obtendrá de siembras de esporas en cajas Petri conteniendo como medio de cultivo Agar Sabouraud con 100 mg de estreptomicina/L e incubándose durante 10 días. El micelio será raspado con un asa bacteriológica y colectado en un matraz conteniendo agua destilada estéril, ajustándose a una concentración de  $10^9$  conidios por mL<sup>-1</sup>, esto se realizó en cámara Neubauer (Anexo 1).

Para el inóculo en líquido, los aislados se mantuvieron en refrigeración para evitar que perdieran la viabilidad y así usarlos en el momento de aplicación en el invernadero.

### 3.6.4 Inoculación en granos de arroz

También se realizaron algunas inoculaciones sobre granos de arroz previamente estériles contenidos en bolsas de polipapel (500 g/bolsa). En los cuales se depositarán 120 ml de la suspensión conidial de  $10^9 \text{ mL}^{-1}$ , los cuales se mantuvieron almacenados a una temperatura de  $26 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 30 días. Período en que se movieron las bolsas diariamente para que puedan ser colonizados los granos con los HE de forma homogénea (Berlanga *et al.*, 2016).



Figura 3. Reproducción de hongos entomopatógenos sobre arroz.

### 3.7 Variables a evaluar

Se realizaron monitoreos visuales en cada unidad experimental, en la cual se determinó la densidad de población previa y posterior a las aplicaciones, el tiempo de respuesta y la persistencia. Se registrará la humedad relativa, la temperatura y el fotoperiodo diario. Así como el desarrollo de las plantas a través de las variables fenológicas, altura de planta, tamaño del tallo, número de frutos, peso de los frutos, diámetro ecuatorial y polar de los frutos y se registraran los riegos y la nutrición del cultivo. Los datos colectados serán analizados a través del Anova y se realizara una comparación de medias con el método Tukey a una  $\alpha=0.05$ .

### **3.7.1 Densidad de Población de la mosquita blanca**

Se realizarán conteos por plantas del número de adultos y huevecillos de mosquita blanca en cada unidad experimental, registrando los datos en una bitácora electrónica para su posterior análisis y utilizando la metodología expuesta por Bernal *et al.* (2008).

### **3.7.2 Mortandad**

Se contabilizará el número de insectos muertos, tanto los que estén colonizados por los hongos entomopatógenos, como los que estén pegados a la hoja o presenten melanización (cambio de color en el tegumento).

### **3.7.3 Persistencia de los hongos entomopatógenos en el invernadero**

Para determinar la persistencia del producto se realizarán tres aplicaciones en intervalos de 15 días entre ellas, para la tercera aplicación, se tendrá que estar monitoreando hasta los 30 días, esto para observar la persistencia de los entomopatógenos y ver si aún existe infección sobre los insectos, esto para saber si el producto sigue haciendo efecto sobre las mosquitas blancas o si coloniza algún otro insecto que no sea de interés.

### **3.7.4 Re-aislamiento de los hongos entomopatógenos de los insectos**

Se tomará una muestra del micelio que creció sobre los insectos colectados y se sembrará en medios de cultivo de papa dextrosa agar (PDA) y agar Sabouraud para su purificación. El micelio crecido sobre los insectos se aislará directamente del cuerpo de ellos, tomando una muestra con una aguja directamente del insecto. Sin embargo, los insectos que no presenten crecimiento micelial, pero que presenten melanización, serán puestos en cámara húmeda para propiciar el crecimiento y esporulación del hongo y poder desarrollarlo en medio de cultivo PDA.

### **3.7.5 Identificación de los hongos entomopatogenos re-aislados**

El micelio desarrollado en caja Petri con medio de cultivo PDA y Agar Sabouraud será purificado y crecido durante diez días para su esporulación y desarrollo de estructuras necesarias para la identificación de los hongos colectados. Se tomara una gota de azul de metileno (colorante usado para teñir estructuras de los hongos), colocándose en un portaobjeto, y con la ayuda de una aguja de disección se tomara una pequeña muestra de la caja conteniendo el hongo, el cual se colocará al microscopio y se procederá a su identificación, describiendo el crecimiento de las colonias en PDA y observando las estructuras del hongo en el microscopio de acuerdo al manual de procedimientos de formulación de hongos entomopatogenos del SENASICA.

### **3.8 Monitoreo de plagas y enfermedades**

Se realizarán monitoreos visuales cada tercer día para observar la presencia de plagas y enfermedades que pudieran afectar el cultivo. Los datos obtenidos se registraron en las bitácoras de campo para su posterior análisis y toma de decisiones fitosanitarias.

### **3.9 Manejo agronómico del cultivo**

El manejo agronómico del cultivo se llevó a cabo bajo las recomendaciones técnicas de INIFAP-CEBAJ para la producción de tomate en invernadero, para ello se establecieron las frecuencias de riegos y fertilización de acuerdo a los requerimientos en cada etapa fenológica del cultivo. Se utilizaron soluciones nutritivas para el desarrollo vegetativo, la floración, amarre y llenado de los frutos. Se desarrollaron y programaron prácticas culturales en los dos cultivos, que incluyeron deshierbes manuales, tutorado, podas, aclareo de frutos, entre otros, esto para asegurar la producción y disminuir los riesgos fitosanitarios.

## CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Reproducción del inóculo

El inóculo de los dos hongos entomopatógenos de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* se reprodujo en el laboratorio de microbiología, procedente de un estudio previo ajustando las dosis a  $10^9$  conidios por  $\text{mL}^{-1}$ .



Figura 4. Reproducción del inóculo de los hongos entomopatógenos en el laboratorio.

Se realizaron dos tipos de técnicas para la reproducción del inóculo, uno en arroz estéril, el cual, no tuvo el mismo resultado, teniendo una mayor inocuidad y concentración de conidias la fase líquida, ya que sobre el arroz el hongo presentó una lenta colonización; Razón por la cual el micelio fue raspado y mezclado en agua destilada estéril, la cual se ajustó, a la concentración evaluada de  $1 \times 10^9$  conidias por  $\text{mL}^{-1}$ .

## 4.2 Densidad de población de mosquitas blancas por unidad experimental previa y posterior a la aplicación de los tratamientos

En el gráfico 1, se muestra la población inicial de mosquitas blancas dentro de cada unidad experimental, previa a la primera aplicación de los Hongos entomopatogenos (media poblacional por planta).

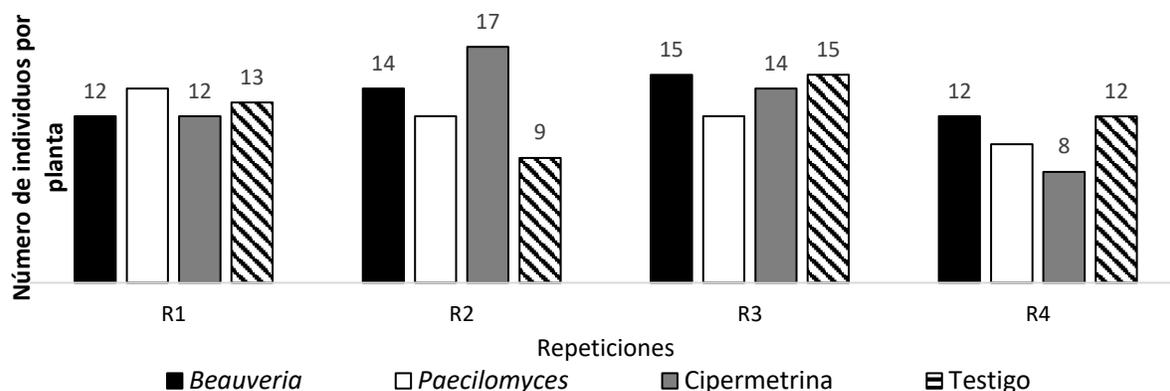


Gráfico 1. Densidad de mosquita blanca por planta en cada unidad experimental (promedios por planta muestreada).

En el gráfico 2 se muestra la densidad de mosquita blanca posterior a la aplicación, sin embargo, el análisis estadístico mostró que los tratamientos 1 y 3 son similares, es decir con los dos tratamientos se obtiene un control adecuado de las poblaciones de mosquitas blancas.

