



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS



MAESTRIA EN MANEJO DE ECOSISTEMAS DE ZONAS ÁRIDAS

TESIS

**“FACTIBILIDAD DE INCORPORAR BIOINSECTICIDAS A PRÁCTICAS
AGRÍCOLAS CONVENCIONALES EN EL MUNICIPIO
DE NOMBRE DE DIOS; DURANGO”**

Que para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN MANEJO DE ECOSISTEMAS DE ZONAS ÁRIDAS**

Presenta:

ALFONSO RODRIGUEZ MATURINO

Ensenada, Baja California, México

Agosto de 2008

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS**

TESIS

**“FACTIBILIDAD DE INCORPORAR BIOINSECTICIDAS A PRÁCTICAS
AGRÍCOLAS CONVENCIONALES EN EL MUNICIPIO
DE NOMBRE DE DIOS; DURANGO”**

Que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias en Manejo de Ecosistemas de Zonas Áridas

Presenta

Alfonso Rodríguez Maturino

Aprobado por:



M. C. María Berenice González Maldonado
Directora de tesis

Dra. Nelly Calderón de la Barca Guerrero
Sinodal

Dra. Martha Ileana Espejel Carbajal
Sinodal

DEDICATORIA

A mi querido hermano Alberto Rodríguez Maturino: compañero de mil y un batallas.

AGRADECIMIENTOS

A mi amada esposa Idania y a la gran fuerza que me impulsa a crecer cada vez como persona: mi hija Génesis.

A mis queridos padres Alberto y Emma, quienes gracias a su apoyo y comprensión logre la culminación de mi grado.

A mi hermana Gloria, por sus consejos., por confiar en mí y ayudarme a alcanzar una meta importante.

A la M.C. María Berenice González Maldonado, por la dirección y asesoría de este trabajo.

A la Doctora Nelly Calderón de la Barca Guerrero, por el apoyo otorgado para la realización de esta tesis.

A la Doctora Ileana Espejel Carbajal, por su valiosa ayuda en la revisión, corrección y sugerencias del presente trabajo.

A mis dos grandes amigos Aldo Guevara y Julieta Romero, por su compañía y amistad en todo momento.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT por el apoyo económico brindado para el desarrollo de mi posgrado.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Pág.

RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO DEL FRÍJOL	5
2.1.1 Categoría y grupo taxonómico	5
2.2 <i>Epilachna varivestis</i> MULSANT (COLEOPTERA: COCCINELIDAE)	5
2.2.1 Características morfológicas de <i>E. varivestis</i>	6
2.2.2 Hábitos, biología y distribución	7
2.2.3 Daños a la planta	8
2.3 HONGOS ENTOMOPATÓGENOS HE	8
2.3.1 <i>Beauveria bassiana</i> (Bálsamo) Vuilleimin	9
2.3.2 Modo de acción de <i>B. bassiana</i>	10
2.3.3 Respuesta del insecto una vez infectado	11
2.3.4 Ventajas de utilizar <i>B. bassiana</i>	11
2.4 <i>Metarhizium anisopliae</i> (METSCH.) SOROKIN	12
2.4.1 Clave para identificación de <i>M. anisopliae</i>	12
2.5 MERCADO DE BIOINSECTICIDAS EN MÉXICO	12
2.5.1 Mercado y comercialización de HE	14
2.6 PRODUCCIÓN MASIVA DE BIOINSECTICIDAS	17
2.6.1 Fermentación difásica	17
2.6.2 Fermentación sumergida o líquida	18
2.6.2.1 Blastosporas	18
2.6.2.2 Esporas	19
2.6.2.3 Micelio	20
2.6.3 Fermentación sólida	22
2.6.3.1. Esporas aéreas	22
2.7 APLICACIÓN DE BIOINSECTICIDAS EN CAMPO	24
2.7.1 Dosis aplicadas en campo	24
2.7.2 Umbral económico	25
2.7.3 Fluctuación poblacional de insectos	26
2.7.4 Apoyos al campo	27
2.7.5 Aspecto social	27
2.8 FORMULACIÓN	29
2.8.1 Aceite	30
2.8.2 Arcillas	31
2.8.3 Miroencapsulación	32
2.9 EVALUACIÓN DE PRODUCTOS A NIVEL DE LABORATORIO Y CAMPO	33
2.9.1 Ventana de respuesta biológica	33
2.9.2 Bioensayos	33
3. JUSTIFICACION	34
4. HIPOTESIS	35
5. OBJETIVO GENERAL	35
5.1 Objetivos Particulares	35
6. MÉTODOS	37
6.1 Encuestas	37
6.1.1 Técnica TKJ	37
6.1.2 Descripción de la Técnica	38

6.2 PRODUCCIÓN DEL BIOINSECTICIDA BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO	39
6.2.1 Microorganismo	39
6.2.2 Técnica del Insecto trampa	40
6.2.3 Preparación del sustrato	40
6.2.4 Preparación del inóculo	40
6.2.5 Inoculación del hongo	41
6.2.6 Sala de germinación y crecimiento	42
6.2.7 Formulación del producto	42
6.2.8 Viabilidad de esporas	42
6.2.9 Prueba de pureza	43
6.3 BIOENSAYOS DE TOXICIDAD	43
6.3.1 Colecta de material biológico	43
6.3.2 Cría masiva de <i>E. varivestis</i> en laboratorio	43
6.3.3 Ventana de respuesta biológica	44
6.3.4 Bioensayo por aplicación tópica	45
6.4 APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN CAMPO	46
6.4.1 Diseño experimental	46
6.5 EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS	47
6.5.1 Fluctuación poblacional	47
6.5.2 Porcentaje de mortalidad	48
6.5.3 Micosis	48
6.6 ANALISIS ESTADÍSTICO	49
6.7 CURSO TALLER	49
6.8 ELABORACION ARTESANAL DE BIOINSECTICIDAS	50
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
7.1 ENCUESTAS	51
7.1.1 Evaluaciones a productores	51
7.2 PRODUCCION DE BIOINSECTICIDAS BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO	53
7.2.1 Bioensayos de toxicidad contra <i>E. varivestis</i> en laboratorio	54
7.2.2 Formulación del producto	57
7.2.3 Esporas aéreas	58
7.2.4 Viabilidad y pureza de esporas	58
7.3 APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS EN CAMPO	59
7.3.1 Fechas de aplicación de los tratamientos	59
7.3.2 Diseño experimental	60
7.3.3 Fluctuación poblacional de insectos	60
7.4 CAPACITACION TÉCNICA A GRUPO DE PRODUCTORES DEL EJIDO DE SAN JOSE DE TUITAN, NOMBRE DE DIOS, DURANGO	65
7.4.1 Elaboración artesanal de bioinsecticidas	66
8. CONCLUSIONES	68
9. BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXOS	--

ÍNDICE DE FIGURAS	Pág.
Figura 1. Estadios de desarrollo de <i>E. varivestis</i> . Huevo, Larva, Pupa y Adulto	7
Figura 2. A = <i>Beauveria bassiana</i> . a) conidióforo, b) fiálide, c) conidios o esporas. B = <i>Beauveria brongniartii</i> . d) conidióforo, e) fiálide, f) conidios (Alves, 1986)	10
Figura 3. Cepa nativa clave BbA utilizada para la producción de bioinsecticidas	54
Figura 4. Bioensayos. Plantas utilizadas para observar los porcentajes de mortalidad de larvas a las diferentes dosis del hongo	55
Figura 5. Distribución de los tratamientos en el cultivo de frijol	61
Figura 6. Fluctuación poblacional de larvas y adultos de <i>E. varivestis</i> , durante el ciclo agrícola primavera-verano 2007	63
Figura 7. Adulto de <i>Epilachna varivestis</i> micosado por la acción de <i>Beauveria bassiana</i> esporulado en laboratorio	65

ÍNDICE DE CUADROS

Pág.

Cuadro 1.	Instituciones y compañías privadas productoras y comercializadoras de bioinsecticidas para el control de insectos en México, reportadas en 1999	Anexo
Cuadro 2.	Productos Químicos para el control de <i>Epilachna varivestis</i> .	Anexo
Cuadro 3.	Entidades Federativas con mayor Intensidad Migratoria.	Anexo
Cuadro 4.	Tratamientos biológicos aplicados en campo	47
Cuadro 5.	Datos de aislamiento de la cepa BbA	54
Cuadro 6.	Mortalidad de larvas de <i>E. varivestis</i> expuestas a diferentes concentraciones de la cepa BbA de <i>Beauveria bassiana</i>	55
Cuadro 7.	Porcentajes de viabilidad y pureza de la cepa BbA	59
Cuadro 8.	Efecto de los tratamientos aplicados en la parcela de frijol (Número de individuos/ planta)	62
Cuadro 9.	Relación de bioinsecticidas elaborados por productores cooperantes.	67

RESUMEN

La "conchuela del frijol" *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) ha sido considerada una de las principales plagas del cultivo de frijol en el Estado de Durango. Para su control, se han utilizado insecticidas químicos; sin embargo, sus efectos nocivos a la salud pública y al ambiente obligan a la búsqueda de alternativas al uso de estos productos. Los hongos entomopatógenos HE *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin son agentes biológicos para el control de coleópteros; por lo tanto, su uso puede considerarse dentro del control biológico de esta plaga. El objetivo del presente trabajo fue la transferencia de tecnología para el uso de bioinsecticidas en un cultivo de frijol en San José de Tuitán, Durango, así como la capacitación a productores para la producción artesanal de insecticidas biológicos para el combate de dicha plaga en campo. Se realizó la producción de un bioinsecticida en laboratorio, utilizando una tecnología de fermentación difásica (sustrato líquido y sólido), a partir del HE *B. bassiana* (BbA) cepa nativa, dos bioinsecticidas comerciales (*B. bassiana* y *M. anisopliae*), un insecticida químico (Parathión metílico) y agua como control, los cuales fueron aplicados en campo con base en un diseño experimental completamente al azar, para el control de *E. varivestis*. Los datos de mortalidad y la fluctuación poblacional de insectos fueron analizados utilizando un ANOVA y una prueba HSD ($\alpha = 0.05$), para separar las medias de los diferentes tratamientos. Se llevó a cabo un curso-taller para la capacitación a productores sobre el reconocimiento de las principales plagas del frijol, medidas de control, técnicas de aplicación de bioinsecticidas y entrega de un folleto técnico. En laboratorio el aislamiento de *B. bassiana* causó una mortalidad máxima de 90% a dosis de 1.8×10^9 blastosporas/ml a las 72h, mientras que la mínima fue de 20% a 1.8×10^4 blastosporas/ml a las 96h. Existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos aplicados en campo ($F = 4.70$, $p \leq 0.0050$), y también en las fechas de muestreo ($F = 10.74$, $p \leq 0.0001$), donde el parathión metílico fue el mejor insecticida para el control de *E. varivestis* con un porcentaje de 95% de mortalidad de larvas y adultos, seguido por Bea-Sin[®] (88 %), la cepa BbA (86%), Meta-sin[®] (76%) y el control (2%). La cepa BbA y Bea-Sin[®] a base de *B. bassiana* fueron más tóxicas que la cepa de Meta-sin[®], elaborado con *M. anisopliae*, lo cual demostró la efectividad de la cepa nativa. La capacitación a productores para el reconocimiento de plagas y el uso adecuado de insecticidas biológicos, además de la guía y folletos técnicos sirvieron para proporcionar asesoría y capacitación completa a productores para el control de plagas en la región de estudio.

1. INTRODUCCIÓN

El frijol es un producto agrícola de importancia en México, además de ser una de las principales fuentes importantes de hierro y proteínas en la alimentación de la población de los diferentes estratos sociales y de la comunidad del campo.

La mayor parte de la producción se obtiene en los estados de Zacatecas, Durango, Chihuahua, Sinaloa, Nayarit, Guanajuato, Chiapas, San Luis Potosí y Puebla (Serrano, 2004). Durango ocupa el segundo lugar nacional como productor de frijol, con un área cultivada promedio de 300,000 Ha y una producción media anual de 130,000 toneladas. Con un indicador de producción por Ha de 2,410 Kg. (SAGARPA, 2006).

La conchuela del frijol *Epilachna varivestis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) es la plaga que mas ataca a este tipo de cultivo, afectando sobre todo la calidad del grano y su competitividad en los mercados regionales y nacionales. Por varios años se ha combatido esta plaga utilizando insecticidas químicos, causando efectos negativos no cuantificables; tales como la muerte de algunas especies hasta la intoxicación de seres humanos que utilizan los insecticidas de forma continua, sin protección ni guía técnica efectiva.

La falta de información técnica adecuada para el uso de insecticidas, ha permitido que la incidencia de esta plaga se incremente anualmente, representando un problema grave desde el punto de vista ecológico, económico y social, de tal manera que diferentes instituciones han venido realizando trabajos de investigación que han

demostrado un alto nivel de posibilidades de éxito para el combate de este insecto utilizando agentes de control biológico (Virus, nematodos, hongos, bacterias, extractos vegetales y parasitoides); dentro de los cuales el uso de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus*, entre otros, son efectivos y específicos para el control de un amplio rango de plagas.

B. bassiana como una alternativa en el control biológico representa ventajas tales como ser seguro para el agricultor y para el medio ambiente, no deteriora la fauna, no representa efectos tóxicos por acumulación en aplicaciones sucesivas y no produce residuos peligrosos. Se presenta como una opción eficaz, esperanzadora y libre de riesgo frente a los numerosos y crecientes problemas derivados del uso de productos químicos (Pueppke, 1999). *B. bassiana* constituye un método más acorde con el medio ambiente y es complementario a los diferentes programas de control biológico.

En relación a esto, González *et al.* (2005), bajo condiciones de laboratorio evaluaron la toxicidad de esporas de 10 cepas de *B. bassiana* contra larvas de *Epilachna varivestis*. Las cepas fueron aisladas de diferentes organismos, de las cuales algunas de ellas presentaron una toxicidad hasta del 96.6% de mortalidad.

Behle *et al.* (2004), evaluaron la efectividad de blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* formuladas por secado por aspersión (1, 3 y 5% de biomasa) (BbM) para el control de larvas del 1er estadio de *Epilachna varivestis*, la toxicidad del

producto fueron comparadas con blastosporas de *P. fumosoroseus* no formuladas (BbU) y con un bioinsecticida comercial (Mycotrol®) (BbC). El BbC presentó el 96% de mortalidad de larvas, BbU resultó en 77.3%; en tanto BbM en concentración del 5% fue similar a BbU (72%) y demostró una toxicidad aceptable en comparación con el bioinsecticida comercial.

En estudios de campo, Silva- Rodríguez *et al.* (2007); Evaluaron el efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus*, un insecticida químico y *Bacillus thuringensis* en el control de barrenadores en caña de azúcar, las aplicaciones de estos productos mantuvieron un promedio general de 14% de plántulas muertas, un 12% con el testigo y *M. anisopliae*, con el químico un 10.7% y con *Bacillus thuringensis* un 9% y concluyen que la época de aplicación de los productos es determinante en la efectividad de los mismos. Sabbahi *et al.* (2008) durante experimentos en campo usaron un diseño experimental completamente al azar, dos aislamientos de *B. bassiana* fueron aplicados a dosis de 1×10^{11} y 1×10^{13} esporas/ha semanalmente durante un periodo de 4 semanas, las aplicaciones redujeron considerablemente poblaciones de ninfas de *Lygus lineolaris* en fresa. En México, Bautista y González (2005) evaluaron tres dosis de *M. anisopliae* para el control de mosca pinta (*Aeneolamia* spp.) en caña de azúcar aplicándolo cuatro veces con un intervalo de 15 días, con un diseño de bloques completamente al azar, a dosis de 0.5×10^{11} , 1×10^{11} y 1.5×10^{11} esporas/ha, la efectividad en campo fue del 80.8%, 96.4% y 98.7% respectivamente. Estas aplicaciones contribuyeron a la inocuidad alimentaria y protección al medio ambiente.

Cabe destacar que la mayor parte de los trabajos sobre bioinsecticidas han sido realizados bajo condiciones de laboratorio, mismos que han demostrado un alto poder de toxicidad; sin embargo es necesario que se evalué la efectividad de estos productos en campo, ya que es ahí donde se debe determinar su potencial para el control de plagas en diversos cultivos; en la actualidad la producción de alimentos provenientes del campo y en particular la producción de frijol y maíz (principales cultivos de importancia económica en México), se debe de realizar considerando aspectos de inocuidad alimentaria y de producción con sistemas de retribución mas justa para los productores, es decir, que a la vez que se busca la producción de granos libres del uso de plaguicidas químicos, es importante que los productos con estas características se puedan vender a un mejor precio, lo cual resulta en mayor beneficio para los productores y mujeres del campo que se dedican a esta actividad, en unidades de producción rural, que estos estén dentro del marco denominado agricultura orgánica y puedan competir con el mercado internacional al producir alimentos libres de plagas y enfermedades.

Debido a que la capacitación a productores sobre el uso adecuado de bioinsecticidas en campo es limitado y que es necesario el implementar el control biológico en México, se plantea el siguiente objetivo: Transferir el uso de tecnología a productores de frijol para la producción artesanal de un bioinsecticida (*Beauveria bassiana*), de acuerdo a la efectividad demostrada de bioinsecticidas comerciales y químicos dentro del Manejo Integrado de Plagas en el control de *Epilachana varivestis* en el municipio de Nombre de Dios, Durango.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO DEL FRÍJOL

El frijol constituye una rica fuente de proteínas e hidratos de carbono, posee además un alto contenido de vitamina del complejo B, como son: la niocina, riboflavina, ácido fólico y tiamina, calcio, magnesio, fósforo, zinc, entre otros.

