

## EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE *Acanthoscelides obtectus* Say (COLEOPTERA: BRUCHIDAE) EN FRIJOL ALMACENADO

Mirelle E. Castillo-Cruz y Amalia Pérez-Valdez✉

Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, C. P. 56230. Tel. 0159595 21500 ext. 6424 y 6427.

✉ Autor de correspondencia: amalimor@yahoo.com.mx

**RESUMEN.** Se evaluó la efectividad biológica de tres productos a base de hongos entomopatógenos para el control de *Acanthoscelides obtectus* en frijol almacenado. Se probaron cinco tratamientos a cuatro concentraciones diferentes (1 %, 0.50 %, 0.25 %, 0.125 %), con tres repeticiones y un testigo. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico ANOVA 95% donde se obtuvo que el producto BEA-SIN líquida tuvo una mortalidad del 94.58 % y TRI-SIN polvo un 93.33 % de mortalidad a diferencia de BEA-SIN PW (Polvo humectable) con un 89.16 % de mortalidad y META-SIN PW un 83.33 %; de acuerdo a las concentraciones empleadas donde las concentraciones del 1 y 0.5 %, la dosis de concentración si hubo diferencia entre las de mayor concentración (1 y 0.5 %) con las de menor concentración (0.25 % y 0.125 %) y en las interacciones se tuvo que tres generaron el 100 % de mortalidad: BEA-SIN 1 %, TRI-SIN CE 1 % y TRI-SIN PW 1 %.

**Palabras clave:** Hongos entomopatógenos, plaga de grano, mortalidad.

### Biological effectiveness entomopathogenic fungi in control *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) stored in beans

**ABSTRACT.** Biological effectiveness of three products based on entomopathogenic fungi to control *Acanthoscelides obtectus* in stored beans was evaluated. Five treatments at four different concentrations (1%, 0.50%, 0.25%, 0.125%), with three repetitions and a witness were tested. The results were subjected to statistical analysis ANOVA 95 % which was obtained that the BEA-SIN product liquid had a mortality rate of 94.58% and TRI-SIN powder having a 93.33% mortality unlike BEA-SIN PW (Wettable powder) with one 89.16% mortality and META-SIN 83.33% PW one; according to the concentrations used where concentrations of 1 and 0.5%, the concentration dose if there was difference between the highest concentration (1 and 0.5%) with the lower concentration (0.25% and 0.125%) and interactions are three had generated 100 % mortality: BEA-SIN 1 %, TRI-SIN CE 1 % TRI-SIN PW 1 %.

**Keywords:** Entomopathogenic fungi, grain pest, mortality.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los granos de importancia en la dieta de los mexicanos es el frijol Sin embargo, su calidad se puede ver altamente afectada en su almacenaje. Se estima que las pérdidas del frijol almacenado se ubican entre el 15 y el 30 % (Ospina *et al.*, 1981; Cardona y Karel 1990). Las principales plagas del frijol almacenado son *Acanthoscelides obtectus* (Say) y *Zabrotes subfasciatus* (Boheman), se estima que ambas especies ocasionan pérdidas de hasta el 35 % en México y América central. La principal diferencia entre estas especies radica en el comportamiento durante la ovoposición. El control de estas plagas de almacén ha sido a base de productos químicos sin embargo se ha establecido que estos compuestos son perjudiciales para la salud humana y los ecosistemas así como su resistencia por el uso excesivo y su grado de toxicidad (Assaff *et al.*, 2002). Una de las estrategias que se han implementado dentro del control biológico está el uso de bioinsecticidas a base de hongos entomopatógenos. Los objetivos de este trabajo fueron:

Determinar la efectividad biológica de tres productos a base de hongos BEA-SIN (PW Y CE), META-SIN (PW) y TRI-SIN (PW Y CE) en una plaga de frijol almacenado y su tasa de mortalidad.