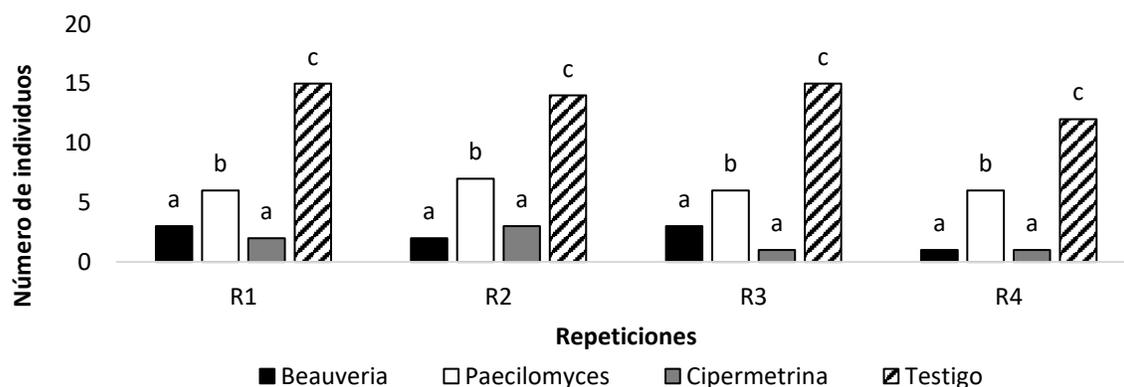


Gráfico 2. Densidades de población de mosquita blanca posterior a la aplicación de tratamientos.

A los quince días se hizo un monitoreo previo a la segunda aplicación de los tratamientos sobre el cultivo. En el gráfico 3. Se muestran los promedios de las densidades de población de mosquita blanca por plantas (para el experimento se realizó un conteo de 20 plantas por cada repetición).

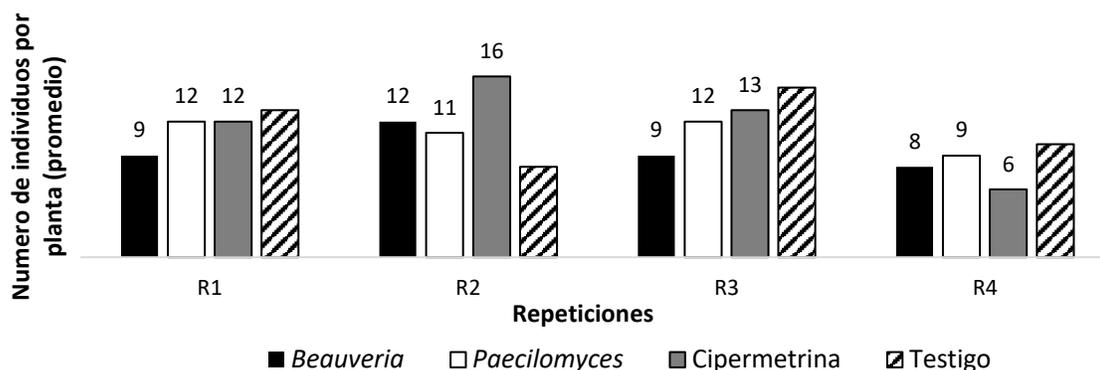


Gráfico 3. Densidad del segundo monitoreo de mosquita blanca en cada unidad experimental (promedios por planta).

En el gráfico 4 Los tratamientos de *Beauveria* y cipermetrina fueron eficientes en el control de mosquita blanca y se pudo observar sobre el número de insectos por planta, siendo similares estadísticamente. Sin embargo, el tratamiento con *Paecilomyces* no tuvo el efecto esperado sobre la plaga ya que el hongo no ejerció un control sobre la misma, según los datos colectados de los monitoreos que se realizaron en la primera y segunda aplicación. En cuestión del testigo este estaba infestado de mosquitas.

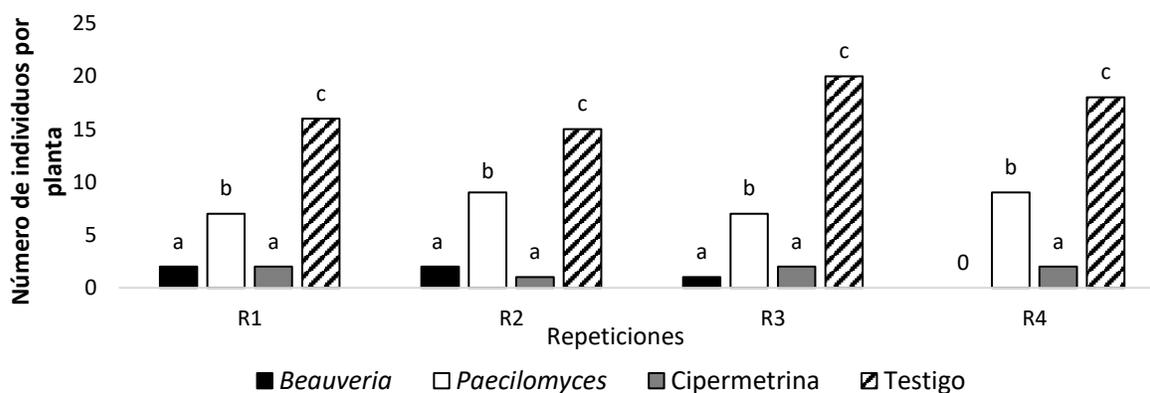


Gráfico 4. Densidades de población de mosquita blanca posterior a la segunda aplicación de tratamientos.

### 4.3 Mortandad, melanización y síntomas de enfermedad en mosquita blanca

En los gráficos 5 y 6 se observa el número total de insectos contabilizados por tratamiento, los cuales muestran las diferencias claramente encontradas en 20 plantas muestreadas sobre la mortandad, la melanización (cambio de color en el insecto) y la movilidad lenta que indica que están enfermos.

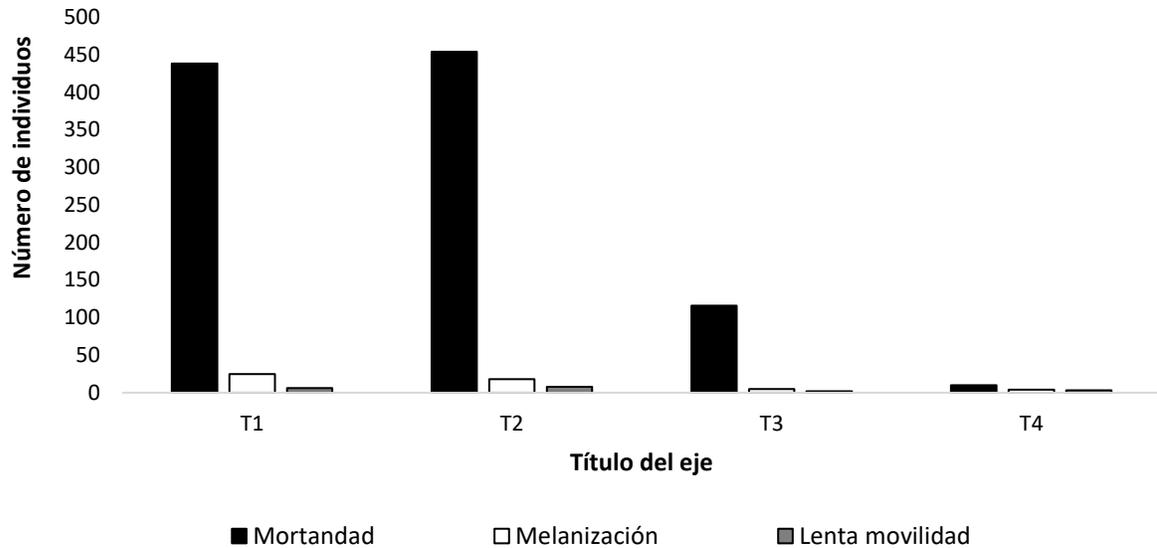


Gráfico 5. Contabilización de insectos muertos, melanizados y enfermos (primera aplicación).

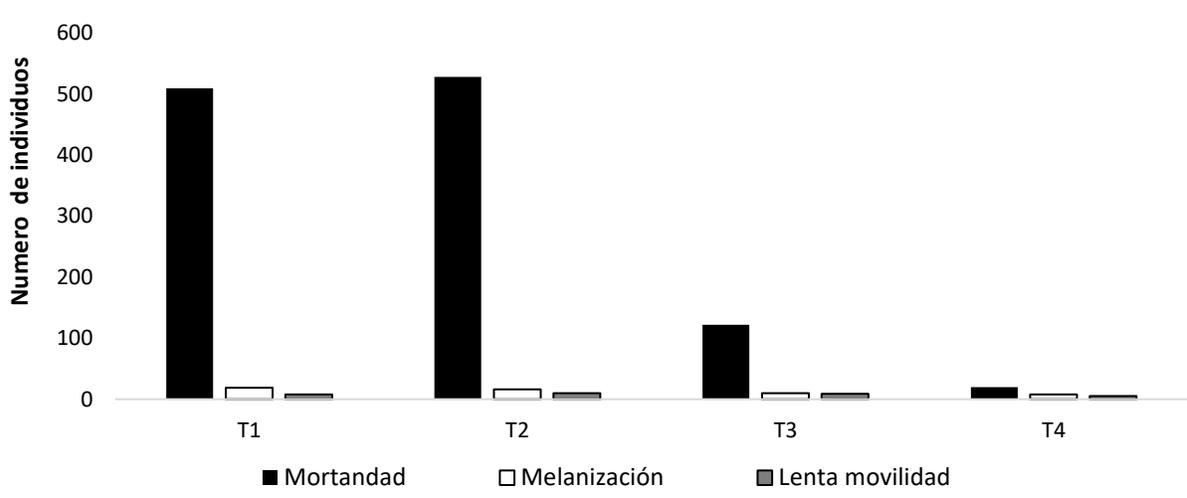


Gráfico 6. Contabilización de insectos muertos, melanizados y enfermos (segunda aplicación).