2.1.1 Categoría y grupo taxonómico

Súper reino: Eucariota

Reino: Plantae

División: Magnoliofitas

Subdivisión: -----

Clase: Dicotiledóneas

Subclase: Rósidas

Orden: Fabales

Familia: Leguminoceae

Género: *Phaseolus*

Especie: *Phaseolus vulgaris*

2.2 *Epilachna varivestis* (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELIDAE)

El cultivo del frijol se ha visto afectado por un complejo de plagas formado por la chicharrita *Empoasca*, spp., mosquita blanca *Trialeurodes vaporarorum*, picudo del frijol *Apion godmani*, dentro de las cuales, la conchuela del frijol *Epilachna varivestis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) es la que más ataca a este tipo de cultivo, haciendo evidente la causa de sus daños, los cuales son devastadores, afectando

sobre todo la calidad del grano y su competitividad en los mercados regionales y nacionales.

2.2.1 Características morfológicas de *E. varivestis*

El estado adulto es una catarina que mide aproximadamente 6 mm de longitud, de cuerpo convexo; la coloración varía desde amarillo a café oscuro. Presentan 8 manchas negras en cada élitro, la cabeza esta parcialmente cubierta por el protórax (Amaya, 1997). El dimorfismo sexual es poco marcado, excepto por el margen basal del sexto esternito abdominal que es totalmente convexo en el macho (Gordon, 1975).

Lo huevecillos de esta especie miden cerca de 1 mm de longitud, son de color amarillo-anaranjado y de forma elíptica. Estos son depositados en masas o grupos en el envés de las hojas, aproximadamente de 40 a 50, depositando cada hembra alrededor de 500 huevecillos en promedio.

Las larvas son de color amarillo y poseen longitudinalmente seis hileras de setas largas y ramificadas, estas son amarillentas con la punta negra. Las larvas son de movimientos lentos y cuando están completamente desarrolladas miden alrededor de 8 mm de longitud.

Una vez que las larvas han completado su desarrollo, se transforman en pupas las cuales alcanzan a medir aproximadamente 6 mm de longitud y son de color amarillo, se les puede localizar en el envés de la hoja. La última exuvia de la larva permanece

adherida a la parte posterior de la pupa, cubriéndola parcialmente. Los estadios de desarrollo se ilustran en la Fig. 1.

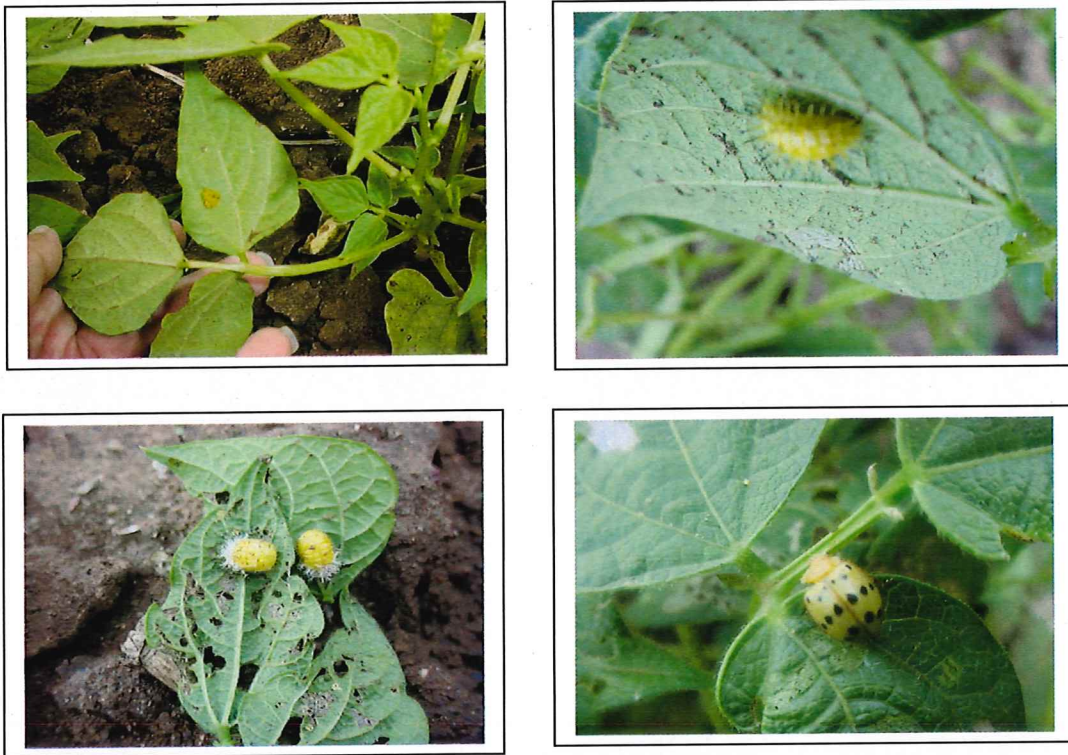


Figura 1. Estadios de desarrollo de *E. varivestis*. Huevo, Larva, Pupa y Adulto.

2.2.2 Hábitos, biología y distribución

Tanto las larvas como los adultos consumen vorazmente el envés de las hojas, dejando sólo las nervaduras; las larvas en sus primeros instares tienen hábitos gregarios, pero posteriormente se dispersan a otras plantas, donde pupan adheriéndose a las hojas y tallos (Pacheco, 1985). Los adultos de la conchuela del frijol hibernan en la hojarasca, grietas del suelo, sobre el terreno del cultivo y montañas; al inicio de la primavera, cuando hay plantas cultivadas, se establecen sobre ellas. El periodo de incubación dura de 5 a 14 días, dependiendo de la

temperatura y de la humedad; la larva completa su desarrollo en 37 días a temperaturas de 17.5-25.5 °C, pasando por cuatro estadios larvares.

2.2.3 Daños a la planta

Tanto las larvas como los adultos tienen importancia económica debido a que se alimentan vorazmente del follaje; los adultos perforan las hojas, mientras que las larvas se alimentan principalmente en el envés, respetando las nervaduras y la cutícula superior (Carrillo, 1990).

2.3 HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Los hongos entomopatógenos comprenden un grupo heterogéneo de más de 100 géneros, sin embargo, solamente un pequeño porcentaje de estos tiene que ser considerado por su potencial como agentes de control microbiano; tomando en cuenta que algunos de estos géneros tienen un amplio espectro de hospederos y en muchos casos sus límites geográficos son también amplios (Berlanga-Padilla, 2002).

El término entomopatógeno se designa a aquellos microorganismos; trátense de bacterias, hongos, virus, nematodos y protozoos cuyo poder ejerce una acción en el insecto huésped; provocándole la muerte.

En lo que respecta a los hongos, son caracterizados por ser organismos de tipo heterótrofo, poseen células quitinizadas ausentes de movimiento. La infección es muy notoria, debido al crecimiento micelial en los insectos infectados. Los entomopatógenos en sí, reúnen un sin fin de características tales como: su amplio

efecto en una variedad de especies y su periodo de acción; el cual tarda un espacio no mayor de 6 días para ejercer su acción, tienen un crecimiento rápido, esporulación abundante así como alta patogenicidad sobre la plaga blanco, costos de producción mínimo y un almacenamiento por periodos prologados a temperatura ambiente, entre otras mas.

2.3.1 *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuilleimin

El hongo pertenece taxonómicamente a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hophomycetes, grupo Terminoradulospora, género *Beauveria* y especie *bassiana*. *B. bassiana* se caracteriza por la formación de conidióforos dispuestos en zigzag e insertados directamente en el micelio y con conidias temporales. Posee hifas septadas que forman conidióforos cortos, llevando fialidades simples o en grupo, con base ensanchada y generalmente termina en una disposición zigzagueada. Alrededor del 50% de sus esporas son globosas, las conidias son blancas y abundantes, forman conidióforos libres, la apariencia de las conidias es lisa y de superficie pulverulenta; presentando un color blanco algodonoso o amarillo cremoso (Fig. 2) (Alves, 1986 y Roberts, 1989).

Aunque se han descrito alrededor de 750 especies de hongos entompatógenos capaces de infectar insectos, *Beauveria bassiana* es considerada como una de las mas importantes; dicha especie ofrece una alternativa al ser utilizada como un agente en la regulación del insecto plaga *Epilachna varivestis* (Tanada y Kaya, 1993).

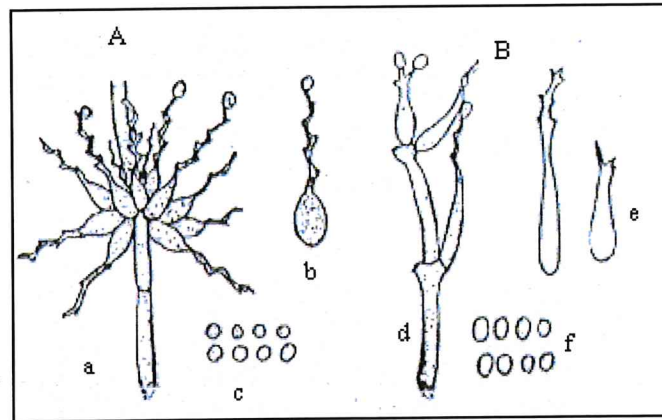


Figura 2. A = *Beauveria bassiana*. a) conidióforo, b) fiálide, c) conidios o esporas. B = *Beauveria brongniartii*. d) conidióforo, e) fiálide, f) conidios (Alves, 1986).

2.3.2 Modo de acción de *B. bassiana*

El hongo entomopatógeno infecta a sus huéspedes a través de la cutícula externa; este modo de infección es único y característico. Los hongos usualmente presentan las siguientes fases de desarrollo sobre los hospederos: germinación, formación de apresorios y estructuras de penetración, colonización y reproducción del patógeno. La unidad infectiva es la espora (Hernández-Velázquez, 1996). La invasión al hospedero se produce con la adherencia de la espora a la cutícula del insecto (Boucias y Pendland, 1998). Posteriormente esta produce un tubo germinativo y un apresorio, como producto de la dilatación. En la penetración están presentes dos procesos principales: físico, debido a la presión de la hifa, la cual rompe las áreas membranosas esclerosadas y el químico, resultante de la acción enzimática (proteasas, lipasas y quitinasas), lo cual facilita la penetración mecánica.

En el área de la pro-cutícula alrededor de la penetración, aparecen síntomas de histolisis (descomposición del tejido por acción enzimática). A partir de la penetración

se inicia el proceso de colonización (Shapiro *et al.* 2003), en el cual la hifa sufre un engrosamiento y se ramifica en la cavidad general del cuerpo. A partir de ese momento se forman pequeñas colonias del hongo y otros cuerpos hifales.

La colonización de los diferentes órganos se produce en la siguiente secuencia: cuerpos grasos, sistema digestivo, tubos de malpighi, hipodermis, sistema nervioso, músculos y traqueas. La muerte del insecto ocurre debido a la producción de micotoxinas, cambios patológicos en el hemocele, acción histolítica y bloqueo mecánico del aparato digestivo, secundario al crecimiento de las hifas. Posterior a la muerte del insecto, el hongo comienza a emerger y sale del insecto enfermo a través de las aperturas como lo son: boca, orificio de unión de los tegumentos y artejos, ano; y en el exterior forman sus estructuras fructíferas y las esporas, caracterizadas por una apariencia de color blanco algodonoso.

2.3.3 Respuesta del insecto una vez infectado

El desarrollo de *B. bassiana* causa la destrucción de tejidos, pérdida de sensibilidad, falta de coordinación motriz y parálisis, hasta la muerte del insecto.

Los individuos enfermos no se alimentan, presentan debilidad y desorientación, cambian de color; presentando manchas oscuras sobre el tegumento, que corresponde con las esporas germinadas del hongo.

2.3.4 Ventajas al utilizar *B. bassiana*

1. Alta especificidad con el insecto plaga que se desea combatir.

2. Inofensivo a vertebrados y plantas.
3. No causa residuos tóxicos.
4. Poca o ninguna contaminación ambiental.
5. No provoca desarrollo de resistencia de plagas.
6. No existen erupciones secundarias en el insecto plaga combatida.
7. Compatibilidad con un extenso número de parasitoides, depredadores y otros patógenos.

2.4 *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOF) SOROKIN

El conidióforo es ramificado, las esporas son alargadas y se forman en cadenas originadas en fialides; las conidias más jóvenes son la base del conidióforo, las cuales crecen unidas formando una masa prismática de cadenas de esporas. Las conidias son blancas cuando son jóvenes, pero conforme la conidia madura, el color se torna a un color verde oscuro (Hernández-Velázquez, 1996). El tamaño comprendido oscila entre 9.0 y 18 μm .

2.4.1 Clave para identificación de *M. anisopliae*

Conidióforo ramificado, el conidio inicial es producido por el conidióforo en una abstricción simple en la parte distal. En cada conidióforo se forma una cadena de conidias basipetala, las cuales crecen densas y adheridas unas con otras formando masas prismáticas de columnas (Tanada y Kaya, 1993).

2.5 MERCADO DE BIOINSECTICIDAS EN MÉXICO

Para México, el aumento del mercado de bioinsecticidas esta relacionado con la disminución de insecticidas químicos aplicados en los cultivos, lo que ha llevado a la

producción de insecticidas biológicos. Actualmente es posible hablar de aquellas empresas transnacionales, medianas y pequeñas dedicadas a la producción, formulación y comercialización de bioinsecticidas (Cuadro 1, Anexo); mismos que necesitan competir en precio y efectividad con los productos químicos existentes en el mercado. En nuestro país se reflejan los grandes esfuerzos por conjugar aquellos trabajos de investigación enfocados a la elaboración, evaluación y sobre todo efectividad de estos productos en el control de plagas.

De hecho, en los últimos años se han obtenido resultados positivos en la comercialización de hongos entomopatógenos como factores de regulación de plagas agrícolas. Se ha integrado conocimientos con respecto a dinámica y fluctuación poblacional de las plagas, fenología del cultivo y las condiciones que favorecen al desarrollo del microorganismo; de tal manera que productores de diferentes partes del país han venido aceptando este tipo de productos.

En México, al igual que en otros países del mundo, el aumento del mercado de bioinsecticidas está relacionado principalmente con la disminución del volumen aplicado de insecticidas químicos, lo que ha provocado que algunas empresas formuladoras de estos productos se orienten hacia los insecticidas biológicos. Existen empresas transnacionales, pequeñas y medianas empresas nacionales, que se dedican a la producción, formulación y comercialización de productos elaborados a base de agentes de control biológico, desarrollo de cultivos transgénicos y productos alternativos para el control de plagas.

2.5.1 Mercado y comercialización de HE

Dentro de los hongos entomopatógenos destacan *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuilleimin y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith para el control de la mosca blanca, *Verticillium lecanii* (Zimmermann) para áfidos, *Metarhizium anisopliae* (Metsh.) y *M. flavoviridae* Gams & Rozsypal para cucarachas.

Los hongos entomopatógenos se producen comercialmente a través de procesos biotecnológicos, empleando un sistema mixto, denominado difásico (líquido-sólido) el cual consiste en una fase inicial de obtención de micelio-espora producido en medio líquido, las cuales son transferidas a un sustrato inerte o nutritivo como los cereales que permiten la producción de conidios aéreos (Jenkins, *et al.* 1998). Estos productos se aplican directamente sobre el insecto en forma de polvo, emulsión o polvo humectable. En condiciones de campo pueden aplicarse mezclados con aceite a volumen ultra-bajo, a fin de incrementar su eficiencia y proteger el agente de control biológico de la radiación solar.

En los últimos años se han obtenido resultados positivos con el uso de hongos entomopatógenos como factores de regulación de plagas agrícolas. Se puede señalar como ejemplo a Brasil donde se emplea *M. anisopliae* (Metchnikof) Sorokin para el combate de la mosca pinta *Manarva posticata* (Stal) en caña de azúcar (Mendonca, 1992); en Inglaterra y Holanda, *V. lecanii* (Zimmermann) es aplicado en cultivos de invernadero contra la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y áfidos (Hall, 1981); en Florida, EUA, *Hirsutella thompsonii* Fisher es aplicado contra ácaros de los cítricos *Phyllocotrupta. oleivora* (Ashmead) (McCoy

et al. 1988); en África se usan formulaciones de conidios de *Metarhizium anisopliae acridum* en aceites contra *Schistocerca gregaria* Forskal y otros ortópteros (Kooyman y Godonou, 1997); en EUA, se ha comprobado que una cepa de *B. bassiana* obtenida del picudo del algodnero y comercializado para el combate de este insecto es, también altamente virulento contra mosca blanca de las hortalizas *Bemisia tabaci* (Wright, 1993). En Cuba y en China se destaca la producción masiva y el uso de estos hongos como única opción para el control de una amplia variedad de plagas en sus sistemas de producción agrícola.

En México, existen varios grupos de investigación dedicados al estudio del aislamiento, caracterización y producción de hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio, planta piloto e industrial. Entre los microorganismos que se están estudiando destacan los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* y *V. lecanii* que se usan de manera importante en todo el país para el control de plagas del café, chile y hortalizas, entre otras.

En México se han desarrollado programas específicos para el uso de hongos en el control de insectos plaga, así por ejemplo actualmente se producen y comercializan, *M. anisopliae* var. *anisopliae* y var. *acridium* para el control de mosca pinta *Aenolamia* spp., en caña de azúcar y langosta *Schistocerca piceifrons* respectivamente, *P. fumosoroseus* contra mosquita blanca *B. tabaci* y *B. bassiana* para broca del café *Hypothenemus hampei* (Hernández y Berlanga, 2002).

