

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
ÁREA ACADÉMICA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES**

**RELACIÓN DE VARIABLES DE CALIDAD E INFECTIVIDAD  
DE AISLADOS SILVESTRES DEL HONGO  
ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana*.**

**TESIS**

**Para obtener el grado de Maestría en Ciencias y  
Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable.**

**PRESENTA: Ing. Astrid Itzel Meléndez Alonso**

**Director de Tesis:**

Dr. Paul Misael Garza López

**Codirectora:**

Dra. Josefa Espitia López

Tulancingo de Bravo, Hgo., Diciembre de 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Agropecuarias

School of Forestry and Environmental Studies

Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

ICAP-MCTAFS/002/2021

**M en A. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO**  
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
PRESENTE

Por este conducto se le comunica que el Comité Revisor asignado al alumno **Astrid Itzel Meléndez Alonso**, de la Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable, con número de cuenta **No.231902**, que presenta el manuscrito de tesis titulado **“Relación de variables de calidad e infectividad de aislados silvestres del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*”**, ha autorizado la impresión del mismo.

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE

“Amor, Orden y Progreso”

Tulancingo de Bravo, Hgo. al 04 de noviembre del 2021.



**Dra. Eliazar Aquino Torres**  
Coordinadora de la Maestría en  
Ciencias y Tecnología Agrícola y  
Forestal Sustentable

**Dr. Armando Peláez Acero**  
Director del ICAP



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetz  
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600  
Teléfono: +52 (771) 71 72000 ext 2461  
pelaeza@uaeh.edu.mx

[www.uaeh.edu.mx](http://www.uaeh.edu.mx)



**COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP**

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

**Apertura:**

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Relación de variables de calidad e infectividad de aislados silvestres del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.", que desarrolla el estudiante Astrid Itzel Meléndez Alonso.

**Asistentes:**

**Dr. Paul Misael Garza López**

**Dra. Josefa Espitia López**

**Dr. Octavio Loera Corral**

**Dr. Oscar Arce Cervantes**

**Observaciones:**

**A. Revisión de Trabajo de Tesis**

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por Astrid Itzel Meléndez Alonso, comunicando a la estudiante, realizó oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

**B. Acuerdos**

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 3 de noviembre de 2021.

Dr. Paul Misael Garza López

Dra. Josefa Espitia López

Dr. Octavio Loera Corral

Dr. Oscar Arce Cervantes



## **AGRADECIMIENTOS**

A CONACYT por la beca otorgada No. CVU 1013201.

A la Universidad Autónoma Del Estado De Hidalgo y al Instituto De Ciencias Agropecuarias por brindar lo necesario para obtener este logro y por permitirme ser parte de esta gran comunidad universitaria.

A los doctores Paul Misael Garza López y Josefa Espitia López, por transmitirme su sabiduría y conocimiento, por su paciencia, dedicación y por el apoyo incondicional, gracias por guiarme durante todo este tiempo y por siempre tener una palabra de ánimo. Gracias por confiar en mi y por la disposición para realizar este trabajo.

A todos los profesores que me formaron, gracias por sus aportaciones, sus consejos, sus correcciones y sus enseñanzas.

A Dios, pues sin él, simplemente nada de esto hubiese sido posible.

A mis padres Jesús y Rosa Ana, por apoyarme y amarme tanto, por motivarme para ser mejor cada día y por enseñarme a no darme por vencida. Gracias a toda mi familia que vivió el proceso y me brindo su amor y su apoyo.

A Xareni, por ser ese motor que mueve cada día de mi vida. Gracias hija, por tu paciencia, por tu apoyo, por creer en mí y por siempre recibirme con una sonrisa. Simplemente gracias por existir.

A cada una de mis compañeras, por las palabras de aliento, por los momentos y enseñanzas compartidas.

Finalmente, gracias a todas las personas que fueron parte de este proceso y que de alguna manera me impulsaron para cumplir este sueño.

# ÍNDICE

GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	i
RELACIÓN DE TABLAS, GRÁFICAS E ILUSTRACIONES .....	ii
Índice de ilustraciones.....	ii
Índice de tablas.....	ii
Índice de gráficas .....	ii
RESUMEN.....	iii
INTRODUCCIÓN.....	1
Control biológico.....	1
Hongos entomopatógenos .....	4
Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos.....	5
<i>Beauveria bassiana</i> .....	8
Distribución natural .....	9
ANTECEDENTES .....	10
JUSTIFICACIÓN .....	12
HIPÓTESIS .....	13
OBJETIVOS.....	13
Objetivo general .....	13
Objetivos específicos.....	13
METODOLOGÍA.....	14
Aislados de <i>Beauveria Bassiana</i> .....	14
Caracterización morfológica de los aislados .....	14
Determinación de parámetros de crecimiento y calidad de los aislados de <i>B. bassiana</i> .....	15
Porcentaje de germinación.....	15
Porcentaje de viabilidad .....	15
Concentración de conidios.....	16
Insectos utilizados en el bioensayo .....	16

<b>Bioensayo</b> .....	17
<b>Determinación de parámetros de infectividad</b> .....	18
<b>Análisis Estadístico</b> .....	18
<b>RESULTADOS</b> .....	19
<b>Porcentaje de germinación</b> .....	19
<b>Porcentaje de viabilidad</b> .....	20
<b>Concentración de conidios</b> .....	21
<b>Parámetros de infectividad</b> .....	22
<b>Análisis de Componentes Principales (PCA)</b> .....	23
<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	25
<b>CONCLUSIONES</b> .....	28
<b>PERSPECTIVAS</b> .....	28
<b>REFERENCIAS</b> .....	30
<b>CONGRESOS</b> .....	34

## **GLOSARIO DE TÉRMINOS**

Ciencias ómicas: Son las ciencias que permiten estudiar un gran número de moléculas, implicadas en el funcionamiento de un organismo.

ACB: Agentes de Control Biológico.

Germinación de conidios: Se considera un conidio germinado si ha formado un tubo germinal que es tan largo como el ancho del conidio.

Viabilidad: Es la capacidad de un conidio de generar una colonia.

UFC: Unidades formadoras de colonias.

TL<sub>50</sub>: Tiempo en que muere el 50% de los insectos infectados.

t<sub>0</sub>: Tiempo de retardo de inicio de muerte.

S: Porcentaje de sobrevivencia al término de la observación.

AMS modificado: Agar Maltosa Sabouraud modificado.

## RELACIÓN DE TABLAS, GRÁFICAS E ILUSTRACIONES

### Índice de ilustraciones

<b>Ilustración 1.</b> Esquema de la cutícula de un insecto y el proceso de infección de los hongos entomopatógenos.....	7
<b>Ilustración 2.</b> Matraces inoculados con los cuatro aislados silvestres de <i>B. bassiana</i> .....	15
<b>Ilustración 3.</b> Tres estadios del insecto <i>Tenebrio molitor</i> .....	16
<b>Ilustración 5.</b> Insectos muertos en placa Petri.....	17
<b>Ilustración 4.</b> Insectos infectados en placa Petri. ....	17

### Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de <i>Beauveria bassiana</i> .....	8
<b>Tabla 2.</b> Parámetros de infectividad $TL_{50}$ , $t_0$ y $S$ de los aislados de <i>B. bassiana</i> .....	22

### Índice de gráficas

<b>Gráfica 1.</b> Porcentaje de germinación de conidios de aislados silvestres de <i>B. bassiana</i> obtenidos en el estado de Hidalgo cultivados en medio AMS modificado.....	19
<b>Gráfica 2.</b> Porcentaje de viabilidad de los aislados silvestres de <i>B. bassiana</i> obtenidos en el estado de Hidalgo cultivados en medio AMS modificado.....	20
<b>Gráfica 3.</b> Concentración de conidios de los aislados silvestres de <i>B. bassiana</i> obtenidos en el estado de Hidalgo cultivados en medio AMS modificado. ....	21
<b>Gráfica 4.</b> Análisis de Componentes Principales (PCA) Contrastando parámetros de calidad (Viabilidad, germinación de conidios y concentración de conidios) con parámetros de infectividad ( $TL_{50}$ y $t_0$ ).....	24

## RESUMEN

El control biológico en México se ha desarrollado en los últimos años como una alternativa al control de plagas, pues al romperse el equilibrio de los ecosistemas con la sobreproducción de productos de origen agropecuario se alteró el balance natural entre plagas y sus enemigos naturales. Debido a este problema, en los años noventa se dispuso especial atención al estudio de la ecología de las plagas y de los enemigos naturales, pues se concluyó que con un adecuado manejo se puede reducir el uso de plaguicidas e incentivar el equilibrio del agroecosistema.

Durante los últimos años, la constante investigación ha llevado a encontrar una amplia variedad de enemigos naturales, entre ellos, algunos insectos, parasitoides y hongos. En el caso particular de la presente tesis se sitúa en el estudio de los hongos entomopatógenos, pues están ampliamente extendidos por todo el mundo y algunos estudios han mostrado que en México se sitúa una extensa diversidad de especies de hongos entomopatógenos nativas de ciertas regiones del país, uno de ellos es el hongo *Beauveria bassiana*, que ha sido encontrado en un amplio rango de insectos y de ecosistemas alrededor del país.

Es debido a toda la información recabada acerca de la importancia del equilibrio de los ecosistemas, de la producción agrícola y de los hongos entomopatógenos como enemigos naturales nativos de ciertas regiones de nuestro país, que en este proyecto se presentan los análisis de cuatro aislados silvestres del hongo *B. bassiana* nativos del estado de Hidalgo.

Se realizó la evaluación de variables de calidad e infectividad de estos aislados silvestres y posteriormente se llevó a cabo la relación entre las variables y la comparación entre todos los aislados. De acuerdo con lo anterior, se observó que los aislados que presentaron mejores resultados fueron Bb TUL y Bb SAN I, pues mostraron datos de germinación y viabilidad mayores al 80% y al complementar los datos de las demás variables, se puede inferir que con las pruebas realizadas *in vitro* son candidatos para ser considerados como agentes de control biológico en el estado de Hidalgo.