#### 4.4 Persistencia de los entomopatógenos en invernadero

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa que las respuestas de los dos hongos presentaron diferencias con respecto a los tiempos de muerte y a la persistencia que mostraron en campo, esto quizás se deba a la selectividad del entomopatógeno por el insecto, a las necesidades nutritivas de los hongos, a la patogenicidad (capacidad de un organismo parásito de causarle daño al huésped) y virulencia (el grado de patogenicidad, es decir, la agresividad que presenta el patógeno; a menor concentración de inóculo y menor tiempo que dure en ser infectado el huésped, la virulencia será mayor), a la temperatura y humedad relativa del invernadero.

Grafico 7 Se observó que *Beauveria bassiana* es un entomopatógeno que soporta temperaturas más calientes en comparación de *Paecilomyces fumosoroseus*, ya que se encontraron muy pocos insectos colonizados.

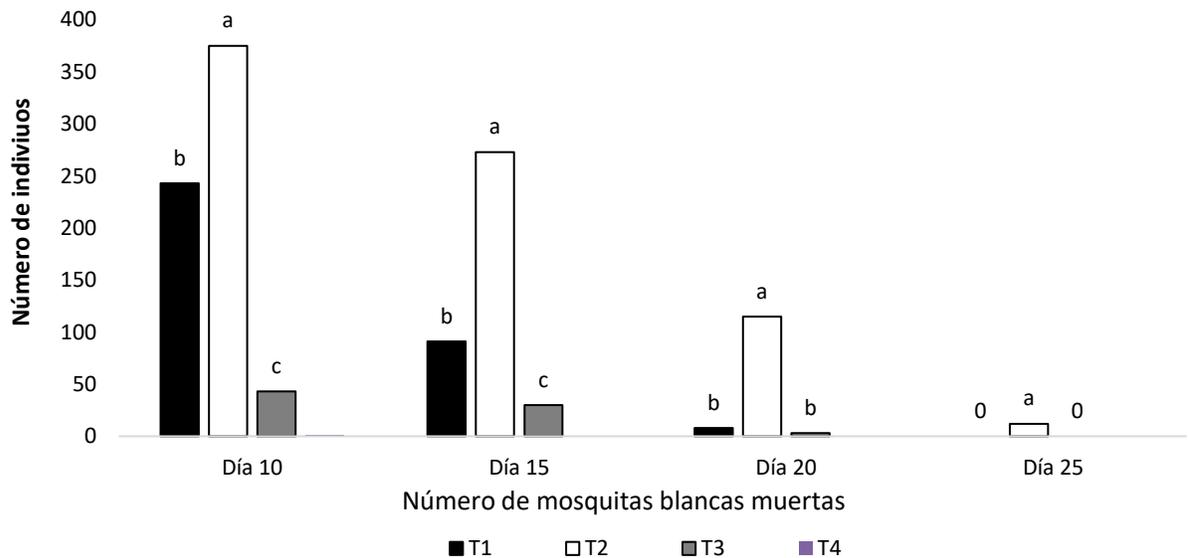


Gráfico 7. Días de persistencia de los tratamientos.

#### 4.5 Registro de Temperaturas máximas, mínimas y humedad relativa

Las temperaturas son un factor importante en el desarrollo y ciclos biológicos de las plagas, por ello durante la aplicación de los tratamientos estos se realizaron durante el mes de abril y mayo, esto porque se presentaron las temperaturas más calientes y la mosquita blanca se presentó en el cultivo.

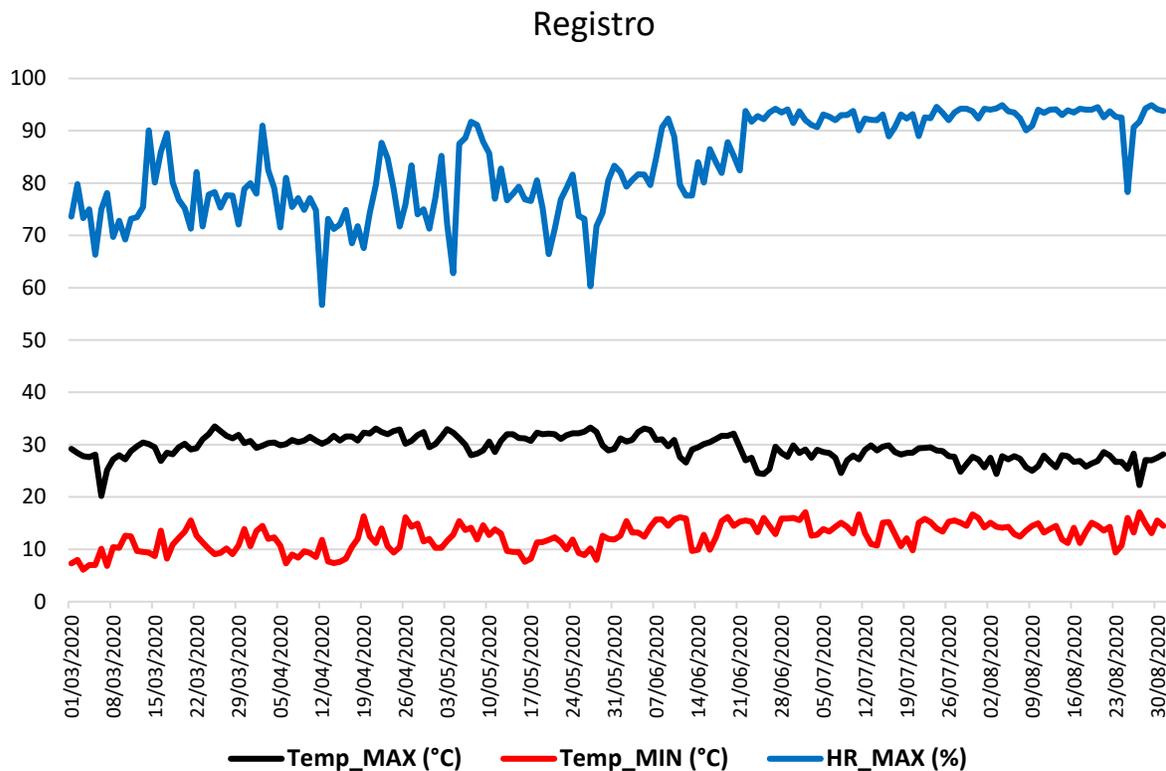


Gráfico 8. Registro de temperaturas máximas, mínimas y humedades relativas.

Según Ortiz *et al.* (2011) la humedad relativa (HR) y la temperatura son factores importantes en el desarrollo de los hongos entomopatógenos *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *P. farinosus* y *Beauveria bassiana*. Esto se pudo comprobar con los resultados colectados en esta investigación, en la cual se demostró

que *Beauveria bassiana* fue el hongo que se adaptó a las condiciones de temperatura y humedades relativas del invernadero.

#### 4.6 Re-aislamiento de identificación de los hongos

De acuerdo a los especímenes colectados y a la identificación se pudo observar que los insectos que presentaron colonización del hongo, efectivamente correspondían a los tratamientos aplicados en cada parcela experimental. En las figuras siguientes se observan mosquitas blancas colectadas en las parcelas experimentales y el desarrollo del hongo en caja Petri.



Figura 5. Mosquitas blancas colonizada por *Beauveria bassiana*.



Figura 6. Mosquitas blancas colonizadas por *Paecilomyces fumosoroseus*.



Figura 7. Mosquita blanca tratada con cipermetrina.

En la figura 9 se observa el crecimiento de *Beauveria bassiana* sobre el medio de cultivo, los cuales se desarrollaron en medio PDA incubando durante diez días hasta su esporulación para su identificación morfológica y sus estructuras microscópicas.