El empleo de hongos se realiza en los estados de Colima, Guanajuato, Oaxaca, y Sinaloa, para el control de insectos en cultivos de hortalizas, gramíneas y leguminosas; además se estudia su futura aplicación para el control de insectos en frutales y especies forestales en viveros, bosques y áreas urbanas. Los costos promedio bajo condiciones de laboratorio son de \$ 30/ha, por lo tanto se estima que los agricultores los acepten como una buena alternativa para el control de insectos, principalmente en invernadero y en cultivos de alto valor económico como hortalizas y frutales.

Mediante la integración de conocimientos sobre dinámica y fluctuación poblacional de los insectos plaga, la fenología del cultivo y las condiciones que favorecen al desarrollo del microorganismo entomopatógenos se ha logrado que estos bioinsecticidas sean aceptados y utilizados en algunas regiones del País, de tal manera que durante 1995 se aplicaron productos a base de hongos entomopatógenos en 40,082 ha para el combate de diferentes plagas de importancia agrícola. Actualmente, es difícil conocer con exactitud la cantidad de hongos entomopatógenos que se utilizan en el país, debido al número de laboratorios que producen de manera local y que varía constantemente (sobre todo los que producen *B. bassiana* para el control de broca del café), así como a la gran capacidad de producción que tienen algunos laboratorios privados (como Agrobionsa en Culiacán, Sin. y el laboratorio de Tres Valles, Ver.); pero es indudable que la superficie tratada con hongos se ha incrementado en gran medida pero aún no en todo su potencial.

La única empresa Mexicana independiente que produce y comercializa bioinsecticidas es Agrobionsa (Culiacán, Sin.). Además de *Bt*, dicha empresa comercializa los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* para su aplicación en diferentes cultivos, control de plagas caseras y en invernaderos. Existe también la producción de hongos a nivel estatal en ciertas regiones agrícolas (Rodríguez, *et al.* 1999). Un ejemplo lo constituye el producto BioFung (BbChc-LBIH-28), elaborado por el Centro de Reproducción de Organismos Benéficos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A. C., y cuyo agente activo son esporas de *B. bassiana*, también comercializan Fitosan a base de *M. anisopliae*, además de *Trichogramma* y *Crysopepla*. Así también, el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. CNRCB-DGSV (Tecomán, Col.) se encarga de producir diferentes tipos de hongos para investigación sobre el control de plagas de insectos en el país, además de entomófagos.

2.6 PRODUCCIÓN MASIVA DE BIOINSECTICIDAS

2.6.1 Fermentación difásica

Los hongos entomopatógenos pueden ser producidos empleando un sistema mixto, denominado difásico (líquido-sólido), el cual consiste en una fase inicial de obtención de micelio-blastosporas producidas en medio líquidos, las cuales son transferidas a un sustrato inerte o nutritivo (granos de arroz, cebada, trigo) para la producción de conidios aéreos (Jenkins *et al.* 1998).

2.6.2 Fermentación sumergida o líquida

En los procesos líquidos los nutrientes se encuentran en solución y se cuenta con agua libre. La producción de blastosporas de hongos entomopatógenos en medio líquido es un proceso biotecnológico conveniente desde el punto de vista de eficiencia y rentabilidad, si se compara con la producción de esporas en sustrato sólido o fermentación difásica.

Los esfuerzos realizados con hongos entomopatógenos se han centrado en la producción de cuerpos hifales: blastosporas, micelio y conidios, con miras a su utilización en gran escala y comercialización como agentes infectivos. Para hacer más competitivos a los hongos entomopatógenos se han desarrollado técnicas de producción sumergida en medios líquidos, que implican el uso de fermentadores.

2.6.2.1 Blastosporas

Las blastosporas o cuerpos hifales son células simples, de pared delgada, de vida corta, "fragmentos miceliales" los cuales son producidos en las extremidades hifales y directamente de blastosporas miceliales (Jackson *et al.* 1997 y Vidal *et al.* 1998). Solo en algunos casos, como *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *B. brogniartii*, *P. farinosus*, *V. lecanii* y *Nomuraea rileyi* se ha observado la producción de blastosporas infectivas en cultivos sumergidos (Rosas-Acevedo, *et al.* 2002).

La tecnología más avanzada para la producción líquida de hongos es utilizando reactores o fermentadores. Sin embargo, pocas especies producen propágulos infectivos en cultivo líquido; la mayoría de los Deuteromycetes producen

blastosporas (Humphreys, *et al.* 1989), las cuales son más susceptibles a condiciones ambientales adversas, las blastosporas no sobreviven a estas condiciones al mismo grado que los conidios (Thomas, *et al.* 1987) y son más difíciles de conservar en almacenamiento (Kleespies y Zimmermann, 1994) y consecuentemente no han sido adaptadas para aplicación en campo (Goettel y Roberts, 1992), por lo que es deseable la producción de conidios aéreos en sustrato sólido (Jenkins y Goettel, 1997; Milner y Hunter, 2001).

Los medios de cultivo ricos en nutrientes favorecen la producción de blastosporas de *P. fumosoroseus*, que si bien son muy virulentas, también son muy susceptibles al daño por luz ultravioleta, temperatura y desecación, a este respecto se han obtenido buenos resultados adicionando glucosa, vitaminas, aminoácidos y metales traza, alcanzando rendimientos de 1.1×10^9 blastosporas/ml (Jackson *et al.*, 2004). López, *et al.* (2000) produjeron 3×10^8 blastosporas/ml usando un medio más económico que contenía solamente 20 g/l de glucosa, 10 g/l de peptona de caseína y 2 g/l de extracto de levadura.

2.6.2.2 Esporas

La fermentación en cultivo líquido es el método más económico para la producción de esporas. Los factores del medio (temperatura, aireación y el pH) son más fáciles de controlar que en sustratos sólidos.

Este tipo de cultivo permite mantener un medio nutricional homogéneo fácil de ser monitoreado, simplificando la producción y recolección del producto. Sin embargo,

dependiendo de la composición del medio de cultivo, los tipos de esporas que se producen son diferentes, varios hongos entomopatógenos producen esporas en medio de cultivo líquido. Estas esporas pueden formar la capa externa presente en las esporas aéreas aunque a un grado menor. También parecen menos hidrofóbicas, más pequeñas y de pared más delgada que las esporas aéreas. Lo cual puede reducir su adherencia a la cutícula del insecto, y resistencia a condiciones desfavorables, en el caso de fermentaciones en estado líquido de *B. bassiana*, las esporas germinan más rápidamente que las esporas aéreas. Así adquieren la ventaja de propágulos vegetativos sin perder completamente las capacidades de adherencia y resistencia (López *et al.* 2000).

Medios pobres en nutrientes favorecen la formación de conidios. Se ha encontrado que los conidios sumergidos de *P. fumosoroseus*, al igual que los aéreos, son más resistentes a la temperatura que las blastosporas y tienen una velocidad de germinación menor.

2.6.2.3 Micelio

Cuando se utilizan medios de cultivo a base de azúcares puros (dextrosa, sacarosa) se tiene producción de blastosporas únicamente, sin embargo, cuando se utiliza un medio complejo con fuentes de carbono y nitrógeno se favorece la formación de micelio, en algunos hongos como *P. fumosoroseus* se forman pellets o filamentos al comienzo de la fermentación debidas a la adición de conidias aéreas contenidas en el inóculo utilizado, cuando éstas esporas germinan el micelio crece radicalmente del centro.

Jackson *et al.* (2004) reportaron un rendimiento de blastosporas de *P. fumosoroseus* de 7.9×10^8 blastosporas/ml en fermentador portátil, encontrando además un alto potencial para la producción de blastosporas, con muy bajos niveles de contaminación bacterial.

La producción masiva de hongos se puede llevar a cabo empleando diferentes medios de cultivo, en el CIIDIR-IPN Unidad Durango e Instituto Tecnológico de Durango, se ha usado un medio de cultivo líquido elaborado a base de sales minerales, como fuente de carbono se utiliza melaza de caña de azúcar o etanol y como fuente de nitrógeno sulfato de amonio. Se ajusta el pH del medio a un valor de 5.4, pH óptimo para el adecuado desarrollo de los hongos, para lo cual se utiliza NaOH y H_2SO_4 al 0.1 N (Segovia, 1999).

El medio se inocula con el 10% del hongo y se incuban para su propagación a una temperatura de $27^\circ C$ con una agitación de 130 rpm en una incubadora con control de temperatura y agitación. Cada 24 horas se toman muestras de 10 ml de los matraces para realizar las cinéticas de desarrollo de los hongos que consisten en el conteo de blastoesporas/ml, el consumo de azúcar (técnica DNS) y la cantidad de biomasa (micelio) producida por diferencia de peso.

Las condiciones controladas nutricionales y del medio, la capacidad de escalar los procesos, el control de calidad y la facilidad de recuperación del producto se traducen en costos más bajos de producción de blastosporas de hongos entomopatógenos usando métodos de cultivo líquidos (Jackson, 2003).

2.6.3 Fermentación sólida

El sistema de fermentación en estado sólido involucra el crecimiento de microorganismos sobre un sustrato húmedo en ausencia de agua libre, simulando las reacciones de fermentación que ocurren en la naturaleza. Los sustratos sólidos húmedos, los cuales son polímeros naturales insolubles en agua, actúan como fuentes de carbono, nitrógeno, minerales, agua y otros nutrientes, además proporcionan un anclaje para los microorganismos (Lonsane *et al.* 1992).

2.6.3.1. Esporas aéreas

Las conidias aéreas son la forma de resistencia natural y la forma en que se separa del hongo. Estas son producidas sobre la superficie de los insectos muertos o cualquier otro medio conveniente. Las conidias aéreas de varios hongos son el producto deseado del insecticida debido a su mayor virulencia y resistencia a las condiciones ambientales adversas (exposición a rayos UV y desecación) (López *et al.* 2000).

Debido a que en la naturaleza la mayoría de los hongos entomopatógenos forman conidias sobre hifas aéreas, la producción de esporas del hongo por fermentación en sustrato sólido es el primer método evaluado de producción. Los hongos entomopatógenos recién aislados generalmente se hacen crecer en un medio de agar nutritivo y las conidias aéreas producidas se emplean en pruebas iniciales, para evaluar la eficacia y rango de hospederos del agente de control biológico. La producción por esporulación en sustrato sólido tiene la ventaja de que la mayoría de

los hongos esporulan en estas condiciones, es fácil de realizarlo en el laboratorio y las esporas tienden a ser más estables y resistentes a la desecación como producto seco y tienen una vida de anaquel mayor que las blastosporas producidas en medio líquido (Bartlett y Jaronski, 1988).

Los sustratos utilizados en la fermentación en sustrato sólido tienen las siguientes características:

- Las partículas son el soporte y el sustrato, éste es el caso de todos los materiales orgánicos.
- La parte sólida solo es soporte (minerales o materiales sintéticos) y deben de ser humedecidos con diferentes soluciones nutritivas para el desarrollo del microorganismo (Durand *et al.* 1993).

La capacidad de retención de agua del soporte determina la cantidad máxima de líquido presente en la fase sólida, el agua interviene dentro de la constitución de los microorganismos, en la difusión de las enzimas, nutrientes y productos a través de la materia sólida. El agua libre debe permitir el desarrollo microbiano (humedad < 50%) sin reducir la porosidad del material ni disminuir el intercambio de gases (Gutiérrez-Rojas *et al.* 1995).

El nivel de humedad en la fermentación sólida puede variar de 12 a 80%, en la práctica los procesos se llevan a cabo en valores de humedad que varían de 40 a

80% dependiendo de la capacidad de retención de agua del material (Gutiérrez-Rojas *et al.* 1995).

Los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *Paecilomyces* spp. *M. anisopliae*, *Aschersonia* sp. y *Verticillium lecanii* han sido producidos en diferentes laboratorios dedicados a investigación y producción en escala de planta piloto y en laboratorios para su comercialización.

2.7 APLICACIÓN DE BIOINSECTICIDAS EN CAMPO

2.7.1 Dosis aplicadas en campo

En general, los conidios de hongos entomopatógenos se aplican formulados en polvo humectable ($1-1.5 \times 10^7$ conidios/ml) en 100 o 200 litros de producto/ha, lo que equivale a aplicar $1-3 \times 10^{12}$ conidios/ha, mientras que en aplicaciones a ultra bajo volumen en rangos de 2×10^9 conidios/ml en uno o dos litros de formulado/ha, lo que equivale a aplicar $2-4 \times 10^{12}$ conidios/ha. Lo anterior muestra la necesidad de producir grandes cantidades del hongo a bajo costo para la obtención de esporas con un nivel óptimo de calidad necesario en las formulaciones comerciales (Cherry *et al.* 1999; Prior *et al.* 1992; Jenkins y Grzywacs, 2000).

Los productos comerciales o cepas producidas en el laboratorio se asperjan a dosis predeterminadas sobre plantas en parcelas de campo para el control de plagas de importancia económica. Las concentraciones de bioinsecticidas a evaluar se preparan generalmente haciendo diluciones a partir de una solución madre.

La aplicación de productos se realiza con equipo común y se usan técnicas que favorezcan el contacto del hongo con el insecto. Se muestran plantas antes y después de la aplicación y se determina el número de insectos muertos, rendimiento y daños del producto.

Con el objetivo de determinar el efecto de los tratamientos aplicados sobre la densidad de población de insectos, se realizan muestreos de insectos en plantas por tratamiento y la densidad poblacional de larvas en cada tratamiento. Además se registran los datos de la temperatura máxima y mínima, así como la cantidad de precipitación durante el ciclo agrícola.

Después de la aplicación de los bioinsecticidas, se requiere de 8-10 días para la colecta de insectos muertos, cuya finalidad tiene determinar por tratamiento el porcentaje de insectos infectados por el hongo. Los insectos se mantienen en una cámara de cría con el objetivo de propiciar el desarrollo del hongo y determinar el porcentaje de insectos micosados.

2.7.2 Umbral económico

Se define como la más baja densidad de población que causará daño económico. El Nivel de Daño Económico NDE es la más básica de las reglas para decidir; es un valor teórico que, si realmente llega a ser alcanzado por una población de plagas, resultará en daño económico. Por tanto, el NDE es una medida contra la cual evaluamos el estatus destructivo y el potencial de una población de plagas.

Generalmente se sugiere como criterio de decisión, aplicar un insecticida cuando la abundancia de la plaga es igual o superior al umbral económico.

Un programa de manejo integrado contra cualquier plaga en una región debe constituirse por “herramientas” para la toma de decisiones de control y diferentes tácticas o componentes de control. El uso de métodos de muestreo eficientes para estimar la densidad de la plaga y los umbrales económicos (densidad de la plaga arriba de la cual se causa daño económico) son las herramientas que permiten tomar una buena decisión de control. Entre las tácticas de control destacan los tipos de control cultural, biológico, químico, legal y resistencia genética (Nava, *et al.* 1998).

En modelo general de umbral económico (UE) es $UE = C/VID$, donde C es el costo de la medida de control, V es el valor del producto agrícola, I es el daño causado por el insecto (hojas, porcentaje de follaje o fructificaciones destruidas por insecto) y D es la reducción del rendimiento a causa del insecto (Pedigo *et al.* 1986).

2.7.3 Fluctuación poblacional de insectos

El conocimiento sobre la fluctuación poblacional de un insecto es requisito indispensable para el establecimiento de un control eficiente y económico, esta información permite planificar las medidas de control al conocer las épocas de aparición en el campo y el número de generaciones al año; y además, se puede estimar el número de aplicaciones de insecticidas o cualquier otra medida que se deba realizar durante el año.

2.7.4 Apoyos al campo

Existen dependencias que apoyan a productores dedicados al campo, en Durango el Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Durango, A. C. CESAVEDAG dependiente de la SAGARPA apoya campañas para el control de plagas en diferentes cultivos, en el caso particular del frijol, éste año (2007) se ofrecieron insecticidas químicos a un precio de licitación de \$120.00 con un 15% de ahorro para productores, para el combate de chapulín específicamente, plagas que por su movilidad y dispersión destruyen rápidamente un cultivo. Apoyando a los municipios de Vicente Gro., Gpe, Victoria, Nombre de Dios, etc. (Díaz Guereca com. per., 2007):

2.7.5 Aspecto Social

Vivimos en un entorno en el que los apoyos económicos brindados al campo son pocos y están dirigidos principalmente a las labores del cultivo, lo cual conlleva a una insuficiencia para el productor en cuanto a la compra de insumos, en su mayor parte aquellos destinados para el ataque de plagas “plaguicidas”. En la actualidad, la utilización del uso de productos químicos resulta poco rentable debido al alto costo que estos presentan; algunos de estos presentan un precio de hasta \$250.00 m.n. (Cuadro 2. Anexo) para el ataque de *Epilachna varivestis* .

Ante tal circunstancia, una gran cantidad de agricultores ha abandonado este tipo de práctica; muchos de los cuáles buscan una mejor calidad de vida emigrando a Estados Unidos. Esto puede ser explicado a partir del hecho histórico que coloca a Durango como una de las cinco Entidades Federativas con mayor intensidad migratoria (Cuadro 3. Anexo), y por tanto, uno de los proveedores de materias

primas, además de ser una región que va quedando deshabitada en algunos de sus municipios debido a que expulsa sus mejores elementos relacionados a las prácticas agrícolas (Talamantes, 2006). En Durango, con 33,200 hectáreas sembradas se esperan apenas 20 mil toneladas de producción de frijol en comparación de las 40 mil que fueron en ciclos anteriores (El Sol de Durango, 2007).

