



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CAMPECHE

POSTGRADO EN AGRICULTURA TROPICAL

CONTROL MICROBIANO DE LA LANGOSTA CENTROAMERICANA *Schistocerca piceifrons piceifrons* (WALKER 1870) BASADO EN EL USO DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *Metarhizium anisopliae* Y *Beauveria bassiana* EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO

ALEJANDRO DEL JESÚS TREJO PÉREZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

SIHOCHAC, CHAMPOTÓN, CAMPECHE

2017

La presente tesis, titulada: Control microbiano de la langosta centroamericana *Schistocerca piceifrons piceifrons* (Walker 1870) basado en el uso de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en la península de Yucatán, México, realizada por el alumno Alejandro del Jesús Trejo Pérez bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS  
AGRICULTURA TROPICAL**

**CONSEJO PARTICULAR**

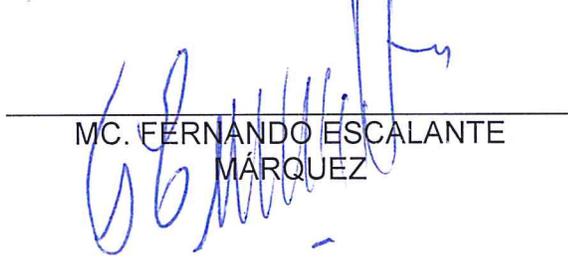
**CONSEJERO:**

  
DR. JOEL LARA REYNA

**ASESOR:**

  
DR. GABRIEL OTERO COLINA

**ASESOR:**

  
MC. FERNANDO ESCALANTE  
MÁRQUEZ

**Sihochac, Champotón, Campeche , 30 de mayo de 2017**

**CONTROL MICROBIANO DE LA LANGOSTA CENTROAMERICANA *Schistocerca piceifrons piceifrons* (WALKER 1870) BASADO EN EL USO DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO**

Alejandro del Jesús Trejo Pérez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

**RESUMEN**

En la península de Yucatán, la langosta centroamericana (*Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker 1870) causa severos daños a los cultivos de importancia económica de las zonas donde habita permanentemente, conocidas como zonas gregarígenas. Cepas de hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* nativas del estado de Campeche fueron probadas en condiciones de laboratorio y de campo, para conocer su capacidad infectiva sobre *S. piceifrons piceifrons*, una de *B. bassiana* denominada HBb005 y otra de *M. anisopliae* denominada HMa014. Se llevaron a cabo bioensayos con 20 aislamientos en laboratorio, y de ellos se seleccionaron los dos más agresivos. Posteriormente con ambas cepas se evaluó la susceptibilidad de este insecto, en función de la concentración y el tiempo que ocurre la mortalidad del insecto. Al evaluar en campo la susceptibilidad de *S. piceifrons piceifrons* a ambas cepas, se probaron formulaciones realizadas a ultrabajo volumen (ULV) a una dosis 242.5 gramos/hectárea equivalentes a  $1.32 \times 10^8$  esporas/gramo de arroz inerte inoculado con el hongo de la cepa HBb005, y 242.5 gramos/hectárea donde  $1.06 \times 10^7$  esporas/gramo de arroz inerte inoculado de la cepa HMa014. Se utilizaron jaulas tramperas para darle seguimiento a los manchones de langosta por 20 días para evaluar la disminución de los individuos. En el área tratada durante todo el periodo el porcentaje de mortalidad fue del 93.3% en 14 días con la cepa HBb005 y mientras las que se trataron con la cepa HMa014 disminuyeron un 88.9% en 16 días. Los resultados muestran que *B. bassiana* puede reducir sustancialmente las poblaciones de ninfas y adultos de *S. piceifrons* en campo.

**Palabras clave:** entomopatógenos, cepas, zonas gregarígenas, endémico y bioinsecticida.

MICROBIAL CONTROL OF THE CENTRAL AMERICAN LOCUST *Schistocerca piceifrons piceifrons* (WALKER 1870) BASED ON THE USE OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* IN THE YUCATAN PENINSULA, MEXICO.

Alejandro del Jesús Trejo Pérez, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2017

**ABSTRACT**

In the Yucatan peninsula, the Central American locust (*Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker 1870) causes severe damage to crops of economic importance in areas where it is permanently settled, known as the gregarious zones. Entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates native to the State of Campeche were tested under laboratory and field conditions against *S. piceifrons piceifrons*. Bioassays were performed with 20 isolates in the laboratory, and the two most aggressive isolates were selected for field bioassays to know its infective capacity on *S. piceifrons p.* One of *B. bassiana* called HBb005 and another of *M. anisopliae* called HMa014. Subsequently with both isolates, we evaluated the susceptibility of this insect depending on the concentration and time when insect mortality occurs. When evaluating in the field the susceptibility of *S. piceifrons piceifrons* to both isolates, ultralow volume (ULV) formulations were tested at a dose 242.5 grams / hectare equivalent to  $1.32 \times 10^8$  spores / gram of inert rice inoculated with the fungus isolate HBb005, and 242.5 grams / hectare, equivalent to  $1.06 \times 10^7$  spores / gram of inoculated inert rice of the isolate HMa014. Trapper cages were used to follow up the locust bands for 20 days to evaluate the reduction of individuals. The treated area. Over the full period showed 93.3% mortality in 14 days when treated with the HBb005 isolate, while in those treated with the HMa014 isolate mortality was 88.9% in 16 days. These results suggest that *B. bassiana* may substantially reduce the populations of nymphs and adults of *S. piceifrons* in the field.

**Key words:** entomopathogens, isolate, gregarious areas, endemic and bioinsecticide.

## **AGRADECIMIENTOS**

A través de estas líneas quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que con su soporte científico y humano han colaborado en la realización de este trabajo.

Quiero agradecer en primer lugar a las instituciones que han hecho posible la realización del trabajo presentado en esta memoria de tesis por la ayuda económica brindada por la Fundación Pablo García, a la Campaña contra la Langosta del Comité estatal de Sanidad Vegetal de Campeche y a el Colegio de Postgraduados Campus Campeche, gracias por la ayuda y confianza en mí depositada.

Muy especialmente a mi director de tesis y amigo el Doctor Joel Lara Reyna, por la acertada orientación, el soporte y discusión crítica que me permitió un buen aprovechamiento en el trabajo realizado y que esta tesis llegara a buen término.

Agradezco al Maestro en ciencias Fernando Escalante Márquez por su inestimable ayuda, consejos, orientación y amistad ya que conoce mis primeros pasos como profesionalista. Su colaboración en esta tesis ha sido de mucha importancia, he podido contar con un asesor que ha sabido trasmitirme su experiencia en el estudio de plagas.

Al Doctor Gabriel Otero por haber aceptado ser mi asesor y ser puntual y preciso en el desarrollo de esta investigación.

Finalmente, agradezco a mi familia por su comprensión y apoyo desde casa. De manera muy especial a mi amada compañera de vida Sherell quien ha estado a mi lado compartiendo mis alegrías y angustias, por el estímulo para que me supere día con día, el apoyo incondicional y la ayuda de siempre. En Ti encontré las fuerzas necesarias para llegar hasta el final. Esta tesis va dedicada a todos los antes mencionados.

## CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 EL GÉNERO SCHISTOCERCA EN EL MUNDO .....</b>	<b>3</b>
2.2 PRINCIPALES CULTIVOS AFECTADOS POR EL GÉNERO SCHISTOCERCA EN EL MUNDO .....	7
2.3 DISTRIBUCION EN EL TERRITORIO NACIONAL DE <i>S. PICEIFRONS PICEIFRONS</i> .....	9
2.4. MÉTODOS DE CONTROL USADOS CONTRA LA LANGOSTA.....	11
2.4.1 CONTROL QUÍMICO .....	11
2.5. TAXONOMÍA E IDENTIFICACIÓN DE LA LANGOSTA CENTROAMERICANA <i>SCHISTOCERCA PICEIFRONS PICEIFRONS</i> WALKER 1870 .....	17
2.5.1. IDENTIDAD.....	17
2.5.2. MORFOLOGÍA.....	18
2.6 BIOLOGÍA Y DAÑOS.....	20
2.7. LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS COMO ALTERNATIVA DE CONTROL DE LA LANGOSTA CENTROAMERICANA <i>S. PICEIFRONS PICEIFRONS</i> .....	21
2.7.1. MODO DE ACCIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	24
2.7.2. ADHESIÓN Y GERMINACIÓN DE LA ESPORA EN LA CUTÍCULA DEL INSECTO.....	26
2.7.3. PENETRACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO AL INSECTO.....	27
2.7.4. MECANISMO DE DEFENSA DE LOS INSECTOS.....	28
2.7.5. IMPORTANCIA DE LA CUTÍCULA DE LOS INSECTOS.....	28
2.7.6. FACTORES A CONSIDERAR PARA LA APLICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN CAMPO.....	29
2.7.7. VENTAJAS EN EL USO DE LOS HE.....	30
2.7.8. LIMITANTES DE LOS HE.....	30
3. JUSTIFICACIÓN.....	31
<b>4. HIPOTESIS .....</b>	<b>32</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	32
5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	32
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
6.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	33
6.1.1. OBTENCION DE CEPAS.....	33
6.1.2. OBTENCION DE LANGOSTAS.....	34
6.2 METODOLOGIA PARA APLICACIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	38
6.2.1. REACTIVACIÓN DE CEPAS A UTILIZAR.....	40
6.2.2. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD INFECTIVA DE LAS CEPAS NATIVAS SOBRE <i>Schistocerca piceifrons piceifrons</i> .....	41
6.2.3. DISCRIMINACIÓN DE CEPAS CON BASE EN INFECTIVIDAD.....	42
6.2.4. SELECCIÓN DE CEPAS MÁS INFECTIVAS.....	44
6.2.5. OBTENCION DE LA VENTANA DE RESPUESTA BIOLÓGICA PARA LAS CEPAS HBb005 y HMa014.....	46
6.2.6. DETERMINACION DE LA MEJOR CONCENTRACION (Conidios/MI) PARA CADA CEPA EVALUADA.....	48
6.2.7. PREPARACIÓN DEL INÓCULO PARA REALIZAR ENSAYOS EN CAMPO.....	49

6.2.8. CUANTIFICACION DE ESPORAS DEL PRODUCTO FINAL DE LAS CEPAS HMa014 y HB005.....	50
6.2.9. EVALUACIÓN EN CAMPO DE LAS CEPAS HBB005 Y HMA014 PARA SU APLICACIÓN SOBRE POBLACIONES DE <i>S. PICEIFRONS P.</i> ....	50
6.3. PRUEBA DE PATOGENICIDAD EN CAMPO.....	56
6.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	58
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>60</b>
7.1. OBTENCIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO CON CEPAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	60
7.2. DISCRIMINACIÓN DE CEPAS CON MAYOR VIRULENCIA EN <i>SCHISTOCERCA PICEIFRONS PICEIFRONS</i> .....	60
7.3. VERIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE CEPAS CON MAYOR INFECTIVIDAD. ....	61
7.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN CON MAYOR INFECTIVIDAD SOBRE <i>SCHISTOCERCA PICEIFRONS P.</i> .....	64
7.5. INOCULACIÓN DE LAS CEPAS HMA014 Y HBb005 SOBRE SUSTRATO NATURAL DE ARROZ	67
7.6. CONTEO DE ESPORAS PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE ESPORAS EN EL SUSTRATO FINAL DE ARROZ (GRAMOS) APLICADA EN CAMPO. ....	68
7.7. DATOS OBTENIDOS DE LA APLICACIÓN EN CAMPO DE LAS CEPAS MÁS INFECTIVAS HBB05 Y HMA014. ....	69
7.8. TIEMPO DE LETALIDAD (TL50) DE LA POBLACIÓN DE <i>S. PICEIFRONS PICEIFRONS</i> EXPUESTA A LAS CEPAS MÁS INFECTIVAS. ....	74
<b>8. DISCUSION .....</b>	<b>77</b>
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>79</b>
<b>10. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>80</b>
<b>11. ANEXOS.....</b>	<b>81</b>
<b>12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>86</b>

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.- Importancia económica de la plaga y cultivos afectados en el año 2015 .....	82
Cuadro 2. Especies de langosta a nivel mundial y su distribución.....	3
Cuadro 3. Superficie, producción y valor de la producción de cultivos .....	8
Cuadro 4. Productos químicos utilizados para el control de <i>S. piceifrons piceifrons</i> en México.	12
Cuadro 5. Organismos que pueden ser utilizados para el control biológico de chapulín y langostas.....	13
Cuadro 6. Principales hongos entomopatógenos .....	25
Cuadro 7. Listado de cepas utilizadas en este trabajo .....	35
Cuadro 8. Datos geográficos de los sitios de colecta e individuos colectados de <i>S. piceifrons</i> .	36
Cuadro 9. Listado de cepas utilizadas para los bioensayos. ....	61
Cuadro 10. Resultado del numero de individuos de <i>S. piceifrons piceifrons</i> muertos.....	62
Cuadro 11. Mortalidad de <i>S. piceifrons</i> , al ser infectadas por cepas seleccionadas y verificadas .....	63
Cuadro 12. Resultados de la evaluación por las diferentes concentraciones de la cepa HMa014 .....	65
Cuadro 13. Resultados de la evaluación por las diferentes concentraciones de la cepa HBb005 .....	65
Cuadro 14. Rendimiento (conidios/gramo) obtenido en diferentes bolsas de sustrato inoculado con la cepa HBb005 .....	69
Cuadro 15. Rendimiento (conidios/gramo) obtenido en diferentes bolsas de sustrato inoculado con la cepa HMa014.....	69
Cuadro 16. Conteo de individuos muertos por días transcurridos después de la aplicación de HBb005 .....	70
Cuadro 17. Conteo de individuos muertos por días transcurridos después de la aplicación de HMa014.....	71
Cuadro 18. Tasa de infección causada por HBb005 y HMa014 .....	73
Cuadro 19. Datos capturados para realizar el análisis probit de la cepa HMa014. ....	76
Cuadro 20. Determinación de la TL50 de HMa014 .....	76
Cuadro 21. Datos capturados para realizar el análisis probit de la cepa HBb005.....	77
Cuadro 22. Determinación de la TL50 de HBb005 .....	77

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Dos hipótesis biogeográficas para explicar la distribución de las especies dentro del género <i>Schistocerca</i> .....	5
Figura 2. Árbol de máxima verosimilitud mostrando las relaciones entre las especies de <i>Schistocerca</i> del Hemisferio Occidental.....	6
Figura 3. Zonas gregarígenas y de invasión en México .....	10
Figura 4. Producto comercial formulado con base en <i>Nosema locustae</i> .....	14
Figura 5. Los nematodos de saltamontes juveniles maduros, <i>Mermis nigrescens</i> .....	15
Figura 6. Chapulín infectado por el HE <i>Beauveria bassiana</i> .....	16
Figura 7. Hembra Grávida de coloración amarilla ovipositando falsa ooteca.....	19
Figura 8. Tipos de fase de las ninfas.....	20
Figura 9. Adulto inmaduro de <i>S. piceifrons piceifrons</i> .....	21
Figura 10. Dos generaciones de <i>S. piceifrons piceifrons</i> que se presentan al año .....	20
Figura 11. Esporas y cuerpos fructíferos de los principales grupos de hongos.. ..	24
Figura 12. Proceso de infección de un HE.. ..	27
Figura 13. Esquema general de la metodología aplicada para el estudio.....	40
Figura 14. Esquema para obtener el tiempo letal medio $TL_{50}$ .....	47
Figura 15. La flecha muestra el sitio de inoculación del Hongo .....	48
Figura 16. Características de la Cámara de Neubauer.....	50
Figura 17. Ubicación geográfica del sitio de aplicación de campo.....	52
Figura 18. Ubicación geográfica de las jaulas instaladas de los diferentes tratamientos a evaluar con la cepa HMa014.....	54
Figura 19. Ubicación geográfica de las jaulas instaladas de los diferentes tratamientos a evaluar con la cepa HBb005.....	55
Figura 20. Registro diario de mortalidad de <i>S. piceifrons piceifrons</i> como resultado de la aplicación de cepas de HE... ..	64
Figura 21. Cualidades de resistencia y tolerancia de insectos.. ..	85

## LISTA DE FOTOS

Foto 1. Método de colecta utilizado para ninfas y adultos de langosta .....	37
Foto 2. Jaula con individuos colectados en campo .....	37
Foto 3. Langosta adulta madura sexualmente.....	38
Foto 4. Ninfas de primer estadio acabando de eclosionar del suelo arenoso .....	39
Foto 5. Cajas Petri inoculadas con cepas de los hongos <i>M. anisopliae</i> y <i>B. bassiana</i> .....	42
Foto 6. Ninfa de <i>S piceifrons</i> de cuarto estado ninfal .....	43
Foto 7. Tubos de ensayo con solución de diferentes cepas a una concentración de $1 \times 10^7$ .....	45
Foto 8. Tratamientos de las cepas a evaluar separando 15 individuos en las jaulas .....	46
Foto 9. Cámara húmeda usada para facilitar el crecimiento del micelio de los insectos infectados .....	46
Foto 10. Montaje de la jaula diseñada con un volumen de $1.73 \text{ m}^3$ utilizada para los bioensayos en campo .....	53
Foto 11 Bombas marca STHIL <sup>®</sup> modelo SR 450 de boquillas de ULV.....	56
Foto 12. Recuperación de las soluciones cepas HB005 y Hma014 evaluadas en campo .....	57
Foto 13. Aplicación dirigida a las zonas donde se encuentran disperso individuos libres y los que se encuentran contenidos en la jaula.....	58
Foto 14. Individuos colectados con redes entomológicas y depositadas en las jaulas .....	59
Foto 15. Langostas adultas muertas a los siete días después de la infección de la cepa HBb005 .....	66
Foto 16 Micelio característico de cepa de <i>B. bassiana</i> HBb005 .....	67
Foto 17 Micelio característico de la cepa de <i>M. anisopliae</i> HMa014. ....	67
Foto 18 Características de las dos cepas de HE inoculadas en sustrato de arroz.....	68
Foto 19 Individuos con características propias visibles de muerte por hongo entomopatógeno y bacterias saprofitas. ....	73
Foto 20 Individuo encontrando en campo después de la aplicación de la cepa HMa014 con gran cantidad de micelio en su cuerpo .....	74
Foto 21 Individuos encontrados en campo después de la aplicación de la cepa HBb005 con gran cantidad de micelio en su cuerpo .....	75
Foto 22 Individuo de <i>S. piceifrons</i> parasitado posiblemente por algún ácaro .....	84

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Histórico de superficie controlada de <i>S. piceifrons</i> en los últimos 5 años en el estado de Campeche .....	83
Gráfica 2. Porcentaje (%) de mortalidad en días, cuando utilizamos HBb005. ....	71
Gráfica 3. Porcentaje (%) de mortalidad en días, cuando utilizamos HMa014.....	72

## LISTA DE MAPAS

Mapa 1. Zonas gregarígenas del estado de Campeche, áreas de invasión y áreas naturales protegidas .....	85
Mapa 2. Zonas gregarígenas del estado de Campeche, áreas de invasión y áreas naturales protegidas .....	34

## 1. INTRODUCCIÓN

La langosta centroamericana *Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker 1870 es una de las plagas agrícolas más importantes en el sureste de la República Mexicana y es considerada plaga potencial para otros estados de la vertiente del Golfo de México y del Pacífico; la literatura reporta que tiene preferencia por hasta 400 especies vegetales (Trujillo, 1995). El hecho de estar en varios países y cruzar fronteras ha hecho que la Food and Agriculture Organization la defina como una “plaga transfronteriza” (FAO, 2011); es decir, una plaga que emigra o se propaga atravesando fronteras y causando grandes pérdidas y emergencias. Esto dificulta su control, puesto que se requiere de acuerdos internacionales de colaboración para aplicar medidas efectivas en contra de esta plaga.