Figura 8. Crecimiento de *Beauveria bassiana* en PDA.

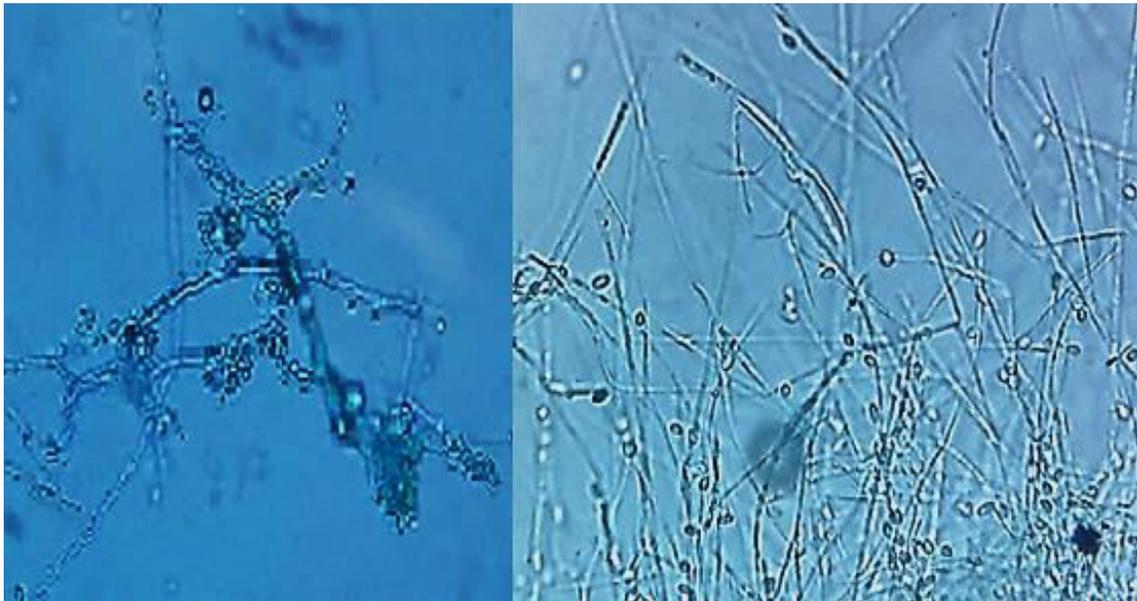


Figura 9. Estructuras microscópicas del hongo *Beauveria bassiana* (aumento de 40X).

Los aislados de este género presentaron un crecimiento lento, circular, llegando a alcanzar 20 mm de diámetro en 10 días, lo que coincide con lo establecido por Domsch

*et al*, (1993) y Vuillemin en 1912. El aspecto de la colonia es lanoso y en forma de polvo debido a los abundantes conidios de color blanco que se formaron al inicio y posteriormente se tornaron de una coloración amarillenta en la parte del centro, de textura blanda y superficie plana estas características son variables, por lo que no son consideradas como únicos criterios para determinar la especie (Vargas, 2003).

En la figura 10 se observa el crecimiento de *Paecilomyces fumosoroseus* en PDA a los 12 días después de la siembra. Este requirió mayor tiempo para su esporulación y en la figura 11 se observa las estructuras microscópicas bajo el aumento de 40X.



Figura 10. Crecimiento de *Paecilomyces fumosoroseus* a los 12 días en PDA.



Figura 11. Estructuras microscópicas de *Paecilomyces fumosoroseus* en PDA.

Se observó que los aislados presentaron hifas hialinas a amarillosas, séptadas, de paredes delgadas. La mayoría presentó ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides, las cuales pueden ser también solitarias. Las fiálides constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio. Los conidióforos llevan cadenas de conidias; éstas son hialinas, unicelulares y forma ovoide (Bustillo, 2001).

Brady (1979) y Marchal (1987) reportan que existen diferencias significativas entre los valores medios del tamaño de las esporas tanto en el ancho como en el largo, no siendo así en el ancho de las hifas; pero si existen diferencias entre el largo de los dos, al igual que en el ancho del conidióforo. Estos autores plantean que el tamaño de los conidios oscila entre 1-2  $\mu\text{m}$  de ancho y 3-4  $\mu\text{m}$  de largo aproximadamente, con hifas de 1-1,5  $\mu\text{m}$  de ancho y 3,5-4,4  $\mu\text{m}$  de largo, y los conidióforos de 1,5-3  $\mu\text{m}$  de ancho.

Las características morfológicas de los aislados coinciden con lo descrito en las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998). Así como de los manuales de hongos entomopatógenos del SENASICA.

De acuerdo a los datos obtenidos, los tratamientos de Cipermetrina y *Beauveria bassiana* son los indicados para el control de mosquita blanca, el primero ejerce un efecto inmediato sobre los adultos y el segundo empieza su control a partir de 6 día, cuando se observa una baja movilidad del insecto e inicia la colonización del mismo.

Por otro lado, se observó que la población de insectos (muy pocos) colonizados con *Paecilomyces fumosoroseus* tardaron de 12-14 días para observar síntomas de enfermedad y algunos si presentaron los signos (hongo crecer sobre su tegumento).

## CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

La principal conclusión a la que se llegó, fue que las técnicas de reproducción de los hongos entomopatógenos difieren sobre el desarrollo y esporulación de los mismos, siendo más eficiente el desarrollo directo del hongo sobre PDA que el de inoculación del arroz.

De acuerdo a los datos obtenidos, los tratamientos de Cipermetrina y *Beauveria bassiana* pueden ser usados de igual manera para el control de mosquita blanca, sin embargo, el primero ejerce un efecto inmediato sobre los adultos y el segundo empieza su control a partir de 6 día, pero su ventaja es que no deja residualidad en los productos ni contamina el ambiente.

*Beauveria bassiana* es el hongo que presento dos mecanismos de acción que se pudieron observar sobre la mosquita blanca, el primero la colonización del insecto, el segundo la melanización del insecto, es decir el cambio de color y posteriormente su muerte. También se observó una baja movilidad del insecto e inicia la colonización del mismo.

*Paecilomyces* es un biocontrolador que no tuvo la respuesta esperada, ya que solo controlo a un 20 % de la densidad de plaga presente en las unidades experimentales, lo cual es muy bajo y por lo tanto no se recomienda su uso.

Además, este entomopatógeno presento ciertos problemas para la esporulación y adaptación a las condiciones de temperatura y humedad relativa del invernadero, lo cual sugiere que es un patógeno que podría funcionar en zonas más fresca, aun cuando fue aislado de la región de Salvatierra, Gto.

## 5.2 Recomendaciones

Sería conveniente evaluar una dosis más alta de *Paecilomyces fumosoroseus* para determinar si fue el motivo por el cual el hongo no tuvo el efecto esperado en el control de las mosquitas blancas, Quizás aun cuando la literatura muestre que las concentraciones conidiales de  $1 \times 10^9$  son las indicadas, podría ser que una mayor concentración pueda ejercer un control más eficiente.

## CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abolins, s., thind, b., jackson, v., luke, b., moore, d., wall, r. *et al.* Control of the sheep scab mite *Psoroptes ovis* in vivo and in vitro using fungal pathogens. *Veterinary Parasitology*, v. 148, n. 3/4, p. 310-317, (2007). <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.008>

Alean carreño, I. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. (2003). 107f.

Alves, s. B. Fungos entomopatogênicos. In: alves, s. B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 289-381.

Anderson, p. K. (2000). La mosca blanca vectora: *Bemisia tabaci* (Genn.). En: el Mosaico Dorado y otras enfermedades del frijol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. F. J. Morales (ed.). Centro Internacional de Agricultura Tropical (ciat), Palmira, Colombia. p. 107-127.

Angel-Sahagún, C. A., Lezama-Gutiérrez, R., Molina-Ochoa, J., Galindo-Velasco, E., López-Edwards, M., Rebolledo-Domínguez, O. (2005). Susceptibility of biological stages of the horn fly, *Haematobia irritans*, to entomopathogenic fungi (Hyphomycetes). *Journal of Insect Science*, V. 5, N. 50, 8 p. Recuperado de: <<http://www.insectscience.org/5.50>>. Acceso: junio (2011).

Arredondo B., H. C. y L. A. Rodríguez del B. 2008. Casos de control biológico en México. Mundi Prensa México. México, D. F., México. 423 p

Arriola P., V. J., J. Rentería B., A. R. Gijón H., L. Ramírez H. y M. E. Romero S. 2016. Evaluación de *Trichoderma* sp., como agente de control biológico de *Dendroctonus* spp. (Curculionidae: Scolytinae) en la Sierra Gorda de Querétaro, México. *Entomología Mexicana* 3: 239-243.