Esto ha conllevado a investigadores el proponer a los productores la incorporación de insecticidas biológicos; mismos que son caracterizados por un bajo costo y cuya manera de producirlos es de forma muy sencilla. Ejemplo de ello lo constituye *Beauveria bassiana*, el cual tiene una inversión de tan solo \$30.00 m.n. para un ciclo agrícola/ ha para *E. varivestis* (González-Maldonado, 2000) cuando este es fabricado bajo condiciones de laboratorio y/o de forma artesanal. Aunque en la actualidad es posible hablar de empresas dedicadas a la producción de entomopatógenos; aun resulta costoso adquirir estos productos a través de ellas. Plant Health Care de México constituye un ejemplo, ya que algunos insecticidas biológicos a base de *B. bassiana* presentan un costo de \$315.00 m.n, lo cual resulta en una opción poco redituable económicamente para los productores de Durango. Por lo tanto, se estima que los agricultores acepten aquellos entomopatógenos producidos de forma artesanal por ellos mismos como una buena alternativa para el control de insectos, ello debido al bajo costo de producción y a los beneficios de salud pública y ambiental al no causar deterioro.

En la actualidad el comercio mundial con respecto al uso así como la producción de bioinsecticidas en nuestro país empieza a cobrar bastante auge.

Tan solo en los últimos dos años se estiman ventas por más de 20 mdd para nuestro país. Ante estas expectativas, es notorio la gran necesidad existente de políticas que definan el desarrollo de industrias dedicadas a la producción de tales productos (García-Gutiérrez *et al.* 2006).

Sin lugar a dudas, el control biológico de plagas agrícolas en nuestro país es una tecnología que se encuentra en desarrollo y consolidación; esto debido a la inmensa participación de un grupo multidisciplinario de investigadores que trabajan en áreas relacionadas a esta actividad (Medrano-Roldán, 2006).

La biotecnología agrícola ha traído consigo resultados importantes; tales como el impulso de bioinsecticidas, caracterizados por proteger al ambiente y mejorar la calidad de los productos cosechados además de ser importantes para el combate de insectos en los diferentes cultivos. Entre los cuales destacan bacterias, hongos, virus, protozoarios y nematodos. Las estrategias aplicadas en los diseños de los diferentes productos (formulación, empaque, logotipo), así como las de mercadotecnia (demostraciones, campañas publicitarias) seguirán siendo fundamentales para seguir activando aun más el flujo de tales productos.

2.8 FORMULACIÓN

La formulación es el proceso en el cual el agente infeccioso se mezcla con otros materiales inertes, generalmente minerales para producir un producto factible de comercialización. La formulación es un factor crítico en el éxito de un bioinsecticida microbial y uno de los factores más importantes en el desarrollo de productos a base

de hongos entomopatógenos. La formulación estabiliza al ingrediente activo (patógeno), estabiliza la viabilidad de los conidios en almacén, la persistencia del producto, la distribución en campo al momento de la aplicación y por lo tanto la efectividad del producto sobre la plaga a controlar (Goettel y Roberts, 1992; Milner 2002 a, b; Milner y Hunter, 2001 y Jenkins *et al.* 1998).

Los hongos entomopatógenos se pueden formular como polvos, granulos, polvos mojables, líquidos, concentrados emulsificables y concentrados en aceite. Los materiales utilizados en la formulación no deben tener actividad biológica; ni afectar la actividad del hongo, deben ser inocuos al ambiente, presentar características físicas adecuadas para mezclarse con los conidios; facilitar la aplicación del producto y ser económicamente rentables (Carballo, 1998).

El tipo de formulación dependerá del modo de acción del patógeno, hábitat de la plaga, método de aplicación y equipo de aplicación disponible. Las formulaciones pueden llevar humectantes, adherentes, protectores de rayos ultravioleta, atrayentes, etc.

2.8.1 Aceite

La formulación de esporas en aceite mejora sustancialmente la efectividad del producto comparada a las formulaciones en agua, esto se debe a que esta formulación aumenta la infectividad de las conidias, las protege de la deshidratación y favorece el desarrollo de la infección a humedades relativas bajas.

Hunter *et al.* (2001) encontraron que los aceites vegetales son mucho más adecuados que los aceites minerales para formular las esporas de *M. anisopliae* var. *acidum*, ya que minimizan la sedimentación de las esporas, entre más viscoso es un aceite menor es la sedimentación. Sin embargo, no es recomendable hacer un concentrado de esporas en un aceite demasiado viscoso, de modo que el aceite de maíz es el más adecuado; las esporas de *M. anisopliae* var. *acidum* se formulan actualmente como un concentrado en aceite de maíz (322g de esporas deshidratadas en un litro de aceite), este aceite se diluye posteriormente, al momento de la aplicación en campo, en un aceite mineral de baja viscosidad para dar la concentración adecuada y aplicarse como ultra bajo volumen (Milner, 2000; Milner y Hunter, 2001). En México se aplican conidios de una cepa nativa de *M. anisopliae* *acidum* para el control de langosta, *Schistocerca gregaria*, suspendiendo los conidios secos (con menos de 10% de contenido de humedad) en aceite mineral citrolina o aceite crudo de soya (Barrientos *et al.* 2002 y Hernández *et al.* 2003).

2.8.2 Arcillas

En este sentido, las arcillas son preferidas como inertes, debido a que los diluyentes de origen botánico, no obstante que poseen muchas de las propiedades de las arcillas, son más variables en su composición y resultan menos predecibles que los minerales (Moore y Cadwell, 1997).

Los inertes más comunes utilizados en la formulación de hongos entomopatógenos en polvo son arcillas, gel de sílice o tierras diatomeas (Auld, 1992).

2.8.3 Microencapsulación

Las formulaciones con hongos entomopatógenos pueden contener esporas, obtenidos en medios de fermentación sólida (generalmente sustratos orgánicos) o blastosporas (producto del crecimiento en fermentaciones en medio líquido). La matriz del formulado debe de proteger al agente activo de la desecación e inactivación por rayos solares. La microencapsulación por secado por aspersión puede ser usada como un método de encapsulación, el cual atrapa el material activo (esporas-blastosporas) dentro de una matriz protectora, la cual es esencialmente inerte para el material a ser encapsulado (Shahidi y Han; 1993 y Ré, 1998). El secado por aspersión es sencillo y económico, pero no todos los organismos entomopatógenos (especialmente los hongos) resisten el proceso de secado (Tamez, *et al.* 2003).

No obstante lo anterior, se conoce que una de las principales limitantes en el uso de hongos entomopatógenos para el control biológico de plagas es la falta de una tecnología de formulación disponible, la cual es frecuentemente simple o inexistente (Goettel y Roberts, 1992, Moore y Prior, 1993, Moore y Caudwell, 1997). En general, al menos 18 meses de estabilidad en almacenamientos son requeridos para servicio al mercado agrícola y si el formulado es producido por contrato para aplicar en un tiempo específico una estabilidad de 3 a 6 meses puede ser aceptable (Couch e Ignoffo, 1981).

En este sentido, la formulación, para almacenamiento debe considerar al hongo entomopatígeno y los diluyentes básicos necesarios que logren prolongar su viabilidad; asimismo, se debe considerar el método de aplicación (Bateman, 1994; Moore y Cadwell, 1997).

La estabilidad y el tamaño de las partículas son importantes en la formulación. La estabilidad se evalúa estimando la viabilidad de las conidias en la formulación a 45 y 55 °C. En el primer caso sobrevive el 50% de las conidias en 14 días; mientras que a 55 °C la viabilidad se reduce a 50% en tres días (Milner y Hunter, 2001).

2.9 EVALUACIÓN DE PRODUCTOS A NIVEL DE LABORATORIO Y CAMPO

2.9.1 Ventana de respuesta biológica

Se prepara una dilución de la masa fúngica conteniendo esporas, las cuales se diluyen seis veces más y se aplican sobre los insectos de prueba con un control conteniendo agua destilada. A los ocho días después de haber puesto en contacto al insecto con el hongo se determina la mortalidad de los insectos de prueba en las diferentes diluciones, con esto se determina la ventana de respuesta biológica o concentraciones donde se obtiene 100 y 0% de mortalidad de los insectos de prueba para fijar entre ellas las concentraciones intermedias a evaluar para determinar la CL50 y 90.

2.9.2 Bioensayos

Los bioinsecticidas requieren evaluar su efectividad tóxica por medio de bioensayos para determinar las concentraciones letales 50 y 90 que permitirán valorar el grado

de afectación al insecto plaga. Dentro de las técnicas más empleadas para realizar bioensayos, desde el punto de vista práctico, se pueden mencionar el contacto directo y la inoculación de dieta natural y artificial. Las dosis necesarias se determinan en base a pruebas preliminares de la actividad insecticida del material a ensayar (4 a 7 dosis/muestra). Generalmente, las dosis se preparan realizando una serie de diluciones en tubos de ensayo debidamente marcados. Para cada dilución se recomienda utilizar un promedio de 50 larvas, con tres repeticiones para tener datos representativos para el análisis estadístico e incluir uno o más controles (Tamez, *et al.* 2003).

3. JUSTIFICACIÓN

El frijol juega un papel primordial en la alimentación, por ello México figura dentro de la lista como uno de los productos líderes del país. Sin embargo, la problemática del cultivo de frijol en las principales regiones productoras de México, se puede visualizar desde diferentes ángulos; déficit hídrico, suelos con bajo contenido de materia orgánica, heladas tempranas, enfermedades y presencia de plagas; siendo los últimos dos los de mayor peso. Tan sólo *Epilachna varivestis*, principal plaga del frijol causa daños que oscilan del 10 – 60% del total de la producción.

El potencial de tal plaga ha sido controlado a través de tratamientos químicos; carbaryl, paration-720TM por mencionar algunos; mismos que han sido caracterizados por su fuerte impacto en el ambiente, a la salud humana, resistencia de plagas y elevado costo. Ante tal circunstancia es necesario el uso del control biológico; donde destacan los hongos entomopatógenos los cuales asumen un papel importante en el

campo de la agricultura sostenible permitiendo lograr buenos rendimientos en las cosechas sin perjudicar el ecosistema.

4. HIPOTESIS

El entomopatógeno *Beauveria bassiana* tiene una toxicidad igual o mayor a los insecticidas químicos y entomopatógenos comerciales para el control de la conchuela del frijol *Epilachna varivestis*.

5. OBJETIVO GENERAL

Transferir el uso de tecnología a productores de frijol para la producción artesanal de un bioinsecticida (*Beauveria bassiana*), de acuerdo a la efectividad demostrada de bioinsecticidas comerciales y químicos dentro del Manejo Integrado de Plagas en el control de *Epilachana varivestis* en el municipio de Nombre de Dios, Durango.

5.1. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Desarrollar un análisis mediante la técnica TKJ en base a los resultados generados de una serie de encuestas elaboradas a productores de frijol en cuatro localidades de Nombre de Dios, Durango; acerca de su opinión sobre insecticidas químicos y bioinsecticidas.
2. Elaborar bajo condiciones de laboratorio un bioinsecticida a base de *Beauveria bassiana* a partir de una cepa nativa aislada de un cultivo de frijol específica para el control de *Epilachna varivestis*.

3. Aplicar dos bioinsecticidas a base de *Beauveria bassiana* (comercial y no comercial), *Metarhizium anisopliae*, un insecticida químico y un control a base de agua, en relación al umbral económico de la plaga.
4. Evaluar la efectividad de los productos en el control de la conchuela del frijol *E. varivestis* (Porcentajes de mortalidad, de germinación o micosis).
5. Promover el uso de insecticidas biológicos a través de un curso taller, así como la elaboración de un folleto técnico donde se ilustren las principales plagas que atacan al cultivo de frijol para su reconocimiento y medidas de control biológico, además de la efectividad comprobada de los productos en una parcela demostrativa.
6. Transferir la tecnología para la elaboración de forma artesanal de un insecticida biológico (*Beauveria bassiana*) por parte de los productores de frijol; en beneficio de sus cultivos, de su salud y la del medio ambiente.

6. MÉTODOS

6.1 ENCUESTAS

Se elaborarán una serie de encuestas, sobre la opinión que tienen los productores de frijol con respecto al tipo de plagas que atacan a dicho cultivo, uso y desventajas de utilizar insecticidas químicos, discernimiento sobre la aplicación y uso de bioinsecticidas, entre otros aspectos, con la finalidad de conocer sus necesidades y ver la alternativa de utilizar insecticidas biológicos dentro del control de plagas en sus cultivos (Anexo). Estas, serán aplicadas a un total de 100 agricultores en diferentes localidades del municipio de Nombre de Dios, Durango (San José de Tuitán, La Constancia, Los Berros, Molino del Pueblo y Nombre de Dios). Las repuestas serán capturadas por medio de la técnica TKJ la cual es caracterizada para analizar información de tipo social.

6.1.1 Técnica TKJ

Técnica que permite recabar la opinión y el sentir de todos los integrantes de una organización y diversas perspectivas para definir aquellos asuntos que afectan a una determinada comunidad.

La técnica contempla tres fases: durante la primera y a partir de hechos se definen los problemas, en la segunda se hacen algunas propuestas para su solución y la tercera se definen compromisos de acción.

6.1.2 Descripción de la técnica

El objetivo de esta técnica es organizar un gran número de ideas diversas, agrupándolas y reagrupándolas temáticamente, para construir una perspectiva amplia y ordenada de información general y específica en torno a un tema de interés.

La técnica consiste en reunir a un grupo de seis a diez personas representantes de las diversas áreas o grupos involucrados, para que expresen su opinión respecto de una situación problemática y establezcan acuerdos en torno a las causas que la generan y sus posibles soluciones.

La técnica se utiliza cuando para la solución de un problema se precisa de la intervención y apoyo de los diversos grupos.

- Cuando se desea tomar en cuenta y conciliar intereses y perspectivas diferentes.
- Cuando deseamos definir a partir de numerosas ideas las causas o aspectos clave de un tema o situación.

Las ventajas radican en que considera la reflexión de los participantes sobre un ambiente del que todos forman parte.

Las percepciones sobre las causas del problema son manifestadas desde el punto de vista de los actores que cotidianamente experimentan la situación analizada.

Permite la identificación de la problemática de manera puntual y sintética.

6.2 PRODUCCIÓN DEL BIOINSECTICIDA BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

6.2.1 Microorganismo

Se utilizará un aislamiento del hongo entomopatógeno *B. bassiana*, clave BbA, el cual se aisló mediante la técnica del insecto trampa con larvas del séptimo estadio larval del gusano mayor de la cera *Galleria mellonella* L, en suelos cultivados con frijol en el Municipio de Francisco I. Madero, Durango. El 26 de noviembre de 2006, perteneciente a la colección de cepas nativas del laboratorio de entomología del CIIDIR-IPN Unidad Durango. La cepa fue identificada taxonómicamente en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico-SAGARPA en Diciembre del 2006.

6.2.2 Técnica del insecto trampa

Se tomo un Kg. de las muestras de suelo previamente tamizadas las cuales se humedecieron y se colocaron en recipientes de plástico donde se colocaron 10 larvas de *Galleria mellonella* L. como insecto trampa, del último estadio de desarrollo, estas muestras permanecieron tapadas e invertidas por un periodo de 7 días, después de ese tiempo se extrajeron las larvas, separando aquellas que presentaron síntomas de infección por hongos las cuales se colocaron en cámara húmeda para aumentar la esporulación del hongo (Hernández-Velázquez, 2005). Las colonias se purificaron y los hongos entomopatógenos fueron identificados de acuerdo a las claves taxonómicas de Humber (1997) y Samson (1998), con ayuda de microcultivos.

Para reactivar la cepa y para su conservación, se utilizaron tubos de ensaye con medio de cultivo sólido, Agar dextrosa saboraud (SDA) en posición inclinada. El

hongo fue resembrado por estrías y luego incubado durante 15 – 18 días a 27°C hasta que el hongo alcanzo su óptimo crecimiento (formación de esporas).

6.2.3 Preparación del sustrato

Se utilizarán granos de arroz de 2da. calidad con un 40% de grano quebrado sin cascarilla. El arroz será lavado tres veces con agua potable, posteriormente se deja en reposo por 30 minutos con 130ppm de antibiótico (tetlaciclina y furazolidona, 2 pastillas de cloranfenicol/litro de agua) a continuación se extrae el exceso de agua, estilando el arroz por 20 minutos.

Se depositan de 300 a 400 g de arroz/bolsa de polipapel de alta densidad de 22x30 cm, la abertura de la bolsa es doblada en tres partes de tal forma que pueda ser cerrada con una grapa. Posteriormente las bolsas con arroz son esterilizadas por 15-20 minutos a una presión de 120 Kg./cm² (120°C), después de 24 horas de enfriamiento a temperatura ambiente, las bolsas con arroz estarán listas para ser inoculadas con el hongo.

6.2.4 Preparación del inóculo

15 días antes de inocular las bolsas, se debe preparar la fuente de inóculo (matriz); dependiendo de la cantidad de hongo a producir, esta puede ser un tubo con medio nutritivo inclinado o bien preparando frascos de cristal de boca angosta de un litro de capacidad al cual se colocaran de 250 a 300 g. de arroz lavado y estilado, tapándolo con algodón, posteriormente el frasco es esterilizado durante 15-20 minutos a una presión de 120 Kg. /cm² (120 °C), las matrices esterilizadas se dejan en reposo a

temperatura ambiente por 24 horas, quedando preparadas para ser inoculadas. Asimismo, 15 días antes deberán sembrarse tubos con medio nutritivo inclinado, los cuales servirán para inocular las matrices. El inóculo contenido en el tubo es suspendido en 20 ml de agua + antibiótico+ dispersante (0.5%), esterilizados 24 horas antes en tubos de ensaye con tapa de baquelita. Con asa bacteriológica se desprenden las esporas, las cuales son transferidas a otro tubo de ensaye con tapa de baquelita y 40 ml de la misma solución (antibiótico + dispersante) agitándolo para homogenizar las conidias.