## **INTRODUCCIÓN**

### **Control biológico**

Se ha observado que la actividad agrícola para producción de alimentos o diferentes servicios depende no solo de los cultivos empleados, sino también de la biodiversidad asociada a los ecosistemas agrícolas. Tomando en cuenta el enfoque ecosistémico, el control biológico de plagas, es una manera de potenciar la biodiversidad asegurando al mismo tiempo la producción (FAO, 2015).

Se entiende como control biológico al empleo de organismos vivos para el control de plagas, que se definen como un organismo que reduce la disponibilidad, calidad o valor de los recursos valiosos para los humanos. Se conocen dos formas de control biológico: el primero es el natural, que se refiere al que se encarga de regular dos poblaciones, insectos que se alimentan de plantas (fitófagos) y su enemigo natural, que se alimenta de insectos, estas dos poblaciones se encuentran en equilibrio en el ecosistema; el segundo es el aplicado, en el cual es necesaria la intervención humana para llevarse a cabo.

Existen tres tipos de estrategias de control biológico:

1. El clásico. Se refiere al uso de enemigos naturales contra una especie exótica que se ha establecido en un área específica, pero sin su gremio completo de enemigos naturales. Esta estrategia incluye de igual manera la posibilidad de establecer el uso de especies introducidas que se producen en laboratorio. Para su aplicación es necesario conocer a fondo la ecología de la plaga y de esta manera saber qué tipo de especie implementar para su control.
2. Por aumento. La estrategia indica que cuando los enemigos naturales son efectivos, pero no son capaces de limitar el daño de la plaga, por ser muy pocos o por actuar demasiado tarde, se recurre a la liberación del enemigo natural (preferentemente) o de organismos benéficos en grandes cantidades, a través de la formulación o multiplicación de productos elaborados en un laboratorio.
3. Por conservación. Esta estrategia se basa en conservar y promover el uso de los enemigos naturales y nativos de una plaga en específico, esto con el

fin de ampliar la actividad sobre las plagas. Esta estrategia va preferentemente enfocada a plagas endémicas.

En este caso se liberan a organismos que son capaces de interactuar con el medio con el menor impacto posible, con esto se busca que las plagas se regulen a través de estos organismos sin utilizar plaguicidas (CIMMYT, 2020; Shah & Pell, 2003; Rodríguez del Bosque & Arredondo-Bernal, 2007).

Las estrategias mencionadas anteriormente se han estudiado durante un largo tiempo en la búsqueda de reducir el uso de los plaguicidas, así como para descubrir nuevos planes y especies que puedan utilizarse para reducir las pérdidas económicas por la afectación de las plagas, ya que, en el afán de enfrentar a las plagas se han utilizado en forma excesiva los insecticidas químicos.

Por ello, de acuerdo con Rodríguez del Bosque & Arredondo-Bernal, (2007) es urgente llevar a cabo acciones inmediatas para impulsar el control biológico en tareas como:

1. Fortalecer las necesidades del control biológico clásico
2. Mejorar las tácticas de control biológico por aumento
3. Vigilar la calidad de los enemigos naturales disponibles en el mercado
4. Incrementar la eficiencia de la producción y distribución de enemigos naturales
5. Hacer conciencia entre los agricultores sobre la importancia del control natural
6. Fortalecer las políticas de conservación y preservar la biodiversidad.

Actualmente en un intento por preservar la biodiversidad y a la vez mejorar la sostenibilidad en la protección de cultivos, los entomopatógenos fúngicos se han investigado ampliamente como agentes de control biológico de insectos plaga, ya que proporcionan un importante servicio ecosistémico por ser enemigos naturales importantes de muchas especies de insectos y ácaros (Roy, *et al.*, 2010).

. Dado que existe información limitada que indique que la adopción del MIP reduce el uso de pesticidas químicos, no hay impacto en el uso mundial de pesticidas

químicos dentro de las estrategias de MIP (Farrar et al. 2015; Pretty & Bharucha 2015). Una metodología propuesta dentro del MIP es el uso de bacterias y hongos como enemigos naturales de las plagas.

De acuerdo con dicha importancia, se ha permitido el desarrollo de alternativas sustentables como son los micopesticidas y se han desarrollado programas de manejo integrado de plagas (MIP) con el fin de obtener cultivos saludables mediante diferentes metodologías que no excluyen los pesticidas químicos, pero minimizan su uso pues se ha vuelto tendencia el reducir su uso (Muñiz-Paredes *et al.*, 2017). Desde principio del año 2000, más del 75% de los micopesticidas desarrollados y registrados se han mantenido en el mercado; dichas formulaciones están hechas a partir de conidios de hongos entomopatógenos (Miranda-Hernández *et al.*, 2016).

Y es por eso que en los últimos años la investigación en México en el campo del control biológico ha sido cada vez más activa. Inicialmente incentivando con campañas implementadas por instancias gubernamentales, mediante el uso de insectos depredadores, parasitoides o insectos estériles; y posteriormente, con la inclusión de hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium* spp), hongos filamentosos y bacterias, para el control de plagas de importancia nacional (Rodríguez-del-Bosque & Arredondo-Bernal, 2007).

A través de las investigaciones y de los recientes descubrimientos de nuevos agentes y/o el entendimiento de las interacciones planta-patógeno-ACB (agentes de control biológico) de origen microbiano, los mecanismos de acción y ecología de dichos ACB en los agroecosistemas y, mediante el empleo de los avances recientes de las ciencias ómicas, se ha determinado que es muy importante el conjunto para lograr la publicación y difusión de las investigaciones científicas innovadoras, desarrolladas por diversas universidades y centros de investigación del país, para posteriormente lograr el registro, comercialización y éxito de bioplaguicidas formulados para su uso y aplicación de una manera más eficiente y continua en México (Córdova-Albores *et al.*, 2020).

## Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos, al igual que otros insectos enemigos naturales, se han empleado en las tres estrategias de control biológico (Shah & Pell, 2003). Pero no fue sino a principios del año de 1800 que se inició con los primeros estudios con hongos entomopatógenos realizados en Francia, esto se llevó a cabo debido a la necesidad de desarrollar alternativas para el control de enfermedades que atacaban la industria del gusano de seda. En estudios subsecuentes, al profundizar en la enfermedad del gusano se descubrió que la enfermedad también infectaba a otros insectos y es así que estimuló la idea de utilizar hongos patógenos para ser utilizados en la actividad agrícola como control de plagas (Vega *et al.*, 2009).

Los hongos entomopatógenos integran un grupo diverso de microorganismos y existen más de 700 especies de hongos en aproximadamente 100 géneros que se presentan con una distribución mundial, este tipo de hongos son heterotróficos, eucariontes, unicelulares o hifales y se reproducen sexual o asexualmente (Rodríguez-del-Bosque & Arredondo-Bernal, 2007). En un estudio realizado por Miranda-Hernández *et al.*, (2016) se menciona que existe una hipótesis, de que la patogenicidad de estos hongos hacia los insectos es un paso evolutivo, característica que estos organismos desarrollaron a partir de un hábitat original como endosimbiontes de plantas.

Dentro de los hongos entomopatógenos destacan los géneros *Metarhizium* y *Beauveria*, los que se encuentran distribuidos con amplitud en la naturaleza. Varias características hacen de estos hongos los más frecuentemente utilizados como controladores biológicos de insectos. Entre ellas destacan el poseer ciclos reproductivos cortos, la simplicidad de cultivarlos en forma masiva y su abundante producción de conidios (esporas) desde los cadáveres de insectos parasitados, las que posteriormente son diseminadas con facilidad por el aire y quedan disponibles para iniciar un nuevo ciclo infectivo (Urtubia & France, 2007).

Sin embargo, para que se pueda llevar a cabo de manera óptima el ciclo infectivo de los hongos es necesario tener en cuenta los factores ambientales, principalmente los abióticos:

- La temperatura, la cual afecta directamente el proceso de desarrollo de la enfermedad.
- La humedad, que es un factor indispensable para la germinación y diseminación de los conidios.
- El viento y las lluvias, que actúan como agentes importantes de diseminación.
- La luz solar, ya que el efecto directo de la radiación solar, específicamente los rayos UV, causan alteraciones que pueden reducir la persistencia de los hongos (Rodríguez-del-Bosque & Arredondo-Bernal, 2007).

### **Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos**

Los hongos entomopatógenos tienen mecanismos de invasión únicos, pues infectan a los insectos por contacto y adhesión de conidios, los conidios son producidos asexualmente y generalmente se dispersan por todo el entorno en el que están presentes los insectos hospederos. Cuando los conidios aterrizan en la cutícula de un huésped adecuado se adhieren, dicha unión se debe tanto a la hidrofobicidad de los conidios, así como a las superficies cuticulares (Shah & Pell, 2003).

Posteriormente comienza la germinación, el éxito de ésta y de la infección dependen de una serie de factores, un hospedador susceptible y una etapa del hospedador y ciertos factores ambientales, como la temperatura y la humedad óptimas. La germinación está además influenciada por ciertos lípidos cuticulares, como ácidos grasos de cadena corta, aldehídos, ésteres de cera, cetonas y alcoholes que pueden poseer actividad antimicrobiana (Zimmerman, 2007).

Al germinar comienzan a producir tubos germinativos, los cuales se deslizan sobre la cutícula con la finalidad de localizar sitios receptores, en especial en áreas más delgadas y no esclerotizadas de la cutícula, como las articulaciones, entre los segmentos o las piezas bucales con la finalidad de localizar dónde la hifa puede penetrar al insecto, asimismo se forman los apresorios (que sirven para el anclaje) con los cuales ejerce una presión hacia el interior del insecto facilitando la invasión del hongo y se comienza el proceso infectivo y la asociación patógeno-hospedero (Zimmerman, 2007; Mota-Delgado & Murcia-Ordoñez, 2011).