Asaff, T. A., Reyes, V. Y., López, L. V. E., De La Torre, M. M. (2002). Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva*, 21: 291-295.

Azevedo, J. L., Melo, I. S. (1998). Controle microbiano de insectos - pragas e seu melhoramento genético. In: *Controle Biológico*. Jaguariúna: Embrapa, Vol. 1, p. 69-93.

Barboza C., J. E., J. E. López- M. y J. E. Ibarra. 1998. Caracterización de una cepa mexicana de *Bacillus thuringiensis* ssp. *kenyae*: Un análisis de su baja toxicidad hacia lepidópteros. *Vedalia* 5: 3-12.

Barnett, H. L., and B. B. Hunter. (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA. 218 p.

Barranco Florido, J. E., Alatorre Rosas, R., Gutiérrez Rojas, M., Viniegra González, G., Saucedo Castaneda, G. Criteria for the selection of strains of entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* for solid state cultivation. *Enz. Microb. Technol*, v. 30, p. 910-915, (2002). [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00032-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00032-7)

Barrientos L., J., D. M. Hunter, J. Ávila V., P. García S. y J. V. Horta V. 2005. Control biológico de la langosta centroamericana *Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker (Orthoptera: Acrididae) en el noreste de México. *Vedalia* 12 (2): 119-128.

Barrios D., B., S. Reyes S., G. Vázquez H., J. M. Barrios D., N. P. Castro G., R. Berdeja A. y J. M. E. Aguilar L. 2017. Patogenicidad in vitro de *Beauveria bassiana* sobre *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) barrenador del cedro rojo. *Entomología mexicana* 4: 265-270.

Batista Filho, A. Controle biológico e o manejo integrado de pragas. *Biológico*, v. 55, p. 36-39, (1989).

Bautista G., A., R. Pimentel S. y A. Gómez V. 2017. Control biológico de *Rhicephalus* (*Boophilus*) *microplus* con hongos entomopatógenos. *Revista Iberoamericana de Ciencias Biológicas y Agropecuarias* 6(12):1- 30. Doi: 10.23913/ciba.v6i12.68.

Bellows Jr., t. S., Perring, t. M., gill, r. J., Headrick, d. H. (1994). Description of a species of Bemisia (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America* 87: 195-206.

Bethke, j. A., Paine, t. D., Nuessly, G. S. (1991). Comparative biology, morphometrics and development of two populations of Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. *Annals of the Entomological Society of America* 84: 407-411.

Blair, m. W., Beaver, j. S. (1993). Inheritance of bean golden mosaic resistanse from bean genotype A429. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*. 36:143.

Boyetchko, s. M., Pedersen, e., Punja, z. K., Redy, m. S. Formulations of biopesticides. In: hall, f. R.; menn, j. J. (Eds.). *Biopesticides*. Totowa: Human Press, (1999). p. 487-508.

Brown, J. (1993). Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América, de (1989) a (1992). En: *Las Moscas Blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe*. L. Hilje., O. Arboleda (eds.). *Catie, Turrialba, Costa Rica*. p 1-9.

Brown, J. (1994). Current status of Bemisia tabaci as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. *FAO Plant Protection Bulletin* 42: 3-32.

Brown, j. K., frohlich, d. R., rosell, r. C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whitefly: biotipes of Bemisia tabaci or a species complex?. *Annual Review of Entomology* 40: 511-534.

Brown, j.k., bird, J. (1992). Whiteflytransmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76(3): 220-225.

Brown, j.k., Chapman, m.a., Nelson, m. R. (1990). Bean calico mosaic, a new disease of common bean caused by a whitefly-transmitted geminivirus. *Plant Disease* 74:81.

Buenosaires Á., A. I., G. Peña C. y L. A. Rodríguez del B. 2013. Determinación de la virulencia de la cepa 148 de Bacillus thuringiensis y Ma-156 de Metarhizium anisopliae sobre Diatraea magnifactella DYAR. *A. Entomología mexicana* 12(1): 298- 300.

Bugarín-Montoya, R.; Galvis-Spinola, A.; Sánchez-García, P. and García-Paredes, D. 2002. Daily accumulation of aboveground dry matter and potassium in tomato. *Terra Latinoamericana*. 20(4):401-409

Butt, T. M., Jackson, C., Magan, N. Fungi as biological control agent: progress, problems and potential. In: Butt, T. M.; Jackson, C., Magan, N. (Eds.). *Fungi as biocontrol agents*. Wallingford: CABI International, (2001). p. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1079/9780851993560.0001>

Byrne, D., Bellows, T., Parrella, M. (1990). Whiteflies in agricultural systems. In: Gerling, D. (ed.), *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. New Castle, U.K. Atheneum. P. 227-251.

Byrne, D., Miller, W.B. (1990). Carbohydrate and amino acid composition of phloem sap and honeydew produced by *Bemisia tabaci*. *Journal of Insect Physiology* 36: 433-439.

Caballero C., W. J. 2014. Producción y aplicación del hongo *Beauveria bassiana* en el laboratorio de control biológico del ITZM. Instituto Tecnológico de la Zona Maya. Quintana Roo, México. 33 p.

Camacho M., R., E. M. Aguilar M., H. Quezada, O. Medina C., G. Patino L., H. M. Cárdenas C. and R. Ramos P. 2017. Characterization of Cry toxins from autochthonous *Bacillus thuringiensis* isolates from Mexico. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 74 (3): 193-199. Doi:10.1016/j.bmhmx.2017.03.002.

Campbell, B. C., Duffus, J.E., Baumann, P. (1993). Determining whitefly species. *Science* 261: 1333.

Campbell, B. C., Stephen-Campbell, J. D., Gill, R. 1995. Origin and radiation of whiteflies: an initial molecular phylogenetics assessment. In: Gerling, D., Mayer, R. T. (eds.), *Bemisia: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management*. Intercept, UK, p. 29-52.

Carballo, M. Formulación de hongos entomopatógenos. *Rev. Manejo Integrado de Plagas*, v. 47, p. 1-4, (1998).

Carruthers, I. R., hural, K. Fungi as natural occurring entomopathogens. In: baker, r. R., dunn, p. E. (Eds.). New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. Nueva York: Liss, (1990). p. (115-138).

Castrejón A., J. E., G. Núñez M., M. M. Iracheta, R. Gómez F., F. Tamayo M., J. A. Ocampo H. and P. Tamez G. 2017. *Beauveria bassiana* blastospores produced in selective medium reduce survival time of *Epilachna varivestis* Mulsant larvae. *Southwestern Entomologist* 42(1):203-220. Doi:10.3958/059.042.0119.

Castro O., I. R., A. Fonseca G., A. G. Trejo L., V. M. Hernández V., L. A. Rodríguez del B. y L. P. Lina G. 2013. Evaluación de seis cepas de hongos entomopatógenos sobre *Diatraea magnifactella* DYAR (Lepidoptera: Crambidae). *Entomología mexicana* 12(1):430- 433

Ceceña D., C., D. González M., O. Grimaldo J., P. Ruvalcaba S., O. Tzintzun C. y D. Durán H. 2017. Eficacia de entomopatógenos en el control de la Mosca Blanca (*Bemisia argentifolli*, Bellows y Perring) en algodónero en el DDR 014. Cuerpo Académico de Biotecnología Agropecuaria (UABC- CA-165). Universidad Autónoma de Baja California. Omnia Publisher SL. Baja California, BC, México. 68 p. Doi: 10.3926/oms.366.

Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB). 2018. Introducción al CNRCB. <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/centro-nacional-de-referencia-de-control-biologico-103097> (24 de noviembre de 2018).

Chávez, B. Y., J. C. Rojas, J. F. Barrera y J. Gómez. 2016. Evaluación de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Pachycoris torridus* en laboratorio. *Southwestern Entomologist* 41(3):783-790. Doi:10.3958/059.041.0320.

De la Rosa, W., M. Figueroa and J. E. Ibarra. 2005. Selection of *Bacillus thuringiensis* strains native to Mexico and active against the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Vedalia* 12 (1): 3-9.

Díaz M., E., A. O. Gutiérrez, P. A. Contreras G., R. R. Rivera y L. R. Centeno E. 2009. Control del barrenador de las meliáceas en plantaciones de cedro en la península de

Yucatán. In: IV Reunión Nacional de Innovación Agrícola y Forestal. Inifap. Sección de Plantaciones Forestales y Sistemas Agroforestales. Saltillo, Coah., México. p. 364.