Las matrices son inoculadas retirando el tapón de algodón y depositando 10 ml del inóculo/frasco, utilizando jeringa de repetición de uso veterinario; inmediatamente se tapa el frasco, homogenizando la suspensión y el arroz, procediendo a etiquetar la matriz con fecha, número de lote y patógeno sembrado; todo el proceso anterior se realiza en cámara de flujo laminar o área estéril. Posteriormente se colocan en la sala de crecimiento a 28 ± 1 °C y foto periodo 14:10 durante 16 ± 2 días, al final del cual se obtendrán las esporas para inocular las bolsas con arroz previamente preparadas.

6.2.5 Inoculación del hongo

Antes de ser inoculadas, las bolsas son marcadas en la parte central con un punto sobre el cual se realizará la inoculación, aplicando 10 ml de una suspensión de conidias a una concentración aproximada de 1×10^6 esporas/ml, para esta acción se utiliza una jeringa de repetición de uso veterinario. En seguida, el orificio dejado por la aguja de inoculación es sellado, utilizando cinta masking tape, posteriormente el

arroz es homogenizado con la suspensión del inocula, para finalmente conducir las bolsas ya inoculadas a la sala de germinación y crecimiento.

6.2.6 Sala de germinación y crecimiento

En esta área las bolsas permanecen en estantes a temperatura constante de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ y un fotoperiodo 14:10 por espacio de 16 ± 2 días hasta alcanzar el óptimo de esporulación. Durante este periodo será necesario mover las bolsas cada 4 días, con el objetivo de incrementar la superficie de esporulación y por lo tanto la cantidad de esporas/bolsa.

6.2.7 Formulación del producto

El bioinsecticida será formulado en tierra de diatomeas Celite No. 289[®], en presentación de polvo humectable, para lo cual las esporas serán separadas del arroz con ayuda de tamices de laboratorio 70-300 μm , ya que el tamaño de partícula debe ser de aproximadamente 100 μm , en proporción 1:1, 1g de esporas aéreas por 1g de celite, posteriormente el producto será almacenado en bolsas cerradas herméticamente a condiciones ambientales, libre de humedad.

6.2.8 Viabilidad de esporas

Se prepararan cajas Petri con medio de cultivo SDA o (Papa dextrosa saboraud) PDA, se les coloca 10 μl de una suspensión de 2×10^4 esporas/ml (una gota) y se distribuyen uniformemente sobre el medio nutritivo con una varilla de vidrio. Se incuban por 12 a 16h a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ y se observará el porcentaje de germinación de 400 esporas por caja Petri con ayuda del microscopio compuesto con el objetivo de 40X,

tomando como espora germinada aquella que presente el tubo germinativo bien definido o mayor a la mitad de la espora.

6.2.9 Prueba de pureza

10 μ l de una suspensión de esporas a una concentración de 1×10^2 esporas/ml son depositadas en 5 cajas Petri con medio sintético a base de PDA o SDA más antibiótico (1ml por litro de medio) y 5 cajas de Petri con medio sintético a base de PDA o SDA sin antibiótico. Después de 48 a 72h de incubación a 27 ± 1 °C, las colonias del hongo entomopatógeno y sus contaminantes son contabilizadas. Obtener el porcentaje en base al total de los contaminantes en las cajas de Petri sin antibiótico y las colonias de hongos entomopatógenos observados.

6.3 BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

6.3.1 Colecta de material biológico

Se colectaron posturas, larvas y adultos de *E. varivestis* en cultivos de frijol en Francisco I. Madero y Guadalupe Victoria, Durango, durante los meses de julio y agosto del 2007, los cuales fueron trasladados al laboratorio de Entomología del CIIDIR-IPN Unidad Durango en recipientes de plástico, debidamente etiquetados y tapados con tela de organdi.

6.3.2 Cría masiva de *E. varivestis* en laboratorio

En el laboratorio las posturas serán cortadas alrededor de las hojas de frijol y colocadas en cajas de Petri con un algodón humedecido para evitar su deshidratación y favorecer la emergencia de las larvas neonatas, las larvas y adultos serán colocadas por separado en macetas de frijol, sembradas con anterioridad con

la variedad "flor de mayo", para que las larvas se alimenten de las hojas y los adultos ovipositen en el envés de las hojas y tallos de frijol, una vez que las larvas neonatas eclosionen de los huevecillos, éstas serán colocadas en las plantas de frijol, las pupas se colocarán en cajas Petri para mantenerlas en estado inactivo hasta la emergencia de adultos, las plantas de frijol se sembrarán de forma escalonada para tener alimento disponible mientras que completen su ciclo de vida, se dará seguimiento a la cría por tres generaciones para contar con material biológico libre de los contaminantes del campo, los individuos serán mantenidos en el cuarto de cría de insectos a condiciones controladas de temperatura y humedad relativa ($T = 27 \pm 3$ °C, $HR = 65 \pm 5$ °C).

6.3.3 Ventana de respuesta biológica

La ventana de respuesta biológica se llevará a cabo con la finalidad de conocer las concentraciones máximas y mínimas en las cuales muere del 0 al 100% de las larvas de prueba, para conocer las concentraciones a utilizar en las pruebas de toxicidad del bioinsecticida. Se realizará un conteo de esporas con ayuda de la cámara de Neubauer, se preparará una solución madre con una suspensión de esporas a partir de tubos de ensaye que contengan al hongo completamente esporulado, a partir de la máxima concentración de esporas se realizarán 6 concentraciones seriadas, en proporción 1:10 ml, en cada tratamiento se utilizarán 20 larvas de *E. varivestis* del 3er. Estadio de desarrollo, los tratamientos consistirán del bioinsecticida producido en laboratorio por fermentación difásica del hongo *B. bassiana* cepa clave BbA y un control con agua destilada. Las larvas serán asperjadas con ayuda de un atomizador (tamaño de gota 4 a 8 μm) a las 6 diferentes concentraciones, por separado y por

triplicado, una vez que las larvas hayan sido asperjadas con el tóxico, serán colocadas en macetas de frijol para su alimentación y el porcentaje de mortalidad se observará cada 24h en un periodo de 8-13 días.

6.3.4 Bioensayos por aplicación tópica

Para los bioensayos se realizará el mismo procedimiento que para la ventana de respuesta biológica, ya conociendo el intervalo de concentraciones de esporas a la cual las larvas mostraron susceptibilidad y mortalidad. De la cepa nativa conservada en tubos de ensaye y seleccionada de acuerdo a su velocidad de crecimiento y patogenicidad se hace una suspensión del hongo adicionando 10 ml de agua destilada estéril para preparar una solución madre, de esta se toma un 1ml y se adiciona en 9 ml de agua destilada estéril y así sucesivamente hasta obtener varias concentraciones del hongo de 10^{-1} a 10^{-5} , de cada concentración se tomara una muestra en la cual por inmersión de la larva en el tóxico se pondrán 20 larvas neonatas de *Epilachna varivestis* por cada concentración las que se pondrán en una caja petri de 5 cm de diámetro por separado y posteriormente en macetas con aproximadamente 5-10 hojas para que se alimenten, cada 24 horas se observaran el porcentaje de mortalidad.

Los porcentajes de mortalidad serán observados cada 24h, así como el tiempo en el cual se observa micosis. Con ayuda del paquete estadístico Probit PC. Polo Program. 1987, mediante el cual se determinará la CL50 y 90, los límites fiduciales y la pendiente, así como la respuesta natural.

6.4 APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN CAMPO

6.4.1 Diseño experimental

En campo se seleccionará una parcela de 0.5 ha, localización: N 24° 00' 16.6'', W 104° 14' 45.1'' y una elevación de 1880 msnm., suelo de textura arenosa, ninguna pendiente, con frijol de la variedad "Marcela" e infestado naturalmente por *Epilachna varivestis* y algunos otros insectos plaga, enemigos naturales e insectos asociados al cultivo, ubicada en el ejido San José de Tuitán, del municipio de Nombre de Dios, Durango, propiedad de productores cooperantes.

Se llevó a cabo un diseño experimental de bloques completamente al azar con cinco tratamientos y tres repeticiones por tratamiento; cada unidad experimental estará formada por diez surcos de 10 m de longitud y tendrá un área de 80 m². Con aproximadamente 38 plantas por surco. La separación entre cada unidad experimental será de 2 metros.

Los tratamientos a aplicar son los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (comercial y de laboratorio) y *Metarhizium anisopliae*, químico (Parathión metílico), y testigo (agua), a dosis de 250 g/ha (1.2×10^{12} esporas/ha) y a dosis de 1 Kg. /ha para el químico.

En el caso de los productos biológicos fueron aplicados tomando en cuenta el umbral económico de la plaga, que para el caso de *E. varivestis* es de 7 individuos por planta, en intervalo de 15 días entre cada aplicación ha diferencia del químico que

solo se aplicará una vez. Ambos tratamiento serán aplicados con mochila de motor, por la técnica de aspersión a punto de rocío.

De la estación meteorológica más cercana se registraron los datos de temperatura máxima, ambiente y mínima; humedad relativa y precipitación, presentes durante el periodo del experimento.

Los tratamientos que se aplicaron se indican en el Cuadro 4, así como las concentraciones y dosis, además se indican las fechas de muestreo de insectos.

Cuadro No. 4. Tratamientos biológicos aplicados en campo.

Tratamiento	Concentración Esporas/ha	Dosis g/ha	Días para muestreo
Cepa BbA	1.2×10^{12}	240-480	7
Bea-Sin	1.2×10^{12}	240-480	7
Meta-Sin	1.2×10^{12}	240-480	7
Control	-----	-----	7

6.5 EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS

6.5.1 Fluctuación poblacional

Una semana antes y después de la aplicación de los tratamientos biológicos se realizará un muestreo de larvas (citando los estadios de desarrollo) y adultos de *E.*

varivestis en un 10% de las plantas contenidas por surco, para conocer la fluctuación poblacional de la plaga.

6.5.2 Porcentaje de mortalidad

Se registrará el porcentaje de mortalidad de insectos los días de muestreo, después de la aplicación de los diferentes tratamientos. Los porcentajes promedios de mortalidad en *E. varivestis* por la acción de los 3 diferentes bioinsecticidas serán transformados según la regla de Abbott, (1925) para su análisis estadístico.

6.5.3 Micosis

Los individuos muertos encontrados en cada muestreo serán trasladados al laboratorio de entomología del CIIDIR-IPN Unidad Durango y serán colocados en una cámara húmeda y se mantendrán a una temperatura de 27 ± 2 °C. Los individuos depositados en la cámara húmeda serán revisados diariamente en el microscopio estereoscópico, para determinar la fecha de esporulación o micosis y el tiempo que tarda en presentarse.

El porcentaje de esporulación será obtenido cuantificando el número de individuos muertos con presencia de esporas (independientemente de la cantidad de esporas por individuo) en relación con los individuos muertos sin la presencia de esporas. El periodo de esporulación será determinado en individuos con presencia de esporas y comprenderá desde la muerte del individuo hasta la formación de las esporas.

6.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de varianza ANOVA-MANOVA será utilizado para hacer las comparaciones de los porcentajes de mortalidad, porcentajes de esporulación, número de días en que mueren los individuos, y número de días en que esporulan las diferentes cepas de las dos especies de hongos. Las diferencias entre las medias fueron determinadas con la prueba Tukey a un nivel de confianza $\alpha = 0.05$. Mediante el paquete estadístico SAS.

6.7 CURSO TALLER

Se desarrolló un curso- taller con una duración de dos semanas, cubriendo un total de 30 horas, mismo que tiene como objetivo el de concienciar a los productores de frijol en puntos tales como:

- Introducción sobre el control biológico (bioinsecticidas) y las ventajas que estos presentan ante los químicos.
- Se dará a conocer la inversión, costo de producción, normas oficiales, requisitos, especificaciones, así como procedimientos y técnicas mediante las cuales ellos mismos pueden llevar acabo la producción de productos de tipo biológico a escala de pequeña microindustria.
- Principales insectos plaga, asociados y benéficos presentes en el cultivo de frijol y causantes de enfermedades (virosis).
- Estrategias para el control de *Epilachna varivestis* mediante la aplicación de Bioplaguicidas.

- Técnicas de producción masiva de un bioinsecticida y Técnicas de aplicación de los agentes de control biológico.

Posteriormente se proporcionará un folleto, el cual estará ilustrado con imágenes, nombres comunes y científicos de las principales plagas que atacan al cultivo del frijol en el Estado de Durango, listado de bioinsecticidas comerciales en México y formas de obtenerlos (direcciones), técnicas de aplicación, ventajas del control biológico, entre otros puntos.

6.8 ELABORACIÓN ARTESANAL DE BIOINSECTICIDAS

Se brindó una asesoría a un grupo de siete productores cooperantes de San José de Tuitán, Nombre de Dios, Durango con la finalidad de que puedan elaborar por su cuenta los bioinsecticidas de forma artesanal en sus hogares. Se les proporcionará la cepa con *B. bassiana* ya esporulada y mantenida previamente en laboratorio y las bolsas con arroz pre-tratadas para que ellos puedan preparar la suspensión del hongo e inocular las bolsas con arroz de acuerdo a la técnica descrita anteriormente, posteriormente las bolsas con el hongo serán colocadas en estantes y se moverán manualmente cada 4 días con la finalidad de aumentar el espacio para su esporulación, después de 14-18 días se aplicaron los productos disolviendo las esporas con arroz en una cubeta con agua y asperjadas en el cultivo por medio de las técnicas convencionales con ayuda de una aspersora agrícola manual en las cantidades descritas en el curso-taller.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 ENCUESTAS

7.1.1 Evaluaciones a productores

La información recopilada en las encuestas fue ponderada con la técnica TKJ, se generó la información más relevante del cuestionario, la cual se resume en los siguientes puntos:

- La mayoría de los productores (82.2%) siembra frijol en un área que oscila entre las 16-20 hectáreas anuales, los otros cultivos son representados por alfalfa, avena y maíz. Gráficas 1 y 2 (Anexo).
- En su totalidad (96%), de los agricultores admitieron identificar a la conchuela del frijol como la principal plaga que ataca a este tipo de cultivo.
- Una gran parte de los entrevistados (70.6%) ha manifestado intoxicación (dolor abdominal, de cabeza, vómitos, diarrea intensa), además de algunos otros síntomas secundarios a mediano o largo plazo por efecto de la aplicación de productos químicos.
- Para el control de plagas, los productores (88.3%) invierten más de \$274.⁰⁰ /ha M. N en productos químicos
- El 96.1% desconoce acerca del uso de los bioinsecticidas como una alternativa en el control de plagas.
- El 95.2% desea aplicar insecticidas biológicos a bajo costo y disponibles en sitios de venta cercanos a su domicilio.
- 100% de los productores esta en la mejor disposición de recibir capacitación técnica para el reconocimiento, daños a los cultivos, ciclos

de vida de los diferentes tipos de plagas y aplicación de bioinsecticidas en cultivos de frijol.

De acuerdo a los resultados antes descritos los productores de diferentes cultivos en la región de los Valles del Estado de Durango optan por el control químico para el control de plagas, debido a que estos productos son más económicos y de fácil acceso, además de que no cuentan con información acerca de las ventajas del control biológico. Existe una fuerte tendencia a continuar con las prácticas agrícolas convencionales (físicas, culturales, químicas), así mismo un gran escepticismo e incredulidad por la mayoría de los productores a la idea de cambiar el uso de insecticidas químicos por biológicos, aún cuando conocen las desventajas de utilizar pesticidas, menos aún el hecho de poder contar en un futuro con granjas de tipo orgánico dentro de un Manejo Integrado de Plagas. Los resultados de éste estudio sustentan el inicio de la práctica del control biológico en la región de los Llanos del estado de Durango, en la base a que en la actualidad dicho control a contribuido en la inocuidad de alimentos y a que la contaminación química constituye un problema mundial que se ha agravado en proporción geométrica especialmente a lo largo de las últimas décadas. En relación a esto, Galvéz y González, (2005), corroboran que en México se carece de un organismo oficial, con carácter interdisciplinario que aborde integralmente la calidad e inocuidad en alimentos.

7.2. PRODUCCIÓN DE BIOINSECTICIDAS BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

Se produjeron 200 bioinsecticidas formulados con celite., a partir de la cepa nativa de *B. bassiana* clave BbA (Figura 3), cuyos datos de aislamiento se indican en el Cuadro 5. Esta cepa fue seleccionada por su patogenicidad contra larvas y adultos de *E. varivestis*, el rendimiento del bioinsecticida fue de 1.8×10^9 esporas/g, para su aplicación en campo en 240g de producto formulado, se utilizaron dosis de 1.2×10^{12} esporas, estos bioinsecticidas fueron utilizados para los bioensayos en laboratorio y pruebas de efectividad en campo. Al respecto, Posada-Flórez, (2008) obtuvo un rendimiento mayor de esporas en cultivos de arroz cocido (1×10^{10} esporas/g), mediante dos metodologías diferentes, cosechando las esporas manualmente y mecánicamente, estos resultados son similares a los nuestros, en términos de productividad, concluyendo que esta metodología (fermentación difásico líquido) de producción del hongo *B. bassiana* es adecuada para estudios de laboratorio y campo, pero no para la producción industrial donde se requiere alta concentración de esporas para la formulación y la aplicación.

El uso de cepas nativas es de vital importancia, ya que permite contar con cepas adaptadas a las condiciones ambientales de la región de estudio y evita la introducción de cepas exóticas (Hernández-Velázquez, 2005), además de que ayuda a estudiar las estrategias de producción en medios de cultivo líquidos y bioensayos en el control de plagas, como lo reportaron Gandarilla-Pacheco *et al.* (2007) quienes evaluaron la actividad de cepas nativas de HE en cítricos para el control de *Trichoplusia ni*, los aislados de *B. bassiana* presentaron las mortalidades más altas (55%) a dosis de 1×10^9 esporas/ml, por lo que sería recomendable la identificación molecular de la cepa nativa BbA utilizada en éste estudio, que permita mejorarla genéticamente para lograr mejores resultados de patogenicidad.