## MATERIALES Y MÉTODO

Se realizó una visita al mercado San Antonio, de Texcoco donde se obtuvo frijol negro variedad Jamapa infestado por una especie de gorgojo. Los granos de frijol se colocaron en recipientes de plástico de 3.85 l con tapa perforada y cubierta con tela tergal francés para incrementar la infestación. Se llevaron los frascos de frijol a la cámara de cría del departamento de parasitología agrícola para incremento de la población bajo condiciones de temperatura y humedad controladas. Los ejemplares revisados y procesados fueron llevados al instituto de fitosanidad en el laboratorio de morfología de insectos, colegio de postgraduados en Montecillos, México para tomar fotografías de cada estado biológico. Para la identificación de la especie del gorgojo, se tomaron en cuenta las características morfológicas del adulto y se hizo mediante la comparación y seguimiento de las claves de Ramírez 2013. Con la ayuda de un microscopio estereoscópico (Fig. 1).

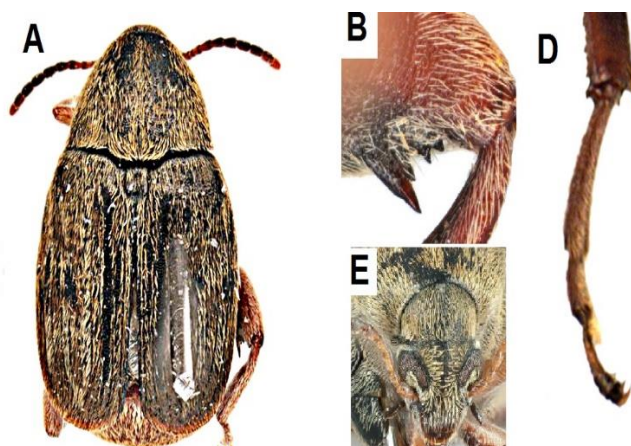


Figura 1. Gorgojo *Acanthoscelides obtectus* a) Pronoto y estrías en élitros, b) Espinas prominentes en fémur posterior, c) Espuela tibial fija en patas metatóricas

Para la concentración y viabilidad de los conidios/esporas. Se toma un ml de solución preparada o producto final, añadiendo una gota de dispersante y se realiza el conteo en la cámara de Newbauer. El número de conidias se multiplica por el volumen de la dilución. Se preparan cajas de petri con los medios: Agar Dextrosa Sabouraud (ADS) y Papa Dextrosa Agar (PDA) y se añade una suspensión de conidios a una concentración de 0.01 % y son incubadas por un lapso de seis días a condiciones reguladas de temperatura y humedad relativa. Se toma una porción de la esporulación con el asa bacteriológica y se prepara una suspensión en un ml. de agua destilada esté en la cámara Newbauer, observándose en un campo de 400 conidios por caja de petri y el resultado es dado en porcentajes de germinación y se cuenta el número de conidias. Para la viabilidad de las cepas se toma un portaobjetos estéril al que se le coloca una gota de medio ADS o PDA., y al enfriar se le añade 0.01 ml de suspensión de conidios. Estos portaobjetos se incuban en la cámara durante 18 a 24 horas y se estima la esporulación visualmente y el resultado es dado en % de germinación de cada producto de hongos a evaluar: BEA-SIN *B. bassiana*, la mezcla de hongos TRI-SIN (*B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosorosus*) en presentación líquido y polvo y META-SIN a base de *M. anisopliae* presentación en polvo. Posteriormente se determinó el número de conidias por ml usando la siguiente fórmula: Conidias/ml = número de conidias contadas X 25,000 x factor de dilución. Cabe mencionar que este procedimiento no se realizó para el producto que es

una mezcla de hongos (Tri-Sin). Se prepararon cinco tratamientos donde: dos son productos solos y uno es un complejo de hongos. La solución se preparó en cuatro concentraciones: 1 % (100 ml de agua destilada + 10 ml/g del producto), 0.5 % (50 ml de agua destilada + 50 ml de la concentración 1 %), 0.25 % (50 ml de agua destilada + 50 ml de la concentración 0.5 %), 0.125 (50 ml de agua destilada + 50 ml de concentración 0.25 %).

Se realizó una aplicación por aspersión con atomizadores sobre cajas Petri, cada una con diez insectos adultos. Para la evaluación de cada tratamiento se establecieron cuatro concentraciones (1 %, 0.5 %, 0.25 % y 0.125 %) y el testigo con tres replicas (Cuadro 1). Se asperjaron 2 ml de cada concentración, con la ayuda de un atomizador manual a una distancia de 15 cm.

Cuadro 1. Tratamientos de productos formulados. Chapingo, México. 2014.