Díaz V., V. M. y D. Roblero J. 2007. Épocas de aplicación del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para control de *Hypothenemus hampei* Ferr. Revista Quehacer Científico en Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chis., México. pp. 42-47.

Díaz-Ordaz, N. H., N. Pérez and J. Toledo. 2010. Pathogenicity of three strains of entomopathogenic fungus on *Anastrepha obliqua* adults (Macquart) (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.), 26(3): 481-494. Doi:10.21829/azm.2010.263796.

Enriquez-Reyes, S. A., Alcántar-González, G., Castellanos- Ramos, J. Z., Suárez, E.A.; González-Eguiarte D. and Lazcano-Ferrat, I. 2003. Numac-n tomato: mineral nutrition fit at growth. The nitrogen nutrition in tomato greenhouse production. 1. Model description and parameters adjust. *Terra Latinoamericana*. 21(2):167-175.

Félix-Gastélum, Rubén. Apodaca-Sánchez, Miguel Ángel; Martínez-Valenzuela, María del Carmen, Espinosa-Matias, Silvia *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 23, núm. 2, julio - diciembre, (2005), pp. 162-168 Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Texcoco, México

Flores V., A. L., M. Cabrera B., C. Toriello, M. I. Bucio T., P. M. Salazar S. and A. Córdoba A. 2016. Survival and immune response of the Chagas vector *Meccus pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) against two entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Isaria fumosorosea*. *Parasit Vectors* 9:176-187. Doi: 10.1186/s13071-016-1453-1.

Flores, J., Ojeda-Bustamante, W., López. I., Rojano, A. and Salazar, I. 2007. Water requirements for greenhouse tomato. *Terra latinoamericana*. 25(2):127-134.

Galitsky, N., V. Cody, A. Wojtczak, D. Ghosh, J. R. Luft, W. Pangborn and L. English. 2001. Structure of the insecticidal bacterial delta-endotoxin Cry3Bb1 of *Bacillus thuringiensis*. *Acta Crystallographica Section D*. 57 (Pt 8):1101-9. Doi:10.1107/S0907444901008186. PMID 11468393.

Gandarilla P., F. L., I. Quintero Z., R. Rodríguez G., M. Elías S., C. F. Sandoval C. y L. J. Galán W. 2013. Efecto de hongos entomopatógenos sobre *Ceraeochrysa valida* y *Eremochrysa punctinervis* (Neuroptera: Chrysopidae) depredadores de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) en México. *Entomología Mexicana* 12(1):415-419.

García de L., S. y T. Mier. 2010. Visión general de la producción y aplicación de bioplaguicidas en México. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente* 10(20): 37-63.

García de León S, Mier T (2003) Panorama actual de la producción comercial y aplicación de bioplaguicidas en México. *Soc Rur Prod Medio Amb* 4: 65-81.

García G., C. y M. B. González M. 2009. Control biológico de plaga de chapulín (Orthoptera: Acrididae) en Durango, México. *Vedalia* 13 (2): 79-83.

García G., C. y M. B. González M. 2010. Uso de biosecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. *Ra Ximhai* 6(1): 17-22.

García G., C. y M. B. González M. 2013. Síntesis sobre el uso de bioinsecticidas y otros agentes de control biológico de plagas en México. *Vedalia* 14 (1): 35-42.

García R., A., A. Reyes R., E. Ruíz S. y J. E. Ibarra. 2018. Aislados nativos de del sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9(3): 539- 551. Doi: 10.29312/remexca.v9i3.1213.

García R., E., R. Pérez P., B. L. León E. y L. Pliego M. 2013. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* sobre mosca blanca (*Bemisia tabaci*). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4(6):1129-1138. Doi: 10.29312/remexca.v0i6.1277.

Gerónimo T., J. C., M. Torres de la C., M. Pérez de la C., A. de la C. P., C. F. Ortiz G. y S. Cappello G. 2016. Caracterización de aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y su patogenicidad hacia *Hypothenemus hampei*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología* 42 (1): 28-35. Doi: 10.25100/socolen.v42i1.6666.

Gijón H., A. R., Z. Trejo S., C. M. López G., L. Ramírez H., V. J. Arriola P. e I. M. Pérez G. 2015. Caracterización y efectividad de *Trichoderma* spp. sobre insectos descortezadores de pino. *Entomología Mexicana* 2: 293-299.

Godwin, P. K. and H. Shawgi. 2000. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. *Experimental and Applied Acarology* 24: 913-926. Doi:10.1023/a:1010722914299.

González S., M. G., J. C. Salazar T., F. Jaimes A., S. Ramírez A. y R. González S. 2010. Eficacia de *Beauveria bassiana* (*Balsamo*) *Vuillemin* en el control de *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) en fresa. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16(3): 189-193. Doi: 10.5154/r.rchsh.2010.16.024.

Hernández T., I., A. Berlanga P., J. I. López A., J. Loera G. y E. Acosta D. 2007. Evaluación de hongos entomopatógenos para el control del pulgón café de los cítricos, *Toxoptera citricida* (Kirkaldy), en México. INIFAP. CIRNE. Campo Experimental General Terán. Folleto Científico Núm. 1. General Terán, N L, México. 19 p.

Hernández V., V. M., Z. Cervantes E., F. J. Villalobos, L. L. García y G. Peña C. 2011. Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 27(3): 591- 599. Doi:10.21829/azm.2011.273777.

Inapi (Instituto de Apoyo a la Investigación e Innovación). (2016). Manejo del Psílido del tomate. [http://sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/\\_15\\_memoriaextenso/212.pdf](http://sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/_15_memoriaextenso/212.pdf). (Fecha de consulta 03 de septiembre del 2021)

Koppert. (2021). *Trialeurodes vaporariorum* Mosca blanca de los invernaderos. Consulta en línea 20 octubre del (2021). Recuperado de: <https://www.koppert.mx/retos/moscas-blancas/mosca-blanca-de-los-invernaderos/>.

Lezama G., R., J. Molina O., M., L. Contreras O., M. González R., A. Trujillo de la L. y O. Rebolledo D. 1996b. Susceptibilidad de larvas de *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) a diversos nematodos entomopatógenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae). *Vedalia* 3: 31-34.

Lezama G., R., J. Molina O., M., O. Rebolledo D., A. Trujillo de la L., M. González R. and S. Briceño R. 1997. Evaluation of entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) against *Anthonomus fulvipes* (Coleoptera: Curculionidae) in organically grown Barbados cherry trees. *Vedalia* 4: 25-30.

Lezama G., R., R. Alatorre R. y F. Sánchez. 1994. Evaluación de cepas de *Nomuraea rileyi* y *Paecilomyces fumosoroseus* contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Vedalia* 1: 19-22.

Lezama G., R., R. Alatorre R., L. F. Bojalil J., J. Molina O., M. Arenas V., M. González R. and O. Rebolledo D. 1996a. Virulence of five entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and neonate larvae. *Vedalia* 3: 35-40.

Lozano G., J. y M. P. España L. 2006. Enemigos naturales y control biológico de *Brachystola magna* (Girard) y *B. mexicana* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae) con *Beauveria bassiana* en Zacatecas, México. *Vedalia* 13 (2): 91-96.

M Ortíz-Catón, R Alatorre-Rosas, R Valdivia-Bernal, A Ortíz-Catón, R Medina-Torres, G Alejo-Santiago. (2011). Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos Entomopatógenos. *Revista Bio Ciencias*, Año 12, vol. 8. Recuperado de: <http://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/14/12>.

Marcelis, I. F. M., Elings, A., de Visser, P. H. B. and Heuvelink, E. 2009. Simulating growth and development of tomato crop. *Acta Hort.* 821:101-110.

Mellín R., M. A., J. A. Sánchez G., A. M. Cruz Á., R. Montesinos M. y H.C. Arredondo B. 2016. Patogenicidad de cepas de hongos entomopatógenos sobre *Diaphorina citri* Kuwayama en condiciones de laboratorio. *Southwestern Entomologist* , 41(3):791-800. Doi:10.3958/059.041.0321.

Molina O., J., J. J. Hamm, R. Lezama G., L. F. Bojalil J., M. Arenas V. and M. González R. (1996). Virulence of six entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and

Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Vedalia* 3: 25-30.

Molina T., L., D. Mejía M., L. A. Cisneros V. y M. G. Vázquez M. (2013). Infección de mosquitos *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vectores del dengue por hongos entomopatógenos. *Entomología Mexicana* 12(1): 446- 451.

Motta-Delgado, Pablo Andrés; Murcia-Ordoñez, Betselene. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas *Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, vol. 6, núm. 2, pp. 77-90.