Figura 3. Cepa nativa clave BbA utilizada para la producción de bioinsecticidas.

Cuadro 5. Datos de aislamiento de la cepa BbA.

Clave cepa	Huésped	Hospedero	Localización	Origen	Orden
Bb A	<i>B. bassiana</i>	Frijol	N 24° 24' 25.9" W 104° 20' 58.8" Altura 1972 msnm	Francisco I. Madero, Dgo.	Lepidóptero

7.2.1 Bioensayos de toxicidad contra *E. varivestis* en laboratorio

En el Cuadro 6 se muestran los porcentajes de mortalidad después de que el hongo y los insectos estuvieron en contacto, registrados durante 14 días, en los cuales se analizaron 6 concentraciones diferentes del HE *Beauveria bassiana* clave BbA.



Figura 4. Bioensayos. Plantas utilizadas para observar los porcentajes de mortalidad de larvas a las diferentes dosis del hongo.

Cuadro 6. Mortalidad de larvas de *E. varivestis* expuestas a diferente concentraciones de la cepa BbA de *Beauveria bassiana*.

Mortalidad %							
DOSIS/ TIEMPO (h)	24	48	72	96	120	144	168
1.8×10^9	-	-	90	-	10	-	-
1.8×10^8	-	-	60	-	20	-	20
1.8×10^7	-	-	-	40	20	-	10
1.8×10^6	-	-	-	30	10	30	-
1.8×10^5	-	-	-	20	10	-	10
1.8×10^4	-	-	-	20	-	-	-
Control	-	-	-	-	-	10	-

Dosis-mortalidad ($F = 7.652$, $p \leq 0.001$),

Tiempo de infección-mortalidad ($F = 0.168$, $p \leq 0.722$).

El mejor rendimiento de la cepa evaluada fue de 1.8×10^9 blastosporas/ml.

En estos datos se observa que el aislamiento de *B. bassiana* causó una mortalidad máxima de 90% a dosis de 1.8×10^9 esporas/ml a las 72h, mientras que la mínima fue de 20% a 1.8×10^4 blastosporas/ml a las 96h. Existieron efectos estadísticos entre dosis-mortalidad ($F = 7.652$, $p \leq 0.001$), pero no así entre el tiempo de infección-mortalidad ($F = 0.168$, $p \leq 0.722$). Lo anterior indica la susceptibilidad del insecto al tóxico en las diferentes dosis y periodos de tiempo de la evaluación, lo que sugiere una alta capacidad tóxica de la cepa para el control de *E. varivestis* en laboratorio y que puede resultar efectiva para aplicaciones en campo, si los resultados de mortalidad en los bioensayos en laboratorio hubiesen resultado por debajo del 50% de mortalidad de larvas y adultos, esta cepa no hubiese sido factible para utilizarla en aplicaciones en campo.

La CL_{50} de la cepa fue de 1.2×10^7 esporas/ml, con límites fiduciales de 1.11×10^6 a 7.43×10^7 , respuesta natural 0.094 ± 0.088 y un valor de la pendiente de 0.651 ± 0.193 , este último valor indica una respuesta homogénea de los insectos de prueba al tóxico. La CL_{90} fue de 1.12×10^9 esporas/ml. Liu et al. (2002) obtuvieron resultados inferiores de la CL_{50} (0.8 a 5.0×10^5 conidias/ml), esto demostró que se requieren concentraciones más bajas de esporas para causar susceptibilidad en el 50% de la población de ninfas de *L. lyneolaris* a diferentes aislamientos de *B. bassiana*. Las variaciones observadas entre los resultados de la CL_{50} pueden ser explicadas por

las variaciones en la virulencia de los diferentes aislamientos para una especie de insecto huésped, o las variaciones en virulencia de un solo aislamiento a especies relacionadas del insecto huésped (Khacharourians, 1992).

Los insectos manifestaron el inicio de la invasión del hongo a los 8 días, quedando totalmente cubiertos por el micelio a los 14 ± 2 días después de haber aplicado las diferentes concentraciones. El mayor porcentaje de insectos con micosis se presentó en las concentraciones de 1.8×10^9 esporas/ml, disminuyendo notablemente en el resto de las concentraciones, en algunas no se manifestó micosis o germinación del hongo, sin embargo, el hongo se desarrollo dentro del cuerpo del insecto. Esto significa que a una mayor concentración, mejor respuesta al tóxico. Sin embargo, en esta prueba el tiempo para que se manifieste la micosis no depende de la concentración si no que posiblemente de algunos otros factores como tamaño, cambio de estadio (prepupa-adulto), peso y susceptibilidad de los insectos a la cepa evaluada.

7.2.2 Formulación del producto

El bioinsecticida producido fue formulado en tierra de diatomeas, Celite No. 289[®] en presentación de polvo humectable. La formulación del producto permite mayor estabilidad en almacén y en campo al momento de su aplicación y la formulación en polvo permite una rápida rehidratación del ingrediente activo, para ser liberado en campo, otras formulaciones han aportado buenos resultados de eficiencia y rentabilidad, el tipo de formulación depende de la genética del insecto al cual se va a aplicar el producto, (Sabbahi, *et al.* 2008), formularon *B. bassiana* en leche, glicerol,

aceite de canola, etc., ya que el aceite promueve el contacto entre el ingrediente activo y la cutícula lipofílica del insecto (*Lygus lineolaris*) (Burges, 1998).

7.2.3 Esporas aéreas

El mejor promedio de esporas aéreas en los bioinsecticidas producidos fue de 1.8×10^9 esporas/g. Estos resultados concuerdan con los resultados de Daigle, *et al.* (1998) quienes produjeron esporas aéreas de *P. fumosoroseus* por fermentación en estado sólido sobre bolsas de polipapel con 700g de granos de arroz. Ellos obtuvieron alrededor de 6×10^{10} ufc (unidades formadoras de colonias) después de 2 semanas. AGROBIONSA produce esporas aéreas sobre bolsas con 300g de arroz, con un rendimiento de 3×10^{11} esporas/bolsa después de 2 semanas a las dos semanas, gracias a éste rendimiento Pea-Sin[®] salió a la venta.

7.2.4 Viabilidad y pureza de esporas

La viabilidad y pureza de los bioinsecticidas elaborados se muestran en el Cuadro 7. En base a estos resultados fue factible utilizar los productos en campo ya que fueron satisfactorios, ya que la viabilidad y pureza se mantuvieron durante más de 3 meses, después de éste tiempo la viabilidad disminuyó gradualmente, la técnica utilizada fue la adecuada, ya que si la viabilidad de esporas es cuantificada en las hojas de frijol después de que los bioinsecticidas son aplicados está disminuye considerablemente, no encontrándose esporas viables después de una semana, tal como lo reportan Sabbahi, *et al.* (2008), esto debido principalmente a los rayos ultravioleta, precipitación, humedad relativa y temperatura, que pueden generar un impacto

significativamente alto sobre la persistencia de la viabilidad de esporas, por ello la importancia de una formulación adecuada.

Cuadro 7. Porcentajes de viabilidad y pureza de la cepa BbA.

CEPA	VIABILIDAD (%)			Pureza (%)
	Meses			
	1	2	3	1-3
BbA	96 ± 0.3	96 ± 1.0	92 ± 0.6	99 ± 1.0

7.3 APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN CAMPO

7.3.1 Fechas de aplicación de los tratamientos

Las diferentes fechas de aplicación para los productos fueron realizadas en el siguiente orden y hora:

25 de agosto de 2007

<i>Beauveria bassiana</i> laboratorio	6:00 a.m.
<i>Beauveria bassiana</i> comercial	6:30 a.m.
<i>Metarhizium anisopliae</i>	7:00 a.m.
Químico	7:30 a.m.
Control	-----

1° de septiembre del 2007.

<i>Beauveria bassiana</i> laboratorio	7:00 p.m.
<i>Beauveria bassiana</i> comercial	7:30 p.m.

Metarhizium anisopliae 8:00 p.m.

Químico -----

Blanco -----

Es recomendable aplicar los productos en las primeras horas de la mañana o por la tarde, debido a que las esporas permanecen mayor tiempo estables y conservan su viabilidad, ya que en condiciones adversas de luz ultravioleta, precipitación o aire podrían no cubrir los requerimientos para la cual fueron liberadas, Sabbahi *et al.* (2008), aplicaron *B. bassiana* en cultivos de fresa, cuatro aplicaciones a intervalos de 7 días por las mañanas, sin presencia de precipitaciones y con una velocidad del viento por debajo de 4 m/s. Los resultados mostraron la presencia de conidias viables e infectivas 6 días después de cada aplicación sobre el follaje del cultivo de fresas.

7.3.2 Diseño experimental

El diseño experimental se observa en la Figura 5. Así como la distribución homogénea de los tratamientos aplicados.

7.3.3 Fluctuación poblacional de insectos

Se realizaron muestreos semanales de larvas, adultos y huevecillos de *E. varivestis* antes y durante el desarrollo del cultivo en los diferentes tratamientos, con la finalidad de conocer la fluctuación poblacional de la plaga y el efecto de los tratamientos sobre la plaga. En el Cuadro 8 se indica el número promedio de individuos/planta antes y después de aplicar los tratamientos y en el control.

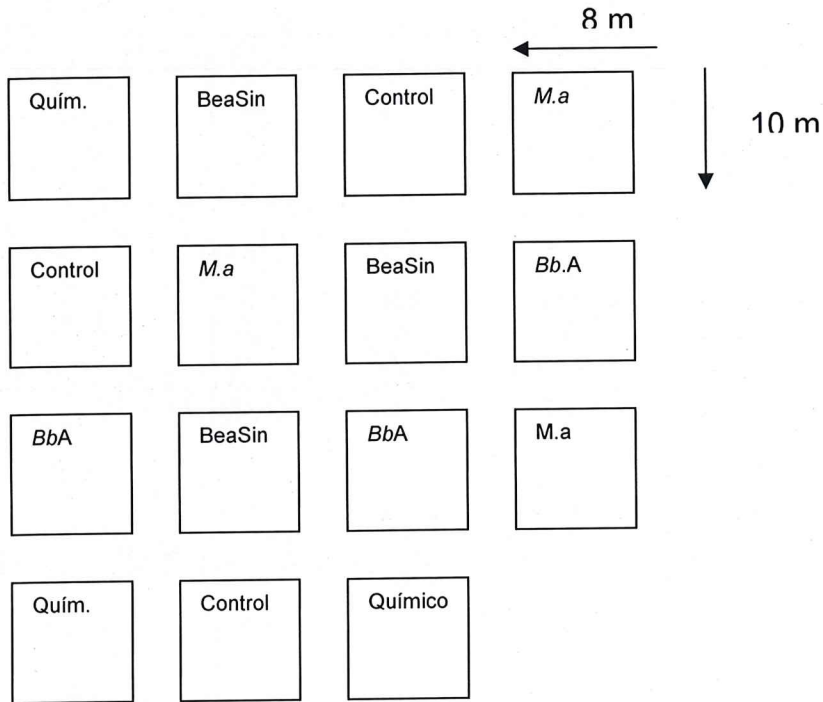


Figura. 5. Distribución de los tratamientos en el cultivo de frijol.

De acuerdo al análisis estadístico realizado mediante un ANOVA y una prueba de HSD existieron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($F= 4.70$, $p \leq 0.0050$, $df= 11$), así como entre las diferentes fechas de muestreo ($F=10.74$ y $p \leq 0.0001$).

La figura 6 presenta la evaluación de los cinco tratamientos probados en campo. Se cuantifico el Número promedio total de larvas y adultos de *E. varivestis*, ya que son considerados los estadios de desarrollo que causan mayores daños al cultivo del frijol al defoliar completamente a la planta.

Los datos graficados indicaron que el producto químico (Parathión) controló eficazmente a la plaga alrededor de un 95%; encontrándose de igual manera menor daño en las plantas donde se aplicó el producto (2-5%).

Cuadro 8. Efecto de los tratamientos aplicados en la parcela de frijol.

(Número de individuos/ planta).

TRATAMIENTOS	3 Agosto cd	10 Agosto bc	17 Agosto ab	24 Agosto a	31 Agosto abc	7 Sep bcd	14 Sep cd	21 Sep d
Parathion ^a	2.1	4.8	6.9	9.5	0.7	0.6	0.52	0
Bea-SIN ^b	0.8	3.9	6.7	8.4	3.9	2.1	0.5	0
BBA ^b	1.8	5.1	6.9	9.2	4.2	2.6	0.3	0.1
Meta-SIN ^b	1.2	4.6	6.4	8.7	5.6	3.2	0.86	0.43
Control ^b	1.6	5.3	6.8	8.7	11.3	12.1	6.3	2.1

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

En el tratamiento donde se aplicó el control se puede observar la tendencia natural de crecimiento de la plaga sin el efecto de ningún producto, en éste se puede ver la dinámica poblacional de la plaga teniendo su punto máximo de población con un total de 8.7 individuos por planta y al final disminuyó a 2.1, debido a que se terminaron sus aportes nutricionales ya que la planta se encontraba totalmente devastada para éstas fechas, además de que finalizó el cultivo y los adultos buscaron otros cultivos para continuar su desarrollo y completar otras generaciones, esta tendencia del desarrollo de larvas fue similar al estudio de Pinto *et al.* 2002., quienes determinaron

la dinámica poblacional de huevecillos, larvas y pupas de *E. varivestis* en un cultivo de frijol en México, D. F., de acuerdo a simulaciones (ecuaciones) y observaciones de los diferentes estadios de desarrollo en laboratorio, de junio a septiembre de 1990, observando un descenso natural de la población al finalizar el cultivo, de la misma manera que nosotros, ellos concluyeron que las simulaciones y las observaciones variaron tan solo en un 10% de las primeras a las segundas, con lo que se puede predecir el desarrollo de la plaga utilizando modelos matemáticos.

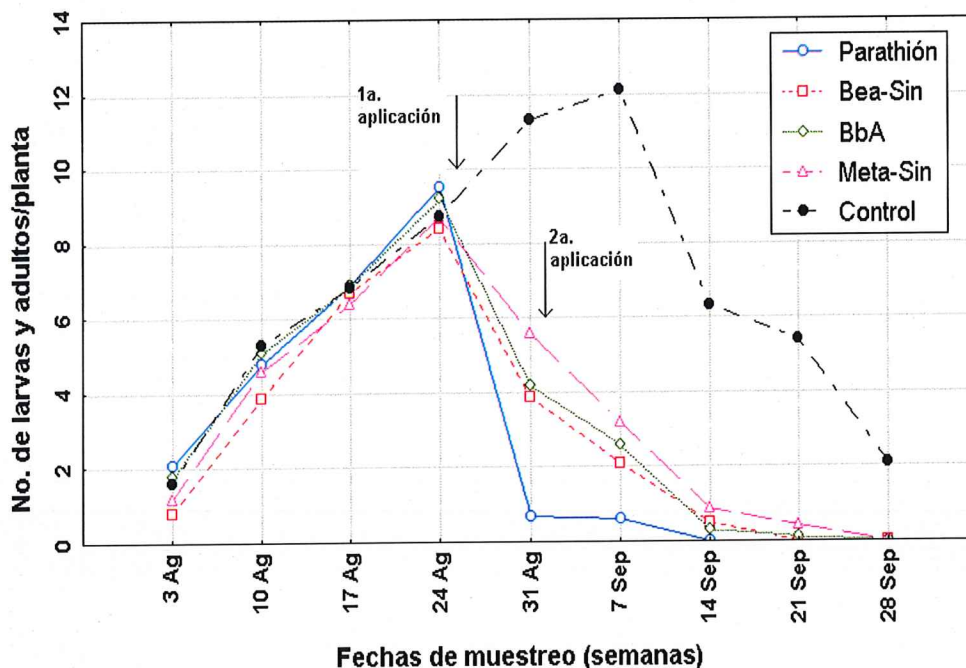


Figura. 6. Fluctuación poblacional de larvas y adultos de *E. varivestis*, durante el ciclo agrícola primavera-verano 2007.

El primer pico máximo de individuos (larvas y adultos) o umbral económico se observó entre los días 22 y 23 de julio, por lo que se llevó a cabo la primera aplicación de los insecticidas biológicos y químicos.

A partir de la primera aplicación de los productos biológicos Bea-Sin, BbA y Meta-Sin se pudo observar un decremento en la población, con una efectividad para Bea-Sin de un 88%, para BbA de 86% y Meta-Sin con el 76%. Siendo más efectivo el producto Bea-Sin, seguido por la cepa BbA (elaborados a base de *B. bassiana*) y Meta-Sin (*M. anisopliae*) respectivamente, lo que demuestra la efectividad y amplio rango de hospederos de *B. bassiana*, estos resultados concuerdan con los encontrados por Ceceña-Duran, 2007, quienes evaluaron la efectividad del producto Mycotrol E. S, a dosis de 1 L., a base de *B. bassiana* contra mosca blanca en un cultivo de chile, encontrando un rendimiento máximo de 4.77 ton/ha cuando el producto fue aplicado en adición con el químico Confidor, a dosis de 0.75 L/ha. El efecto de la aplicación de otros géneros de hongos entomopatógenos es diferente dependiendo de la plaga a tratar, del ingrediente activo y de los componentes secundarios del bioplaguicida, tal es el caso de *Lecanicillium lecanii* que presenta un reducido rango de hospederos el cual presenta más bajas mortalidades (alrededor del 24.3%) para el control del coleóptero *Delphastus pusillus* Le Conte a dosis de 1×10^8 esporas/ml (García-González, 2005), al igual que *Paecilomyces farinosus* (Lezama-Gutiérrez, 2007).