En México, se reporta que los cultivos más afectados son: maíz, frijol, sorgo, arroz, soya, cacahuate, caña de azúcar, chile, tomate, cítricos, plátano, coco y algunas especies de pastizales, entre otros. Por ello es una amenaza muy seria para una gran cantidad de cultivos básicos (Barrientos, 2013).

La langosta *S. piceifrons piceifrons* ubica zonas o terrenos con condiciones ideales para su reproducción, lo que se conoce como “zonas gregarígenas”. Garza (2005) menciona que existen cinco zonas gregarígenas importantes en nuestro país, las cuales se encuentran en los estados de Yucatán, Veracruz, Oaxaca, Tamaulipas y Tabasco.

El estado de Campeche cuenta con tres zonas gregarígenas, las cuales se encuentran en Champotón, Carmen y Candelaria (mapa 1 anexo) y están en constante monitoreo por el Comité estatal de Sanidad Vegetal (CESAVECAM por sus siglas). En los últimos cinco años, esta plaga ha causado daños directos a la agricultura e indirectos a la ganadería y apicultura por lo que el CESAVECAM cuenta con registros de los cultivos afectados, entre los que se mencionan, maíz, pastizales forrajeros, palma de coco, palma de aceite, calabaza chihua, caña de azúcar, mango, plantaciones forestales de teca, papaya, chile habanero, vegetación silvestre (monte), sorgo, limón y sandía (Cuadro 1, anexo). En el año 2011 se controló una superficie total de 373 hectáreas (ha), en el 2012

fueron controladas 260 ha. En el año 2013 aumentó el control del acrídido a una superficie total de 530 ha, en el 2014 fueron 397 ha que se controlaron y en el 2015 se realizó el control químico de una superficie total de 942 ha (Gráfica 1 anexo) (Cesavecam, 2015).

El método actual para combatir brotes de langosta a nivel mundial es mediante la fumigación intensiva de productos químicos, donde fenilpirazoles como fipronil y organofosforados como malathión y parathión metílico son los más empleados (Wang *et al.*, 2014). El parathión metílico en polvo es utilizado desde 1984, con una dosis de 25 kilogramos por hectárea (kg/ha), la cual fue determinada por el INIFAP (Trujillo 1975). Sin embargo, su utilidad global ha sido ampliamente debatida por su gran impacto negativo en la salud humana, el medio ambiente y la diversidad biológica (Wang *et al.*, 2014).

La península de Yucatán se caracteriza por poseer una gran diversidad biológica, tanto en especies animales, como en vegetales y microorganismos, incluyendo especies endémicas o en peligro de extinción. Entre los organismos más importantes, por el papel que juegan en la ecología de los ecosistemas, los microorganismos presentan el más alto potencial. El grupo con mayor potencial de aprovechamiento son los hongos entomopatógenos (HE) que son utilizados como agentes de control biológico a nivel mundial; estos hongos son ampliamente reconocidos por su aprovechamiento como bioinsecticidas comerciales.

Los hongos entomopatógenos han sido ampliamente utilizados contra un amplio número de insectos plagas. La literatura reporta la evaluación de HE, principalmente de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* en contra de langosta centroamericana *S. piceifrons piceifrons* (Hernández-Velázquez *et al.*, 2003). Sin embargo, no se ha utilizado aun esta opción en forma extensiva como una medida de control.

En el presente proyecto, se presenta la evaluación en laboratorio de veinte cepas nativas de hongos entomopatógenos aisladas del estado de Campeche, como alternativa viable

de control de las poblaciones de *S. piceifrons piceifrons* en zonas gregarígenas del estado de Campeche.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 EL GÉNERO *SCHISTOCERCA* EN EL MUNDO

Se conocen alrededor de 5000 especies de langostas en todo el mundo. Algunas seleccionan su comida y otras son polípagas, tal es el caso del género *Schistocerca*, que puede llegar a devorar más de 400 especies vegetales (Perez Romagnoli, 2011). A nivel mundial, la lucha constante contra la langosta es principalmente en el continente Africano (Sudán, Arabia Saudita, Yemen, Mauritania, Nigeria y Mali), cuyas actividades de control son principalmente apoyadas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO). Las especies de langostas más importantes a nivel mundial por parte de la FAO son: langosta del desierto, langosta roja, langosta migratoria, langosta sudamericana, langosta centroamericana, langosta marroquí y langosta italiana (FAO, 2001, p.15,) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Especies de langosta a nivel mundial y su distribución. Fuente: A). Herrera, 1943, p.98-108. B) Parker y Connin, 1967, p.10. C). Mujica, 1975, p.3. D). Márquez, 1963, p.30-32. E). Barrientos, 2001, p.40. F). FAO, 2001, p.15.

Continente	Especies
Europa	<i>Dociostaurus maroccanus</i> (Thumberg)
	<i>Schistocerca gregaria</i> (Foskal)
	<i>Locusta danica</i> o <i>Locusta migratoria</i>
	<i>Calliptamus italicus</i> Linnaeus
África	<i>Dociostaurus maroccanus</i> (Thumberg)
	<i>Schistocerca gregaria</i> (Foskal)
	<i>Locusta danica</i> o <i>Locusta migratoria</i>
	<i>Locusta pardalina</i> Walker
América	<i>Nomadacris septemfasciata</i> Seville
	<i>Schistocerca paranensis</i> (Bürmeister)
	<i>Schistocerca piceifrons piceifrons</i> Walker
	<i>Melanoplus spretus</i> Uhler
	<i>Tropidacris rex</i>
	<i>Schistocerca americana americana</i> (Drury)
	<i>Melanoplus sanguinipes</i>
	<i>Melanoplus differentialis</i>
	<i>Melanoplus bivittatus</i>
	<i>Melanoplus femurrubrum</i>
<i>Disosterira longipennis</i>	
<i>Melanoplus rugglesi</i>	

	<i>Cammula pellucida</i>
	<i>Schistocerca vitticeps carinata</i> (Scudder)
	<i>Schistocerca vitticeps vitticeps</i> (Walker)
	<i>Schistocerca vitticeps lurindescens</i> (Walker)
	<i>Schistocerca camerata</i> (Scudder)
	<i>Schistocerca vaga vaga</i> (Scudder)
	<i>Schistocerca pallens</i> (Thumber)
	<i>Schistocerca obscura</i> (Fabricius)
	<i>Schistocerca shoshone</i> (Thomas)
	<i>Schistocerca insignis</i> (Herbar)
	<i>Schistocerca albolineata</i> (Thomas)
	<i>Schistocerca venusta</i> Scudder
	<i>Schistocerca nitens</i>
Asia	<i>Schistocerca gregaria</i> (Foskal)
	<i>Cyrtocanthacris suscinta</i> Liennaesus
	<i>Calliptamus italicus</i> Linnaeus

Estudios científicos sostienen que *S. gregaria* es el producto de una dispersión transatlántica hacia el este desde Norteamérica a África. Otros consideran que es más probable que los taxones del Nuevo Mundo son el producto de la dispersión hacia el oeste desde África (Dirsh 1974; Harvey 1981; Kevan 1989; Ritchie & Pedgley 1989; Amedegnato 1993; Rosenberg & Burt 1999; Song 2004). Un estudio reciente, presenta una filogenia de ADN mitocondrial de especies *Schistocerca* que apoya la monofilia de las especies del Nuevo Mundo (incluyendo la endémica *Halmenus Galápagos*) relativa de *S. gregaria*. En interpretación con los patrones observados de divergencia molecular, y en contraste con anteriores estudios morfológicos, el análisis indica un solo vuelo transatlántico desde África a América del Sur (figura 1), seguido por una extensa especiación y divergencia ecológica en el Nuevo Mundo (figura 2) (Lovejoy, 2005).

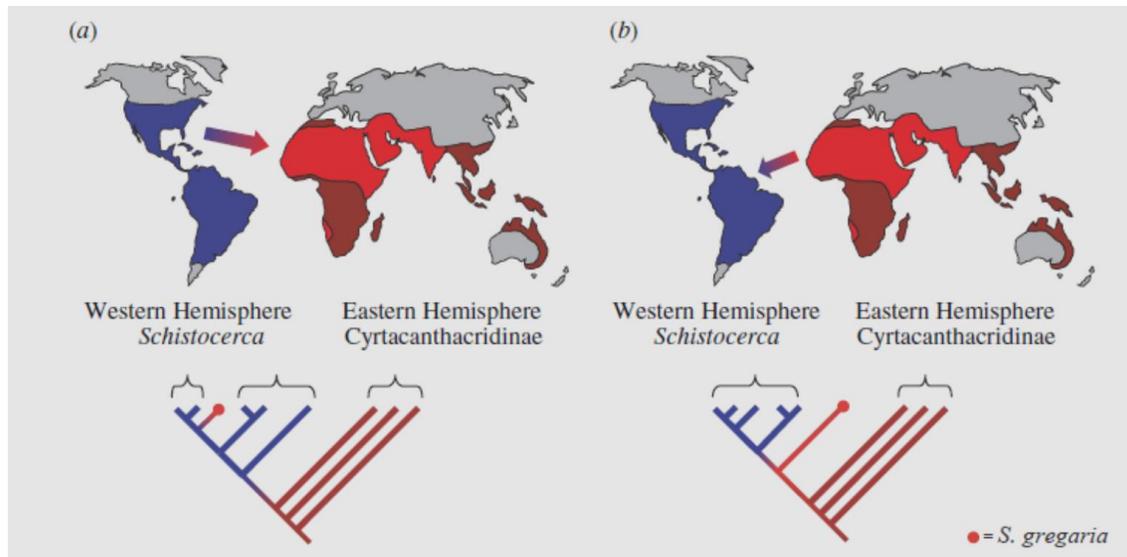


Figura 1. Dos hipótesis biogeográficas para explicar la distribución de las especies dentro del género *Schistocerca*. Muchas especies de *Schistocerca* se encuentran en el hemisferio occidental, pero sólo la langosta del desierto (*S. gregaria*) se encuentra en el hemisferio oriental. En el mapa del mundo, la distribución de la langosta del desierto se muestra en la luz roja y la distribución de las especies del Hemisferio Occidental de *Schistocerca* se muestra en azul. Las zonas de color rojo oscuro están ocupadas por especies de otros géneros dentro de la subfamilia Cyrtacanthacridinae. Los árboles filogenéticos muestran relaciones filogenéticas sobre la base de las hipótesis alternativas de (a) de oeste a este, o (b) de este a oeste cruces del Océano Atlántico (Lovejoy, 2005).

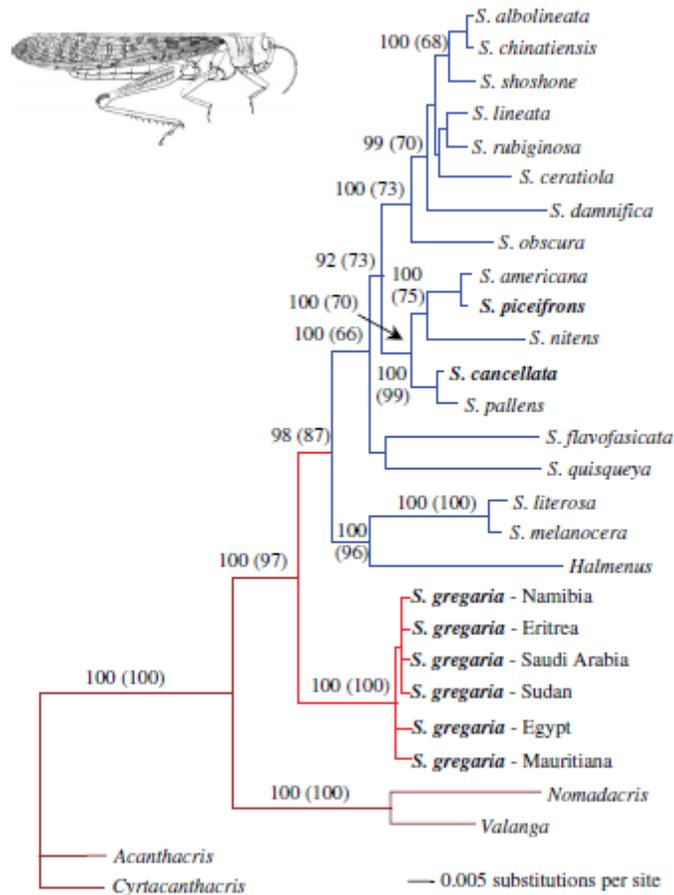


Figura 2. Árbol de máxima verosimilitud mostrando las relaciones entre las especies de *Schistocerca* del Hemisferio Occidental y la posición basal de *S. gregaria*, un patrón observado usando todos los métodos filogenéticos. El árbol está enraizado usando taxones de la subfamilia Cyrtacanthacridinae. Los colores reflejan las distribuciones de las especies como se muestra en la figura 1 (color rojo oscuro grupos externos, en color rojo claro *S. gregaria*, en color azul las especies del hemisferio occidental de *Schistocerca*). Los taxones con capacidad de formar mangas se indican en negrita. Imagen de *S. gregaria* de Dirsh (1965).

En el continente americano, además de la presencia de la langosta centroamericana *Schistocerca piceifrons piceifrons* (Walker 1870), que es la especie que más daños ocasiona en nuestro país y Centro América, se puede encontrar presencia de otras especies con las que generalmente se encuentra asociada: *Schistocerca pallens* Thunberg, *Schistocerca cancellata* y *Schistocerca nitens* Thunberg (Barrientos, 2003, p.34).

## 2.2 PRINCIPALES CULTIVOS AFECTADOS POR EL GÉNERO *SCHISTOCERCA* EN EL MUNDO

Dentro de este género, las especies “*Schistocerca piceifrons*”, “*Schistocerca gregaria*”, “*Schistocerca cancellata*” son un problema para la agricultura debido a que son capaces de devastar superficies totales de diversos cultivos como maíz, frijol, sorgo, arroz, soya, cacahuate, caña de azúcar, chile, tomate, cítricos, plátano, coco y algunas especies de pastizales, entre otros a nivel mundial (Galindo *et al.*, 2015). Son especies polífagas que en altas densidades pueden afectar negativamente la productividad y rendimiento de un cultivo. Se calcula que una manga (grupo poblacional) grande, con una densidad de 80 millones de individuos por km<sup>2</sup>, puede consumir unas 100 toneladas de alimento verde por día. Una langosta de 2 g de peso consume diariamente entre el 70 y el 100% de su peso en material fresco (Astacio, 1987). Por ello estos insectos son una amenaza muy seria para una gran cantidad de cultivos.

### 2.2.1 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA PLAGA EN MÉXICO.

La langosta centroamericana, *S. piceifrons piceifrons* Walker 1870, es una de las principales plagas agrícolas de importancia económica presente en nuestro país y bajo control oficial por parte de la Dirección general de sanidad vegetal del país (DGSV), que puede afectar gravemente 4.9 millones de hectáreas establecidas, distribuidas en nueve entidades federativas, lo que representa más del 20% del total de la superficie sembrada a nivel nacional con un volumen de producción de 46 millones de toneladas anuales, y un valor de la producción de \$64,563 millones de pesos (SIAP, 2013) (cuadro 3).

Cuadro 3. Superficie, producción y valor de la producción de cultivos que forman parte de la dieta de *S. piceifrons piceifrons* en México. SIAP 2013. La suma incluye los nueve estados con presencia de la Langosta Centroamericana, *Schistocerca piceifrons piceifrons* (Walker) (1.Campeche, 2.Chiapas, 3.Hidalgo, 4.Quintana Roo, 5.San Luis Potosí, 6.Tabasco, 7.Tamaulipas, 8.Yucatán, y 9.Veracruz). \*Hectáreas, \*\*Toneladas, \*\*\* Miles de pesos.

Estados	Cultivo	Superficie sembrada*	Producción**	Valor de producción***
1,2,3,4,5,6,7,8 y 9	Maíz grano	2,349,598.66	4,457,694.21	17,602,289.17
3,5,8 y9	Maíz forrajero	11,971.50	229,162.70	101,327.77
1	Maíz grano semilla	14	140,743.20	122.5
7	Maíz palomero	139	427.6	3,308.20
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9	Sorgo grano	1,009,729.71	2,152,900.72	6,732,747.23
7 y 8	Sorgo escobero	16	12	129
2, 5, 7, 8 y 9	Sorgo forrajero verde	5728.52	50,616.04	39,779.57
1, 2, 4, 5, 6, 7 y 8	Caña de azúcar	517,492.55	30,666,405.73	18,687,982.97
2, 3, 5, 8 y 9	Caña de azúcar otro uso	12590.5	337049.39	126050.11
4 y 5	Caña de azúcar semilla	2100	139507.3	82774.24
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ,8 y 9	Frijol	273,239.43	134,952.97	1,736,578.08
1, 6 y 9	Frijol X pelón	384.46	1,033.13	4,783.52
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9	Naranja	267,818.45	3,238,441.02	4,622,202.49
1, 2, 4, 5, 7, 8 y 9	Soya	164,867.42	201,818.84	1,262,644.23
1, 2, 3, 4, 5, , 7, 8 y 9	Limón	59780.3	798,579.25	2,091,535.62
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 y 9	Plátano	50623.26	1544454.21	4,655,655.13
1, 2, 6, 7 y 8	Arroz palay	21,060.00	67,053.80	234,818.36
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9	Chile verde	37,018.06	391,778.60	2,443,826.29
1, 2, 6 y 8	Palma de aceite	54,429.33	507,010.54	850,622.76
1, 2, 4, 5, 7, 8 y 9	Mandarina	15973.23	199060.21	221998.97
8	Tangerina	11,617.75	152,226.48	288,858.24
1, 2, 5, 7, 8 y 9	Cacahuete	11467.19	19083.17	218,035.33
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9	Jitomate	8909.28	301,402.78	1,842,685.26
4, 5, 7, 8 y 9	Agave	12948.56	488	369.76
1, 5, 6, 7, 8 y 9	Toronja (pomelo)	10161.77	289,939.10	460,615.12
2, 7 y 8	Ajonjolí	9,440.25	4,862.50	74,319.51
4, 8 y 9	Coco	2185	24,835.89	88,936.10
4, 8 y 9	Lima	2185	24,835.89	88,936.10
Total cultivo de hospederos	28	4,923,489.18	46,076,375.27	64,563,931.63

### 2.3 DISTRIBUCION EN EL TERRITORIO NACIONAL DE *S. piceifrons piceifrons*

Desde el punto de vista histórico, la primera plaga de la que se tiene noticia en México se refiere a la langosta. Al respecto se tienen noticias de los siglos XVI y XVII sobre la forma en que esta plaga afectaba particularmente al actual estado de Yucatán. Por ejemplo, existen estudios del año de 1536, época en que la población padeció hambruna por esta plaga. Debido al problema que representaba la langosta, el monarca español “Felipe II”, en el año de 1593 en las Cortes de Madrid, promulgó las “*Ordenanzas de Castilla referentes a la forma de combatir a la langosta*” (Márquez, 1963). En el año de 1824, se declaró a la langosta como plaga nacional y a partir de este año se establecieron disposiciones para combatirla de manera continua y gratuita (Galindo *et al.*, 2015).

La langosta centroamericana *S. piceifrons piceifrons* encuentra zonas o terrenos con condiciones ideales para su reproducción, lo que se conoce como “zonas gregarígenas”. Estas zonas presentan una temperatura promedio de 27°C, con una precipitación pluvial promedio menor de 1,000 mm anuales, los terrenos están descubiertos o está presente sólo una poca cobertura vegetal. Y son cercanos a las zonas cultivadas (Garza, 2005). Además, las áreas de infestación llegan como máximo hasta el Trópico de Cáncer (23° 27') y a una altura no superior de los 2000 m.s.n.m (Barrientos, 2003). Anteriormente, sólo consideraban cuatro zonas gregarígenas en nuestro país, siendo éstas las primeras cuatro de la lista al calce. Sin embargo, Garza (2005) hace mención de una quinta zona gregarígena, siendo ésta Tabasco (Figura 3).