Nájera R., M. B., M. García M., R. L. Crocker, V. Hernández V. y L. A. Rodríguez del B. (2005). Virulencia de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, nativos del occidente de México, contra larvas de tercer estadio de *Phyllophaga crinita* (Coleoptera: Melolonthidae) bajo condiciones de laboratorio. *Fitosanidad* 9(1): 33-36.

Nava P., E., C. García G., J. R. Camacho B. y E. L. Vázquez M. (2012). Bioplaguicidas: Una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai* 8(3b): 17-29.

Pacheco B., L. R, M. Moreno R., L. A. Arriola M., M. Valencia P., R. Lezama G., E. Corona B. y C. A. Angel S. 2015. Formulados de *Beauveria bassiana* (BALSAMO) Vuillemin sobre *Ctenocephalides canis* (Curtis): resultados preliminares. *Entomología Mexicana* 2: 272-277.

Pacheco Hernández, Ma. de Lourdes, Reséndiz Martínez, J. Francisco, & Arriola Padilla, Víctor J. (2019). Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56), 4-32. Epub 30 de abril de 2020. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>

Pérez C., N. 2004. Manejo ecológico de plagas. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural- CEDAR. La Habana, Cuba. 292 p.

Pérez-González, O., M. G. Maldonado-Blanco, R. I. Torres-Acosta, R. Rodríguez-Guerra, M. Elías-Santos y J. I. López-Arroyo. 2013. Evaluación de aislados mexicanos

de *Hirsutella citriformis* Speare contra *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) en laboratorio. *Entomología Mexicana* 12(1):381- 386.

Pérez-Salgado, J., M. D. Ángel-Ríos, A. Arteaga-Deloya, E. Hernández-Castro y A. Damián-Nava. 2013. Hongos entomopatógenos y extractos vegetales contra escama blanca (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en cultivo de mango en San Luis La Loma, municipio de Tecpan de Galeana, Gro., México. *Entomología Mexicana* 12(1):452-455.

Ponce, G., A. E. Flores, M. H. Badii, I. Fernández, T. González, M. L. Rodríguez y J. A. Chiu. 2003. Evaluación de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Vectobac 12 AS) sobre la población larval de *Aedes aegypti* en el área metropolitana de Monterrey N.L., México. *Revista Salud Pública y Nutrición* 4(3): 1-6.

Produce. (2012). Productos: Jitomate. Recuperado de: <http://www.mexicoproduce.mx/productos.html#jitomate>.

Pulido-Herrera, A., E. Zavaleta-Mejía, L. Cervantes-Díaz y O. Grimaldo-Juárez. 2012. Alternativas de control en la pudrición radical de cebolla para el Valle de la Trinidad, Baja California. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3(1): 97-112. Doi:10.29312/remexca.v3i1.1483.

Rebollar, A., A. (2011). Manejo integral de la fitosanidad en el arándano y la zarzamora. UACH, México.

Rivera-Oliver, R., C. A. Angel-Sahagún, A. M. Cruz-Avalos, R. Lezama-Gutiérrez, M. Canchola-Ramírez y J. Molina-Ochoa. 2013. Patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre huevos de diferente edad de la garrapata *Rhipicephalus microplus*. *Entomología Mexicana* 12(1): 346-350.

Rivera-Ramírez, L. V., C. A. Angel-Sahagún, M. Valencia-Posadas, J. E. Ortega-Palomares y M. Canchola-Ramírez. 2013. Evaluación de hongos entomopatógenos sobre pulgas *Ctenocephalides canis*: resultados preliminares. *Entomología Mexicana* 12(1): 356- 359.

Rubio S. V. y A. Fereres C. 2005. Control biológico de plagas y enfermedades de los cultivos. Centro de Ciencias Medioambientales (CCMA-CSIC). Departamento de Protección Vegetal. Madrid, España. pp. 1- 16.

Ruiz S., E., A. T. Rosado C., W. Chan C., J. Cristóbal A. y R. Munguía R. 2009. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin sobre estados inmaduros de mosquita blanca (*Bemisia tabaci* Genn.). *Fitosanidad* 13(2): 89- 93.

Ruiz V., J., T. Aquino B., M. E. Silva R. y S. Girón P. 2012. Control integrado de la gallina ciega *Phyllophaga vetula* Horn (Coleoptera: Melolonthidae) con agentes entomopatógenos en Oaxaca, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 12 (3): 609-616.

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación). (2012). Agricultura protegida (2012). El cultivo de tomate. Recuperado de: <http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/paginas/agricultura-protegida2012.aspx>.

Sánchez P., L., S. Rodríguez N., V. Marín C., M. Ramos L., A. Ramos and J. Barranco F. 2016. Assessment of *Beauveria bassiana* and their enzymatic extracts against *Metamasius spinoiae* and *Cyclocephala lunulata* in laboratory. *Advances in Enzyme Research* 4: 98-112. Doi:10.4236/aer.2016.43010.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa). 2015. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-032-FITO-1995, por la que se establecen los NOM-032-FITO-1995. 2015. Requisitos y especificaciones fitosanitarias para la realización de estudios de efectividad biológica de plaguicidas agrícolas y su Dictamen Técnico. Diario Oficial de la federación. Tercera sección. Martes 11 de agosto de 2015. [https://dof.gob.mx/nota\\_doc.php%3Fcodnota%3D5403310](https://dof.gob.mx/nota_doc.php%3Fcodnota%3D5403310) (26 de enero de 2019).

Sociedad Mexicana de Control Biológico (SMCB). 2018. Página oficial de la SMCB. <https://www.smcb-mx.org/> . (22 de noviembre de 2018).

Solís S., A., C. García G., M. B. González M., H. Medrano R. y L. J. Galán W. 2006. Toxicidad de blastosporas de *Beauveria bassiana* (Vuill) sobre palomilla del manzano

*Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Folia Entomológica Mexicana* 45(2): 195-200.

Tafoya, F., M. Zúñiga D., R. Alatorre, J. Cibrián T. and D. Stanley. 2004. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycota: hyphomycetes) against the cactus weevil, *Metamasius spinolae* (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory conditions. *Florida Entomologist* 87(4): 533-536. Doi:10.1653/0015-4040(2004)087[0533:POBBDH]2.0.CO;2.

Tamayo M., F. 2009. Control biológico de *Sphenarium purpurascens* (Charpentier) y *Melanoplus differentialis* (Thomas) (Orthoptera: Acrididae) con *metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, en Guanajuato, México. *Vedalia* 13 (2): 85-90.

Toledo, J., C. Pérez, P. Liedo y J. E. Ibarra. 2005. Susceptibilidad de larvas de *Anastrepha obliqua* macquart (Diptera: Tephritidae) a *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (Rhabditida: Heterorhabditidae) en condiciones de laboratorio. *Vedalia* 12 (1): 11-22.

Toledo, J., J. L. Gurgúa, P. Liedo, J. E. Ibarra y A. Oropeza. 2001. Parasitismo de larvas y pupas de la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: tephritidae) por el nematodo *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae). *Vedalia* 8: 27-36.

Trevor, W., H. C. Arredondo B. and L. A. Rodríguez del B. 2013. Biological pest control. *Annual Review of Entomology* 58:119-40. Doi: 10.1146/annurev-ento-120811-153552.

Villegas R., F., O. Díaz G., J. S. Casas F., C. T. Monreal V., F. Tamayo M. y S. Aguilar Ml. 2017. Actividad de dos hongos entomopatógenos, identificados molecularmente, sobre *Bactericera cockerelli*. *Revista Colombiana de Entomología* 43(1): 27-33. Doi:10.25100/socolen.v43i1.6643.

Zumaquero R., J. L., J. J. López T., R. Rojas G. and S. Estibaliz. 2014. Lethal effects of a Mexican *Beauveria bassiana* (Balsamo) strain against *Meccus pallidipennis* (Stal). *Brazilian Journal of Microbiology* 45(2): 551-557. Doi:10.1590/S1517-83822014000200025.