Algunos individuos muertos fueron trasladados al laboratorio de entomología para observar su miosis, para lo cual fueron colocados en papel filtro humedecido para inducir la esporulación del hongo, la miosis se presentó en un promedio de 9 ± 4 días.



Figura. 7. Adulto de *Epilachna varivestis* micosado por la acción de *Beauveria bassiana* esporulado en laboratorio.

7.4 CAPACITACIÓN TÉCNICA A GRUPOS DE PRODUCTORES DEL EJIDO SAN JOSÉ DE TUITAN, NOMBRE DE DIOS; DURANGO

El curso- taller de capacitación y asesoría a productores: “Aplicación de Bioinsecticidas y reconocimiento de las principales plagas en el cultivo de frijol”, fue brindado a productores, estudiantes, técnicos y personas dedicadas ha este tipo de actividades en el Auditorio del Salón Ejidal de San José de Tuitán, municipio de Nombre de Dios; Durango, del día 28 de abril al 1 de Mayo de 2008. Se brindó asesoría técnica sobre la aplicación de insecticidas biológicos elaborados a base de hongos entomopatógenos y se presentó un listado de ingredientes caseros para la elaboración de insecticidas biológicos, los cuales tienen la ventaja de ser muy económicos y de fácil acceso para repeler plagas. Además se elaboró un tríptico (anexo No. 2) para la difusión del curso y un folleto técnico donde se ilustran las principales plagas que afectan al cultivo de frijol, mediante imágenes que ilustran su descripción, ciclo biológico y tipo de daño. Se mostraron insectos vivos, pertenecientes a los diferentes ordenes de la colección entomológica del laboratorio

de entomología del CIIDIR- IPN Unidad Durango.; los cuales fueron observados con ayuda de un estereoscopio, con la finalidad de que las personas reconozcan los estadios de desarrollo y la morfología de los diferentes insectos.

Los documentos fueron entregados a los asistentes; además de que se llevó a cabo la entrega de los bioinsecticidas elaborados en el CIIDIR-IPN unidad Durango. 250g de producto a dosis de 1.2×10^{12} esporas/ha.

7.4.1 Elaboración artesanal de bioinsecticidas

Se le brindo asesoría a 7 productores de frijol en el Ejido San José de Tuitán, Durango, acerca de la elaboración en forma artesanal de bioinsecticidas, los productores manifestaron un interés muy grande por producir ellos mismos los bioinsecticidas, además de que se les visitó en sus domicilios periódicamente para asesorarlos en cuanto al tratamiento de las bolsas en relación a su manipulación y separación de las esporas del arroz. Se inicio con un lote de 50 bolsas de arroz por productor las cuales fueron pretratadas (lavado, estilado y esterilizado) con ayuda de equipos de presión facilitados por el laboratorio de entomología del CIIDIR-IPN Unidad Dgo. En el Cuadro 9 se muestran el total de bioinsecticidas obtenidos por cada uno de los productores cooperantes. Así como su relación con las personas que los elaboraron.

Los porcentajes de contaminación se debieron principalmente a que las bolsas no fueron agitadas debidamente, por lo que la humedad del sustrato se concentró en los extremos laterales de la bolsa lo que origino la formación de microorganismos

(bacterias, levaduras, hongos) diferentes a la cepa pura (coloraciones verdes y naranjas).

Cuadro 9. Relación de bioinsecticidas elaborados por productores cooperantes.

Productor	No. De bolsas producidas	% de contaminación
Marcos Andrés Núñez G.	41	18
Oscar Roldan García	45	10
Ing. Mario Nevárez	40	20
Fco. Romero Gutiérrez	44	12
Oscar Romero Gámiz	43	14
Manuel Soto Luna	43	14
Mario Díaz Vergara	42	16

La producción de bioinsecticidas de forma artesanal (\$30.00/ha) reduce hasta el 90% el precio en comparación a los productos comerciales/ha (\$310.00 + gastos de envío) y en un 60% a los productos comerciales lo que ayudaría notablemente a la economía de los productores.

8. CONCLUSIONES

- Este proyecto beneficio a los productores del municipio de Nombre de Dios, Durango; al combatir las plagas presentes en los cultivos de frijol. Los bioinsecticidas fueron entregados de forma gratuita, a una dosis de 1.2×10^{12} esporas/ ha. Los hongos entomopatógenos utilizados para el control de plagas agrícolas tienen como ventaja su especificidad, es decir, son capaces de infectar solo a los insectos objeto de control, sin causar daños a los humanos y animales, así como insectos benéficos. En la práctica los microorganismos aislados en la naturaleza y vueltos a introducir en su ambiente natural, en forma de bioinsecticidas, permiten evitar cambios en la biocenosis. Al igual que para cualquier producto de origen biológico se encuentran establecidas las normas y metodologías que regulan la calidad, no solo del producto final, sino desde las materias primas y durante todo el proceso productivo, y es la garantía que tienen el productor y el agricultor, esto lleva a un impacto social que permitió desarrollar productos biológicos dentro de las normas mexicanas de higiene y seguridad. La tecnología utilizada para la producción de bioinsecticidas es denominada tecnología limpia, es decir, procesos de transformación con nulo o poco impacto negativo sobre el ambiente, sistemas biotecnológicos que han despertado un renovado interés en los últimos veinte años.
- Los resultados demostraron que la cepa nativa BbA (evaluada en el laboratorio del CIIDIR-IPN y aislada de un cultivo de frijol en Fco. I. Madero, Dgo.) fue específica para el control de *E. varivestis* y puede utilizarse en un programa de control biológico para el control de esta plaga en cultivos

orgánicos de frijol y cultivos tradicionales, con lo que los productores se beneficiaran al tener mejores opciones de mercado; al presentar un producto libre de residuos químicos, además de que pueden producirla de forma artesanal en sus localidades a menor costo

- Se observó que el mejor tratamiento para el control de *Epilachna varivestis* en campo fue el químico (Parathion metílico) en comparación con los demás tratamientos utilizados (BbA, Bea-Sin, Meta-Sin y control) los cuales fueron estadísticamente diferentes al tratamiento químico, ya que tienen diferente grado de actividad y diferente ingrediente activo en el control de la plaga, debido a que en los productos biológicos, el hongo entomopatógeno produce enzimas o toxinas que son igualmente efectivos en campo. Los entomopatógenos utilizados tuvieron un grado de infestación que oscilo entre el 88 y 86%, para los productos elaborados a base de *B. bassiana* y un 76% para *M. anisopliae*, con ello comprobamos su efectividad en campo contra *E. varivestis*.
- Los diferentes tratamientos con sus respectivas aplicaciones fueron realizados exitosamente en parcelas campo; sin embargo, es necesario considerar condiciones de aplicación (horarios, equipo) y climatológicas (precipitación, temperatura, radiación solar, aire), además de apoyarse en modelos de predicción que nos permitan conocer si es factible utilizarlos en diferentes áreas cultivadas o dentro de un Manejo Integrado de Plagas, esto con la finalidad de obtener mayores porcentajes de mortalidad de las diferentes plagas a tratar.

- El Programa llevado a cabo para la capacitación de productores cooperantes en la localidad de San José de Tuitán, resultó satisfactorio ya que mostraron interés en producir y aplicar bioinsecticidas en sus cultivos de frijol, lo que ayudo a fomentar el uso del control biológico, sin embargo, es recomendable la participación de dependencias de gobierno, productores, técnicos y personas dedicadas a está actividad con la finalidad de implementar el uso de bioinsecticidas en todo el Estado, lo que conllevará a producir alimentos sanos, libres de plagas dentro del marco de la inocuidad alimentaria.
- Existen tres organizaciones que establecen las normas, requisitos, especificaciones y procedimientos nacionales e internacionales, para la importación o distribución de organismos para el control biológico de plagas. La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO), la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), y la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV). La NOM-070-FITO-1995, establece los requisitos para la importación o movilización de agentes de control biológico de plagas y se aplica a entomófagos y entomopatógenos. Es necesario considerar los ordenamientos legales que confluyen en la realización del proyecto que se plantea sobre la creación de una empresa de bioplaguicidas, de manera que se habrá de abordar de cada una de ellas la normatividad indispensable para su consecución.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Alves, B. S. 1986. Patología General. En: Control Microbiano de Insectos. Manole (Ed.). Brasil. 1-70 pp.
- Auld, B. A. 1992. Mass production, formulation and application of fungi as biocontrol agents, pp: 219-229. In: Lomer, C. J. & C. Prior (eds.), Biological control of locusts and grasshoppers. CAB International.
- Barrientos Lozano, L.; Hernández Velázquez, V. M.; Milner, R.J. and Hunter, D.M. 2002. Advances in biological control of locusts and grasshoppers in Mexico. Journal of Orthoptera Research. 11: 77-82.
- Bartlett, M. C. y S. T. Jaronski. 1988. Mass production of entomopatogenous fungi for biological control of insects. In: Fungi and Biological Control Systems (Burge M. N., ed.), Manchester University Press, Manchester, UK.
- Bateman, R. P. 1994. Physical properties and atomization of ULV formulation of mycoinsecticides. In: Anonimous (Ed.), Proceedings of the IOBC/WPRS meeting (pp. 222-225). Zurich.
- Bautista Gálvez A., y González Cortes N. 2005. Tres dosis de *Metarhizium anisopliae* sobre la mosca pinta (*Aeneolamia* spp.) en caña de azúcar en la región de los Ríos, Estado de Tabasco. Universidad y Ciencia. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 21(41): 37-40.
- Behle, R. W., C. García-Gutiérrez, P. Tamez-Guerra, M.R. McGuire and M.A. Jackson. 2004. Pathogenicity of Blastospores and conidia of *Paecilomyces*

fumosoroseus, against larvae of the Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis* Mulsant. *Southwestern Entomologist*. 31(4):289-295.

Berlanga Padilla A. M. 2002. Manejo y conservación de hongos Entomopatógenos.

En: Curso: Entrenamiento Producción de hongos Entomopatógenos. 51 p.

Boucias D.G, Penland J.C, 1998. Entomopathogenic fungi; Fungi Imperfectly. In: Principles of Insect Pathology, Vol. 10 Ed. by Boucias DG, Penland JC, Kluwer Academic Publishers, Boston 183–192.

Burges D. H. 1998. Formulation of mycoinsecticides. In: Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Ed. by Burges H. D., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 31-185.

Carballo, M. 1998. Formulación de hongos entomopatógenos. *Rev. Manejo Integrado de Plagas*. 47: 1-4.

Ceceña Durán C. y Ponce Medina J. F. 2007. Control biológico de mosca blanca *Bemisia argentifolii*, *Bellows and Perring* en Chile *Capsicum annum* L., en San Quintín, B. C. *Entomología mexicana* Vol. 6, Tomo I.

Cherry, A. J., Jenkins, N. E., Heviefo, G., Bateman, R. P. y Lomer, C. J. 1999. Operational and economic analysis of a West African pilot-scale production plant for aerial conidia of *Metarhizium* spp. for use as a mycoinsecticide against locusts and grasshoppers. *Biocontrol Science and Technology*. 9: 35-51.

Couch, T. L. and C. M. Ignoffo. 1981. Formulation of Insect Pathogens, pp: 621-736. En: Burges, H. D. (ed.), *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*. 1970-1980. Academic. Press, London and New York.

- Durand, A., R. Renaud, S. Almanza, J. Maratray, M. Diez and C. Desgranges. 1993. Solid state fermentation reactors: from lab scale to pilot plant. *Biotech. Adv.* 11: 591-597.
- El sol de Durango. www.elsoldedurango.com.mx . Con acceso el 27 de octubre de 2007. Pag. 10/A.
- Gálvez Bautista A. y González Cortes N. 2005. Tres dosis de *Metarhizium anisopliae* sobre la mosca pinta (*Aeneolamia* spp.) en caña de azúcar en la región de los Ríos, Estado de Tabasco. *Universidad y Ciencia.* 21(41): 37-40.
- Gandarilla Pacheco F., Morales Loredo A., Galán Franco L. 2007. Actividad de cepas nativas de hongos entomopatógenos contra *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomología Mexicana.* Vol. 6. Tomo 1. 517-520 pp.
- García González Javier, Pérez A. Ricardo., Marin Cotes Alva. 2005. Efecto de la aplicación de un bioplaguicida sobre algunos parámetros biológicos de la población del depredador de moscas blancas *Delphastus pusillus* Le Conte (Coleoptera: Coccinellidae). 166 p.
- García Gutiérrez C., Tamez Guerra P., Medrano Roldán H., González Maldonado M. B. 2006. Mercado de Bioinsecticidas en México. En. *Biotecnología Financiera Aplicada a Bioplaguicidas.* C. García Gutiérrez e H. Medrano Roldán (Eds). 7-40 pp.
- González Maldonado M. B., García-Gutiérrez C. y L. A. Ochoa Martínez. Formulación micro encapsulada de *Beauveria bassiana* (Vuillemin) para el control biológico de *Epilachna varivestis* (Mulsant) (Coleoptera Coccinellidae). *Memorias XL Congreso Nacional de Entomología, Tapachula, Chiapas, México.*

- Gutiérrez Rojas, M., G. Saucedo Castañeda y E. Favela Torres. 1995. Escalamiento de procesos con fermentación sólida pp: 1-22. En: Anónimo (ed). Notas para: Curso Avanzado sobre Procesos Biotecnológicos. Instituto de Biotecnología UNAM. Cuernavaca, Mor. Octubre 1995.
- Goettel M. S. and D. W. Roberts .1992. Mass production, formulation and field application of entomopathogenic fungi. In Biological Control of Locusts and Grasshoppers, C. J. Lomer and C. Prior (Eds). Proceedings of a workshop held at the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Republic of Benin. 29 April-1 May 1991. pp. 230-238.
- Hall, R. A. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scale.
- Hernández-Velázquez, V. M. y A. M. Berlanga-Padilla. 1996. Control Microbiano con hongos entomopatógenos. Memoria II. Curso de Actualización en Control Biológico. Tecomán, Colima. pp: 94-106.
- Hernández Velázquez V. M. y A. M. Berlanga Padilla. 2002. Memoria. Curso: *Entrenamiento Producción de Hongos Entomopatógenos*. SAGARPA. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Tecomán, Col. México. 26 pp.
- Hernández Velázquez, V. M.; Hunter, D.M.; Barrientos Lozano, L.; Lezama Gutiérrez, R. & Reyes Villanueva, F. 2003. Susceptibility of *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) to *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes): laboratory and field trials. *Journal of Orthoptera Research*. 12 (1): 89-92.

- Hernández Velázquez, V. M. 2005. Hongos y nematodos entomopatógenos en suelos cultivados con maíz en el Estado de Morelos. Memorias del XVIII Congreso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, México. 177-179 p.
- Humphreys, A. M., Matewele, P., Trinci, P. J. and Gillespie, A. T. 1989. Effects of water activity on morphology, growth and blastospore production of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces farinosus* in batch and fed bath culture. Mycology research. 92(3), 257-264.
- Hunter D. M., R. J. Milner and P. A. Spurgin. 2001. Aerial treatment of the Migratory locust. *Locusta migratoria* (L.) (Orthoptera: Acrididae) with *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Bulletin of Entomological Research. 91: 93-99.
- Jackson, M. A. McGuire, M. R., Lacey, L. A., and Wraight, S. P. 1997. Liquid culture production of dessication tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. Mycological Research, 101, 35-41.
- Jackson, M. A. 2003. VII. Estrategias para la optimización de la producción de biopesticidas. 71-85 pp. *In*: Procesos Biotecnológicos. L. J. Galán Wong, M. Elías-Santos, P. Tamez-Guerra, R. Quintero-Ramírez e I. Quintero-Zapata (eds). 1ª. Ed. UANL. 255 p.
- Jackson M. A., A. R. Payne and D. A. Odelson. 2004. Liquid-culture production of blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus* using portable fermentation equipment. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 31: 149-154.
- Jenkins, N. E. y Goettel, M. S. 1997. Methods for mass-production of microbial control agents of grasshoppers and locusts. Memoirs of the Entomological Society of Canada. 171. 37-48.

- Jenkins, N. E., R. Bateman and M. B. Thomas. 1998. The LUBILOSA Programme- Development of a Mycoinsecticide for locust and grasshopper control. Memoria XXI Congreso Nacional de Control Biológico. Noviembre 5-6 de 1998. Río Bravo, Tamaulipas, México.
- Jenkins y Grzywacs. 2000. Quality control of fungal and viral biocontrol agents assurance of product performance. *Biocontrol Science and Technology*. 10: 753-777.
- Khachatourians G. G. 1991. Virulence of five *Beauveria bassiana* strains, *Paecilomyces farinosus*, and *Verticillium lecanii* against the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *J. Invertebr. Pathol.* 59: 212-214.
- Kleespies, R. G. y Zimmermann, G. 1994. Effect of additives on the production, viability and virulence of blastospores of *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*. (8) 207-214.
- Lezama Gutiérrez R., Díaz Hernández S. A., Villagómez Almanza J., Molina Ochoa J., Angel Sahagún C. A., Cruz Avalos A. M. 2007. Patogenicidad de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* (Hypomycetes) en adultos de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *In: Entomología Mexicana 2007*. Estrada Venegas E., Equihua Martínez A., Luna León C. y Rosas Acevedo J.I. (Eds). México. 540-545 pp.
- Liu H., Skinner M., Parker B. L. Brownbridge M. 2002. Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes), and other entomopathogenic fungi against *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *J. Econ. Entomol.* 95: 675-681.