**a) Yucatán.** Se encuentra dentro de la zona henequenera de los estados de Yucatán y Campeche, es la más importante y de ella han provenido las mangas que han causado mayores daños en los cultivos agrícolas.

**b) Veracruz.** Se ubica en los municipios de Medellín, Boca del Río, Alvarado, Tlalixcoyan y Tierra Blanca; esta zona es la segunda en importancia y ha ocasionado invasiones graves en el mismo Estado.

**c) Chahuities - Tepanatepec.** Se encuentra en los límites de Oaxaca y Chiapas, dentro del triángulo geográfico formado por los poblados de Salina Cruz, Chahuities y

Tepanatepec; aquí se ha gregarizado este organismo causando invasiones en el Istmo de Tehuantepec y otros lugares del estado de Oaxaca.

**d) San Luis - Tamaulipas.** Se encuentra en los límites de los Estados de San Luis Potosí y Tamaulipas, en los Valles de la Sierra Nahola; es considerada la zona más pequeña de las cuatro; sin embargo, actualmente ha dado lugar a las invasiones que se presentan en las Huastecas Potosina, Tamaulipeca y Veracruzana.

**e) Tabasco.** Se encuentra en los municipios de Balancán, Emiliano Zapata y Tenosique, en los márgenes del río Usumacinta en la frontera con Guatemala, mucho tiempo estuvo inactiva hasta que las condiciones ambientales resultaron propicias para su desarrollo.

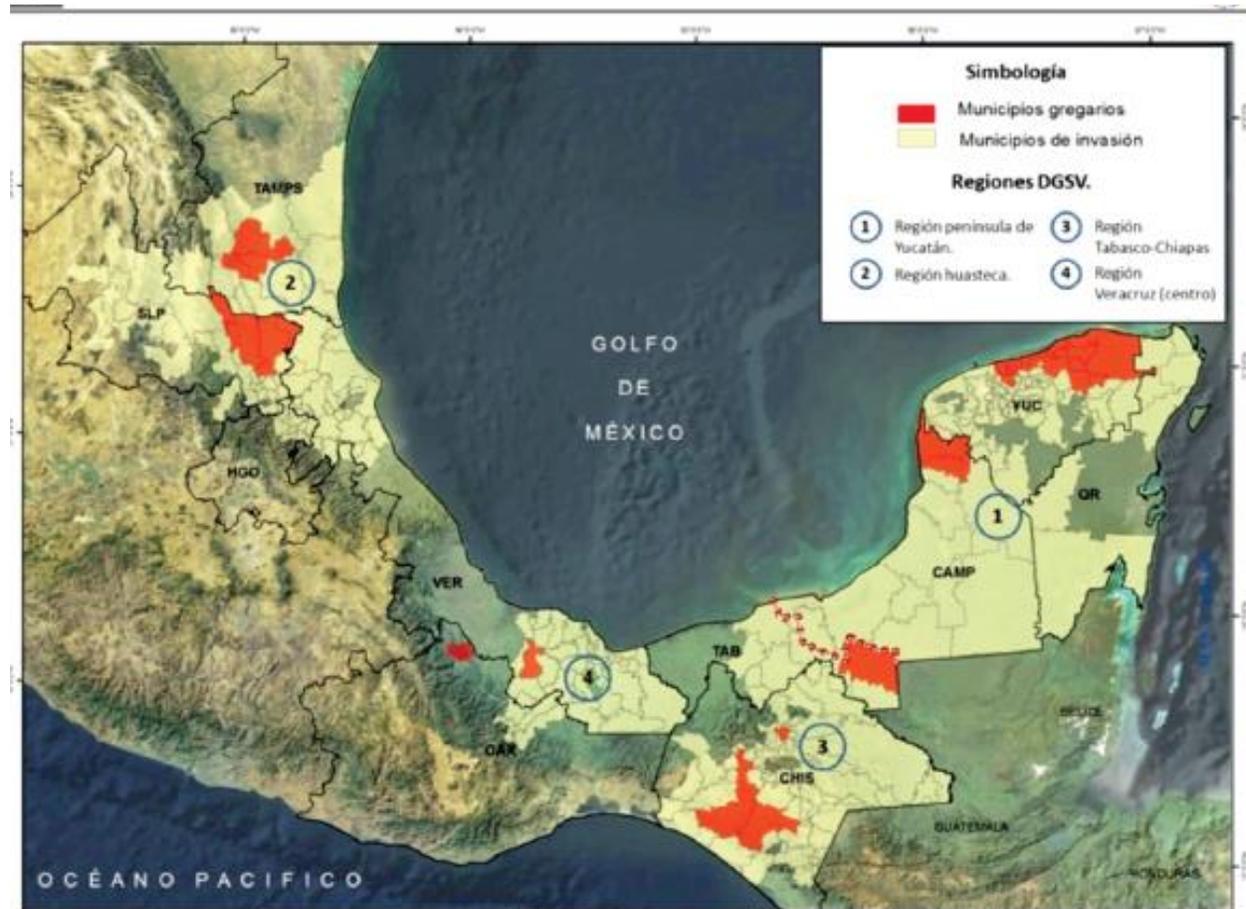


Figura 3. Zonas gregarígenas y de invasión en México de *Schistocerca piceifrons piceifrons* marcando zonas de sitios de gregarización (color rojo) y sitios de invasión (color amarillo). (Galindo *et al.*, 2015)

Según el servicio de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria (SENASICA por sus siglas), en México esta plaga se encuentra en los Estados de Campeche, Chiapas, Hidalgo, Quintana Roo, San Luis Potosí, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán.

## 2.4. MÉTODOS DE CONTROL USADOS CONTRA LA LANGOSTA

Para un adecuado control de la plaga es indispensable que se lleven actividades de exploración y muestreo, así como también determinar el umbral económico de la plaga y tener antecedentes de daños ocasionados en un sitio específico; estas acciones nos dan una perspectiva de la situación actual de la plaga en un sitio geográfico y una superficie determinada. Si no se realizan acciones de control de la langosta, las pérdidas en cultivos pueden llegar hasta un 100%. Existen diferentes tipos de control para el género *Schistocerca*, donde el control químico sigue siendo el método más rápido y efectivo, pero también el más dañino para la fauna benéfica, medio ambiente y personal aplicador. En contraste, en el control biológico se utilizan organismos vivos para contrarrestar el incremento de la población, lo cual lo hace un control preventivo en zonas gregarígenas donde cumplen su ciclo biológico las langostas.

### 2.4.1 CONTROL QUÍMICO

El método actual para combatir brotes de langosta a nivel mundial es mediante la aplicación intensiva de productos químicos, donde fenilpirazoles como fipronil y organofosforados como malathión y parathión metílico son los más empleados (*Wang et al., 2014*). En México que usa el parathión metílico en polvo desde 1984, con una dosis de 25 kilogramos por hectárea (kg/ha), la cual fue determinada por el INIFAP (Trujillo 1975). Sin embargo, su utilidad global ha sido ampliamente debatida por su gran impacto negativo en la salud humana, el medio ambiente y la diversidad biológica (*Wang et al., 2014*). Para el control químico de *S. piceifrons piceifrons*, tanto bandos como mangas, se recomienda iniciar en el periodo ninfal como lucha preventiva; sin embargo, las langostas permanecen en ese estado sólo unas cuantas semanas y no todas pueden ser destruidas, por lo que hay que realizar control de todos los estados biológicos. Para el combate de esta plaga, se utilizan exclusivamente los plaguicidas especificados en el

Manual Operativo de la Campaña contra la Langosta Centroamericana, *S. piceifrons piceifrons* (Walker 1870), (Cuadro 4).

Cuadro 4. Productos químicos utilizados para el control de *S. piceifrons piceifrons* en México. Fuente: SENASICA, 2008. Manual operativo contra la Langosta pp. 17 y 18.

Producto	Tolerancia
Malatión	Producto prácticamente inocuo para mamíferos y aves.
Cipermetrina	Este producto es tóxico para abejas, peces y otras formas de vida acuática
Fipronil	Actúa por contacto y por ingesta. La efectividad del fipronil es muy alta; sin embargo, puede provocar la muerte de abejas
Zeta- cipermetrina	Registrado para langosta
Fenitrothión	Producto poco tóxico para los mamíferos y se ha mostrado muy efectivo para adultos y saltones
Paratión metílico en polvo	Producto tóxico para mamíferos y aves, muy efectivo para saltones y adultos.

### 2.3.2. CONTROL BIOLÓGICO

En la actualidad se ha encontrado una gran cantidad de organismos con potencial microbiano contra diversas especies de insectos plaga en diversos sectores, dentro de estos se han reportado más 2,000 microorganismos naturales con potencial para formar parte de un programa de control biológico. Entre los agentes entomopatógenos se encuentran por lo menos 100 especies de bacterias, 100 de virus, 300 de protozoarios y 750 especies de hongos (Monzón, 2001).

Los diferentes métodos de control biológico constituyen un componente sustentable y ambientalmente seguro del moderno manejo de plagas; son una alternativa deseable, que se ha ido incrementando en consecuencia de la dependencia exclusiva de los plaguicidas químicos (Waage, 1991).

Existe una gran variedad de organismos que utilizan los chapulines y langostas como alimento o que los parasitan, por lo que pueden ser utilizados como control biológico como se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Organismos que pueden ser utilizados para el control biológico de chapulín y langostas. (Huerta *et al.*, 2014).

Grupo Taxonómico	Organismo
<b>Depredadores vertebrados</b>	Arañas de los géneros <i>Neoscona</i> , <i>Araneus</i> , Aves de los géneros <i>Toxostomas</i> y <i>Mimus</i> Moscón del género <i>Efferian</i> , mamíferos como ratones, ardillas, musarañas, coyotes, zorras y zorrillos
<b>Nemátodos</b>	Familias <i>Allantonenematidae</i> , <i>Gordiaceae</i> , <i>Parasitylenchidae</i> , <i>Phaenopsitylenchidae</i> , <i>Tetradonematidae</i> , <i>Mermithidae</i> , <i>Iotonchiidae</i> , <i>Allantonematidae</i> , <i>Sphaerulariidae</i> , <i>Steinernematidae</i> y <i>Heterorhabditidae</i>
<b>Protozoarios</b>	<i>Nosema</i>
<b>Virus</b>	Entomopoxvirus, Polihedrosis nuclear (VPN), Baculoviridae, Reoviridae y Poxvirida.
<b>Plantas entomópatogenas</b>	<i>Proboscidea</i>
<b>Bacterias entomópatogenas</b>	<i>Coccobacillus</i> , <i>Bacillus</i>
<b>Hongos entomópatogenos</b>	<i>Beauveria</i> , <i>Metarhizium</i> , <i>Entomocela</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Hirsutella</i>

La literatura reporta que los grupos taxonómicos más utilizados como controladores biológicos de chapulines, saltamontes y langostas son los protozoarios, nematodos y hongos entomopatógenos los cuales se describen a continuación.

#### a) Protozoarios.

El protozario *Nosema locustae* se encuentra dentro de los organismos patógenos capaces de combatir poblaciones altas de chapulines y langostas. Se encuentra registrado en Estados Unidos como agente para el control de chapulín desde 1980 (Tanada & Kaya, 1992), pero recientemente muchas investigaciones se han centrado en el uso de microsporidios (figura 4) como agentes de control biológico de algunos insectos plagas económicamente importantes (Kermani et al., 2014).



Figura 4. Producto comercial formulado con base en *Nosema locustae* (izquierda). *Schistocerca* infectado por *N. locustae* (arriba derecha). Morfología de una espora de microsporidios (inferior derecha).

*Nosema locustae* debe ser ingerido por el insecto para ser eficaz. La infección por *N. locustae* causa debilitamiento del insecto más que una muerte instantánea, además reduce la fertilidad del espermatozoide y la fecundidad del mismo, generalmente puede infectar a otros huéspedes mediante las heces fecales y exuvias que aun contengan esporas una vez muerto el insecto; las esporas se extienden de célula a célula en el intestino medio, tubos de Malpighi, tejidos reproductivos y otros tejidos dentro del cuerpo (Solter y Becnel, 2000). Las esporas también pueden ser liberadas cuando un huésped infectado muere.

### **b) Nematodos**

Los nematodos contemplan un grupo del cual se ha comenzado a trabajar en México, con altas posibilidades de producción y comercialización. Por naturaleza, son agentes con alta capacidad para buscar a su presa, pero al mismo tiempo son poco específicos y no logran distinguir a un insecto “blanco”. De nematodos entomopatógenos se conocen

más de 30 familias relacionadas con insectos, de las cuales solo nueve presentan potencial para el control biológico: Allantonematidae, Gordiacea, Parasytlenchidae, Phaenopsitylenchidae, Tetradonematidae, Mermithidae, Itonchiidae, Allantonematidae, Sphaerulariidae, *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae* (Dillman & Sternberg, 2012). Los nemátodos de las familias Mermithidae y Gordiacea son parásitos de los chapulines. Dentro de los mermítidos, las especies, *Agamospirura melanopis*, *Agamermis decaudata*, *Hexamermis spp.* Y *Mermis nigrescens*, han sido recolectados de chapulines (Kermani et al., 2014). Estos nematodos necesitan de dos a cuatro años para el desarrollo de cada generación, en los periodos de lluvias las hembras salen del suelo y ovipositan sobre la vegetación, los chapulines consumen la flora contaminada con los huevecillos y dentro de su tubo digestivo eclosionan los nemátodos, estos permanecen en los chapulines alrededor de cuatro a diez semanas, y al madurar la larva sale del acrídido matándolo y cae al suelo para su hibernación (Figura 5).



Figura 5. Los nematodos de saltamontes juveniles maduros, *Mermis nigrescens* Dujardin, que han dejado el cuerpo de un saltamontes. Fotografía de John Capinera, Universidad de Florida.

### c) Hongos entomopatógenos (HE)

Los hongos entomopatógenos poseen un gran potencial para ser empleados como biocontroladores de plagas debido a que presentan altas ventajas siendo la principal la

forma de infección ya que son los únicos microorganismos que pueden atravesar la cutícula del insecto y no es necesario que el chapulín se alimente de ellos, además no afectan al humano y al medio ambiente y son fáciles de producir con sustratos económicos por lo que su aplicación es la más utilizada hoy en día para el control biológico de estos insectos que, cada año, producen importantes pérdidas en el país (Mota-Delgado & Murcia-Ordoñez, 2011).

Los hongos entomopatógenos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y pueden ser factores para la limitación poblacional de varias especies de insectos; en la actualidad se conocen más de 750 hongos entomopatógenos, de los cuales se han registrado para uso comercial los siguientes géneros: *Beauveria*, *Metarrhizium*, *Entomocela*, *Verticillium*, *Paecilomyces* e *Hirsutella*, siendo el primero el más estudiado (Humber, 2009; Moazami, 2010). Dentro de los hongos entomopatógenos frecuentemente asociados al control de chapulín se encuentran las especies: *Beauveria bassiana* (Figura 6), *Metarrhizium anisopliae* y *Entomophaga grylli*. Tamez.



Figura 6. Chapulín infectado por el HE *Beauveria bassiana*, observando crecimiento del micelio.

## 2.5. TAXONOMÍA E IDENTIFICACIÓN DE LA LANGOSTA CENTROAMERICANA *Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker 1870

La clasificación citada por Barrientos (1992) es la siguiente:

### 2.5.1. IDENTIDAD

**Nombre:** *Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker 1870

**Sinonimia:**

*Schistocerca americana americana* (Astacio, 1981)

*Schistocerca vicaria* (Astacio, 1981)

**POSICIÓN TAXONÓMICA:**

**Phylum:** Arthropoda (Astacio, 1981, 1987)

**Clase:** Hexapoda (Insecta)

**Subclase:** Pterigota

**Orden:** Orthoptera

**Suborden:** Cailífera

**Superfamilia:** Acrididae

**Familia:** Acrididae

**Subfamilia:** Cyrtacanthacridinae

**Género:** *Schistocerca*

**Especie:** *Sch. piceifrons*

**Subespecie:** *Sch. Piceifrons piceifrons*

**Nombre común:**

Langosta centroamericana (español)

Central american locust (inglés)

**Código Bayer o EPPO:** SHICPI

**Categoría reglamentaria:** Plaga no cuarentenaria reglamentada

**Situación en México:** Plaga de importancia económica, presente, bajo control oficial.

### 2.5.2. MORFOLOGÍA.

La langosta centroamericana es un insecto hemimetábolo, es decir, presenta una metamorfosis sencilla en donde Galindo 2013 describe cada uno de los estados en los siguientes párrafos.

- a) Huevos:** Son en forma de grano de arroz, con una longitud de 5-8 mm y un diámetro de 1.5 a 2 mm. Recién puestos son de color amarillo, pero este color oscurece con la edad hasta ponerse de un tono pardo claro al momento de la eclosión. Son depositados en falsas ootecas cilíndricas, en un número que varía de 80 a 150 con una media de 90, mismas que son colocadas en posición vertical terminando en un tapón esponjoso que se endurece con el aire (figura 7). Esta sustancia espumosa protege a los huevos y permite al mismo tiempo su respiración.



Figura 7. Derecha) Hembra grávida de coloración amarilla. Izquierda) Falsas ootecas de hembras obtenidas de su abdomen.

- b) Ninfas:** Son semejantes a los adultos en apariencia a excepción que carecen de alas y tegminas por lo que no pueden volar sino que se desplazan mediante saltos. Presentan de 5 a 6 estadios ninfales; en el primer estadio ninfal miden entre 6 – 7 mm y presenta 17 segmentos antenales. En el segundo aparecen los paquetes alares, que miden entre 10 – 14 mm y presenta 20 segmentos antenales. Las ninfas de tercer estadio miden 16 -18 mm, presentan 22 segmentos antenales y

los paquetes alares toman forma triangular, las ninfa de cuarto estadio miden de 20 – 24 mm, se empieza a observar la venación en las alas y las antenas presentan 24 segmentos. Las ninfas de quinto estadio miden de 27 – 30 mm, presenta 26 segmentos antenales y la orientación de los paquetes alares cambia de posición ventral a una posición posterior; las ninfas de sexto estadio miden de 35 – 45 mm y presentan 28 segmentos antenales. La coloración de los saltones varía de verde claro en su fase solitaria a amarillo en las fases intermedias (Transciens congregans y Transciens disgregan) (Figura 8).



Figura 8. Tipos de fase de las ninfas. a) Coloración verde solitaria. b) Coloración amarilla c). Coloración rosada con maculaturas negras.

**c) Adultos:** Presentan metamorfosis paurometábola; es decir, los inmaduros se parecen en forma básica a los adultos, excepto por su tamaño y por sus órganos sexuales que no están bien desarrollados. Especie bivoltina, es decir, con dos generaciones anuales. Los adultos miden aproximadamente 65 mm de longitud y pesan alrededor de 2 g (figura 9). En la fase solitaria la hembra es más grande que el macho, pero disminuye este dimorfismo sexual a medida que van hacia la fase gregaria. Los ojos compuestos son estriados bien visibles en la fase solitaria; y no se perciben en la forma gregaria, tanto en las ninfas como en el adulto, por ser totalmente negros. Presenta una franja sub-ocular de color café oscuro y de forma triangular bien marcada cubriendo parte de la gena, tanto en los adultos como en las ninfas. Presenta una franja blanca desde el occipucio recorriendo el pronoto, prolongándose hasta el extremo del élitro, en adultos el tubérculo prosternal es vertical y pubescente en la fase solitaria, los saltones son verdes y en la gregaria de color rosado con una gran cantidad de manchas negras.

Presenta una línea negra sobre el borde de la carina superior externa del fémur posterior. La ranura de la placa subgenital masculina es en forma de una “V” y es diferente de la de otras especies. Los élitros presentan manchas bien definidas. Durante la época de reproducción, los individuos gregarios adquieren un color amarillo brillante. Los adultos solitarios se caracterizan por poseer una alta cresta sobre el pronoto, en tanto que en la fase gregaria no hay cresta (Barrientos, 2003).