## CAPITULO VII. ANEXOS

### Anexo 1. Conteo de inóculo en cámara Neubauer

- 1.- se preparan cajas con PDA para la siembra de los entomopatógenos y se crecen por 10 días.
- 2.- se prepara agua estéril y por cada litro se le agregan 20 gotas de Tween 20.
- 3.- a cada caja se le agregan 2 ml de agua conteniendo Tween 20 y se raspa el micelio con una varilla de vidrio esto para evitar que las esporas vuelen.
- 4.- se deposita el micelio en el agua estéril.
- 5.- cuando se tiene todo el inóculo se agita y luego se filtra en un embudo conteniendo 5 gasas estériles para retener el micelio del hongo y obtener una concentración de conidios.
- 6.- se toma un alícuota 10 ml y se deposita en la cámara Neubauer y se inicia el conteo en la cuadrícula que contiene 3 líneas como borde, en cada cuadro se hace el conteo y al final se suma y el resultado se multiplica por 10,000

#### Ejemplo: conteo de *Beauveria*

C1	90	86	97	73	80	426
C2	67	69	65	80	65	346
C3	94	84	98	96	105	477
C4	80	77	92	80	55	244
C5	91	81	72	56	60	280
						1773

$$\frac{1773 \times 10,000}{17730,000}$$

$$17730,000$$

Ahora si necesito una concentración de  $1 \times 10^9$  pero en un litro de solución

$$V_1C_1 = V_2C_2$$

$$1,100 \times (17,730,000) = (1000\text{ml}) (1 \times 10^9)$$

$$X = \frac{(1000\text{ml}) (1 \times 10^9)}{(17,730,000)}$$

$$(17,730,000)$$

## Anexo 2. Análisis estadísticos

Sistema SAS 09:13 Monday, October 22, 2021 1

Obs	trat	bloq	den1	den2
1	1	1	3	2
2	1	2	2	2
3	1	3	3	1
4	1	4	1	0
5	2	1	6	7
6	2	2	7	9
7	2	3	6	7
8	2	4	6	9
9	3	1	2	2
10	3	2	3	1
11	3	3	1	2
12	3	4	1	2
13	4	1	15	16
14	4	2	14	15
15	4	3	15	20
16	4	4	12	18

Sistema SAS 09:13 Monday, October 22, 2021 2

### Procedimiento ANOVA

#### Información de nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
trat	4	1 2 3 4
bloq	4	1 2 3 4

Número de observaciones leídas	16
Número de observaciones usadas	16

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: den1

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	390.8750000	65.1458333	96.71	<.0001
Error	9	6.0625000	0.6736111		
Total corregido	15	396.9375000			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	den1 Media
0.984727	13.53795	0.820738	6.062500

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	3	384.6875000	128.2291667	190.36	<.0001
bloq	3	6.1875000	2.0625000	3.06	0.0841

Sistema SAS 09:13 Monday, October 22, 2021 4

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: den2

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	668.3750000	111.3958333	48.76	<.0001
Error	9	20.5625000	2.2847222		
Total corregido	15	688.9375000			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	den2 Media
0.970153	21.40219	1.511530	7.062500

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	3	666.6875000	222.2291667	97.27	<.0001
bloq	3	1.6875000	0.5625000	0.25	0.8620

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para den1

NOTE: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Grados de libertad de error	9
Error de cuadrado medio	0.673611
Valor crítico del rango estudentizado	4.41489
Diferencia significativa mínima	1.8117

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	trat
A	14.0000	4	4
B	6.2500	4	2
C	2.2500	4	1
C			
C	1.7500	4	3

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para den2

NOTE: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Grados de libertad de error	9
Error de cuadrado medio	2.284722
Valor crítico del rango estudentizado	4.41489
Diferencia significativa mínima	3.3366

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	trat
A	17.250	4	4

B	8.000	4	2
C	1.750	4	3
C			
C	1.250	4	1

**MORANDAD, MELANIZACIÓN Y LENTA MOVILIDAD DE LOS INSECTOS PRIMERA APLICACIÓN**

Sistema SAS 15:14 Monday, October 22, 2021 1

Obs	trat	bloq	mortandad	melanizacion	lenta
1	1	1	116	2	0
2	1	2	107	6	2
3	1	3	100	8	3
4	1	4	115	9	1
5	2	1	118	1	1
6	2	2	104	12	4
7	2	3	117	1	2
8	2	4	115	4	1
9	3	1	34	2	1
10	3	2	38	1	1
11	3	3	20	0	0
12	3	4	24	2	0
13	4	1	5	2	1
14	4	2	2	1	1
15	4	3	2	1	1
16	4	4	1	0	0

Sistema SAS 15:14 Monday, October 22, 2021 2  
 Procedimiento ANOVA

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
trat	4	1 2 3 4
bloq	4	1 2 3 4

Número de observaciones leídas 16  
 Número de observaciones usadas 16

Variable dependiente: mortandad

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	38257.50000	6376.25000	156.69	<.0001
Error	9	366.25000	40.69444		
Total corregido	15	38623.75000			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	mortandad Media
0.990517	10.02628	6.379220	63.62500

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	3	38108.75000	12702.91667	312.15	<.0001
bloq	3	148.75000	49.58333	1.22	0.3581

Sistema SAS 15:14 Monday, October 22, 2021 4  
 Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: melanizacion

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	103.0000000	17.1666667	1.72	0.2237
Error	9	90.0000000	10.0000000		
Total corregido	15	193.0000000			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	melanizacion Media
0.533679	97.30085	3.162278	3.250000

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	3	78.50000000	26.16666667	2.62	0.1152
bloq	3	24.50000000	8.16666667	0.82	0.5164

Variable dependiente: lenta

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	11.3750000	1.89583333	2.42	0.1131
Error	9	7.0625000	0.78472222		
Total corregido	15	18.4375000			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	lenta Media
0.616949	74.59751	0.885845	1.187500

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	3	5.6875000	1.89583333	2.42	0.1337
bloq	3	5.6875000	1.89583333	2.42	0.1337

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para **mortandad**

NOTE: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Grados de libertad de error	9
Error de cuadrado medio	40.69444
Valor crítico del rango estudentizado	4.41489
Diferencia significativa mínima	14.082

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	trat
A	113.500	4	2
A			
A	109.500	4	1
B	29.000	4	3
C	2.500	4	4

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para **melanizacion**

NOTE: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Grados de libertad de error	9
Error de cuadrado medio	10
Valor crítico del rango estudentizado	4.41489
Diferencia significativa mínima	6.9806

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	trat
A	6.250	4	1
A			
A	4.500	4	2
A			
A	1.250	4	3
A			
A	1.000	4	4

Sistema SAS 15:14 Monday, October 22, 2021 8

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para **lenta movilidad**

NOTE: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Grados de libertad de error	9
Error de cuadrado medio	0.784722
Valor crítico del rango estudentizado	4.41489
Diferencia significativa mínima	1.9555

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	trat
A	2.0000	4	2
A			
A	1.5000	4	1
A			
A	0.7500	4	4
A			
A	0.5000	4	3

**Mortandad, Melanización y Lenta movilidad Segundo muestreo**

Sistema SAS 15:14 Monday, October 22, 2021 9

Obs	trat	bloq	mortandad	melanizacion	lenta
1	132	4	2	120	8
2	127	2	3	130	5
3	132	8	0	132	2
4	132	1	3	132	5
5	32	4	4	18	1
6	37	1	3	35	4
7	7	3	1	5	2
8	3	1	1	5	2

Sistema SAS 15:14 Monday, October 22, 2021 10

Procedimiento ANOVA

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
trat	6	3 7 32 37 127 132
bloq	5	1 2 3 4 8
Número de observaciones leídas		8
Número de observaciones usadas		8

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: mortandad

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	9	12.87500000	1.43055556	.	.
Error	-2	0.00000000	.		
Total corregido	7	12.87500000			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	mortandad Media
1.000000	.	.	2.125000

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	5	8.20833333	1.64166667	.	.
bloq	4	8.20833333	2.05208333	.	.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: melanizacion

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	9	26130.87500	2903.43056	.	.
Error	-2	0.00000	.		
Total corregido	7	26130.87500			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	melanizacion Media
1.000000	.	.	72.12500

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	5	26034.87500	5206.97500	.	.
bloq	4	12116.20833	3029.05208	.	.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: lenta

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	9	28.58333333	3.17592593	.	.
Error	-2	0.00000000	.		
Total corregido	7	37.87500000			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	lenta Media
0.754675	.	.	3.625000

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
trat	5	19.87500000	3.97500000	.	.
bloq	4	8.70833333	2.17708333	.	.

Procedimiento ANOVA

Nivel de		-----mortandad-----		-----melanizacion-----		-----lenta---	
trat	N	Media	Dev tip	Media	Dev tip	Media	
3	1	1.00000000	.	5.000000	.	2.00000000	.
7	1	1.00000000	.	5.000000	.	2.00000000	.
32	1	4.00000000	.	18.000000	.	1.00000000	.
37	1	3.00000000	.	35.000000	.	4.00000000	.
127	1	3.00000000	.	130.000000	.	5.00000000	.
132	3	1.66666667	1.52752523	128.000000	6.92820323	5.00000000	
		3.00000000					