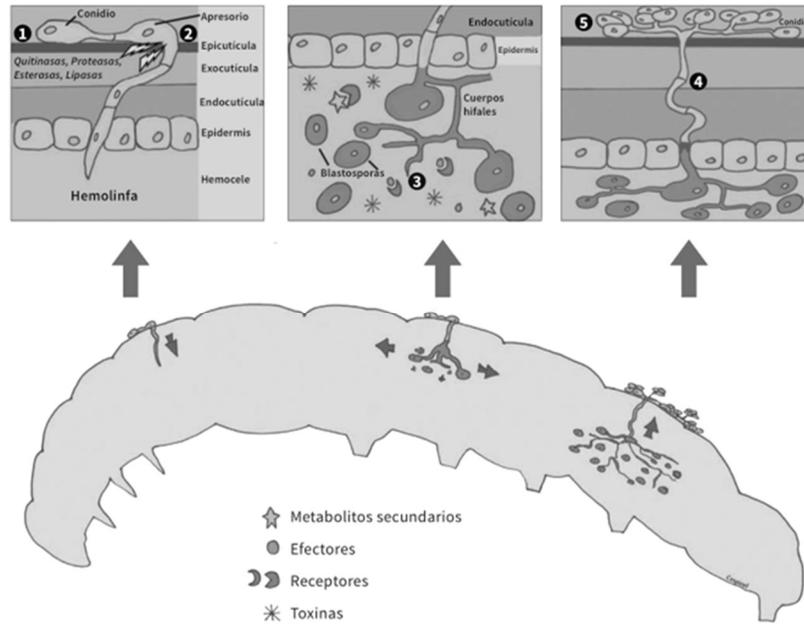
Inmediatamente se inician cascadas de reconocimiento y reacciones de activación enzimática tanto del huésped como del parásito fúngico. Algunas de las enzimas producidas por los hongos son: proteasas, quitinasas y lipasas (Shah & Pell, 2003; Zimmerman, 2007). Una vez que el hongo ha atravesado la cutícula del esqueleto externo del insecto, se inicia la invasión del cuerpo y sistema circulatorio del insecto (hemocele) (Shah & Pell, 2003).

En el hemocele, los cuerpos hifales secundarios colonizan el hospedero y aprovechan sus nutrientes, secretan proteínas efectoras y metabolitos secundarios para evadir la respuesta inmune, por lo que se contrarrestan los receptores del hospedero (proteínas de resistencia), y producen toxinas (Cotes, 2018). Después de una penetración exitosa, el hongo produce cuerpos de hifas, es decir, células similares a levaduras, que se distribuyen pasivamente en el hemocele, lo que permite que el hongo invada otros tejidos del insecto huésped mediante un crecimiento vegetativo extenso y la producción de toxinas (Zimmerman, 2007), lo que lleva a la muerte del huésped por inanición fisiológica, en el caso del hongo *Beauveria bassiana* aproximadamente tres a siete días después de la infección.

Luego de la muerte del huésped, y si las condiciones ambientales son favorables, las hifas emergen de este y se forma una capa de micelio sobre su superficie que contribuye a la diseminación del hongo y la posterior infección de otros individuos (Alatorre-Rosas, 2007) .

En síntesis, la infección de un insecto con un hongo entomopatógeno consiste en cinco pasos, como se puede observar en la Ilustración 1 (Cotes, 2018).

1. Adhesión de los conidios en la cutícula del insecto.
2. Germinación del conidio y formación del apresorio.
3. Penetración del hongo.
4. Invasión del cuerpo y sistema circulatorio del insecto.
5. Muerte del insecto y formación de micelio para infección de otros insectos.



**Ilustración 1.** Esquema de la cutícula de un insecto y el proceso de infección de los hongos entomopatógenos. Basada en Wang y Wang, (2017). Fuente: Cotes, (2018)

### ***Beauveria bassiana***

La historia de este hongo entomopatógeno tuvo sus inicios con un italiano, Agostino Bassi di Lodi, quien fue el primero en observar una enfermedad en gusanos de seda, a la que llamó “muscardino blanco” y así fue que empezaron los primeros experimentos de infección con el hongo, mostrando que los hongos pueden causar enfermedades en los insectos, posteriormente la identificación inicial del hongo *B. bassiana* fue hecha por Balsamo-Crivelli en 1835, quien lo llamó *Botrytis bassiana*. Más tarde, Veillmuin lo transfirió a *Beauveria* (Griffin, 2007). A partir de la primera descripción del género, principalmente en Europa se comenzó a utilizar como control biológico en plagas de insectos (Zimmerman, 2007).

La clasificación actual de acuerdo con Kirk (2017) es la que se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Taxonomía de *Beauveria bassiana* (Kirk, 2017).

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Cordycipitaceae
Genero	<i>Beauveria</i>
Especie	<i>bassiana</i>

El hongo se caracteriza por colonias blancas, posteriormente amarillentas u ocasionalmente rojizas. En un cultivo en caja de Petri, el reverso es incoloro o de amarillento a rosado. Los conidios son hialinos, globosos a ampliamente elipsoidales, generalmente de 2-3x2-2.5  $\mu\text{m}$ . Los conidios se forman en racimos, como bolas de nieve o de algodón (Zimmerman, 2007).

Meyling & Eilenberg, (2007) consideraron que el género *Beauveria* funciona principalmente como parásito de insectos, lo que es muy común en la naturaleza, pero cada vez se incrementa la evidencia de que el hongo muestra un patrón de ciclo de vida muy versátil, a esto, se añade la posibilidad de modos nutricionales

adicionales, ya que existen pruebas sustanciales de que algunos hongos entomopatógenos, incluidos *B. bassiana* y especies de *Lecanicillium* también son antagonistas a los patógenos de plantas (Ownley *et al.*, 2008). Los mecanismos de antagonismo utilizados por *B. bassiana* pueden incluir antibiosis, competencia y resistencia sistémica inducida (Vega *et al.*, 2009).

También hay evidencia creciente de que *Beauveria*, puede actuar como micoparásito y endófito de plantas, así como interactuar con las raíces de las plantas. Además, *Beauveria* puede haber desarrollado adaptaciones ecológicas sutiles al parasitismo de insectos en el suelo y es fundamental para esto la influencia de la planta (Vega *et al.*, 2009).

### **Distribución natural**

*Beauveria bassiana* es la especie más distribuida y en la naturaleza es generalmente encontrada en insectos infectados en áreas tanto templadas como tropicales a través del mundo. Se ha encontrado en hábitats variados, desde un suelo alpino hasta terrenos baldíos con poca vegetación, humedales ácidos, suelos con vegetación de tipo sabana, bosques y suelos cultivados, suelos desérticos, dunas y agua corriente (Zimmerman, 2007).

En un estudio realizado por Meyling *et al.*, (2009) mostraron que *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin se transmite por el suelo, se presenta en la superficie de las plantas y como infecciones latentes en insectos hospederos en la superficie dentro de un hábitat de setos, lo que indica interacciones subterráneas y aéreas; Ormond *et al.*, (2010) Thomas, reportan que *B. bassiana* está presente en el suelo y en el follaje en el mismo ecosistema forestal.

## ANTECEDENTES

En estudios acerca de la evaluación o la caracterización de nuevos aislados y cepas del hongo *B. bassiana*, se destacan algunos artículos. El primero realizado por Gandarilla-Pacheco *et al.*, (2013) donde se realiza la evaluación de cuatro aislados de *B. bassiana* obtenidos de la región citrícola en el estado de Sinaloa, a la par se evalúa y se realiza la comparación con una cepa con potencial para controlar *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). En el estudio se observó que hubo diferencias entre los hongos y se reportó que los aislados cuentan con potencial como fuentes de inóculo para el control de plagas de importancia agrícola.

En un estudio realizado por Rodríguez-Gómez, *et al.*, (2008) acerca de la comparación de dos aislados, uno silvestre y uno mutante, se realizó la comparación en términos de crecimiento (tomando en cuenta las variables de crecimiento radial, longitud media de las hifas, tasa de crecimiento específica y densidad de conidios) e infectividad de los aislados (tomando en cuenta el TL50) y también cabe mencionar que se consideró el medio de cultivo para la evaluación. Se reportó que los aislados mostraron diferencias entre ellos de las variables evaluadas que cuentan con potencial como controladores biológicos.

En el estudio realizado por Safavi, *et al.*, (2007) se analizó a tres aislados del hongo entomopatógeno *B. bassiana* y uno de *M. anisopliae* en siete medios de cultivo. Se analizó el efecto de la nutrición las variables de infectividad y calidad de los aislados (tomando en cuenta las mediciones de crecimiento de la colonia, producción de conidios, velocidad de germinación, crecimiento radial y la actividad de la serina proteasa Pr1), al igual que en las determinaciones de las investigaciones antes mencionadas, los aislados presentan diferencias entre ellos y muestran indicadores de ser aislados virulentos para el desarrollo de un micoinsecticida, pues mostraron valores altos en la tasa de germinación y virulencia

Se realizó un estudio en aislados del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* obtenidos en el suelo agrícola del oriente del estado de México, los parámetros que evaluaron fueron de calidad e infectividad y se realizó la comparación con un producto comercial. Tras la comparación de los aislados con el

producto comercial se obtuvieron resultados similares, por esto se concluye que son potencialmente candidatos idóneos para el desarrollo de bioplaguicidas (Alcantara-Vargas *et al.*, 2020).

## JUSTIFICACIÓN

La actividad agrícola ha sido extendida en todo el mundo y a través de los años se ha ido incrementando la demanda de productos y servicios derivados de dicha actividad, por ello es necesario aplicar estrategias y desarrollar prácticas que aseguren la producción pero que, a su vez, se minimice el impacto en el medio ambiente.

Una de las estrategias es el control biológico de plagas de conservación, ya que se basa en conservar y promover el uso de los enemigos naturales y nativos de una plaga en específico, esto con el fin de ampliar la actividad sobre las plagas (Rodríguez-del-Bosque & Arredondo-Bernal, 2007). Con base en lo anterior, se usan hongos entomopatógenos, ya que han mostrado ser importantes factores de mortalidad para los insectos (Vega *et al.*, 2009).

Debido a esto, se seleccionó al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* por ser un hongo ampliamente extendido en el mundo, el cual se ha encontrado y aislado de una extensa variedad de insectos de diferentes órdenes (Zimmerman, 2007), para el control de enfermedades de manera sustentable y de esta manera fomentar el equilibrio natural de los agroecosistemas y de las plantas de interés agrícola.