Figura 9. Adulto inmaduro de *S. piceifrons piceifrons*

## 2.6 BIOLOGÍA Y DAÑOS

La langosta presenta dos generaciones al año: la primera generación llega a durar de 60 a 80 días y es la que causa más daños a los cultivos, la segunda generación llega a durar de 155 a 180 días debido a que los adultos entran en un periodo de diapausa imaginal (figura 10). Dentro de la familia Acrididae, el género *Schistocerca* es la única que presenta polimorfismo fásico, es decir la langosta pasa de la fase solitaria a la fase gregaria, caracterizada por los cambios en coloración al pasar hacia la fase gregaria.

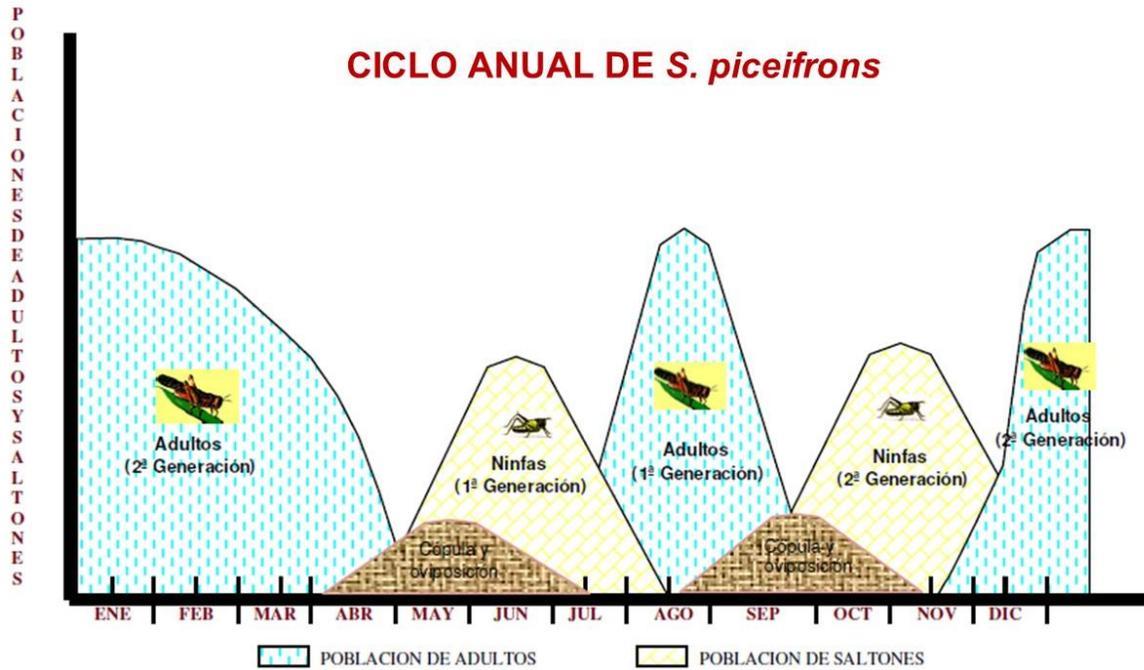


Figura 10. Dos generaciones de *S. piceifrons piceifrons* que se presentan al año.

por lo que una manga de 3'000,000 de langostas llega a consumir hasta 30 toneladas de vegetación (SENASICA, 2012). A lo anterior hay que adicionar el hecho de que las mangas logran desplazarse grandes distancias con velocidades de hasta 20 km/h, por lo que pueden acabar con grandes extensiones de especies vegetales en solo un día (Lomer, 2001). Las características anteriormente señaladas son adquiridas cuando la langosta pasa de la fase solitaria a la fase gregaria, dependiendo de las condiciones del medio donde habitan.

## 2.7. LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS COMO ALTERNATIVA DE CONTROL DE LA LANGOSTA CENTROAMERICANA *S. piceifrons piceifrons*.

El control de langostas y saltamontes se ha basado tradicionalmente en insecticidas sintéticos. En la actualidad existe una creciente conciencia de los problemas ambientales asociados con el control acrídido que están dando lugar a una mayor demanda de

métodos biológicos (Lomer *et al.*, 2001). Una alternativa eficaz para reducir el incremento de poblaciones de acrididos es el uso de hongos entomopatógenos (HE).

El término entomopatógeno define a los grupos de organismos (bacterias, hongos, protozoarios, nematodos y virus) que son capaces de infectar insectos y producirles alguna enfermedad. Los entomopatógenos han sido utilizados en el manejo integrado de plagas para reducir las poblaciones de insectos plaga a niveles que no provoquen un daño económico a los cultivos (Tanzini *et al.*, 2001; Scholte *et al.*, 2004).

Los hongos constituyen uno de los mayores grupos de seres vivos. Se han descrito unas 80,000 especies pero se estima que el número real debe aproximarse al millón y medio de especies, ya que existen muchas especies crípticas que no presentan diferencias morfológicas notables aunque son genéticamente diferentes (Sánchez-Pena 1990; Lacey *et al.* 1996; Chandler *et al.* 1997; Sánchez-Pena 2000). Son microorganismos eucariontes, no tienen clorofila, pueden ser unicelulares o pluricelulares; son filamentosos y con pared celular que contienen quitina y/o celulosa. Se reproducen sexual o asexualmente. La reproducción asexual es la más frecuente, involucrando la formación de esporas microscópicas de paredes delgadas llamadas conidias; éstas se desarrollan en los conidióforos, los cuales son hifas modificadas (figura 11).

## ESTRUCTURAS MICROSCÓPICAS DE UN HONGO FILAMENTOSO

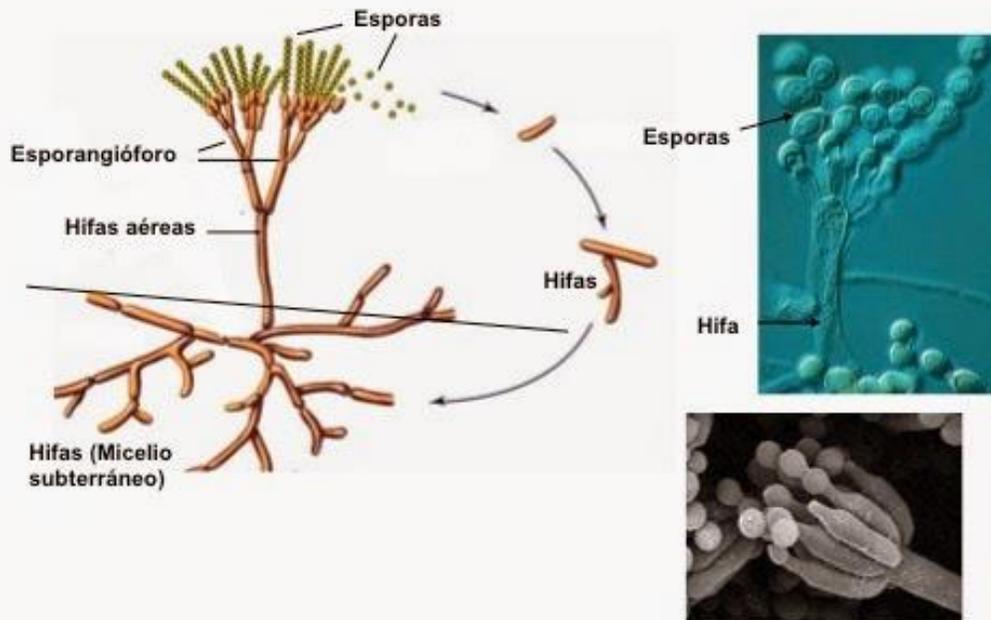


Figura 11. Esporas y cuerpos fructíferos de los principales grupos de hongos. Imagen obtenida de <http://levadurasbac.blogspot.mx/2014/06/estructura-microscopica-de-un-hongo.html>

El ciclo de vida de un hongo se divide en dos fases: la fase vegetativa, constituida por el crecimiento del micelio y el cual es el más conveniente para un desarrollo rápido y colonización del ambiente, aunque es una fase muy vulnerable (Bartnicki-García, 1984). La segunda fase es la reproductiva, sexual o asexual y donde se da el desarrollo de estructuras de resistencia y/o dispersión.

Se conocen aproximadamente 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos **HE** (Monzon, 2001). Entre los géneros más importantes como opciones de control están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium* (Cuadro 6). (Monzon, 2001; Asaff *et al.*, 2002; Pucheta *et al.*, 2006).

A nivel mundial, las dos especies más utilizadas y estudiadas de hongos entomopatógenos son *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, debido a su amplio espectro de hospederos y facilidad de multiplicación (facultativos).

Cuadro 6. Principales hongos entomopatógenos. (Tanada y Kaya, 1993)

Subdivisión	Orden	Género
Mastigomycotina	Chytridiales Blastocladales Lagenidiales Saprolegniales	<i>Coelomycidium</i> , <i>Myiophagus</i> , <i>Coelomomyces</i> , <i>Lagenidium</i> , <i>Leptolegnia</i> y <i>Couchia</i>
Zygomycotina	Mucorales Entomophthorales	<i>Sporodiniella</i> , <i>Conidiobolus</i> , <i>Entomophaga</i> , <i>Entomophthora</i> , <i>Erynia</i> , <i>Massospora</i> , <i>Meristacrum</i> y <i>Neozygites</i>
Ascomycotina	Endomycetales Plectomycetes Ascospaerales	<i>Blastodendrion</i> , <i>Metschnikowia</i> , <i>Mycoderma</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Ascospaera</i> , <i>Cordyceps</i> y <i>Torrubiella</i>
	Sphaeriales Laboulbeniales Myriangiales Pleosporales	<i>Nectria</i> , <i>Hypocrella</i> , <i>Calonectria</i> , <i>Filariomyces</i> <i>Hesperomyces</i> , <i>Trenomycetes</i> , <i>Myriangium</i> y <i>Podonectria</i>
Deuteromycotina		<i>Akanthomyces</i>
		<i>Aschersonia</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Beauveria</i> , <i>Culicinomyces</i> , <i>Engyodontium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Gibellula</i> , <i>Hirsutella</i> , <i>Hymenostilbe</i> , <i>Metarhizium</i> , <i>Nomuraea</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Paraisaria</i> , <i>Pleurodesmospora</i> , <i>Polycephalomuces</i> , <i>Pseudogibellula</i> , <i>Sorospora</i> , <i>Sporothrix</i> , <i>Stilbella</i> y <i>Tetranacrium</i> , <i>Tilachlidium</i> , <i>Tolypocladium</i> , <i>Verticillium</i>
Mycelia sterilia		<i>Aegerita</i>
Basidiomycotina	Septobasidiales	<i>Filobasidiella</i> <i>Septobasidium</i> <i>Uredinella</i>

### 2.7.1. MODO DE ACCIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Los hongos entomopatógenos inician su proceso infectivo en los insectos hospederos cuando las esporas viables son retenidas por contacto en la superficie del integumento, mientras encuentran un espacio propicio para establecer la asociación patógeno-hospedero e iniciar la formación del tubo germinativo. Es entonces cuando el hongo inicia

la excreción de enzimas hidrolíticas que van degradando la cutícula y proporcionando nutrimentos al hongo (St. Leger *et al.*, 1986). Estas enzimas además de degradar la cutícula del insecto, coadyuvan con el proceso de penetración por presión mecánica iniciado por el apresorio (López-Llorca y Claugher, 1990). El tubo germinativo rastrea y reconoce la superficie del insecto para la localización de sitios receptores, habilitando a la hifa para la penetración de la cutícula (Riquelme *et al.*, 1998). El apresorio, además de servir de anclaje de la espora, ejerce una presión hacia el interior del insecto (Pucheta-Díaz, 2006). Una vez dentro, el hongo desarrolla cuerpos hifales, los cuales se van diseminando a través del hemocele e invaden diversos tejidos musculares, cuerpos grasos, tubos de Malpighi y hemocitos, ocasionando la muerte del insecto, y una vez agotados muchos de los nutrimentos, el hongo inicia un crecimiento micelial e invade todos los órganos del hospedero. Finalmente las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie, donde en condiciones ambientales apropiadas inician la formación de nuevas esporas (Figura 12), (Hajek y St. Leger, 1994; Pucheta-Díaz *et al.*, 2006).

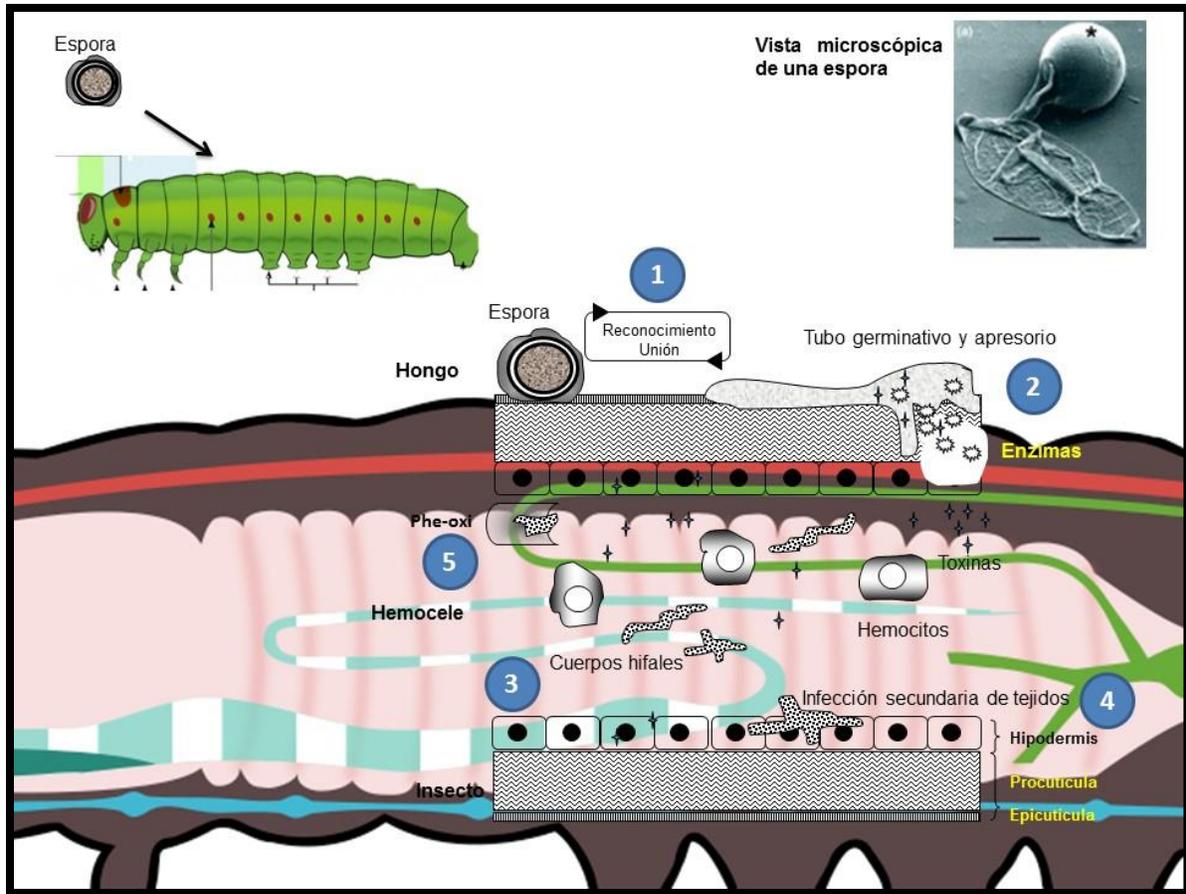


Figura 12. Proceso de infección de un HE. Se describe las etapas de infección donde 1) Reconocimiento. La espora llega al hospedero y se da un intercambio de señales para reconocer y unirse al hospedero; 2) Germinación. El reconocimiento es positivo y se da paso a la germinación y generación del tubo germinativo que culmina con la formación del apesorio, en este último se da la inducción y expresión de enzimas, toxinas, elicitors, supresores de respuesta del insecto, antibióticos, etc.; 3) Generación de cuerpos hifales. Una vez vencida la primera barrera se generan al hemocele del insecto toxinas y cuerpos hifales que dan origen a la infección secundaria y muerte del hospedero; 4) Infección secundaria. La infección llega a todos los tejidos susceptibles del insecto; 5) Respuesta de la infección. Como respuesta a la infección a través de la inducción de profenol-oxidasas (Phe-oxi) que darán origen a la melanización de los cuerpos hifales (respuesta débil del insecto). (Lara, 2005).

### 2.7.2. ADHESIÓN Y GERMINACIÓN DE LA ESPORA EN LA CUTÍCULA DEL INSECTO

El primer contacto entre el hongo entomopatógeno y el insecto sucede cuando la espora del primero toma contacto con la superficie de este último. El proceso de adhesión ocurre en tres etapas sucesivas: adsorción de la espora a la superficie mediante el reconocimiento de receptores específicos de naturaleza glicoproteica en el insecto, la

adhesión o consolidación de la interfase entre la espora pregerminada y la epicutícula y finalmente, la germinación y desarrollo hasta la formación del apresorio para comenzar la fase de penetración (Tanada y Kaya, 1993; Pedrini *et al.*, 2007).

### 2.7.3. PENETRACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO AL INSECTO

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

Una vez establecido el proceso de adhesión, continúa la penetración, la cual es posible gracias a la acción combinada de dos mecanismos, uno físico y uno químico; el primero consiste en la presión ejercida por una estructura fúngica denominada haustorio, la cual deforma primeramente la capa cuticular rompiendo luego las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente de actividades hidrolíticas tales como proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales degradan el tejido en la zona de penetración, facilitando la entrada del hongo (Monzón, 2001).

*Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* suelen formar estructuras especiales de penetración llamados apresorios (Bidochka *et al.*, 2000). Esto implica que, para que tenga lugar la penetración de la hifa en el cuerpo del insecto, se necesita presión mecánica y digestión enzimática (Fang *et al.*, 2009). Tras la penetración, muchos hongos entomopatógenos proliferan en la hemolinfa del insecto formando blastosporas, cuerpos levaduriformes que se pueden originar por división de las hifas en medios líquidos. Las blastosporas se distribuyen por el cuerpo de insecto gracias al flujo de la hemolinfa.

Otro mecanismo que utilizan los hongos para penetrar al hemocele es a través de la cavidad bucal, los espiráculos y otras aberturas externas del insecto. Puesto que la humedad no es un problema en el tracto alimenticio, la espora puede germinar rápidamente en este ambiente, aunque los fluidos digestivos pudieran destruirla o degradar la hifa germinativa. En algunos casos, la digestión de estructuras fúngicas puede causar la muerte del insecto por toxicidad más que por la micosis (Clarkson *et al.*, 1996).

#### 2.7.4. MECANISMO DE DEFENSA DE LOS INSECTOS

Los insectos manifiestan respuestas inmunes tanto humorales como celulares que son efectivas contra varios patógenos y parásitos, incluyendo hongos, protozoarios, bacterias, nematodos e himenópteros parasitoides (Washburn *et al.*, 1996). El mecanismo principal de defensa contra la invasión de microorganismos es la barrera que proporciona la cutícula (Hegedus y Khachatourians, 1995), así como la membrana peritrófica que rodea el bolo alimenticio y protege el epitelio del intestino medio (Dunn, 1986).

Estudios señalan que la langosta del desierto *L. migratoria* posee una termorregulación conductual; es decir, el insecto puede limpiarse de infecciones o limitar el desarrollo de parásitos, elevando o bajando conductualmente su temperatura corporal. Por ejemplo, eleva su temperatura corporal para superar las infecciones por hongos entomopatógenos (Ouedraogo *et al.*, 2004).