Producto	1%	0.5%	0.25%
BEASIN	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos
	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos
	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos
BEASIN PW	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos
	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos
	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos
TRI-SIN CE	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos	C R1: 10 Insectos
	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos
	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos
TRI-SIN PW	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos
	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos
	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos
META-SIN PW	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos
	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos
	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos
TESTIGO	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos	R1: 10 Insectos
	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos	R2: 10 Insectos
	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos	R3: 10 Insectos

Los resultados obtenidos durante este tiempo se sometieron a un análisis de varianza con un grado de confiabilidad del 95 %; para determinar si existía diferencia entre los tratamientos empleados. Posteriormente, se hizo la prueba de comparación múltiple de medias Tukey ( $\alpha = 0.01$ ) para establecer que: tratamiento, concentración e interacción fueron los mejores.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base a características morfológicas y con base al uso de claves taxonómicas, Borrer *et al.*, 2005, el gorgojo pertenece al orden coleóptera y familia Bruchidae por tener un par de alas esclerosadas y un par de alas membranosas menores de 5 mm. Conforme a las claves diferentes taxónomos entre ellos Ramírez, 2013 considera que la especie a identificar es *Acanthoscelides obtectus* por ciertos caracteres morfológicos distintivos en cabeza, vértex, presencia de escutelo, dentículos en las estrías de los élitros. Las hembras con o sin un par de líneas o estrías en el pigidio, espuela tibial presente. Tres espinas en el fémur posterior o, una más grande que las otras. La espina subapical larga del fémur posterior 1.5 a 2 veces más grande que la base de la tibia; las espinas subapicales pequeñas en el tarso posterior. En cuanto al ciclo biológico se encontraron formas inmaduras de larvas, pupas y adultos para realizar el bioensayo. Para la diferenciación sexual se revisó la región suranal o pigidio como lo establece López (2011) en el caso de los machos es más curvo, su abertura anal está ubicada en el vientre y presenta una curvatura media ventral visible en

el microscopio. Mientras el pigidio de la hembra no es tan remarcado, su abertura anal es terminal y en la región media ventral es recta.

En el cuadro 2 se observa que el producto que tuvo una mayor viabilidad fue BEA-SIN en sus dos presentaciones PW (Polvo humectable) y concentrado emulsionable (CE), con un 96.66 % y 94.33 %. También en este análisis se observa que aquellos medios que se les agregó el insecto presentaron una mayor germinación en comparación con los que sólo tenían ADS (Agar Dextrosa Sabouraud). Estos datos concuerdan con los reportados por Camargo (2000) y Campos *et al.*, (2010) al evaluar a *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecylomices* en diferentes medios de cultivo donde existe un crecimiento. En la prueba de germinación (Cuadro 2) se obtuvo que: los productos BEA-SIN y TRI-SIN tuvieron una germinación mayor del 90 % independientemente del tipo de formulación, mientras META-SIN tuvo un porcentaje del 83.33 % esto concuerda con Mancilla (2010) que reporto que *Beauveria bassiana* tuvo un porcentaje mayor del 90 % mientras *Metarhizium* del 80 %. Elosegú y Elizondo (2010) obtuvieron que la mezcla de: *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* generan un porcentaje de germinación mayor del 95 %.

Cuadro 2. Prueba de germinación a las 48 horas. Chapingo, México, 2014.

Producto	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Porcentaje
BEA-SIN PW	98	94	96	96
BEA-SINCE	93	94	94	93.66666667
TRI-SIN PW	93	90	93	92
META-SIN CE	82	84	84	83.33333333

Se establece que las concentraciones de conidios obtenidas en el presente experimento son efectivas para el control de *Acanthoscelides obtectus*.

Mediante la prueba de Tukey a una confiabilidad de 99 % se determinó que el mejor tratamiento fue BEA-SIN (suspensión líquida) al tener un 94.5 % de mortalidad, por otra parte, se tiene que BEA-SIN PW (polvo humectable), TRI-SIN CE Y TRI-SIN PW no tuvieron una diferencia significativa en el índice de mortalidad que ocasionaron del 93.33 %. Mientras META-SIN PW tuvo el porcentaje más bajo en mortalidad con un 83.3 %. Al realizar la comparación de medias de concentraciones se obtuvo que las mejores fueron las más altas (1 % y 0.5 %). En cuanto las interacciones hubo cinco mejores: BEA-SIN 1 %, TRI-SIN CE 1 % y TRI-SIN PW 1 %; generando el 100 % mientras, TRI-SIN PW 0.5 % y BEA-SIN 0.5 % generaron el 98.33 %.