Al conocer el papel que desempeña el hongo entomopatógeno, su empleo y su importancia, se utilizaron cuatro aislados silvestres de *Beauveria bassiana* obtenidos en el estado de Hidalgo que, por ser nativos del estado, están aclimatados a las condiciones ambientales de la región y esto es relevante pues es necesario que el hongo sea efectivo para el control de plagas de la región, ya que, como menciona Jackson, Dunlap, & Jaronski, (2010) se deben seleccionar hongos y propágulos de hongos apropiados para su uso en el control biológico, de acuerdo a las condiciones ambientales presentes durante el control de insectos, ya que, factores ambientales críticos, como la temperatura, pueden tener una profunda influencia en el crecimiento y patogenicidad de un entomopatógeno fúngico contra el insecto objetivo.

## **HIPÓTESIS**

Los aislados silvestres obtenidos en el estado de Hidalgo del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* son eficientes para su uso como agente de control biológico.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Determinar y comparar los parámetros de calidad e infectividad de cuatro aislados silvestres de *Beauveria bassiana*.

### **Objetivos específicos**

- Determinar los porcentajes de germinación y viabilidad de cuatro aislados de *B. bassiana*.
- Comparar la infectividad de cuatro aislados *B. bassiana* mediante la realización de bioensayos.
- Cuantificar la producción de conidios de los aislados de *B. bassiana*.

## **METODOLOGÍA**

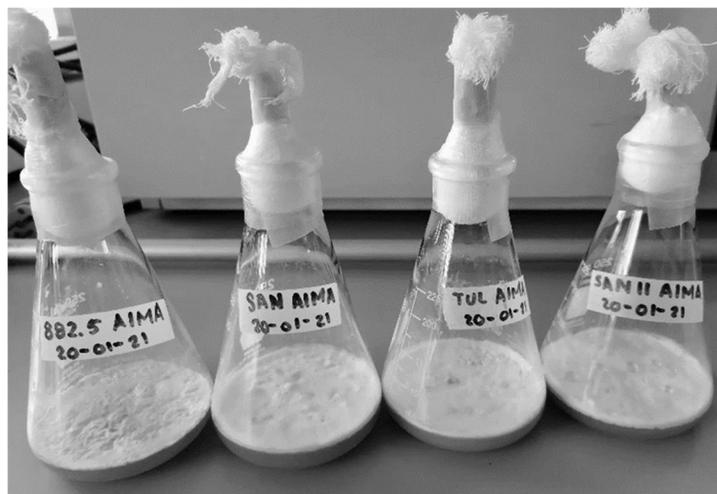
### **Aislados de *Beauveria Bassiana***

Se utilizaron aislados silvestres del hongo *Beauveria bassiana*, obtenidos de dos diferentes ordenes de insectos en el estado de Hidalgo, específicamente en los municipios de Tulancingo de Bravo y Santiago Tulantepec, los hongos fueron aislados de coleópteros y del municipio de Acatlán, el hongo fue aislado de un himenóptero. Los aislados fueron nombrados con las tres primeras letras de acuerdo con el municipio donde fueron encontrados (Bb ACA, Bb TUL, Bb SAN I y Bb SAN II) (Ilustración 2), dichos aislados ya son pertenecientes a la colección de hongos del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la UAEH.

### **Caracterización morfológica de los aislados**

El hongo *Beauveria bassiana* fue aislado de los insectos micosados obtenidos de las regiones antes mencionados. Para la identificación de la morfología de los aislados del hongo se observó la textura algodonosa, el color blanco y las partes blandas colonizadas del insecto por donde generalmente se expone el hongo *B bassiana*. Posteriormente se realizaron observaciones en el microscopio para comprobar que efectivamente se trataba del hongo, se observó la forma elipsoidal de los conidios, en algunas partes con forma de racimos que concuerda con las descripciones realizadas en el estudio de Zimmerman, (2007).

La propagación de los aislados se llevó a cabo en matraces Erlenmayer de 250 mL con 50 mL de agar Maltosa Sabouraud modificado (AMS modificado) (2%) (agar 15 g/L, maltosa, 20 g/L, peptona de caseína 2,5 g/L, extracto de levadura 0,5 g/L y harina de avena 15 g/L) esterilizado previamente en una autoclave (120°C durante 15 min). Los matraces se incubaron a 28°C ± 1°C durante ocho días con fotoperíodo específico de 12:12 h (luz-oscuridad) (Veloz-Badillo *et al.*,2019).



**Ilustración 2.** Matracos inoculados con los cuatro aislados silvestres de *B. bassiana* cultivados en medio AMS modificado.

## **Determinación de parámetros de crecimiento y calidad de los aislados de *B. bassiana***

### **Porcentaje de germinación**

Para la determinación del porcentaje de germinación de cada aislado, se realizaron las diluciones necesarias, a partir de la suspensión de conidios con Tween 80, para obtener una concentración final de  $1 \times 10^6$  conidios/mL. De dicha concentración final se tomó una alícuota de 50  $\mu$ L y se inoculó en placas Petri que contenían 20 mL de agar bacteriológico, previamente esterilizado (120°C por 15 min). Transcurridas 72 h, se realizó el conteo de conidios germinados y se consideraron conidios germinados cuando la longitud del tubo germinativo superó el doble del diámetro del conidio. (Garza-López, 2012).

### **Porcentaje de viabilidad**

Las determinaciones de todas las variables de respuesta se realizaron a los 14 días posteriores a la inoculación. El porcentaje de viabilidad de los conidios obtenidos de cada aislado se determinó mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), la cual se realizó en cajas de Petri que contenían 20 mL de agar Dextrosa Sabouraud estéril (120°C por 15 min) y una alícuota de 30  $\mu$ L de una suspensión de conidios de  $1 \times 10^4$  conidios/mL. Una vez transcurridas 72 h se contaron las UFC. Los resultados se expresaron en porcentaje (Garza-López, 2012).

### Concentración de conidios

El conteo de conidios se realizó para cada aislado en una cámara de Neubauer, para lo cual se adicionaron 20 mL de Tween 80 (0.05%), previamente esterilizado (120°C por 15 min), y posteriormente se agitó durante 10 min. La concentración de conidios se expresó en conidios/cm<sup>2</sup>, considerando el volumen de Tween 80 utilizado y el diámetro del matraz (Garza-López, 2012).

### Insectos utilizados en el bioensayo

Para la realización del bioensayo se utilizaron insectos de *Tenebrio molitor*, que se adquirieron en la tienda de mascotas SOLOREPTILES ubicada en la ciudad de México, dichos insectos se encontraban envasados con 1000pz. de larvas del insecto, éstos son comúnmente utilizados como insectos modelo (Safavi *et al.*, 2007; Robledo-Monterrubio *et al.*, 2009; Garza-López 2012).

Los insectos se separaron y depositaron en diferentes contenedores transparentes por diferentes estadios, larva, pupa y adulto, como se observa en la Ilustración 3. A los contenedores se le realizaron orificios para permitir la circulación del oxígeno; también se le agregó alimento compuesto por hojuelas de avena y salvado de trigo y un algodón humedecido con agua. Esto se realizó para que los insectos estuvieran en buenas condiciones para su posterior utilización.

Los cuidados posteriores se llevaban a cabo cada tres semanas, cambiando el alimento, el algodón con agua y separando los insectos por estadios en los diferentes contenedores, también separando a los insectos muertos para evitar la contaminación de la colonia.

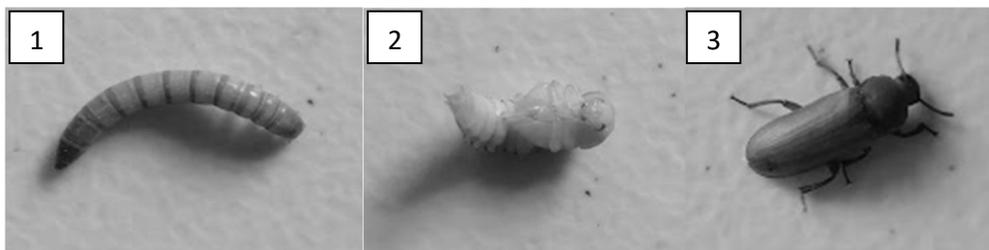


Ilustración 3. Tres estadios del insecto *Tenebrio molitor*. 1) Larva 2) Pupa y 3) Adulto

## Bioensayo

Para realizar el bioensayo se obtuvieron suspensiones de conidios por cada aislado y se agregaron 20 mL de una solución de Tween 80 al 0.05% en un matraz, se agitaron durante 10 minutos y posteriormente se estandarizaron las suspensiones a una concentración final de  $1 \times 10^8$  con/mL.

Posteriormente se seleccionaron 10 insectos adultos de *Tenebrio molitor* sanos y de tamaño homogéneo para ser sumergidos durante cinco segundos en la solución de conidios de 10 mL. Posteriormente se retiró el exceso de agua y a continuación, se colocaron los insectos en placas de Petri con alimento, conformado por hojuelas de avena y salvado de trigo 1:1 esterilizados previamente (Ilustración 4). Las placas se mantuvieron a 28 °C, con un fotoperíodo de 12:12 h. Los adultos fueron monitoreados durante 14 días. Se realizaron cinco placas Petri para cada aislado. Se llevó a cabo un registro diario de la mortalidad y cada insecto muerto se puso en cámaras húmedas (placas Petri con papel filtro humedecido con agua estéril como se observa en la Ilustración 5 de acuerdo con Montesinos-Matías, (2008)) para estimular la esporulación externa, con el fin de confirmar que la muerte se debió a una infección por los hongos (Garza-López, 2012; Rodríguez-Gómez, 2008).



**Ilustración 5.** Insectos infectados en placa Petri.



**Ilustración 4.** Insectos muertos en placa Petri

### **Determinación de parámetros de infectividad**

La determinación de los parámetros  $TL_{50}$ ,  $t_0$  y  $S$  se determinaron mediante el ajuste de los datos experimentales a la ecuación que se muestra a continuación:

$$Y=(100-S)e^{-k(t-t_0)}+S$$

Donde:

$k$  = Velocidad específica de mortalidad

$t_0$  = Tiempo de retardo de inicio de muerte

$S$ : Porcentaje de sobrevivencia al final del bioensayo

$Y$  = Porcentaje de sobrevivencia al tiempo  $t$ .