#### 2.7.5. IMPORTANCIA DE LA CUTÍCULA DE LOS INSECTOS.

En los artrópodos, la cutícula es la capa más exterior del tegumento, inmediatamente por encima de la epidermis y segregada por ésta. Es una formación rígida, acelular (sin células), de estructura compleja y compuesta por quitina, entre otras sustancias. Su función es doble; por un lado es una capa rígida protectora e impermeable; en segundo lugar, es el punto de anclaje de los músculos del insecto, de manera que actúa como esqueleto externo (exoesqueleto). Sin embargo, los hongos entomopatógenos, como organismo especializados, poseen los mecanismos enzimáticos para penetrar esta barrera de forma eficiente. La literatura reporta la participación principalmente de enzimas y toxinas durante la infección inicial, y se reporta también la participación de antibióticos (Freimoser *et al.*, 2005; Roy *et al.*, 2006).

## 2.7.6. FACTORES A CONSIDERAR PARA LA APLICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN CAMPO.

Existen una gran variedad de factores abióticos y bióticos que afectan la estabilidad y persistencia de los hongos entomopatógenos en el suelo (Apperson *et al.*, 1992).

### **a) Factores bióticos**

Entre los factores abióticos que afectan la viabilidad y persistencia de los hongos entomopatógenos en el campo, se encuentran la temperatura, la humedad relativa y los rayos ultra-violeta (Hajek y St. Leger, 1994; Pucheta-Díaz *et al.*, 2006).

### **b) Temperatura**

Este factor ambiental es relevante para la eficacia de agentes microbianos fúngicos por incidir en su crecimiento vegetativo y persistencia en el campo (Luz y Fargues, 1997). Los requerimientos de temperatura para germinar varían con las especies de hongos que se trate, ya que los Deuteromicetos germinan a temperaturas de 25 °C (Tanada y Kaya, 1993). De modo general, la temperatura óptima para los diferentes hongos entomopatógenos varía de 10 a 30 °C; la temperatura favorable para *M. anisopliae* oscila entre los 24-30 °C.

### **c) Humedad relativa**

La humedad relativa (HR) es factor clave en la biología de los HE. Generalmente, la conidiogénesis ocurre en un rango de HR de 75%-90%. Sin embargo, se ha demostrado que las infecciones (germinación) de varios insectos hospederos son posibles a diversos niveles de HR. Cuando el uso de los hongos entomopatógenos es contra insectos en suelos (rizófagos), las condiciones de humedad o HR son de menor importancia ya que el micelio normalmente permanece en el suelo en una atmósfera de cerca del 99% de HR (Zimmermann, 1986).

### **d) Luz ultravioleta**

Todos los insecticidas microbianos son inactivados por exposición de rayos solares (Gaugler y Boush, 1979; Ignoffo *et al.*, 1997; Edgington *et al.*, 2000). El efecto directo puede causar deleciones, entrecruzamiento de bases, elevación de la tasa de mutación

y formación de sitios lábiles en la cadena de ADN. Un efecto indirecto es la generación de radicales tales como peróxidos producidos por la radiación ultravioleta que reducen la persistencia en campo de los entomopatógenos (Pearlman *et al.*, 1985; Ignoffo y García, 1994; Edgington *et al.*, 2000).

En las últimas tres décadas han sido desarrollados trabajos con diferentes materiales (pantallas solares, tierra, arcillas, carbón y materiales fluorescentes), los cuales inhiben o retardan la fotoinactivación de microorganismos (Daoust y Pereira, 1986; Edgington *et al.*, 2000).

#### 2.7.7. VENTAJAS EN EL USO DE LOS HE

Los HE presentan amplias ventajas para su uso como mecanismo de control de plagas; entre ellas, presentan una amplia gama de hospederos, no contaminan al medio ambiente, son inocuos para el ser humano y vertebrados, no hay un solo reporte de selección de resistencia, no tienen residualidad precosecha, tienen bajos costos de producción masiva y son facultativos (se adaptan con facilidad a la vida libre).

#### 2.7.8. LIMITANTES DE LOS HE

Los HE tienen desventajas que han sido reflejadas en la limitada oferta de productos comerciales formulados con base en HE en el mundo. Las principales son: su efecto depende del contacto con los insectos, son afectados por la radiación solar directa (UV), requieren temperaturas bajas y humedad relativa arriba del 70%, su actividad en campo es lenta por lo que la mortalidad de los insectos infectados se refleja después del quinto día (Asaff *et al.*, 2002; Lozano *et al.*, 2000), y su modo de acción es lento (en comparación con agroquímicos). Los resultados de laboratorio siempre son mejores que en el campo, su vida de almacén es corta en comparación con los agroquímicos y necesitan condiciones ambientales adecuadas para su utilización.

### 3. JUSTIFICACIÓN.

En el año 2014, el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Yucatán (CESVY), declaró al estado de Yucatán como la zona gregarígena más extensa de los últimos años en el país, pues cuenta con una superficie total de 587,600 ha. Por ello el SENASICA implementó un dispositivo Peninsular en Yucatán, con la participación de los estados de Campeche, Quintana Roo, Tabasco, con la finalidad de evitar el desplazamiento de mangas migratorias a diferentes estados de la península. Sin embargo, en el año 2015 en el estado de Campeche se presentó en los meses de enero hasta junio un total de 35 mangas invasoras provenientes del vecino estado de Yucatán; para combatir las se realizó el control químico del acrídido en los municipios de Calkiní, Hecelchakán, Hopelchén, Campeche y Tenabo en una superficie total de 644 hectáreas utilizando el producto químico FOLEY de ingrediente activo parathión metílico al 3%. Cabe mencionar que donde se realizó control químico en la mayor superficie fue cercano al Área Natural Protegida de los Petenes y en zonas productoras de miel de los Chenes que comprenden los municipios de Calkiní, Hecelchakán, Hopelchén y Tenabo (Cesavecam, 2015).

En otros países, ya se están aplicando controladores biológicos como los hongos entomopatógenos antes mencionados: *M. anisopliae* y *B. bassiana*; creemos que en nuestro país también sería una alternativa factible el empleo de estos biocontroladores. Por lo anteriormente expuesto, el presente trabajo de investigación tiene como meta evaluar algunas cepas nativas de *Beauveria* sp. y *M. anisopliae* realizar los estudios preliminares a su aplicación en el campo, para utilizarla posteriormente como controlador de la plaga de la langosta centroamericana.

## 4. HIPOTESIS

El cambio de fase de solitario a gregario de *S. piceifrons piceifrons* facilita la infección por los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana*.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. OBJETIVO GENERAL.

- Evaluar la virulencia de 20 cepas nativas de hongos entomopatógenos (*M. anisopliae* y *B. bassiana*) en laboratorio sobre poblaciones de *S. piceifrons*, como alternativa natural de control de las poblaciones en campo.

### 5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Evaluar la susceptibilidad de *S. piceifrons piceifrons* a 20 cepas de hongos entomopatógenos (*B. bassiana* y *M. anisopliae*), correspondientes al cepario del laboratorio de Microbiología y Control Microbiano de Plagas.
- Seleccionar las cepas más agresivas contra ninfas y adultos de *S. piceifrons piceifrons*, en función de la dosis y el tiempo en que ocurre la mortalidad.
- Evaluar en campo sobre zonas gregarigenas de *S. piceifrons piceifrons*, previamente identificadas (CESAVECAM), las cepas que se identificaron en laboratorio.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS.

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología y Control Microbiano de plagas, del Colegio de Postgraduados Campus Campeche, ubicado en Sihochac, Champotón, Campeche, México, en las coordenadas geográficas (19.49799, -90.54605), y en campo en el Rancho Santa Rosalía de Sabancuy, municipio de Carmen en las coordenadas geográficas (18.99449, -91.18173) (Mapa 2).



Mapa 2. Ubicación geográfica del Rancho Santa Rosalía, sitio donde se llevaron a cabo los experimentos en Campo, Sabancuy, municipio del Carmen.

### 6.1. MATERIAL BIOLÓGICO.

#### 6.1.1. OBTENCIÓN DE CEPAS.

Las cepas de hongos entomopatógenos utilizados en este estudio (Cuadro 7) fueron recuperados del cepario del Laboratorio de Microbiología y Control Microbiano de plagas del Colegio de Postgraduados, Campus Campeche. Todas las cepas de hongos

entomopatógenos utilizados son en su totalidad aislamientos nativos del estado de Campeche, los cuales fueron generados a partir de cultivos monospóricos.

Cuadro 7. Listado de cepas utilizadas en este trabajo.

Numero	Clave	Especie	Localidad	Hospedero	Aislado por
1	HMa002	<i>M. anisopliae</i>	Champoton	Cercopidae	Lara - Reyna J.
2	HMa003	<i>M. anisopliae</i>	Champoton	Cercopidae	Lara - Reyna J.
3	Hma004	<i>M. anisopliae</i>	Champoton	Cercopidae	Lara - Reyna J.
4	Hma005	<i>M. anisopliae</i>	Champoton	Cercopidae	Lara - Reyna J.
5	Hma006	<i>M. anisopliae</i>	Champoton	Cercopidae	Lara - Reyna J.
6	Hma007	<i>M. anisopliae</i>	Champoton	Cercopidae	Lara - Reyna J.
7	Hma008	<i>M. anisopliae</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
8	HMa009	<i>M. anisopliae</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
9	HMa014	<i>M. anisopliae</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
10	HBb005	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
11	HBb014	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
12	HBb015	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
13	HBb016	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
14	HBb017	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
15	HBb018	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
16	HBb019	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
17	HBb020	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
18	HBb021	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
19	HBb022	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.
20	HBb023	<i>B. bassiana</i>	Calakmul	Suelo	Lara - Reyna J.

#### 6.1.2. OBTENCION DE LANGOSTAS.

Para evaluar la susceptibilidad de *S. piceifrons piceifrons* a HE, fueron colectadas directamente de poblaciones de campo tanto adultos alados como ninfas de diferentes estadios en zonas gregarígenas donde habitan de forma permanente y cumplen con su

ciclo biológico. Para evitar variabilidad en la respuesta a la hora de evaluar los aislamientos de HE sobre *S. piceifrons* se generó una colonia temporal de langostas en el laboratorio.

#### 6.1.2.1. COLECTA

Se realizaron colectas de langostas en diferentes estadios (ninfas y adultos) en zonas gregarígenas situadas en diferentes municipios del estado de Campeche y Yucatán (Cuadro 8). La recolección se realizó con una red entomológica, una vez capturados los individuos, se depositaron en jaulas de madera forradas con malla mosquitera metalizada de dimensiones a 30x30 cm (foto 1 y 2), marcadas con su ubicación geográfica (geolocalización con GPS), fecha, lugar de colecta y vegetación predominante, e inmediatamente fueron transportadas al laboratorio. Para descartar individuos muertos de langostas traídas de campo, se dejaron tres días dentro de las jaulas tramperas con ventilación natural a base de una dieta de hojas de maíz. Los individuos que se identificaron como muertos fueron retirados de las jaulas.

Cuadro 8. Datos geográficos de los sitios de colecta e individuos colectados de *S. piceifrons*. En donde **NR**: Ninfas rojas y **AD**: Adulto

Sitio de colecta	Ubicación geográfica		Individuos colectados	Estado Biológico adultos / ninfas
	Longitud	Latitud		
<b>Nuevo Paraíso, Champotón, Camp.</b>	-90.68446	19.40525	45	NR2
<b>Cansahacab, Yucatán</b>	-89.079347	21.158830	140	NR4
<b>Pomuch, Hecelchakán, Campeche</b>	-90.191428	20.13849	45	AD
<b>San Isidro, Hkan, Campeche</b>	-90.16080	20.15263	100	AD
<b>Sta. Cruz, Hkan, Camp.</b>	-90.12682	20.21015	23	AD
<b>Laboratorio Control Microbiano de Plagas, Sihochac, Camp.</b>	-90.54612	19.49784	190	NR3



Foto 1. Método de colecta utilizado para ninfas y adultos de langosta.



Foto 2. Jaula con individuos colectados en campo.

#### 6.1.2.2. REPRODUCCIÓN

En una pecera con medidas de 30x50 cm<sup>2</sup> llena de arena en un grosor de 20 cm se aislaron 40 individuos (20 hembras y 20 machos) de langosta adulta madura con coloración amarilla (foto 3), y se mantuvo la temperatura a 30°C. A los 10 días en cautiverio los adultos empezaron a realizar la cópula con una duración de 1 a 2 horas aproximadamente, los individuos preferían la tarde-noche para copular, el 80% de las falsas ootecas depositadas dentro de la pecera con arena empezaron a brotar a los 28 días, cada hembra puso de 70 a 85 huevos, los cuales se utilizaron en los bioensayos finos (foto 4).



Foto 3. Langosta adulta madura sexualmente enterrando su abdomen en el suelo, para realizar la postura de ootecas, éstas fueron colectadas en campo con el propósito de obtener cría en laboratorio.



Foto 4. Ninfas de primer estadio acabando de eclosionar del suelo arenoso.

## 6.2 METODOLOGIA PARA APLICACIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Con el fin de determinar la agresividad de las cepas, se realizaron bioensayos que permitieron medir la respuesta biológica que producen las cepas de HE, lo cual constituye una herramienta importante para evaluar niveles de resistencia o susceptibilidad de la plaga. Existen dos tipos de bioensayos, los burdos y los finos, los cuales se esquematizan junto con la metodología aplicada de este estudio en la Figura 13.

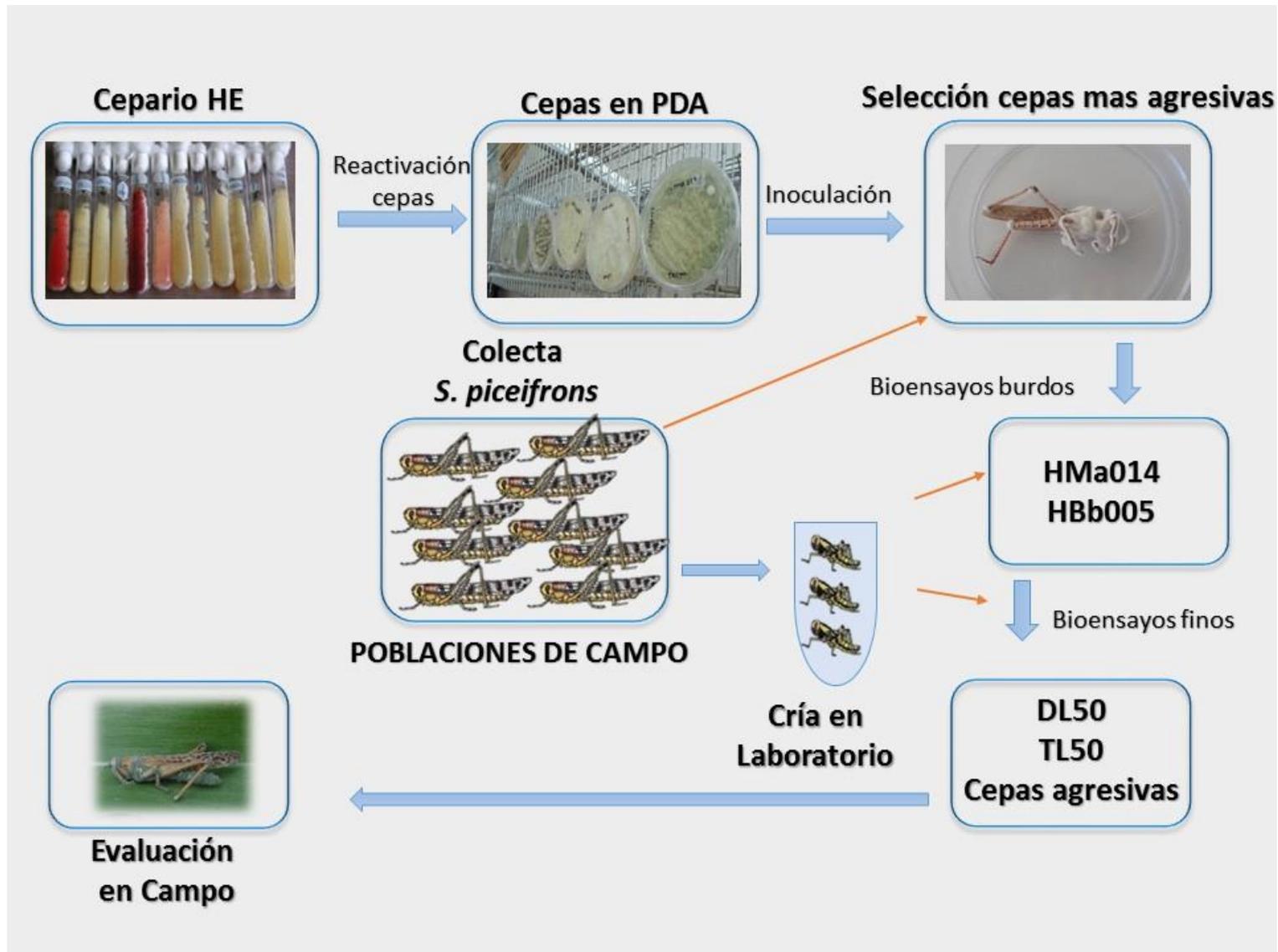


Figura 13. Esquema general de la metodología aplicada para el estudio de infección con hongos entomopatógenos sobre *S. piceifrons piceifrons*.

### 6.2.1. REACTIVACIÓN DE CEPAS A UTILIZAR.

Se reactivaron 20 cepas almacenadas en el laboratorio, antes de empezar a trabajar con los bioensayos, pasándolas por un insecto hospedante; en este caso se utilizó el gorgojo *Zabrotes subfaciates* con la finalidad de comprobar la viabilidad y pureza de las cepas. Se resembró cada cepa en cajas Petri en medio sólido PDA (papa dextrosa agarosa), posteriormente se colectaron ejemplares del gorgojo *Z. subfaciates* y se les infectó con los HE seleccionados, luego de lo cual se contuvieron en una cámara húmeda con las condiciones ambientales de temperatura 28° C y humedad al 70%, hasta la esporulación del hongo que ocurrió aproximadamente entre 5-7 días. Los insectos infectados se sumergieron en hipoclorito de sodio al 0.5% de producto activo durante cinco minutos y posteriormente se enjuagaron de tres a cuatro veces con agua destilada estéril. Los cadáveres se colocaron sobre papel filtro estéril para eliminar el exceso de humedad, se cortó el cuerpo de cada insecto en segmentos donde se veía crecimiento micelial, los segmentos se colocaron en una caja Petri con PDA (papa dextrosa agarosa), la cual se selló la caja con cinta plástica. Las cajas Petri se incubaron a una temperatura de 25°C durante 10 días. Se inocularon dos cajas Petri por cepa (foto 5) para tener un total de 40 cajas Petri (18 cajas de *M. anisopliae* y 22 cajas de *B. bassiana*) de todas las cepas evaluadas para este estudio.



Foto 5. Cajas Petri inoculadas con cepas de los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana* reactivadas en medio de cultivo PDA de todas las cepas utilizadas del Cepario del Laboratorio de Microbiología.

#### 6.2.2. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD INFECTIVA DE LAS CEPAS NATIVAS SOBRE *Schistocerca piceifrons piceifrons*.

Una vez reactivadas las cepas de *M. anisopliae* y *B. bassiana* se inocularon sobre langostas recolectadas en campo para evaluar la patogenicidad de cada cepa. Con este tipo de bioensayo sólo se busca determinar aquellas cepas que tienen un potencial infectivo alto. El ensayo se llevó a cabo en un ambiente controlado a temperatura de 28°C, acondicionando unas jaulas de madera forradas con malla metálica de dimensiones 30x30 cm en el Laboratorio de Microbiología y Control Microbiano de plagas del Colegio de Postgraduados Campus Campeche, con langostas (adultos y ninfas) traídas de campo. Los individuos se dejaron en cautiverio tres días en una dieta de hojas tiernas de maíz, previamente desinfectadas con agua destilada y cloro, se separaron

aquellas que murieron durante los días de cautiverio y también los individuos que presentaron algún tipo de daño (alas rotas, falta de alguna extremidad, etc.). Para la prueba de patogenicidad se utilizaron 11 cepas de *B. bassiana* y nueve cepas de *M. anisopliae*.