- Lonsane, K. B., Saucedo C. G., Raimbault M., Roussos S. Viniegra G. G. Ghildyal N. P., Ramakrishna M. and Krishnaiah M. M. 1992. Scale-Up Strategies for solid state fermentation systems. Review. Process Biochemistry. 27: 259-273.
- López y López, E. V. Chavarria H. N., Fernández S. P. y De la Torre M. 2000. Fermentation processes for bioinsecticide production. An overview. Recent Res. Devel. Biotech. and Bioeng. 3: 1-20 pp.
- McCoy, C. W.; R. A. Samson and D. G. Boucias. 1988. Entomogenous fungi, pp: 151-236. En: Ignoffo, C. M. (ed), CRC Handbook of natural pesticides. Volume V Microbial insecticides Part A entomogenous, protozoa and fungi. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL.
- Medrano, R. 2006. Biotecnología Financiera Aplicada a Bioplaguicidas. 210 p.
- Mendonca, A. F. 1992. Mass production, application and formulation of *Metarhizium anisopliae* for control of sugarcane froghopper, *Mahanarva posticata*, in Brasil, pp: 239-244. En: Lomer, T. J. & C. Prior (eds.), Biological control of locusts and grasshoppers. CAB International. Printed in UK.
- Milner, R. J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. Biocontrol News and information. 21(2), 47 N- 50 N.
- Milner, R. J. y Hunter, D. M. 2001. Recent developments in the use of fungi as biopesticides against locust and grasshoppers in Australia. Journal of Orthoptera Researh. 10(2): 271-276.
- Milner, R. J. 2002a. The history of green guard a fungal biopesticide for Australian locusts and grasshoppers. En: Ecología, Manejo y Control de la Langosta Voladora (*Schistocerca piceifrons piceifrons*, Walker). L. Barrientos-Lozano

- Editor. Memorias Ier. Curso Internacional. Altamira, Tamaulipas, México. pp. 142-153.
- Milner, R. J. 2002b. Green Guard[®]. Pesticide Outlook. 20-24 pp.
- Moore, D. y Prior. C. 1993. The potencial of mycoinsecticides. *Biocontrol News and information*. 14(2): 31-40.
- Moore, D. y R. W. Caudwell. 1997. Formulations of entomopathogens for the control de grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. 171: 49-67.
- Nava C., U., J. J. Pacheco C. y K. F. Byerly M. 1998. Manejo integrado de la mosquita blanca de la hoja plateada, *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring . In: Memoria 4ta. Asamblea anual del CONACOFI. 27-28 de febrero de 1997. Peña A., M. y D. Téliz O. (eds.). Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Montecillo, Edo. de México. pp. 215-253.
- PC. Polo Program. 1987. *Auser's guide to probit or logit Analysis*. Le Oro Software, Inc. Berkley, Ca. pp. 1-15.
- Pedigo, L. P., S. H. Hutchins, y L. G. Higley. 1986. Economic injury levels in theory and practice. *Annu. Rev. Entomol.* 31:341-368
- Pinto V. M., Vera Graziano J., Landois Palencia L., Leyva Vázquez J. 2002. Simulación de la Dinámica poblacional de la conchuela del frijol, *Epilachna varivestis* Muls., mediante un modelo fenológico de desarrollo acumulativo. *ENSAYO en Agrociencia* 36: 115-122. 2002.
- Prior, C., Lomer, C. J., Paraíso, A., Kooyman, C. y Smith, J. J. 1992. The IIBC/IITA/DFPV collaborative research programme on the biological control of

- locusts and grasshoppers. In C. J. Lomer y C. Prior (Eds.). Biological control of locusts and grasshoppers (pp. 8-18). Melkshan, UK: CAB International.
- Posada Flórez F. J. 2008. Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. *Journal of Insect Science*. 8 (41):1-13.
- Ré. M. I. 1998. Microencapsulation by Spray Drying. *Drying Technology*. 16(6):1195-1236.
- Rodríguez del Bosque L. A., y H. C. Arredondo Bernal. 1999. Quién es quién en control biológico en México. Directorio de especialistas, instituciones y laboratorios de organismos benéficos.
- Rosas Acevedo J. L. 2002. Hongos Entomopatógenos. En: Curso: Internacional de Patología de Insectos. Cd. Victoria Tamaulipas, México. 16 p.
- SAS. 1999. SAS system for Windows version 8. SAS Institute, Cary, NC.
- Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2006. Delegación Estatal en Durango, México. <http://www.sagarpa.gob.mx>.
- Sabbahi, R. Merzouki A. and Guertin C. 2008. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Against the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* L., in strawberries. *J. Appl. Entomol.* 132: 124-134.
- Shahidi, F. and Han, X. 1993. Encapsulation of Food Ingredients. *Critical review in Food Sci. & Nutr.* 33(6): 501-547 pp.
- Shapiro Ilan D.I, Jackson M. Reilly C.C, Hotchkiss M.W, 2003. Effects of combining an entomopathogenic fungi or bacterium with entomogenic nematodes on

- mortality of *Curculio caryae* (Coleoptera: Curculionidae). *Biol. Control.* 30, 119-126.
- Silva Rodríguez J., Lezama Gutiérrez R., y Molina Ochoa J. 2007. Efecto de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, un insecticida químico y *Bacillus thuringiensis* en el control de barrenadores en caña de azúcar. In: *Entomología Mexicana 2007*. Estrada Venegas E., Equihua Martínez A., Luna León C. y Rosas Acevedo J.I. (Eds). México. 546-549 pp.
- Talamantes Gómez. 2006. Radiografía de la migración y las remesas en el Estado de Durango. 62 p.
- Tamez Guerra, P., McGuire M. R. y Behle R. W. 2003. Microcapsulación para mejorar la calidad de bioinsecticidas y técnicas para la evaluación de *Bacillus thuringiensis* y baculovirus en lepidópteros. En: *Procesos biotecnológicos*. UANL. 157-169 pp.
- Tanada, Y. and H. K. Kaya. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press. Inc 10: pp. 318-365; 14: pp. 492 - 533; 15: pp. 554 - 585.
- Vidal, C., Fargues, J., Lacey, L. A., and Jackson, M. A. 1998. Effect of various liquid culture media on morphology, growth, propagule production, and pathogenic activity to *Bemisia argentifolii* of the entomopathogenic Hyphomycete, *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycopathologia.* 143, 33-46.
- Wright, J. E. 1993. Control of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) with naturalis-L: a mycoinsecticide. *J. Econ. Entomol.* 86(5): 1355-1358.

ANEXOS

ENCUESTA

Fecha _____

Nombre _____ Localidad _____

Tiempo dedicado a la agricultura:

a) 1-5 años b) 6-10 años c) 11-20 años d) 21-30 años e) Mas

1.- ¿Qué cultivos siembra?

a) frijol, b) maíz, c) alfalfa, d) avena, e) otros

2.- ¿De riego o de temporal?

3.- ¿Cuáles labores culturales lleva a cabo durante el desarrollo del cultivo?

4.- ¿Qué superficie siembra de cada cultivo?

a) 1-5 ha, b) 5-10 ha, c) 10-15 ha, d) 15 a 20 ha

5.- ¿Qué plagas aparecen con mayor incidencia?

6.- ¿Para atacarlos, que insecticidas químicos utiliza?

7.- ¿Ha manifestado usted algún malestar después de su aplicación en campo? Si es así, de qué tipo?

a) mareos b) náuseas c) desmayo d) intoxicación e) otra _____

8.- ¿Cuántos litros o kilogramos de insecticidas químicos utiliza en sus cultivos por ciclo agrícola?

9.- ¿Cuánto invierte en estos productos por litro o kilogramo?

10.- ¿Estaría dispuesto a emplear el control biológico para el combate de plagas?

11.- ¿Conoce o a escuchado hablar acerca de los bioinsecticidas?

12.- ¿Cuáles?

13.- ¿Los ha utilizado? ¿Por qué?

14.- ¿Cuáles considera que son las ventajas de utilizarlos?

Cuadro 1. Instituciones y compañías privadas productoras y comercializadoras de bioinsecticidas para el control de insectos en México, reportadas en 1999.

Estado	Institución Productora	Entomopatógenos
Aguascalientes	CREROB ¹ de Pabellón de Arteaga, Aguas.	Bb, Ma, Pf
Chiapas	CRE de CANCUC, Chis ² . Laboratorio de Producción de OB ³ , CIICA, Chis ³ LRHE ⁴ , Tapachula, Chis. LRHE Tiemelonia Nick k Lum S. se S.S., Palenque, Chis.	Bb Hsp, Sf, Sg Bb Bb
Colima	Insumos y Servicios Agropecuarios de Occidente, S.A. de C.V. Villa de Álvarez, Col. Lab. de Control Biológico del Patronato para la Inv. y Exp. Agrícola del Edo. de Colima, Los Asmoles, Col.	Pf Pf
Distrito Federal	Koppert de México, S. A. de C. V. México D. F.	Sf
Guanajuato	CREROB, CESAVER, Irapuato, Gto.	Ma, Bb
Guerrero	Laboratorio de Producción de Entomopatógenos del Consejo Estatal del Café. Atoyac de Álvarez, Gro.	Bb
Nayarit	CREROB de Nayarit	Bb, Pf
Oaxaca	CREROB de Oaxaca LRHE del Ins. Tec. Agro. No. 33, Xocotlán, Oax.	Bb Bb
Sinaloa	Agrobiológicos del Noroeste, S. A. de C. V., Culiacán, Sin. Agrobiosol de México, S. A. de C. V., Culiacán, Sin. Biosol, S. A. de C. V., Culiacán, Sin.	Bb, Bt, Ma, Pf, Vsp Sc Sf
Tlaxcala	CREROB de Huamantla, Tlax. LHRE del Instituto Tecnológico Agropecuario No. 29, San Diego Xocoyocan, Tlax.	Bb, Ma Bb
Veracruz	CREROB de Xalapa, Ver. LRHE de BIOS-COBI Inc., Xalapa, Ver. LRHE del Ingenio Tres Valles, Ver. LRHE del Ins. Tec. Agro. No. 18, Úrsulo Galván, Ver. LRHE, Zentla, Ver. Unidad Reproductora de Hongos Entomopatógenos, Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Ver.	Ma, Mf, Pf Bb, Ma, Pf Bb, Ma Bb, Ma Bb Ma
Yucatán	CREROB de Mérida, Yuc.	Ma, Pf

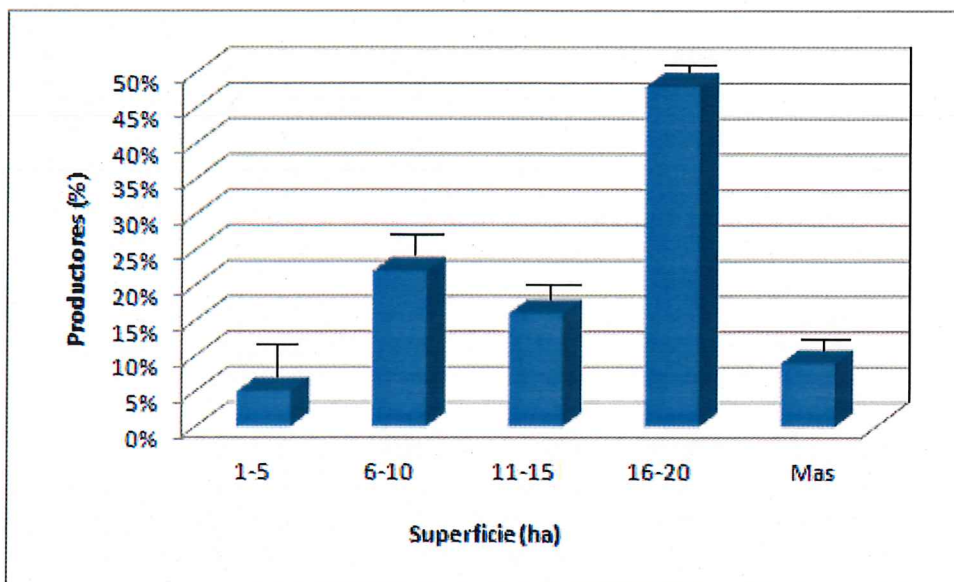
Claves de organismos entomopatógenos: *Bacillus thuringiensis* =Bt, *Beauveria bassiana* = Bb, *Heterorhabditis* sp = Hsp, *Metharhizium anisopliae* = Ma, *M. flavoviride* = Mf, *Paecilomyces fumosoroseus* = Pf, *Sterinernema* sp = Stsp, *S. feltiae* = Sf, *S. glaseri* = Sg, *S. carposapsae* = Sc, *Verticillium* sp = Vsp.,
¹CREROB = Centro Regional de Estudios y Reproducción de Organismos Benéficos.
²CRE = Centro de Reproducción de Entomopatógenos.
³OB = Organismos benéficos.
⁴LRHE = Laboratorio de Reproducción de Hongos Entomopatógenos.

Cuadro 2. Productos Químicos para el control de *Epilachna varivestis*.

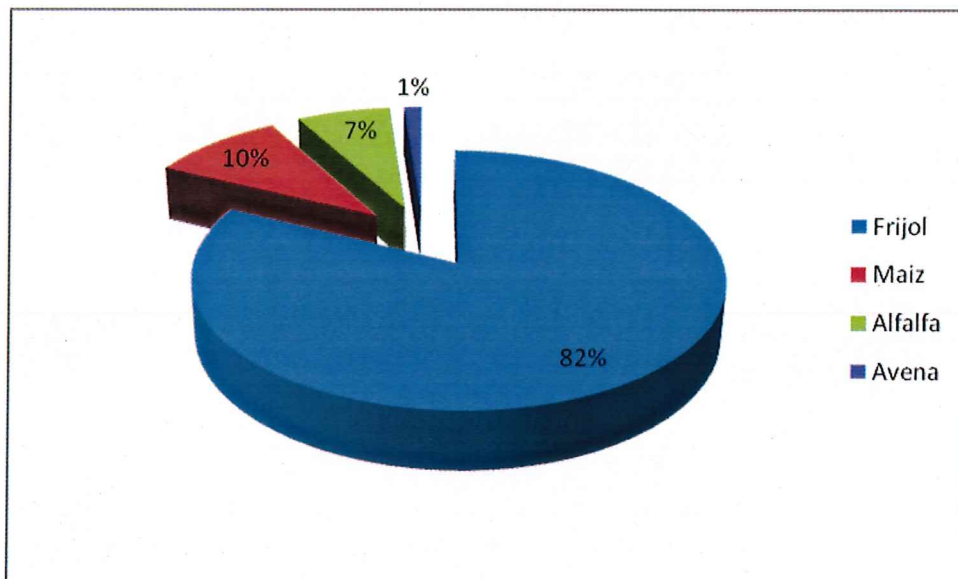
Producto	\$/Cantidad	Ingrediente activo	Advertencias y precauciones
Folidol	95.00/L.	Paratión metílico: 0,0dimetil 0,pnitrofeniltiofosfato.	Producto altamente tóxico, en caso de ingestión, inhalación o absorción de la piel. Manéjelo con mascarilla, guantes y ropa protectora. No coma, beba y/o fume durante la aplicación. Después de aplicarlo, báñese con suficiente agua y jabón, y cambie de ropa.
Karate Zeón * 5CS	106.00/250ml.	Lambda cyhalotrina: α -cyano-3-fenoxibencil 3-(2cloro3,3,3-trifluoruropro-1-enil)-2,2dimetil-1ciclopropano carboxilato 1:1 de los isómeros (Z)-(1R-,3R)-S-éster y (Z)(1S,3S)-R-éster.	Producto tóxico, por lo que debe evitarse su ingestión, inhalación, contacto cutáneo y ocular. Use equipo adecuado: neblinas, careta, guantes de nitrilo, overol y botas de hule. Evite inhalar el polvo y el contacto sobre la piel.
Parathion metílico 500	95.00/L.	Paratión metílico: 0,0 dimetil 0-4 nitrofenil fosforotionato.	Producto tóxico, por lo que debe evitarse su ingestión, inhalación, contacto cutáneo y ocular. No manejar este producto mujeres embarazadas ni menores de 18 años. Use guantes de hule, mascarilla de cartucho, overol, botas de hule y lentes. No comer, no beber ni fumar. Mezcle con un removedor, nunca con las manos.
Sevin* 80% PH	250/Kg.	Carbarilo: 1-naftil-N-metil carbamato.	Evitar su ingestión, inhalación, contacto cutáneo. Use el equipo de protección: overol, impermeable de mangas largas, guantes, lentes, botas, gorra y mascarilla con filtro.

Cuadro 3. Entidades Federativas con mayor Intensidad Migratoria.

Entidad federativa	Total de hogares	% Hogares con emigrantes en Estados Unidos del quinquenio anterior	% Hogares con migrantes circulares del quinquenio anterior	% Hogares con migrantes de retorno del quinquenio anterior	Índice de intensidad migratoria	Grado de intensidad migratoria	Región
Zacatecas	306,882	12.18	3.31	2.55	2.58352	Muy alto	Tradicional
Michoacán	893,671	10.37	2.82	2.31	2.0595	Muy alto	Tradicional
Guanajuato	990,602	9.55	2.18	1.6	1.36569	Muy alto	Tradicional
Nayarit	222,714	6.82	2.03	2.03	1.27041	Muy alto	Tradicional
Durango	331,242	7.31	1.82	1.57	1.09	Muy alto	Tradicional



Gráfica 1. Porcentaje de superficies sembradas de cultivos agrícolas en la Región de los Valles del Estado de Durango (ciclo primavera-verano 2007).



Gráfica 2. Porcentajes de cultivos agrícolas sembrados en la Región de los Valles del Estado de Durango.