La ecuación anterior es una función de decaimiento exponencial a partir del momento en que los insectos infectados comienzan a morir (Rodríguez-Gómez *et al.*, 2008). Partiendo de los resultados obtenidos de los datos experimentales, fueron ajustados al modelo de decaimiento exponencial, mediante el algoritmo Solver (Excel, Microsoft) (Montesinos-Matías, 2008).

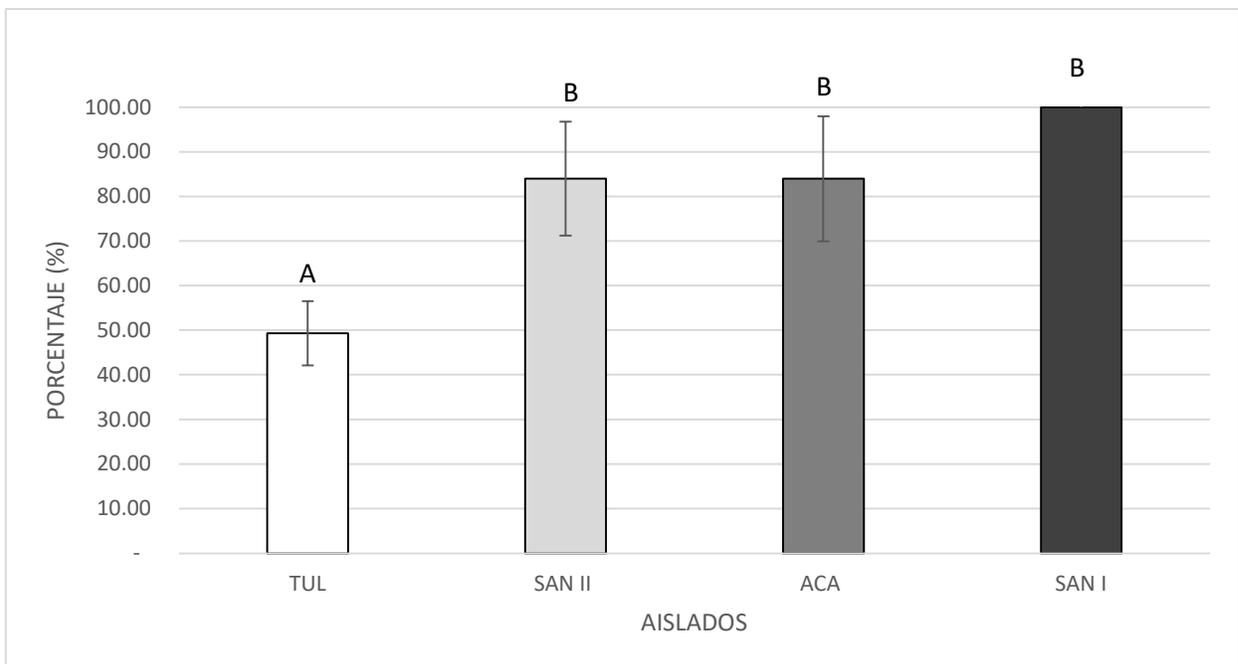
### **Análisis Estadístico**

El diseño experimental que se utilizó fue completamente al azar. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un ANOVA y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ( $\alpha < 0.05$ ) (SPSS 21 para Windows). Adicionalmente, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) para determinar las correlaciones entre las variables y los tratamientos, los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa XLSTAT Version 2014.3.04, Addinsoft©, USA.

## RESULTADOS

### Porcentaje de germinación

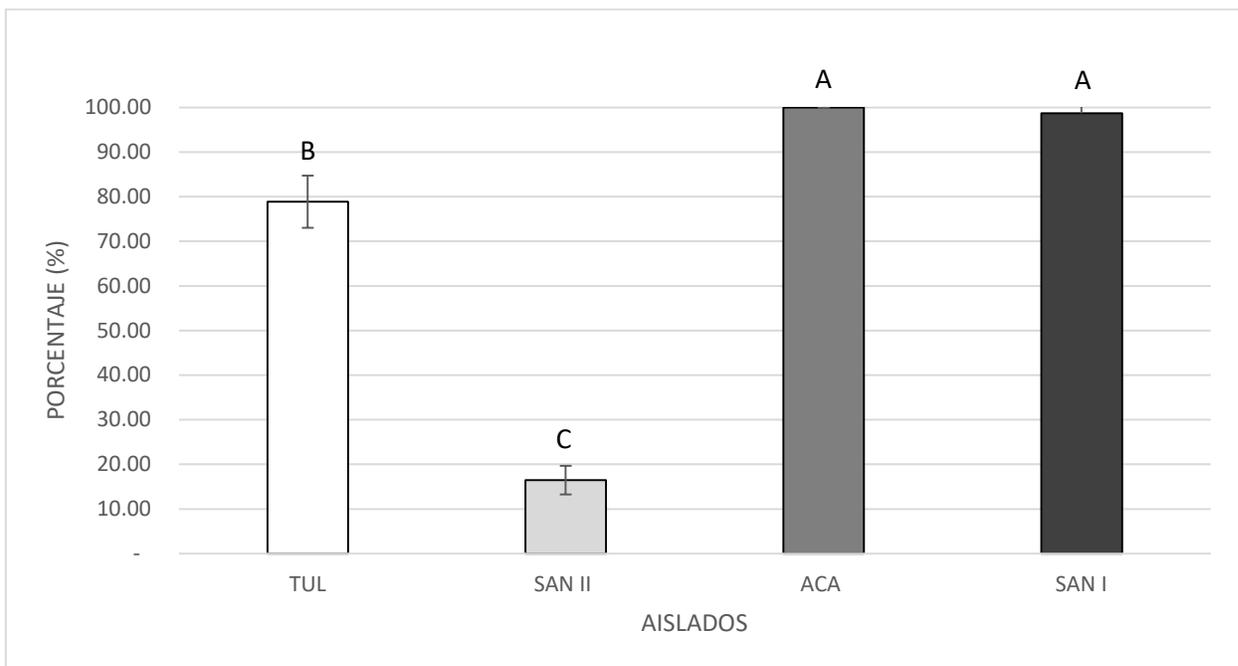
En la Grafica 1 se presentan los resultados obtenidos del experimento para obtener el porcentaje de germinación de los aislados, se observa que entre los tres aislados Bb SAN II, Bb ACA, y Bb SAN I, presentan valores superiores al 80% y al realizar la prueba de Tukey, no se observan diferencias significativas entre ellos ( $P > 0.05$ ). Al examinar el aislado Bb TUL sí mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), ya que se encuentra por debajo del 50% de germinación.



**Gráfica 1.** Porcentaje de germinación de conidios de aislados silvestres de *B. bassiana* obtenidos en el estado de Hidalgo cultivados en medio AMS modificado.

### Porcentaje de viabilidad

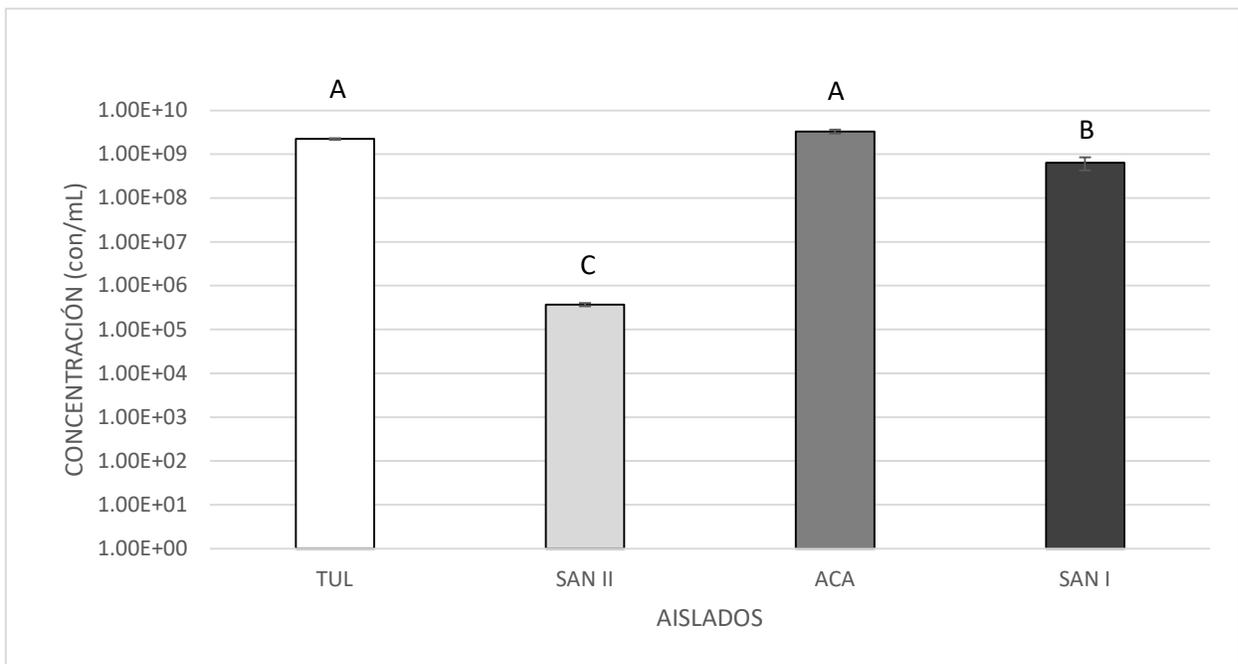
En la Gráfica 2 se muestran los resultados obtenidos del experimento para obtener el porcentaje de viabilidad de cuatro aislados. Se observa que los valores destacados los obtuvieron los aislados Bb ACA y Bb SAN I, es importante mencionar que en la prueba de Tukey no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), seguidos del aislado Bb TUL que presentó un valor cercano al 80% por lo que aún se considera como viable. Mientras el aislado Bb SAN II se observa muy por debajo de los aislados anteriores. Con la prueba de Tukey se puede observar que sí existieron diferencias significativas entre los aislados ( $P < 0.05$ ).