### 6.2.3. DISCRIMINACIÓN DE CEPAS CON BASE EN INFECTIVIDAD

Se realizó una selección con base en infectividad absoluta de las cepas (se determinó si había o no infección). Se evaluó la efectividad de 14 cepas sobre ninfas gregarias de 4to estadio (foto 6) colectadas en la comunidad de Nuevo paraíso, municipio de Champotón, Campeche y Cansahacab, Yucatán; el objetivo fue determinar si alguna cepa causaba la muerte del insecto y en qué tiempo se presentaba muerte y micosis el insecto, esto para tomar la decisión de tomar las cepas más infectivas.



Foto 6. Ninfa de *S piceifrons* de cuarto estadio ninfal, similar a las que se utilizaron en los bioensayos.

Se preparó una solución de detergente Tween al 0.01%, se le agregaron 400 ml de agua destilada, de esta solución se adicionaron 10 ml en cada caja Petri con una micropipeta por cada cepa, con una espátula o asa se removió la mayoría de las esporas hasta suspenderlas completamente, posteriormente en 14 tubos Falcon se agregó la suspensión obtenida de las cajas Petri, en la cual se estimó una concentración de  $1 \times 10^7$  esporas.

Se utilizaron un total de 225 ninfas de cuarto estadio en etapa fásica de gregarios de coloración rosado con manchas negras, las que fueron colectadas en diferentes sitios de la península de Yucatán, y en una jaula trampera se combinaron las ninfas colectadas en Nuevo Paraíso, Champotón y en Cansahacab, Yucatán, con el fin de conocer si las cepas de hongos entomopatógenos infectan individuos de diferentes zonas gregarígenas. En 15 cajas de plástico con tapa de dimensiones 20 x 25 centímetros se distribuyeron los 225 saltones (15 saltones por caja), y se marcaron con los datos de la cepa y fecha de infección así como una caja que se marcó como testigo.

En 14 tubos de ensayo (foto 7) con atomizador, se agregó la solución de esporas a concentración de  $1 \times 10^7$  /ml con una micropipeta y se marcó la cepa a utilizar junto con el testigo Para hacer más fácil la infección, las cajas con las ninfas se metieron al congelador unos diez minutos para inmovilizarlos por 2 minutos y evitar que escaparan de la jaula al momento de asperjar las esporas. Una vez asperjadas todas las cajas, se les colocaron pedazos de hojas de maíz previamente desinfectados con alcohol y agua destilada, para evitar que la muerte del insecto sea a causa de algún parasito y/o de algún agente alterno al hongo entomopatógeno consumido por alimento. Se mantuvieron las cajas a temperatura de 28°C en el laboratorio y .cada dos días se alimentó a las ninfas con hojas de maíz.



Foto 7. Tubos de ensayo con solución de diferentes cepas a una concentración de  $1 \times 10^7$

#### 6.2.4. SELECCIÓN DE CEPAS MÁS INFECTIVAS

Las cepas de *M. anisopliae* denominadas HMa02, HMa03, HMa05, HMa07 y HMa014, así como la cepa de *B. bassiana* HBb05, fueron corroboradas en un nuevo bioensayo. Se utilizaron 105 adultos maduros, 15 individuos por cepa, se preparó una solución de 60ml con agua destilada, 0.01% Tween (detergente) y 1 cm<sup>2</sup> de agar con esporas del HE. A seis tubos de ensayo se agregaron 10 ml de esa solución por cepa a una concentración de  $1 \times 10^7$  /ml, la infección se hizo por aspersion. Se utilizó un testigo, el cual recibió el mismo tratamiento pero con agua estéril. Todas las jaulas (foto 8) se mantuvieron en un ambiente controlado a temperatura de 24°C y se alimentaba a las langostas con hojas de maíz previamente desinfectadas. Las evaluaciones fueron diarias; una vez muerto, cada insecto se lavó por inmersión en hipoclorito de sodio al 5%, por 1 minuto, se enjuagó en agua destilada estéril tres veces y luego se colocó en cámara húmeda para facilitar el crecimiento de micelio (foto 9).



Foto 8. Tratamientos de las cepas a evaluar separando 15 individuos en las jaulas. Los individuos infectados por HE presentaron momificación del cuerpo y cambio de coloración.

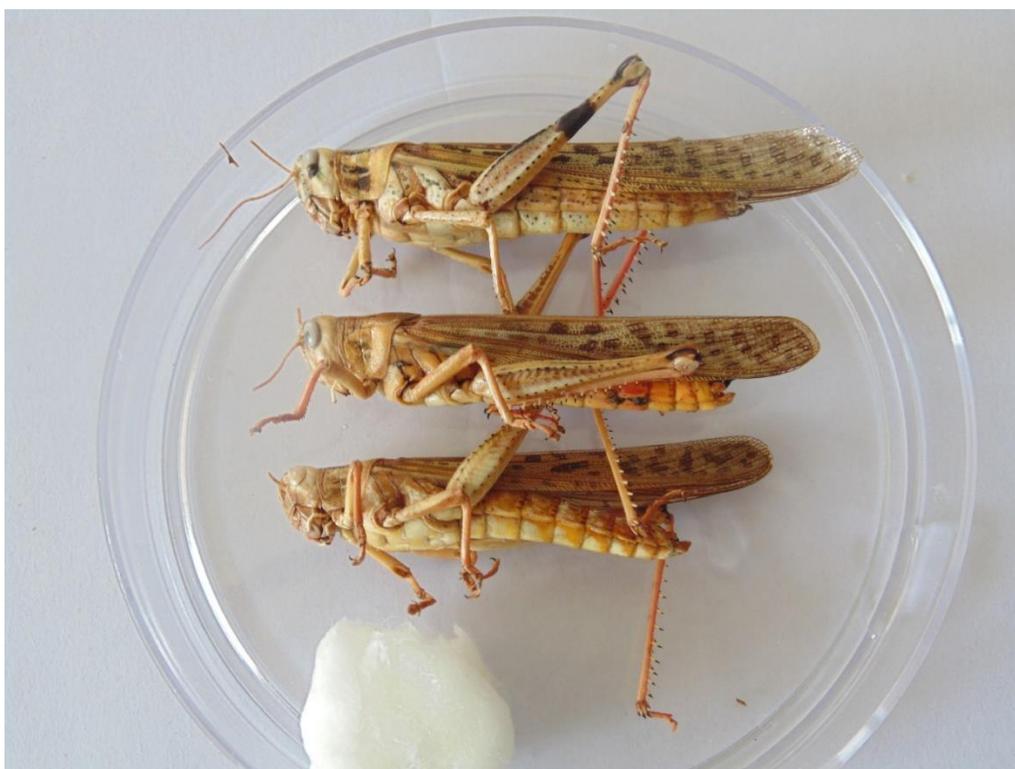


Foto 9. Cámara húmeda usada para facilitar el crecimiento del micelio de los insectos infectados.

### 6.2.5. OBTENCION DE LA VENTANA DE RESPUESTA BIOLÓGICA PARA LAS CEPAS HBb005 y HMa014

Como segunda etapa se realizó un bioensayo fino donde se determinó la ventana de respuesta biológica en el proceso de elegir las dosis a evaluar. Para ello se determinaron seis diluciones seriales logarítmicamente espaciadas, cuyo efecto se refleja en la mortalidad de 0% o un valor cercano a este y la dosis más baja capaz de matar al 100% de los especímenes bajo prueba (Figura 14).

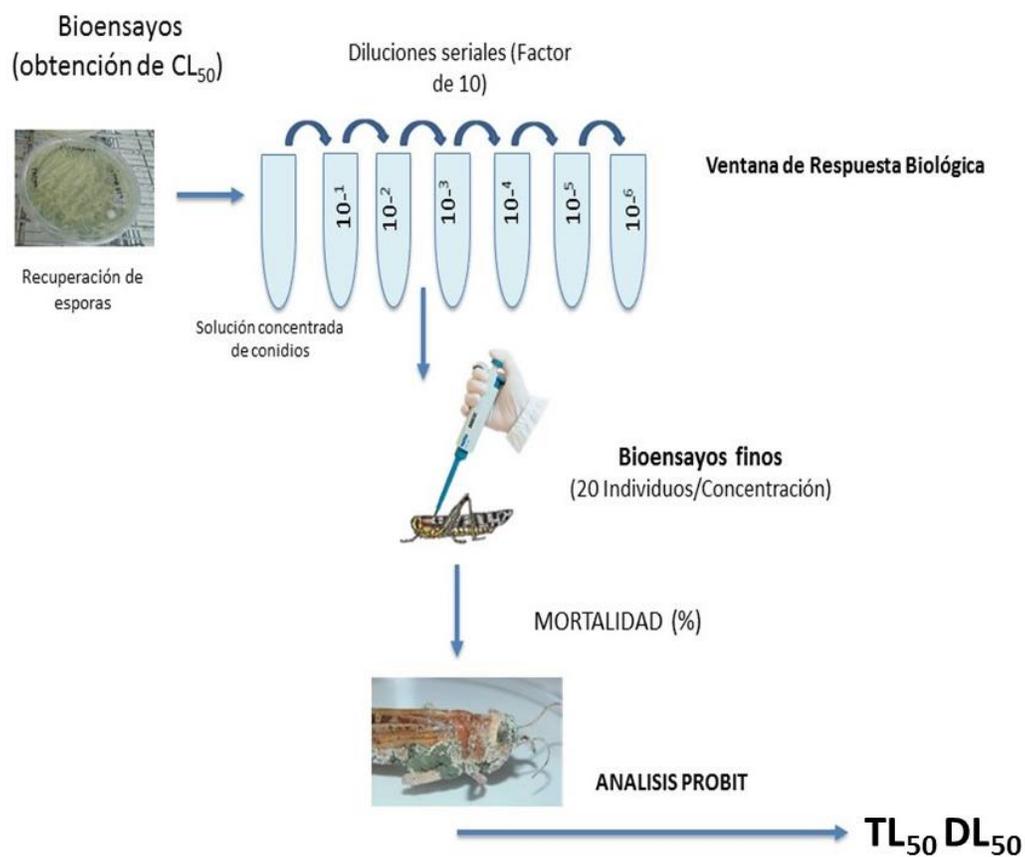


Figura 14. Esquema para obtener el tiempo letal medio TL<sub>50</sub>

Se realizaron diluciones seriales en factor de 10 ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-1}$ ). En la campana de flujo laminar se preparó una suspensión (agua destilada estéril con Tween al 0.01%) y conidios a partir de cajas Petri con el hongo madurado, recuperando 1 ml en un tubo Eppendorf.

Después realizamos un bioensayo fino para determinar la relación concentración-mortalidad. En jaulas se colocaron 20 saltones gregarios de 3er estadio, las cuales fueron recuperadas de la crianza en el laboratorio, por lo que se seleccionaron ejemplares muy aproximadamente de la misma edad y en buenas condiciones sanitarias; se utilizó un total de 280 ninfas para evaluar las dos cepas seleccionadas, HMa014 y HBb005. Para facilitar la manipulación de las ninfas se colocaron 10 minutos en el congelador para que estén menos activas, enseguida se tomó cada una de las ninfas y con una pipeta se aplicaron 3  $\mu$ l de la suspensión de esporas sobre el pronoto del insecto (Figura 15). Se realizó lo mismo con el testigo de cada cepa pero sólo se le aplicó agua destilada estéril; a estas ninfas se les mantuvo a una dieta de hojas de maíz en un ambiente controlado a 28°C.



Figura 15. La flecha muestra el sitio de inoculación del hongo. (pronoto)

Las evaluaciones y revisiones fueron diarias hasta que murió el 100% de los ejemplares tratados de esa manera se determinó la DL50 de los tratamientos con un análisis Probit una vez muertos los insectos se colocaron en cámara húmeda para facilitar el crecimiento de micelio. Seguidamente, se verificó si se trataba de la cepa utilizada para la infección observando en un estereoscopio las características principales del HE, como lo son la coloración del micelio y reacción cutánea en el acrídido infectado.

#### 6.2.6. DETERMINACION DE LA MEJOR CONCENTRACION (Conidios/MI) PARA CADA CEPA EVALUADA

Para determinar el número de conidios por volumen contenidos en una determinada suspensión, se utilizó un hematocímetro o cámara de Neubauer (Figura 16). Para este bioensayo se utilizaron 60 adultos gregarios de coloración amarilla, colectados en San Isidro, Hecelchakán, distribuidos en número igual por caja contando 15 individuos, con el objetivo de verificar a qué concentración de esporas existe mayor porcentaje de mortalidad e infectividad. Para la prueba de patogenicidad de las cepas se prepararon tres concentraciones ( $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^3$ )/conidios por mililitro, a partir de la solución madre de cada cepa.

Se preparó una suspensión de conidios de las cepas HMa014 y HBb005 en agua destilada con Tween al 0.1%. Con una pipeta Pasteur se llenó la cámara con la suspensión de conidios y cubrirla con el cubreobjetos, se contaron los conidios presentes en los cuadrados de los extremos elegidos y el centro. Se realizaron un total de 10 conteos en la dilución seleccionada. Se calculó la concentración utilizando la siguiente fórmula:

$$C = \frac{(\bar{x}) (1 \times 10^6) (Dil)}{80}$$

Donde:

C = número de conidios ó esporas.  
 $\bar{x}$  = media de los conteos realizados.  
Dil = cantidad de dilución

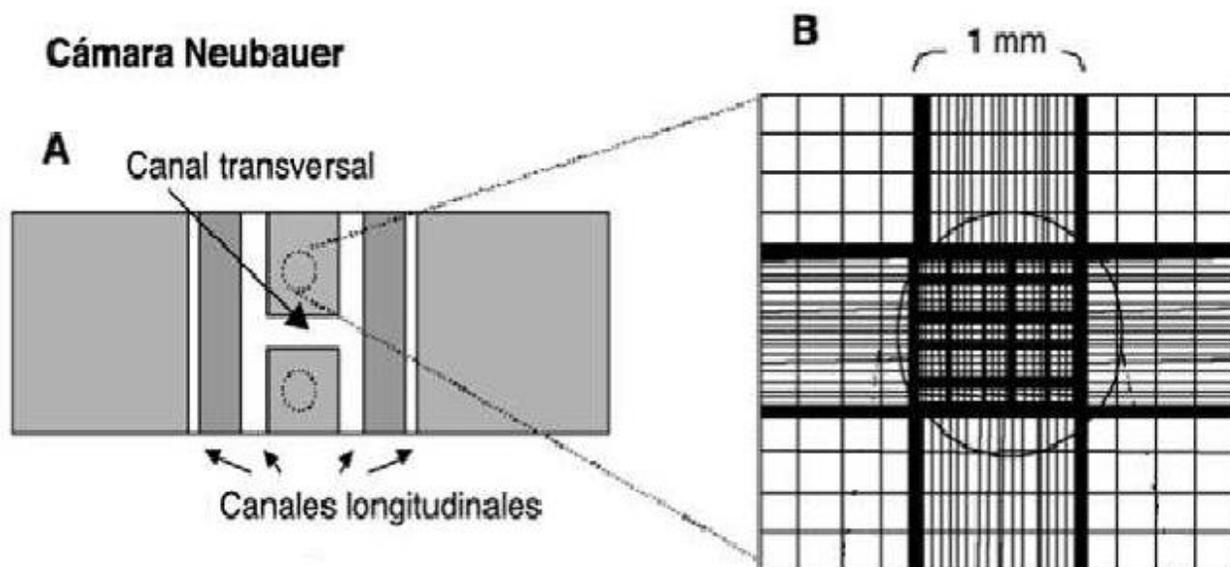


Figura 16. Características de la cámara de Neubauer, utilizada en este estudio. Imagen obtenida de <https://es.slideshare.net/eliciruela/camara-de-recuento-neubauer>.

#### 6.2.7. PREPARACIÓN DEL INÓCULO PARA REALIZAR ENSAYOS EN CAMPO

En el campus Campeche del Colegio de Postgraduados existe la unidad productora de bioinsecticidas (UPBIO<sup>MR</sup>) en donde se tiene estandarizado el proceso de producción masivo. En la UPBIO<sup>MR</sup> se produce de manera permanente la cepa HBb005, la cual se utiliza bajo el nombre registrado **MB Plus<sup>®</sup>**. Por lo tanto, para esta cepa se solicitó el número de dosis que se requirieron. La cepa HMa014, la cual forma parte del cepario del laboratorio de microbiología y control microbiano de plagas, no se produce regularmente por lo que se realizó la producción de las dosis requeridas para este estudio con el procedimiento estandarizado en la UPBIO<sup>MR</sup>.

La cepa HMa014 se sembró en medio de cultivo PDA; cuando este hongo había cubierto la caja Petri se le agregaron 10 ml de H<sub>2</sub>O destilada + Tween al 0.01 %; con una espátula se rasparon el micelio y esporas, donde el detergente Tween tiene la función de romper la tensión superficial del agua para que las esporas logren mezclarse homogéneamente.

Se utilizó arroz como sustrato natural para la multiplicación del HE, primeramente se remojó en un recipiente el arroz con agua por una hora, seguidamente se decantó el

agua y en bolsas de polipapel de un kilogramo se agregan 300 gramos aproximadamente de arroz a cada bolsa. Se sellaron las bolsas y se esterilizaron en la autoclave por 30 minutos.

En la campana de flujo laminar con una cinta masking se tomó la parte media de la bolsa con arroz y se le colocó una "X", seguidamente se perforó la bolsa con una jeringa para inyectar 10 ml del inóculo y luego se le asperjó alcohol al 70% y finalmente se sobrepuso cinta en la zona perforada de la bolsa. Luego se homogenizó perfectamente el arroz para distribuir el inóculo. Las bolsas obtenidas se incubaron en la sala de maduración de la planta UPBIO<sup>MR</sup>, a 26°C. A los cuatro días se observó que el hongo había germinado y llevó 15 días para que en el sustrato se maduraran las esporas del hongo.

#### 6.2.8. CUANTIFICACION DE ESPORAS DEL PRODUCTO FINAL DE LAS CEPAS HMa014 y HB005

Para conocer la concentración del producto final (sustrato de arroz inoculado que sería aplicado en campo), se cuantificaron esporas de diferentes alícuotas. En tres frascos de vidrio se vertieron 900 ml de agua destilada y 100 µl de detergente Tween, se tomaron tres bolsas al azar de la cepa Hma014 con el hongo madurado, se pesaron, se vertió el contenido de cada bolsa en un frasco, y se homogenizaron con una espátula o a mano hasta deshacer los grumos para obtener una suspensión de esporas.

En tubos Eppendorf se tomaron tres alícuotas de diferentes volúmenes de cada frasco para poder realizar el conteo en el hematocitómetro, llegando a tener un total de nueve alícuotas de suspensiones conidias, de cada una se colocaron 10 µl (microlitros) en la ranura lateral de la cámara de Neubauer, como se describió antes, en tres repeticiones para cada cepa, para estimar la concentración de conidios. Se repitió el mismo procedimiento para la cepa HBb005.

#### 6.2.9. EVALUACIÓN EN CAMPO DE LAS CEPAS HBB005 Y HMA014 PARA SU APLICACIÓN SOBRE POBLACIONES DE *S. PICEIFRONS* P.

La aplicación se llevó a cabo en el Rancho Santa Rosalía, Sabancuy, municipio de Carmen (Figura 17) , con una superficie de 200 hectáreas, ubicado en las coordenadas geográficas ( 18.994807, -91.18182), que tiene vegetación silvestre conocida como

monte y cultivo de palma de coco de la variedad enano malayo y alto del Pacífico. Las condiciones ambientales fueron de una humedad relativa del 85% y temperatura de 30°C durante el momento de la aplicación, que fue realizada en la tarde.