## CONCLUSIÓN

La especie identificada es *Acanthoscelides obtectus*.

La tasa de mortalidad de cada producto fue el siguiente: BEA-SIN (suspensión líquida) 94.5 % de mortalidad, BEA-SIN PW (polvo humectable), TRI-SIN CE Y TRI-SIN PW no tuvieron una diferencia significativa en el índice de mortalidad ambos con un 93.33 % a diferencia de META-SIN PW con un 83.3 % de mortalidad.

Al realizar la comparación de medias de concentraciones se obtuvo que las mejores fueron las más altas. En cuanto las interacciones hubo cinco mejores: BEA-SIN 1 %, TRI-SIN CE 1 % y TRI-SIN PW 1 %; generando el 100 % mientras, SIN PW 0.5 % TRI y BEA-SIN 0.5 % generaron el 98.33 %.

## Agradecimientos

Se agradece la participación de la Empresa Agrobiológicos del Noroeste, Sinaloa por los productos a evaluarse de hongos entomopatógenos y al M. en C. Jorge Valdez Carrasco del Instituto de Fitosanidad Entomología, Colegio de Postgraduados en la toma de fotografía de la especie en cada una de sus estados de desarrollo

## Literatura Citada

- Alean-Carreño I. 2003. *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*. Tesis de Licenciatura. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, D. C. Colombia
- Asaff, T. A., Reyes, V. Y., López, E. V. y M. de la Torre. 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avances y prospectivas*, 21: 291–295.
- Triplehorn, C. A. and N. Johnson. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the study of insects. 7a. Ed. Brooks/Cole, a division of Thomson Learning, Inc. Thomson Learning is a Trademark. 864 p.
- Camargo, L. M. F. 2000. *Efectividad biológica de los hongos entomopatógenos Beauveria bassiana (Bals) Vuill. y Metarhizium anisopliae Metsch) para el control del gorgojo del frijol, Acanthoscelides obtectus (Say)*. Tesis Maestría. Colegio de Postgraduados. Instituto de enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Instituto de Fitosanidad. Montecillo, Texcoco, estado de México. 63 p.
- Carmona M. J. L. 2001. *Efectividad biológica de tres deuteromicetes en el manejo de Trialeurodes vaporariorum West. (Homoptera: Aleyrodidae) en el cultivo de tomate (Lycopersicon esculentum Mill) bajo condiciones de laboratorio en Chapingo, México*. Tesis Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 79 p.
- Castañeda, B. C. F. 1993. *Patogenicidad de Beauveria bassiana (Deuteromycetes: Moliniales) a los bruquidos de frijol almacenado Zabrotes subfasciatus y Acanthoscelides obtectus (Coleoptera: Bruchidae) en laboratorio*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Edo. México 56 p.
- Elósegui, C. O. y S. A. I. Elizondo. 2010. Evaluación microbiológica in vitro de mezclas de especies de hongos entomopatógenos ingredientes activos de bioplaguicidas cubanos. *Fitosanidad*, (14): 102–109.
- Ferron, P. 1977. Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (Fungi Imperfecti, Moniliales) in imagines of *Acanthoscelides obtectus* (Col.: Bruchidae). *Entomophaga*, 22: 393–396.
- Mancilla, P. J. M. 2011. *Caracterización de secreciones de Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae con actividad patogénica contra el gorgojo del frijol Acanthoscelides obtectus*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Sinaloa 90 p.
- Quintero, Z. I. 1998. *Producción de esporas de Paecilomyces fumosoroseus en diferentes medios de cultivo líquidos*. Tesis de Maestría, especialidad en Microbiología. Universidad Autónoma de Nuevo León. 51 p.
- Rodríguez, M. S., Gerding, M. y A. France. 2006. Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de polilla del tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultura técnica (Chile)*, 66(2): 152–158.
- Tanada, Y. and H. K. Kaya. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press. INC. U. S. A. 666 p.