**Gráfica 2.** Porcentaje de viabilidad de los aislados silvestres de *B. bassiana* obtenidos en el estado de Hidalgo cultivados en medio AMS modificado.

### Concentración de conidios

En la Gráfica 3 se observan los resultados obtenidos del experimento de la concentración de conidios de cada aislado, posteriormente al realizar la prueba de Tukey se observan diferencias significativas entre todos los aislados ( $P < 0.05$ ), considerando al aislado Bb ACA como el que presentó valores más altos, a comparación de Bb SAN II que mostró el valor más bajo, que fue  $3.71 \times 10^5$  con/mL.



**Gráfica 3.** Concentración de conidios de los aislados silvestres de *B. bassiana* obtenidos en el estado de Hidalgo cultivados en medio AMS modificado.

### Parámetros de infectividad

Se presentan datos de  $TL_{50}$  (tiempo en que muere el 50% de los insectos infectados),  $t_0$  (tiempo en el que los insectos comienzan a morir) y de S (porcentaje de sobrevivencia al término de la observación) obtenidos de los bioensayos.

De acuerdo con los datos reportados se observa que los aislados que obtuvieron valores menores en cuanto a  $TL_{50}$  y  $t_0$  son Bb TUL y Bb SAN I y al realizar la prueba de Tukey se observan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). En cuanto a los aislados Bb SAN II y Bb ACA obtuvieron valores similares entre ellos, es por eso que en la prueba de Tukey indica que no existen diferencias significativas entre ellos ( $P > 0.05$ ). Cabe mencionar que la sobrevivencia final de todos los aislados fue cero, es decir que se observó un 100% de mortalidad a los 14 días de observación.

**Tabla 2.** Parámetros de infectividad  $TL_{50}$ ,  $t_0$  y S de los aislados silvestres de *B. bassiana* obtenidos en el estado de Hidalgo obtenidos a través del experimento del bioensayo y cultivados en medio AMS modificado.

AISLADOS	$TL_{50}$ (d)	$t_0$ (d)	S (%)
Bb TUL	3.06±0.24 B	2.47 ±0.35 B	0
Bb SAN II	6.82±0.54 C	4.97±0.77 C	0
Bb ACA	7.00±0.00 C	6.99±0.00 C	0
Bb SAN I	1.15±1.07 A	0.35±0.66 A	0

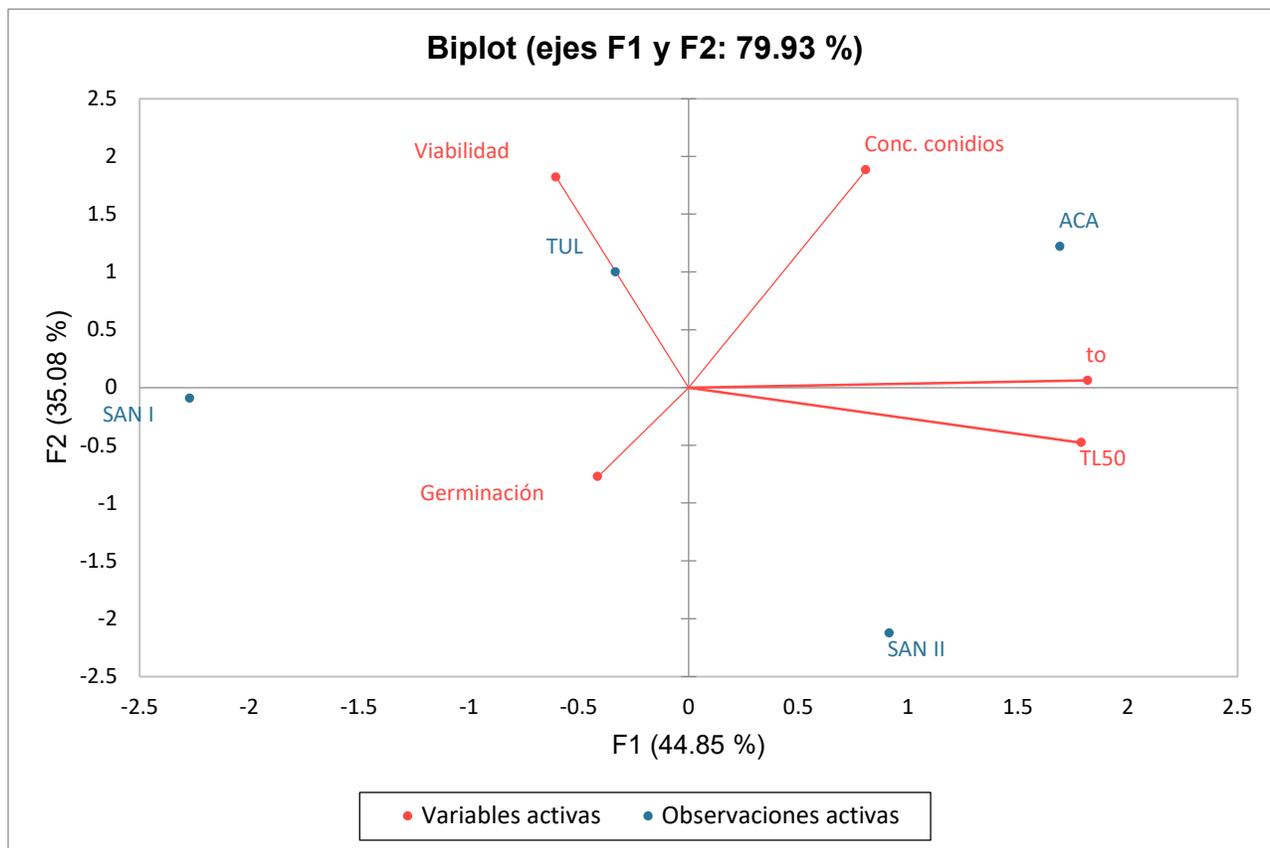
### **Análisis de Componentes Principales (PCA)**

Se realizó un análisis de componentes principales para identificar las correlaciones entre las variables y los tratamientos evaluados, ya que con esta prueba se puede realizar un análisis más amplio de la comparación entre los aislados. El análisis indicó que el 79.93% de la variabilidad se puede explicar por los siguientes dos componentes F1 (44.85%) y F2 (35.08%).

En la siguiente gráfica se puede observar que Bb ACA obtuvo los mejores valores en cuanto a los parámetros de calidad, ya que presentó valores por encima del 80% (germinación y viabilidad), pero referente a los parámetros de infectividad no se obtuvo los valores deseables, pues en cuanto a dichos valores, se espera que los aislados sean capaces de controlar a la plaga en el menor tiempo posible y esto no fue así, pues se reportaron valores de  $TL_{50}$  y de  $t_0$  de siete días y al realizar la comparación con Bb SAN II se observa que se obtuvieron valores similares de infectividad. Por lo tanto, existe una correlación entre estos, ubicándolos en el componente F2.

En el siguiente componente F1, se observan los aislados Bb SAN I y Bb TUL que obtuvieron valores óptimos con respecto a los parámetros de infectividad ( $TL_{50}$  y  $t_0$ ), pues a dichos aislados los llevó de uno a tres días en dar muerte a los insectos. Continuando con los valores de calidad, también fueron deseables, pues mostraron valores entre el 50 y el 80% de germinación y viabilidad respectivamente, en cuanto a la concentración de conidios se observan concentraciones por encima de  $1 \times 10^8$  con/mL que son valores deseables para que los aislados puedan ser utilizados como micoinsecticidas.

Al realizar el análisis de la gráfica del PCA, se da un panorama de las características intrínsecas de cada aislado, ya que se observa que son diferentes y cada uno tiene sus características particulares, por lo tanto, se infiere que esto se debe a la ubicación dentro del estado donde fueron encontrados.



**Gráfica 4.** Análisis de Componentes Principales (PCA) Contrastando parámetros de calidad (Viabilidad, germinación de conidios y concentración de conidios) con parámetros de infectividad ( $TL_{50}$  y  $t_0$ )

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la presente investigación se analizaron y evaluaron variables para determinar la calidad e infectividad de cuatro aislados silvestres de *Beauveria bassiana* originarios del estado de Hidalgo. Cabe mencionar que las variables evaluadas en la presente investigación son de las más importantes para comprobar si una cepa de un hongo entomopatógeno es viable para ser utilizado como control biológico, pues de acuerdo con Jackson *et al.*, (2010), el proceso de selección de un hongo entomopatógeno debe evaluar el potencial del aislado fúngico para formar un propágulo estable que se pueda producir económicamente en masa, que sea compatible con las tecnologías de aplicación disponibles y, lo más importante, que sea capaz de infectar y matar consistentemente al insecto objetivo en condiciones ambientales y condiciones ecológicas donde es una plaga.

Por lo tanto, se analizan y se comparan los resultados obtenidos de las variables evaluadas de la presente investigación. Iniciando con un estudio realizado por Garandilla-Pacheco *et al.*, (2007), donde realizaron la inoculación de los aislados del hongo entomopatógeno *B. bassiana* en matraces con medio Sabouraud para posteriormente llevar a cabo la inoculación en bolsas de arroz para la determinación del porcentaje de germinación, obteniendo resultados muy variados entre aislados y todos por debajo del 60%. Resultados similares se obtuvieron en el presente estudio, aunque los resultados superan el 80% de germinación, sí se presentaron valores muy diferentes entre los aislados.

Resultados parecidos se reportaron en un estudio realizado por Ekesi *et al.*, (1999) donde se hizo la inoculación en placas Petri con medio Sabouraud para determinar el porcentaje de germinación de seis cepas (dos de *B. bassiana*), donde se observaron valores diferentes entre cepas, entre el 60 y 80%; esto confirma que los aislados estudiados en esta investigación presentan valores óptimos de germinación. Similares a los que obtuvo Montesinos-Matías *et al.*, (2011), con cepas de *B. bassiana* (una silvestre y seis mutantes), inoculadas en medio Sabouraud, donde se obtuvieron valores mayores al 80% de germinación.