Figura 17. Ubicación geográfica del sitio de aplicación de campo, donde se llevó a cabo el experimento.

Para este experimento se diseñaron cuatro jaulas de 1.73 m<sup>3</sup> (foto 10), las cuales fueron instaladas en cuatro sitios seleccionados al azar dentro del área del Rancho (Figuras 18 y 19), con el objetivo de mantener en observación a langostas adultas para darle seguimiento a los individuos infectados por los HE.



Foto 10. Montaje de la jaula diseñada con un volumen de  $1.73 \text{ m}^3$ , utilizada para los bioensayos en campo.



Figura 18. Ubicación geográfica de las jaulas instaladas de los diferentes tratamientos a evaluar con la cepa HMa014.



Figura 19. Ubicación geográfica de las jaulas instaladas de los diferentes tratamientos a evaluar con la cepa HBb005.

Para realizar la aplicación se necesitaron dos bombas aspersoras de ultra bajo volumen **ULBV** marca **STHIL® modelo SR 450** con capacidad de 20 litros cada una. Para preparar la solución a aplicar se utilizó una cubeta de 20 litros con agua, posteriormente se agregaron 20 mililitros de adherente, dispersante y penetrante **ADER®** para romper la tensión superficial del agua y facilitar la mezcla del contenido de la bolsa del inoculo con esporas, se rompió la bolsa por una esquina sumergiéndola en la cubeta para que penetrara el agua al interior de la bolsa, y se mezcló perfectamente hasta que la suspensión tomó olivo intensa para *Metarhizium* o blanco lechoso para *Beauveria*. Para verter la solución fúngica al depósito de la bomba aspersora se filtró con una malla como se muestra en la foto 11, para eliminar el material inerte y evitar que se taparan los conductos por donde fluye la solución y realizar una buena aplicación. Se recuperó en tubos de ensayo una porción de la solución a aplicar en campo, para realizar el conteo de esporas correspondiente por cepas utilizadas (foto 12). Se realizó la aplicación en las zonas donde se instalaron las jaulas cubriendo uniformemente la vegetación y a los individuos que se encontraban en la zona aplicada. Este procedimiento se realizó con las dos cepas a evaluar en campo.



Foto 11. Bombas marca STHIL® modelo SR 450 de boquillas de ULV con malla provisional para evitar taponamiento por cascarilla de arroz lo cual afecta el funcionamiento de bomba aspersora.



Foto 12. Recuperación de las soluciones cepas HB005 y Hma014 evaluadas en campo.

### 6.3. PRUEBA DE PATOGENICIDAD EN CAMPO

Este bioensayo tuvo como finalidad registrar la cepa que provocó la mayor mortalidad. Se realizaron dos tratamientos más un testigo:

**Tratamiento 1:** *Beauveria bassiana* cepa HBb005

**Tratamiento 2:** *Metarhizium anisopliae* cepa HMa014

**Control 3:** Testigo sin aplicación de hongo

Todos los tratamientos fueron realizados en tres repeticiones usando individuos adultos colectados en la zona y a los que se colocó previamente en las jaulas; la aplicación se realizó utilizando las bombas aspersoras dirigidas a las jaulas y en la periferia de la zona tratando así de infectar también a individuos fuera de la jaula (foto 13 y 14). Para el testigo la aplicación se realizó solo de agua estéril. Se realizaron revisiones diariamente en busca de individuos micosados. Se tomaron insectos muertos, los que se lavaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 5% por un minuto, se enjuagaron en agua destilada estéril tres veces y luego se colocaron en cámara húmeda para facilitar el crecimiento de micelio. Seguidamente, se verificó si se trataba de la misma cepa nativa, observando las

cajas Petri con la cepa cultivada en el medio de cultivo y comparándola con todas las demás del cepario.



Foto 13. Aplicación dirigida a las zonas donde se encuentran disperso individuos libres y los que se encuentran contenidos en la jaula.



Foto 14. Individuos colectados con redes entomológicas y depositados en las jaulas para llevar un mejor conteo de individuos infectados por el hongo.

#### 6.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los valores del tiempo de letalidad media (TL50) se calculan usando el Análisis Probit, el cual inicialmente fue desarrollado por D.J. Finney (1971), y discutido más adelante en detalle en otros estudios (Finney, 1978; Robertson et al., 2007).

En general, los datos de los bioensayos (proporciones de mortalidad y dosis correspondientes) dan una curva en forma de S. Para hacer que esta curva sea lineal, las proporciones se transforman en probit y dosis en  $\log_{10}$ . Los valores de LD o LC, LT se estiman mediante análisis de regresión (Busvine 1971). Las proporciones son corregidas para la mortalidad del testigo si ésta es de más del 10% usando la fórmula de Schneider-Orelli's (1947).

$$\text{Mortalidad corregida (p)} = \frac{\% \text{ Respuesta} - \% \text{ Respuesta en el testigo}}{100 - \% \text{ Respuesta en el testigo}} \times 100$$

**Tiempo de letalidad al 50% (TL50) de la población expuesta:** Esta variable se estableció para encontrar el tiempo que demora el hongo en matar al 50% de langostas en cada unidad experimental por medio de una tabla de mortalidad acumulada diaria durante 15 días; con estos datos se realizó el respectivo análisis de varianza (ANOVA)/PROBIT y los promedios fueron comparados mediante el análisis de Duncan ( $P < 0,05$ ).

**Tasa de infección:** Se seleccionó a las langostas muertas al final del experimento y se separaron en cámara húmeda para realizar un conteo de langostas infectadas por el hongo, para hallar el porcentaje dentro de cada unidad experimental y tratamiento.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. OBTENCIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO CON CEPAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.

Se obtuvo un total de 60 cajas Petri con medio de cultivo por cepa utilizada, para asegurar que existiera material suficiente para los diversos bioensayos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Listado de cepas utilizadas para los bioensayos.

Numero	Clave	Especie	Cajas inoculadas
1	Hma02	<i>M. anisopliae</i>	3
2	Hma03	<i>M. anisopliae</i>	3
3	Hma04	<i>M. anisopliae</i>	3
4	Hma05	<i>M. anisopliae</i>	3
5	Hma06	<i>M. anisopliae</i>	3
6	Hma07	<i>M. anisopliae</i>	3
7	Hma08	<i>M. anisopliae</i>	3
8	HMa09	<i>M. anisopliae</i>	3
9	Hma014	<i>M. anisopliae</i>	3
10	HBb05	<i>B. bassiana</i>	3
11	HBb014	<i>B. bassiana</i>	3
12	HBb015	<i>B. bassiana</i>	3
13	HBb016	<i>B. bassiana</i>	3
14	HBb017	<i>B. bassiana</i>	3
15	HBb018	<i>B. bassiana</i>	3
16	HBb019	<i>B. bassiana</i>	3
17	HBb020	<i>B. bassiana</i>	3
18	HBb021	<i>B. bassiana</i>	3
19	HBb022	<i>B. bassiana</i>	3
20	HBb023	<i>B. bassiana</i>	3
		<b>TOTAL</b>	<b>60</b>

### 7.2. DISCRIMINACIÓN DE CEPAS CON MAYOR VIRULENCIA EN *Schistocerca piceifrons piceifrons*

Las cepas de *M. anisopliae* denominadas HMa002, HMa003, HMa005, HMa007 y HMa0014, así como la cepa de *B. bassiana* HBb005, fueron las que presentaron presencia de micelio en las ninfas entre los 7-9 días después de la infección (Cuadro 10).

Cuadro 10. Resultado del número de individuos de *S. piceifrons piceifrons* muertos, luego de la aplicación de las cepas evaluadas. En color azul se observan las cepas infectaron mayor número de individuos.

Numero	Clave	Especie	Hospedero	Fecha Infección	Muerte (individuos)	Presencia de micelio
1	Hma02	M. anisopliae	Ninfa N4	26 – 09 -14	10	SI
2	Hma03	M. anisopliae	Ninfa N4	26 – 09 -14	11	SI
3	Hma04	M. anisopliae	Ninfa N4	26 – 09 -14	5	SI
4	Hma05	M. anisopliae	Ninfa N4	26 – 09 -14	10	SI
5	Hma06	M. anisopliae	Ninfa N4	26 – 09 -14	7	SI
6	Hma07	M. anisopliae	Ninfa N4	26 – 09 -14	12	SI
7	Hma08	M. anisopliae	Ninfa N4	03 – 12 -14	4	NO
8	HMa09	M. anisopliae	Ninfa N4	26 – 09 -14	6	SI
9	Hma014	M. anisopliae	Ninfa N4	26 – 09 -14	13	SI
10	HBb05	B. bassiana	Ninfa N4	26 – 09 -14	15	SI
11	HBb014	B. bassiana	Ninfa N4	26 – 09 -14	4	NO
12	HBb015	B. bassiana	Ninfa N4	26 – 09 -14	5	NO
13	HBb016	B. bassiana	Ninfa N4	26 – 09 -14	2	NO
14	HBb017	B. bassiana	Ninfa N4	26 – 09 -14	7	NO
15	HBb018	B. bassiana	Ninfa N4	26 – 09 -14	3	NO
16	HBb019	B. bassiana	Ninfa N4	26 – 09 -14	4	NO
17	HBb020	B. bassiana	Ninfa N4	03 – 12 -14	3	NO
18	HBb021	B. bassiana	Ninfa N4	03 – 12 -14	2	NO
19	HBb022	B. bassiana	Ninfa N4	03 – 12 -14	6	NO
20	HBb023	B. bassiana	Ninfa N4	03 – 12 -14	4	NO
21	-----	Testigo	Ninfa N4	26 – 09 -14	1	NO

### 7.3. VERIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE CEPAS CON MAYOR INFECTIVIDAD.

Las cepas HMa002, HMa003, HMa005, HMa07, HMa014 y HBb005, fueron las más agresivas en cuanto a mayor mortalidad de *S. piceifrons piceifrons* (Cuadro 11).

Cuadro 11. Mortalidad de *S. piceifrons piceifrons* al ser infectadas por cepas seleccionadas y verificadas. El cuadro representa los individuos muertos por día.

Cepas	MORTALIDAD ACUMULADA/DIA																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	TOTAL
HMa002	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	8	8	11	11	12	14	15	15
HMa003	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	9	9	11	11	13	14	15	15
HMa005	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	6	12	14	14	14	15	15	15
HMa007	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	8	8	12	12	12	15	15	15
<b>HMa014</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>
<b>HBb005</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>15</b>							
Testigo	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

En la figura 20 podemos notar que los bioensayos las cepas **HMa014** y la cepa **HBb005** fueron más infectivas teniendo una mortalidad del 100% de los individuos infectados en un rango de once a quince días después de la infección para la cepa HBb005 fue al onceavo día y de la cepa HMa014 fue al quinceavo día.

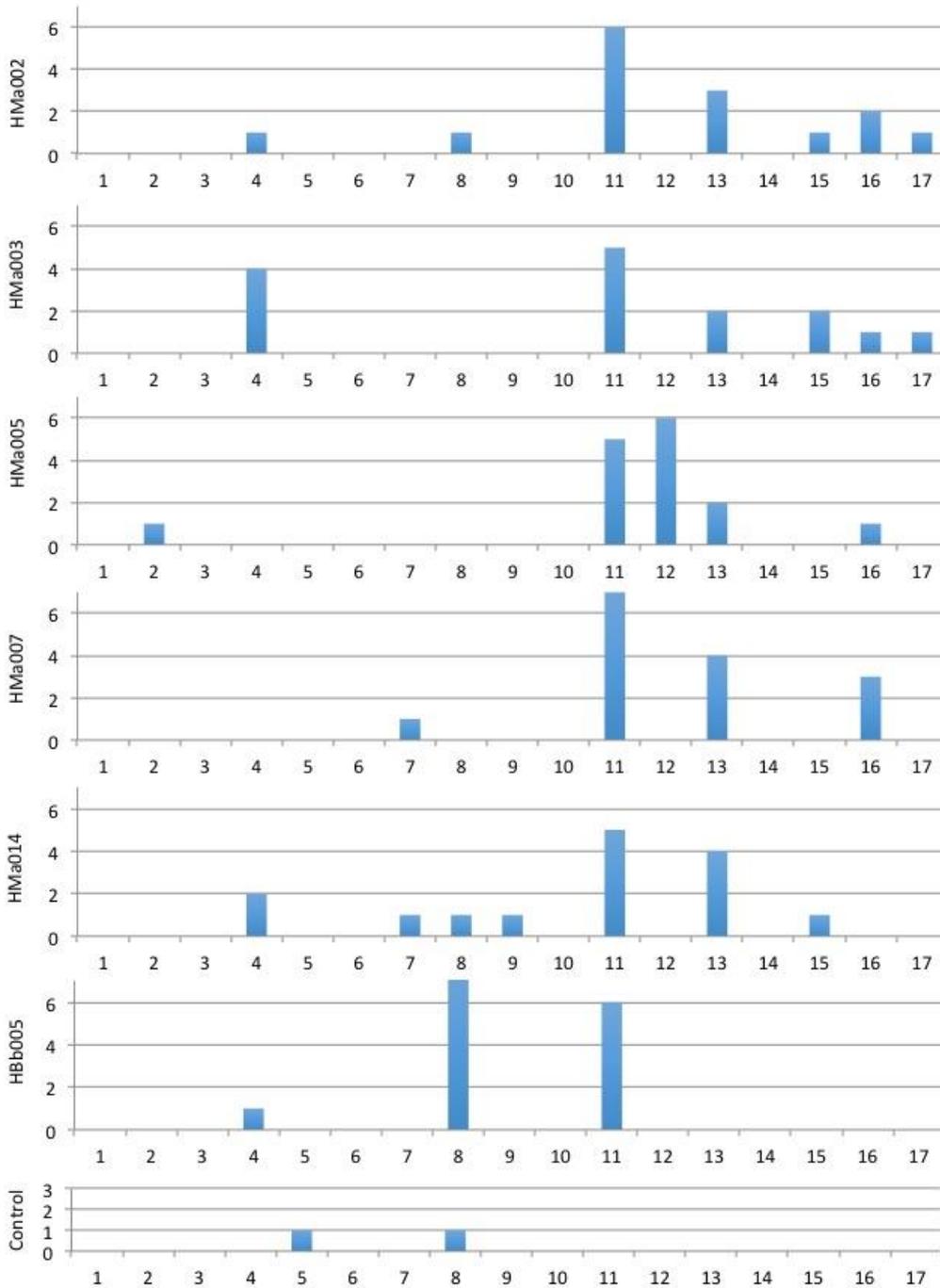


Figura 20. Registro diario de mortalidad de *S. piceifrons piceifrons* como resultado de la aplicación de cepas de HE. En la abscisa se muestran los días de mortalidad y en la ordenada el número de individuos muertos.

#### 7.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN CON MAYOR INFECTIVIDAD SOBRE *Schistocerca piceifrons p.*

Cuando se aplicaron concentraciones de  $10^3$  a  $10^7$  conidios por mililitro de las cepas HBb005 y HMa014, se observó un aumento progresivo de individuos muertos a lo largo de 17 días de observación (Cuadros 12 y 13).

Cuadro 12. Resultados de la evaluación por las diferentes concentraciones de la cepa HMa014. En color azul se puede observar la dosis que tuvo mayor mortalidad en el menor tiempo.

Concentraciones HMa014	MORTALIDAD ACUMULADA/DIA																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	TOTAL
$10^3$	0	0	0	0	0	1	2	7	15	24	24	24	31	31	31	38	47	47
$10^5$	0	0	0	0	0	1	6	8	20	28	28	28	37	37	37	45	50	50
$10^7$	0	0	0	0	0	3	6	10	24	33	33	33	42	42	42	50	50	50
Testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Cuadro 13. Resultados de la evaluación por las diferentes concentraciones de la cepa HBb005. En color azul se puede observar la dosis que tuvo mayor mortalidad en el menor tiempo.

Concentraciones HBb005	MORTALIDAD/DIA																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	TOTAL
$10^3$	0	0	0	0	0	3	9	17	28	38	38	38	43	43	43	46	50	50
$10^5$	0	0	0	0	0	5	8	17	25	34	34	34	44	44	44	50	50	50
$10^7$	0	0	0	0	0	4	11	23	36	47	47	47	50	50	50	50	50	50
Testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

En los bioensayos finos podemos observar que dependiendo de la concentración utilizada para infectar langostas, es el número de individuos muertos por el HE (foto 15).



Foto 15. Langostas adultas muertas a los siete días después de la infección de la cepa HBb005 en la concentración  $1 \times 10^7$ .

En el análisis podemos notar que en la concentración de  $1 \times 10^7$  esporas/1 ml de la cepa HBb005 se murieron el 100% de los individuos al decimotercer día lo cual significa que esa concentración es la adecuada para matar a la mayoría de langostas. La cepa HMa014 fue menos agresiva, ya que mató a la totalidad de las langostas al dieciseisavo día, siendo la concentración más infectiva la  $1 \times 10^7$  esporas/1 ml. La aparición del micelio ocurrió a las 48 horas de muerte los insectos cuando se les colocó en cámara húmeda. Las cepas esporularon en el cadáver de las langostas, adquiriendo un aspecto pulverulento en caso de la cepa de *B. bassiana* una coloración blanca y en lo correspondiente a la cepa de *M. anisopliae* la coloración es verde olivo (Foto 16 y 17).



Foto 16. Micelio característico de cepa de *B. bassiana* HBb005, coloración blanquecina.



Foto 17. Micelio característico de la cepa de *M. anisopliae* HMa014, coloración verde olivo.

Estos fueron los resultados obtenidos en el laboratorio después de realizar bioensayos burdos y bioensayos finos, lo cual permitió encontrar y seleccionar las cepas altamente infectivas, por producción de micelio, concentración de esporas/ml, infectividad de la cepa en el menor tiempo posible. Posteriormente se realizaron ensayos en campo con las cepas HMa014 y HBb005.

#### 7.5. INOCULACIÓN DE LAS CEPAS HMa014 Y HBb005 SOBRE SUSTRATO NATURAL DE ARROZ

En el sustrato final de arroz se observó que se cubrió por las esporas del hongo, *Beauveria bassiana* tiñó el sustrato de color blanco y *Metarhizium anisopliae* de color verde olivo (Foto 18). Cada bolsa tuvo un peso aproximado a 300 gramos y a cada bolsa se le inoculó 10 mililitros de la solución fúngica.



Foto 18. Características de las dos cepas de HE inoculadas en sustrato de arroz. Derecha. HMa014; Izquierda. HBb005.

Se obtuvieron un total de 54 bolsas inoculadas 27 bolsas de *B. bassiana* y 27 de *M. anisopliae* para realizar las aplicaciones en el campo.

7.6. CONTEO DE ESPORAS PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE ESPORAS EN EL SUSTRATO FINAL DE ARROZ (GRAMOS) APLICADA EN CAMPO.

Con la finalidad de estimar el rendimiento del producto, se realizó el conteo de esporas en el hematocitómetro, correspondiente a seis bolsas de sustrato de arroz inoculado con las cepas evaluadas en campo en una relación (3:3). Todas las bolsas contaron con diferentes pesos en gramos y con la fórmula correspondiente se obtuvo el rendimiento de esporas/gramo de arroz, obteniendo los siguientes resultados. (Cuadros 14 y 15).

Cuadro 14. Rendimiento (conidios/gramo) obtenido en diferentes bolsas de sustrato inoculado con la cepa HBb005.

Cepa HBb005		
MUESTRA (Gr)	CONTEOS	RENDIMIENTO (Esp/Gr)
<b>1 (241.6 gr)</b>	1	$1.82 \times 10^8$
	2	$1.83 \times 10^8$
	3	$1.2 \times 10^8$
<b>2 (248 gr)</b>	1	$1.5 \times 10^8$
	2	$1.22 \times 10^8$
	3	$1.24 \times 10^8$
<b>3 (243.6 gr)</b>	1	$9.22 \times 10^7$
	2	$9.7 \times 10^7$
	3	$1.24 \times 10^8$

Cuadro 15. Rendimiento (conidios/gramo) obtenido en diferentes bolsas de sustrato inoculado con la cepa HMa014.