Otra variable importante para evaluar la calidad de un hongo entomopatógeno es el porcentaje de viabilidad y se obtiene considerando la capacidad que tiene el hongo de desarrollar una colonia y se reporta en unidades formadoras de colonias (UFC). Este parámetro es utilizado por los fabricantes de bioplaguicidas basados en hongos entomopatógenos para evaluar la calidad de los productos formulados y no formulados (Oliveira, Pauli, & Delalibera, 2015).

A continuación, en el presente estudio se reportan valores de viabilidad mayores al 80% a comparación de un estudio realizado por Alcantara-Vargas, *et al.*, (2020), donde se evalúan aislados nativos y un producto comercial del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* con medio Sabouroad en placas Petri, en el que se reportaron valores mayores a 50%, los autores mencionan que estos valores fueron menores al realizar la comparación con el producto comercial. Cabe mencionar que el hongo entomopatógeno antes referido es uno de los mas utilizados y estudiados a la par del hongo *B. bassiana*.

Similar al trabajo anterior, se menciona el estudio de Oliveira *et al.*, (2015) donde se evaluaron y compararon distintas cepas de los hongos entomopatógenos (*B. bassiana* y *M. anisopliae*) y se reportaron valores muy variados entre el 50 y el 80% entre las cepas de *B. bassiana*, por el método de conteo de UFC, lo que concuerda con los datos obtenidos en la presente investigación, confirmando que los aislados son posibles candidatos para utilizarse como bioplaguicidas.

La concentración de conidios fue otra variable estudiada en el artículo antes mencionado Oliveira *et al.*, (2015), donde al realizar la comparación entre cepas se reportaron valores de concentraciones similares en un 90% a las que se obtuvieron en la presente investigación. Al realizar la comparación con un estudio realizado por Rodríguez-Gómez *et al.*, (2008), donde se estudiaron dos aislados de *B. bassiana*, uno mutante y uno silvestre, se obtuvo valores de las concentraciones de conidios menores en un 20% a los que se obtienen en este trabajo.

La siguiente referencia en cuanto a la concentración de conidios se muestra a continuación, en un artículo realizado por Alcantara-Vargas *et al.*, (2020), donde se llevó a cabo un experimento realizado en la comparación de aislados silvestres y un

producto comercial a base de conidios del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, en el cual se presentan valores de concentraciones muy similares (de los aislados con el producto comercial), de esta manera se puede inferir que dichos aislados son de óptima calidad. Cabe mencionar que los resultados que se reportan en el artículo anterior, son similares en un 80% a los que se obtuvieron en el presente estudio, así que se puede inferir que los aislados nativos del estado de Hidalgo son de calidad para ser utilizados como control biológico.

Los parámetros de calidad descritos anteriormente están muy relacionados con el ciclo infectivo que presentan los hongos entomopatógenos, es por eso que se comparan y relacionan los valores que obtuvieron los aislados del estado de Hidalgo en el presente trabajo.

En un estudio realizado por Rodríguez-Gómez *et al.*, (2008), donde se llevaron a cabo bioensayos con dos aislados de *B. bassiana* (un aislado silvestre y uno mutante) en adultos de *T. molitor*, se reportó una alta mortalidad ya que se observaron valores para  $t_0$  y  $TL_{50}$  más eficientes, pues después de tres días del inicio del bioensayo, el 50% de los insectos habían muerto al igual que en la presente investigación en el caso del aislado Bb TUL, esto confirma que dicho aislado y Bb SAN I son los más eficientes contra adultos de *T. molitor*, pues incluso en el aislado Bb SAN I se observaron valores menores con respecto a los dos aislados antes mencionados.

Y de acuerdo con Rodríguez-Gómez *et al.*, (2008) los valores mostrados anteriormente son debido a la utilización de medio Sabouraud para la inoculación de los aislados de *B. bassiana* pues de esta manera se producen conidios más virulentos.

En un estudio realizado por Robledo-Monterrubio *et al.*, (2009), donde se llevaron a cabo bioensayos con larvas y adultos de *T. molitor*, se realizó la comparación de tres tipos de cepas de *B. bassiana*, una silvestre y dos mutantes, donde posteriormente se presentaron valores de  $TL_{50}$  y S, mostrando resultados de mortalidad muy diferentes, pues después de los 17 días de observación aún quedaba un 8% de los insectos vivos, a comparación con los resultados del presente

estudio, a los 14 días de observación el porcentaje de sobrevivencia fue cero en todos los aislados. Cabe mencionar que tomando en cuenta los valores de  $TL_{50}$  solo el de Bb ACA fue similar al valor reportado en el estudio antes mencionado pues después de 8 días en promedio, el 50% de los insectos habían muerto, lo cual no es un valor ideal, pues lo ideal es que el hongo mate a los insectos lo antes posible.

Se infiere que las diferencias entre cada uno de los aislados antes mencionados, incluso los reportados en la presente investigación son debido a las características intrínsecas de cada aislado y su ecología (Rodríguez-Gómez *et al.*, 2008).

## **CONCLUSIONES**

Al realizar la comparación entre los aislados obtenidos en el estado de Hidalgo, se infiere que el aislado Bb SAN II, al presentar valores de concentración de conidios y de infectividad deficientes, no es candidato para ser considerado como agente de control biológico, a diferencia de los aislados Bb TUL y Bb SAN I que presentaron los mejores valores de calidad y de infectividad.

Cabe mencionar que el aislado Bb TUL obtuvo el menor valor de germinación, pero al observar los resultados de viabilidad y de concentración de conidios se afirma que, al presentar valores altos, los conidios fueron capaces de adherirse al insecto y de formar una colonia, lo cual es importante para poder iniciar y continuar con el ciclo infectivo del hongo. En el caso del aislado Bb ACA, pasó lo contrario al presentar resultados de las variables de calidad altos, pero no deseables en cuanto a infectividad.

Por lo anterior, se propone que los aislados TUL y SAN I son los mejores candidatos para ser considerados como agentes de control biológico.

## **PERSPECTIVAS**

- Continuar con la identificación molecular de los aislados.
- Realizar pruebas para determinar la resistencia de los aislados a factores abióticos.
- Realizar pruebas en laboratorio como endófitos en cultivos de importancia económica en el estado de Hidalgo.

- Realizar pruebas en campo para observar la respuesta de los aislados.

## REFERENCIAS

- Alatorre-Rosas, R. (2007). Hongos entomopatógenos. En: Teoría y Aplicación del Control Biológico. *Sociedad Mexicana de Control Biológico*, 127-143.
- Alcantara-Vargas, E., Espitia-López, J., Garza-López, P., & Angel-Cuapio, A. (2020). Producción y calidad de conidios de ceas de entomopatógenos del género *Metarhizium anisopliae*, aislados en zonas agrícolas del Estado de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.
- Behie, S., Jones, S., & Bidchoka, M. (2015). Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. *Fungal Ecology*, 112-119.
- Carroll, G. (1988). Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology*, 2-9.
- CIMMYT, A. (7 de Abril de 2020). Control biológico de plagas. México. Obtenido de <https://www.youtube.com/watch?v=jlaponf0d2M>
- Córdova-Albores, L., Zelaya-Molina, L., Ávila-Alistac, N., Venezuela-Ruíz, V., Cortés-Martínez, N., Parra-Cota, F., . . . Santos-Villalobos, S. (2020). Potencial de las ciencias ómicas en la bioprospección de agentes microbianos de control biológico: el caso de la agrobiotecnología mexicana. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 147-184.
- Cotes, A. M. (2018). *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros*. Colombia: AGROSAVIA.
- Ekesi, S., Maniania, N., & Ampong-Nyarko, K. (1999). Effect of Temperature on Germination, Radial Growth and Virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Megalurothrips sjostedti*. *Biocontrol Science and Technology*, 177-185.
- FAO. (5 de Septiembre de 2015). *Servicios ecosistémicos y biodiversidad*. Obtenido de <http://www.fao.org/ecosystem-services-biodiversity/background/regulating-services/es/>
- Gandarilla-Pacheco, Galán-Wong, Arévalo-Niño, Elías-Santos, & Quintero-Zapata. (2013). EVALUACIÓN DE AISLADOS NATIVOS MEXICANOS DE *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) PROVENIENTES DE ZONAS CITRÍCOLAS PARA SU PRODUCCIÓN MASIVA EN CULTIVO SUMERGIDO Y BIFÁSICO. *Agrociencia*, 255-266.
- Garza-López, P. M. (Octubre de 2012). Análisis de la relación entre el estrés oxidativo y la infectividad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. D.F., México.
- González, M. (2012). Control de Insectos-Plaga en la Agricultura utilizando Hongos Entomopatógenos: Retos y Perspectivas. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*.
- Griffin, M. (2007). *Beauveria bassiana*, A Cotton Endophyte With Biocontrol Activity Against Seedling Disease. *University of Tennessee- Knoxville*.
- Jackson, M., Dunlap, C., & Jaronski, S. (2010). Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *BioControl*, 129-145.

- Kirk, P. (27 de 10 de 2017). *Catalogue of Life* . Obtenido de Species Fungorum: <http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/92acca0ae8ea879d0c22f2f3714fa74f>
- Lewis, L. B., Gunnarson, R., & Bidne, K. (2001). Assessment of plant pathogenicity of endophytic *Beauveria bassiana* in Bt transgenic and non-transgenic corn. *Crop Sci.*
- McKinnon, A., Saari, S., Moran-Diez, M., Meyling, N., Raad, M., & Glare, T. (2017). *Beauveria bassiana* as an endophyte: a critical review on associated methodology and biocontrol potential . *BioControl* .
- Meyling, N., & Eilenberg, J. (2007). Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Biological Control* , 145-155.
- Meyling, N., Lubeck, M., Buckley, E., Eilenberg, J., & Rehner, S. (2009). Community composition, host range and genetic structure of the fungal entomopathogen *Beauveria* in adjoining agricultural and seminatural habitats. *Molecular Ecology*, 1282-1293.
- Meyling, N., Thorup-Kristensen, K., & Eilenberg, J. (2011). Below-and aboveground abundance and distribution of fungal entomopathogens in experimental conventional and organic cropping systems. *Biological Control* , 180-186.
- Miranda-Hernández, F., Garza-López, P., & Loera, O. (2016). Cellular signaling in cross protection: An alternative to improve mycopesticides . *Biological control*, 196-203.
- Montesinos-Matías. (2008). Relación entre variables de crecimiento y virulencia en aislados de *Beauveria bassiana*. *Tesis de Maestría*.
- Montesinos-Matías, R., Viniegra-González, G., Alatorre-Rosas, R., Gallardo-Escamilla, F., & Loera, O. (2011). Variación de fenotipos de crecimiento y de virulencia en cepas mutantes de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. resistentes a 2-desoxi-D-glucosa. *Agrociencia*.
- Mota-Delgado, P. A., & Murcia-Ordoñez, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente & Agua - An interdisciplinary -journal of applied science* .
- Muñiz-Paredes, F., Miranda-Hernández, F., & Loera, O. (2017). Production of conidia by entomopathogenic fungi: from inoculants to final quality tests. *World J Microbiol Biotechnol*.
- Oliveira, D., Pauli, G. M., & Delalibera, I. (2015). A protocol for determination of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. *Journal of Microbiological Methods*.
- Ormond, E., Thomas, A., Pugh, P., Pell, J., & Roy, H. (2010). A fungal pathogen in time and space, the population dynamics of *Beauveria bassiana* in a conifer forest. *FEMS Microbiology Ecology* , 146-154.

- Ownley, B., Griffin, M., Klingeman, W., Gwinn, K., Moulton, J., & Pereira, R. (2008). *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control. *J. Invertebr. Pathol.*
- Ownley, B., Gwinn, K., & Vega, F. (2010). Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl*, 113-128.
- Posada, F., & Vega, F. (2005). A new method to evaluate the biocontrol potential of single spore isolates of fungal entomopathogens. *Journal of Insect Science*.
- Reddy, N. P., Khan, A. D., & Reineke, A. (2009). Treatment of millet crop plant (*Sorghum bicolor*) with the entomopathogenic fungus (*Beauveria bassiana*) to combat infestation by the stem borer, *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Asia Pac. Entomol.*, 221-226.
- Robledo-Monterrubio, Alatorre-Rosas, Viniegra-González, & O.Loera. (2009). Selection of improved *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. strains based on 2-deoxy-D-glucose resistance and physiological analysis. *Journal of invertebrate pathology*, 222-227.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A., & Arredondo-Bernal. (2007). *Teoría y Aplicación del Control Biológico*. México : Sociedad Mexicana de Control Biológico .
- Rodríguez-Gómez, D., Loera, O., Saucedo-Castañeda, G., & Viniegra-González. (2008). Substrate influence on physiology and virulence of *Beauveria bassiana* acting on larvae and adults of *Tenebrio molitor*. *World J Microbiol Biotechnol*, 513-518.
- Roy, H., Brodie, E., Chandler, D., Goettel, M., Pell, J., Wajnberg, E., & Vega, F. (2010). Deep space and hidden depths: understanding the evolution and ecology of fungal entomopathogens. *BioControl*.
- Russo, M., Pelizza, S., Cabello, M., Stenglein, S., & Scorsetti, A. (2015). Endophytic colonisation of tobacco, corn, wheat and soybeans by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales). *Biocontrol Sci. Technol.*
- Safavi, S., Shah, F., Pakdel, A., Rasouljan, R., Bandani, A., & Butt, T. (2007). Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Federation of European Microbiological Societies*.
- Semma, Y., Neeraj, T., & Krishan. (2013). Mass production of entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* using rice as a substrate by diphasic liquid-solid fermentation technique. *International journal of advanced biological research*.
- Shah, P., & Pell, J. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Microbiol Biotechnol*, 413-423.
- Tamez-Guerra, P., Galán-Wong, M., Medrano-Roldán, H., García-Gutiérrez, C., Rodríguez-Padilla, C., Gómez-Flores, R., & Tamez-Guerra, R. (2001). Bioinsecticidas: su empleo, comercialización y uso en México. *Ciencia UANL*.
- Urtubia, I., & France, A. (2007). Formulaciones de hongos entomopatógenos para control de plagas en agricultura. *INIA Tierra adentro*.

- Vega, F. E., Goettel, M., Chandler, D., Jackson, M., Keller, S., Koike, M., . . . Roy, H. (2009). Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *ELSEVIER*.
- Veloz-Badillo, G. M., Riveros-Ramírez, J., Angel-Cuapio, A., Arce-Cervantes, O., Flores-Chávez, B., Espitita-López, J., . . . Garza-López, P. (2019). The endophytic capacity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* caused inherent physiological response in two barely (*Hordeum vulgare*) varieties. *3 Biotech*.
- Zimmerman, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* , 553-596.

## CONGRESOS



### DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y CALIDAD DE UNA CEPA SILVESTRE DE *Beauveria bassiana* AISLADA EN EL ESTADO DE HIDALGO.

**Meléndez-Alonso Astrid Itzel, Espitia-López Josefa, Arce-Cervantes Oscar, Garza-López Paul Misael**

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Rancho Universitario. Av. Universidad Km 1, Ex-Hda. de Aquetzalpa, CP. 43600 Tulancingo, Hidalgo. Correo electrónico: me231902@uaeh.edu.mx.

*Palabras clave: Beauveria bassiana, cepa silvestre, parámetros de calidad*

**Introducción.** El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* es efectivo para el control biológico [Zimmermann, 2007], ya que es capaz de infectar a más de 200 especies en nueve órdenes de insectos y es la especie más ampliamente distribuida de su género en el mundo, aunado a esto, el hongo parece tener una alta variabilidad genética para adaptarse a las condiciones ambientales cambiantes [Rodríguez-Gómez, *et. al.* 2009], por lo que surge el interés de seleccionar nuevos aislados nativos como agentes potenciales para control biológico.

**Materiales y Métodos.** Se utilizó la cepa de *Beauveria bassiana* Bb SAN obtenida de una larva de escarabajo (Coleóptera) encontrada en el municipio de Santiago Tulantepec en el estado de Hidalgo. Para aislar el hongo se preparó medio agar Sabouraud en cajas Petri, posteriormente se inoculó el hongo por estría y se incubó a una temperatura de 28°C.

Posteriormente, se realizaron cuatro diferentes determinaciones, 15 días después de aislar e incubar la cepa para evaluar si es efectiva para utilizarla como agente de control biológico: **porcentaje de germinación, porcentaje de viabilidad, conteo de conidios y crecimiento radial** [Rodríguez-Gómez, *et. al.* 2009].

### Resultados.

Variables	Resultados
Germinación	100%
Viabilidad	98.7%
Concentración de conidios	$2.5 \times 10^6$ conidios/cm <sup>2</sup>

Tabla 1. Parámetros de crecimiento y calidad de la cepa Bb SAN.

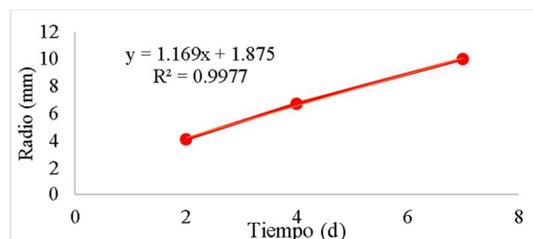


Figura 1. Velocidad de crecimiento radial de la cepa Bb SAN.

**Conclusión.** La cepa de *Beauveria bassiana* Bb SAN es una candidata para utilizarse como agente de control biológico.

**Agradecimientos.** Agradecemos a CONACYT (CVU 1013201) por los recursos brindados para esta investigación.

### Referencias.

- Zimmermann, G. (2007) Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, Biocontrol Science and Technology. 17:553-596.
- Rodríguez-Gómez, *et. al.* (2009). Substrate influence on physiology and virulence of *Beauveria bassiana* acting on larvae and adults of *Tenebrio molitor*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 25: 513-518.

# EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE INFECTIVIDAD DE AISLADOS SILVESTRES DE *Beauveria bassiana* (Orden: Hypocreales, Familia: Cordycipitaceae) OBTENIDOS EN EL ESTADO DE HIDALGO.

**Meléndez-Alonso Astrid Itzel, Arce-Cervantes Oscar, Espitia-López Josefa, Garza-López Paul Misael**

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Rancho Universitario. Av. Universidad Km 1, Ex-Hda. de Aquetzalpa, CP. 43600 Tulancingo, Hidalgo.  
Correo electrónico: me231902@uaeh.edu.mx.

## Resumen

En los últimos años se han desarrollado alternativas ante el uso de productos químicos para el control de plagas y enfermedades, pues se ha observado una notable perturbación de los ecosistemas debido a la sobreproducción de productos de origen agrícola, por lo tanto, se ha producido una ruptura en el equilibrio natural entre plagas y sus enemigos naturales.

Ante la presente situación se han llevado a cabo numerosas investigaciones que han llevado a estudiar los enemigos naturales de las plagas, entre ellos, los hongos entomopatógenos. Particularmente en México se ha encontrado una extensa diversidad de especies nativas de ciertas regiones del país, como el hongo *Beauveria bassiana* que ha sido encontrado como patógeno de insectos en diversos ecosistemas del país.

Es por eso que, en este estudio se evalúa la infectividad de cuatro aislados silvestres del hongo *Beauveria bassiana* obtenidos en el estado de Hidalgo, específicamente en los municipios de Santiago Tulantepec, Tulancingo de Bravo y Acatlán, los cuales han sido nombrados de acuerdo al lugar donde fueron colectados, con las primeras tres letras del municipio (SAN I, SAN II, TUL y ACA). Los aislados fueron evaluados en insectos adultos de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae).

Palabras clave: Control biológico, *Beauveria bassiana*, Aislados Silvestres, Bioensayo, Infectividad.

## Introducción

El control biológico de plagas de acuerdo con un enfoque ecosistémico, es una manera de potenciar la biodiversidad asegurando al mismo tiempo la producción (FAO, Citado en 2021). Actualmente en el intento por preservar y potenciar la biodiversidad y a la vez mejorar la sostenibilidad en la protección de cultivos, los entomopatógenos fúngicos se han investigado ampliamente como agentes de control biológico de insectos plaga, ya que proporcionan un importante servicio ecosistémico por ser enemigos naturales importantes de muchas especies de insectos y ácaros (Roy, *et al.*, 2010).