Cepa HMa014		
MUESTRA (Gr)	CONTEOS	RENDIMIENTO (Esp/Gr)
<b>1 (230.4 gr)</b>	1	$1.3 \times 10^7$
	2	$1.3 \times 10^7$
	3	$9.5 \times 10^6$
<b>2 (240.5 gr)</b>	1	$9.9 \times 10^6$
	2	$9.8 \times 10^6$
	3	$9.6 \times 10^6$
<b>3 (258.7 gr)</b>	1	$1.04 \times 10^7$
	2	$1.06 \times 10^7$
	3	$9.9 \times 10^6$

El peso promedio de las bolsas es de 242.5 g y que la cepa que contuvo mayor concentración de esporas es la HBb005 (promedio  $1.32 \times 10^8$ ); fue esta misma cepa la que obtuvo mejores resultados en las aplicaciones de campo en comparación con la HMa014 (promedio  $1.06 \times 10^7$ ).

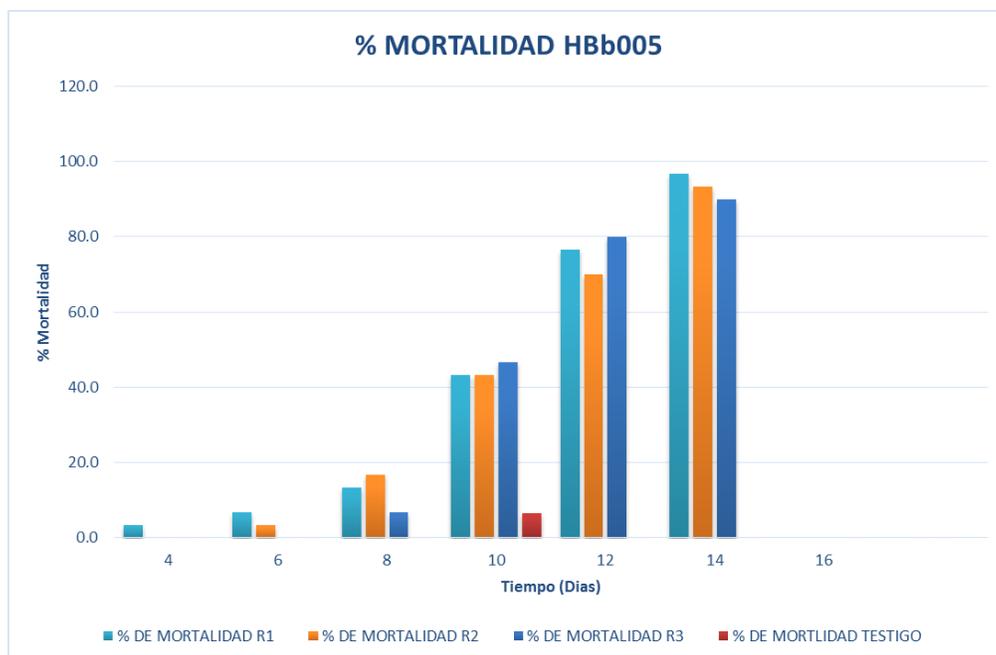
#### 7.7. DATOS OBTENIDOS DE LA APLICACIÓN EN CAMPO DE LAS CEPAS MÁS INFECTIVAS HBb05 Y HMa014.

##### **Tratamiento 1: Hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* cepa HBb005**

Los resultados de las tres repeticiones indican que la cepa es altamente infectiva, ya que más del 90% de los individuos habían muerto al día catorce y más del 50% de los individuos al día 12 (Cuadro 16 y Gráfica 2).

Cuadro 16. Conteo acumulado de individuos muertos por días transcurridos después de la aplicación de HBb005 y porcentaje (%) de mortalidad por cada repetición realizada en campo.

Tiempo (Días)	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Testigo	% Mortalidad R1	% Mortalidad R2	% Mortalidad R3	% Mortalidad Testigo
4	1	0	0	0	3.3	0.0	0.0	0
6	2	1	0	0	6.7	3.3	0.0	0
8	4	5	2	0	13.3	16.7	6.7	0
10	13	14	14	0	43.3	43.3	46.7	0
12	23	22	24	0	76.7	70.0	80.0	0
14	29	28	27	0	96.7	93.3	90.0	0
16	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0



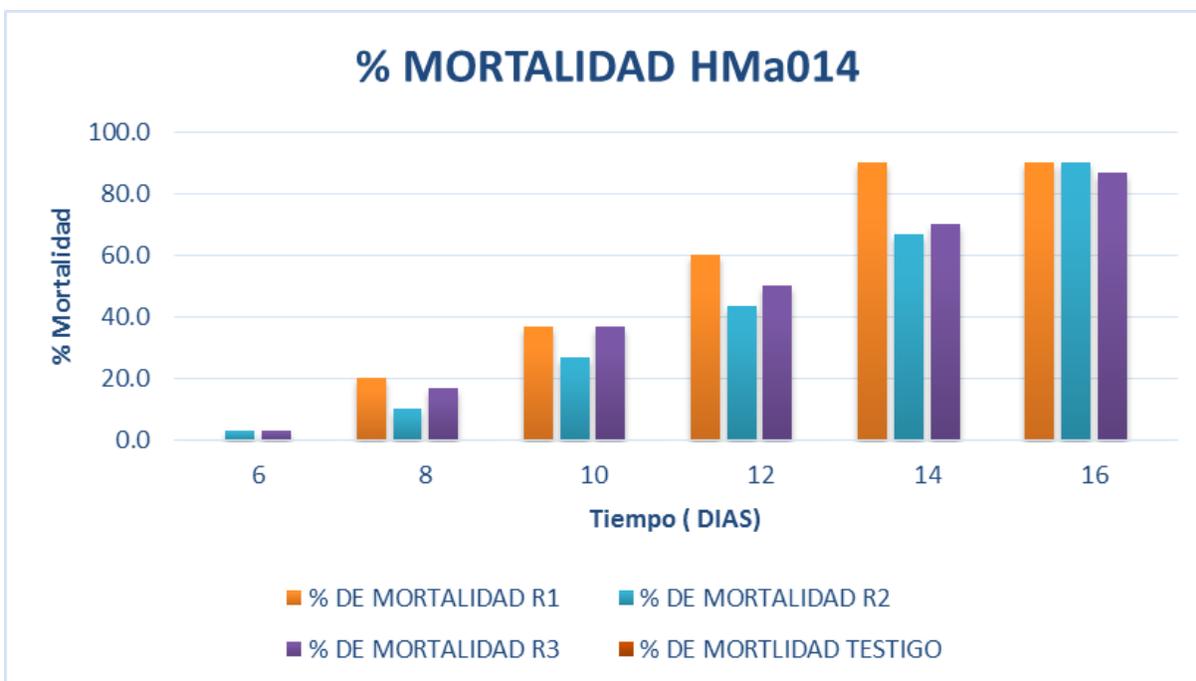
Gráfica 2. Porcentaje (%) de mortalidad en días, cuando utilizamos HBb005. Donde **R1**: Repetición 1, **R2**: Repetición 2 y **R3**: Repetición 3.

## Tratamiento 2: Hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* cepa HMa014

Los resultados de las tres repeticiones indican que la cepa Hma014 en comparación con la HBb005 es agresiva pero requiere mayor tiempo para matar a los individuos, tal como muestra el cuadro 17, en donde observamos que a los 16 días había muerto el 88.9 % de los individuos, en promedio de las tres repeticiones. (Cuadro 17 y Gráfica 3).

Cuadro 17. Conteo de individuos muertos por días transcurridos después de la aplicación de HMa014 y porcentaje (%) de mortalidad por cada repetición realizada en campo.

Tiempo (Días)	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Testigo	% Mortalidad R1	% Mortalidad R2	% Mortalidad R3	% Mortalidad Testigo
4	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0
6	0	1	1	0	0.0	3.3	3.3	0
8	6	3	5	0	20.0	10.0	16.7	0
10	11	8	11	0	36.7	26.7	36.7	6.6
12	18	14	15	0	60.0	43.3	50.0	0
14	27	21	21	0	90.0	66.7	70.0	0
16	0	28	26	0	0.0	90.0	86.7	0



**Gráfica 3.** Porcentaje (%) de mortalidad en días, cuando utilizamos HMa014. Donde **R1**: Repetición 1, **R2**: Repetición 2 y **R3**: Repetición 3.

El ensayo realizado en el presente estudio fue en jaulas en condiciones de temperatura y humedad ambientales; sin embargo, los resultados obtenidos fueron satisfactorios (Cuadro 18); donde las cepas eliminaron del 88% al 93.3% de población de langostas en el doceavo día con concentraciones de  $10^8$  conidias/ml y  $10^7$  conidias/ml. En un estudio similar realizado en México, *Hernández et al. (2003)* evaluaron al entomopatógeno *M. anisopliae var. Acridum* sobre *S. piceifrons* con una concentración de  $2.25 \times 10^{12}$ ; los resultados obtenidos fueron resultados satisfactorios.

En la tasa de infección de las cepas evaluadas, las características observables como la aparición de micelio y consistencia dura de la cutícula en ambas cepas, se dieron a las 36 horas después de la muerte del insecto al ser colocado en cámara húmeda; esto indica que la muerte fue provocada por un hongo entomopatógeno y no por bacterias saprofitas (Foto 19). También se observó alta cantidad de micosis por la cepa HBb005 y baja cantidad por la cepa HMa014 (Foto 20 y 21).

Cuadro 18. Tasa de infección causada por HBb005 y HMa014. (\*) Los individuos muertos en el testigo fueron a causa de otro factor como la depredación por hormigas.

TRATAMIENTO	TASA DE INFECCIÓN
HBb005	93.3 %
HMa014	88.9%
Testigo	6.6 % *



Foto 19. Individuos con características propias visibles de muerte por hongo entomopatógeno y bacterias saprofitas; muerte por hongo, consistencia dura del cuerpo sin olor; muerte por bacterias, consistencia suave del cuerpo con olor saprofito.



Foto 20. Individuo encontrado en campo después de la aplicación de la cepa HMa014 con gran cantidad de micelio en su cuerpo.



Foto 21. Individuos encontrados en campo después de la aplicación de la cepa HBb005 con gran cantidad de micelio en su cuerpo.

#### 7.8. TIEMPO DE LETALIDAD (TL50) DE LA POBLACIÓN DE *S. piceifrons piceifrons* EXPUESTA A LAS CEPAS MÁS INFECTIVAS.

Según el análisis Probit, el tiempo necesario para eliminar al 50% de la población fue de 10.2 y 7.6 días para Hma014 y HBb005 respectivamente. Según el análisis Probit, el TL50 de la cepa HBb005 es significativamente diferente del de la otra cepa evaluada, que mostró ser más efectiva actuando en menor tiempo (7.6 días) con una mortalidad del 97% (Cuadros 19 y 20), mientras que la otra cepa tuvo efectividad a los 10.2 días y alcanzó una mortalidad del 92% (Cuadros 20 y 21).

Cuadro 19. Datos capturados para realizar el análisis probit de la cepa HMa014.

	Day (Time)	Total (insect)	Dead (%)
<b>Control</b>	<b>0.00</b>	<b>30</b>	<b>0</b>
<b>2</b>	4	<b>30</b>	1
<b>3</b>	6	<b>30</b>	2
<b>4</b>	8	<b>30</b>	11
<b>5</b>	10	<b>30</b>	43
<b>6</b>	12	<b>30</b>	74
<b>7</b>	14	<b>30</b>	92

Cuadro 20. Determinación de la TL50. La Fila con letras color azul, corresponde al valor de la TL50 de la Cepa HMa014

LT/LC (%)	LD/LC Day	95%Fiducial CI	
		Lower	Upper
<b>LT44</b>	<b>9.527</b>	<b>7.965</b>	<b>11.395</b>
<b>LT45</b>	<b>9.647</b>	<b>8.066</b>	<b>11.539</b>
<b>LT46</b>	<b>9.769</b>	<b>8.167</b>	<b>11.684</b>
<b>LT47</b>	<b>9.892</b>	<b>8.270</b>	<b>11.831</b>
<b>LT48</b>	<b>10.016</b>	<b>8.374</b>	<b>11.980</b>
<b>LT49</b>	<b>10.142</b>	<b>8.479</b>	<b>12.130</b>
<b>LT50</b>	<b>10.269</b>	<b>8.585</b>	<b>12.282</b>
<b>LT51</b>	<b>10.397</b>	<b>8.693</b>	<b>12.436</b>
<b>LT52</b>	<b>10.528</b>	<b>8.802</b>	<b>12.592</b>
<b>LT53</b>	<b>10.660</b>	<b>8.912</b>	<b>12.750</b>
<b>LT54</b>	<b>10.794</b>	<b>9.024</b>	<b>12.910</b>
<b>LT55</b>	<b>10.930</b>	<b>9.138</b>	<b>13.073</b>

Cuadro 21. Datos capturados para realizar el análisis probit de la cepa HBb005.

	Day (Time)	Total (insect)	Dead (%)
<b>Control</b>	<b>0.00</b>	<b>30</b>	<b>0</b>
<b>2</b>	4	<b>30</b>	0
<b>3</b>	6	<b>30</b>	2
<b>4</b>	8	<b>30</b>	18
<b>5</b>	10	<b>30</b>	36
<b>6</b>	12	<b>30</b>	53
<b>7</b>	14	<b>30</b>	77
<b>8</b>	16	<b>30</b>	97

Cuadro 22. Determinación de la TL50. La fila con letras color azul corresponde al valor de la TL50 de la cepa HBb005.

LT/LC (%)	LD/LC Day	95%Fiducial CI	
		Lower	Upper
<b>LT44</b>	<b>7.489</b>	<b>6.801</b>	<b>8.247</b>
<b>LT45</b>	<b>7.522</b>	<b>6.831</b>	<b>8.283</b>
<b>LT46</b>	<b>7.555</b>	<b>6.860</b>	<b>8.319</b>
<b>LT47</b>	<b>7.587</b>	<b>6.890</b>	<b>8.355</b>
<b>LT48</b>	<b>7.620</b>	<b>6.920</b>	<b>8.391</b>
<b>LT49</b>	<b>7.653</b>	<b>6.949</b>	<b>8.427</b>
<b>LT50</b>	<b>7.686</b>	<b>6.979</b>	<b>8.463</b>
<b>LT51</b>	<b>7.719</b>	<b>7.009</b>	<b>8.500</b>
<b>LT52</b>	<b>7.752</b>	<b>7.039</b>	<b>8.536</b>
<b>LT53</b>	<b>7.785</b>	<b>7.070</b>	<b>8.573</b>
<b>LT54</b>	<b>7.819</b>	<b>7.100</b>	<b>8.610</b>
<b>LT55</b>	<b>7.853</b>	<b>7.131</b>	<b>8.647</b>

## 8. DISCUSION

Los aislamientos de los HE utilizados en este estudio se obtuvieron a partir de insectos (Cercopidae) y del suelo, esto quiere decir que los HE están presentes en su forma natural. Los HE se encuentran distribuidos mundialmente tal como lo señalan Zimmerman (1992), Glare (1992), Castineiras *et al* (1996) y Alcázar *et al* (2003), pues probablemente se encuentran atacando a muchos otros artrópodos.

Las características macroscópicas como aspecto, color, crecimiento, superficie y pigmentación en el medio de cultivo de cada cepa fueron variables, por lo que no son consideradas como únicos criterios para determinar la especie, como lo señala Vargas (2003) al caracterizar tres cepas de *Beauveria brongniartii*. Todas las cepas de *Beauveria bassiana* formaron sinemas. Según Samson *et al.* (1998), Rodríguez y Del Pozo (2003), estas estructuras son eficientes para la dispersión de conidios, lo cual indica que estas cepas serían buenas controladoras en el campo. En este estudio, las cepas presentaron diferente pigmentación en el medio de cultivo, en el caso de las cepas de *M. anisopliae*, algunas más oscuras que otras. El caso específico de *B. Bassiana*, cepa HBb005, el medio de cultivo se tornaba de color rojo, este pigmento podría ser ocasionado por las enzimas secretadas durante el crecimiento, tal como lo mencionan Pech (2013) y Vargas (2003) que han reportado tanto para *Beauveria bassiana* como para *Beauveria brongniartii*.

Entre los síntomas de la invasión del hongo en el hemocele se produce parálisis al insecto; esto explicaría la inmovilidad observada en *Schistocerca piceifrons*, que resulta en su muerte a partir del octavo día. Las langostas se tornaron rígidas coincidiendo con las descripciones de Vargas (2003), quienes además mencionan que durante la germinación del hongo se produce una degradación enzimática de la cutícula, causada por la secreción de endoproteasas, quitinasas y lipasas, entre otras enzimas; la presencia de manchas necróticas evidencia sitios de penetración del hongo, como una respuesta a la acción lítica de las enzimas liberadas durante la penetración.

Las cepas HBb005 (93.3%) y HMa014 (88.9%) con la mayor mortalidad al décimo y doceavo día muestran resultados similares a los obtenidos por Gallegos *et al.* (2003), quienes evaluaron cepas nativas de *Beauveria bassiana* en adultos de *Amphidees* spp.;

en dicho estudio las cepas SAA(99%) y HCA(97%) produjeron mortalidades al treceavo día de la aplicación. Por otra parte, Vera y Lagnaoui (2002), al evaluar la patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria brongniartii* sobre larvas de *Premnotrypes* spp., obtuvieron el 100% de mortalidad a los 7 días, tiempo menor a lo obtenido en el presente trabajo. Esto podría explicar que los hongos del género *Beauveria* actúan mejor en estadios iniciales (larvas o ninfas) de los insectos.

Se observó que algunas langostas infectadas en campo no presentaron respuesta de infección por el HE, lo cual posiblemente se debe a alguna cualidad de resistencia; tal es el caso que menciona Ouedraogo (2004) en su estudio sobre *Locusta migratoria* y su capacidad para bajar o elevar su temperatura para superar infecciones de HE. (Anexo Figura 21).

## 9. CONCLUSIONES

La mortalidad de *Schistocerca piceifrons piceifrons* es alta cuando es tratada *M. anisopliae* y *B. bassiana*, ambas cepas aisladas en Campeche, y comprobada su infección sobre acrididos tanto en laboratorio como en campo.

En el campo la mortalidad fue alta cuando se probaron ambas cepas, esto indica que ambas cepas son capaces de controlar poblaciones gregarígenas y/o solitarias de *S. piceifrons* en las condiciones climáticas de la península de Yucatán. De preferencia se deben realizar aplicaciones en los meses de alta humedad relativa y temperaturas que oscilen los 25°C a 30°C, que coinciden con los meses de agosto, septiembre, octubre y noviembre. En este estudio la mortalidad se dio de 8 a 16 días después de realizar el tratamiento, pero desde los días 5 y 6 los individuos dejan de moverse activamente y disminuyó su apetito, síntomas que se lograron apreciar en laboratorio y en campo.

Sin embargo, hacen falta más estudios con las cepas evaluadas u otras cepas con otros métodos de aplicación y alguna otra opción de sustrato o inclusive tamizado, así como dosis más altas o bajas.

## 10. RECOMENDACIONES.

Mejores resultados son obtenidos cuando se realiza una aplicación directa a los individuos que están sobre la vegetación, estas aplicaciones deben ser en horas de la tarde para permitir que las esporas tengan las condiciones ideales para penetrar en la cutícula de los insectos y es cuando tienen menor movilidad tanto adultos y ninfas. De preferencia realizar dos aplicaciones la segunda a los tres días de haber aplicado por primera vez.

Sería muy conveniente realizar una verificación de la especie que se encuentra establecida en la península de Yucatán, con herramientas de biología molecular caracterizando la o las especies presentes, esto debido a que existen poblaciones heterogéneas de acrididos en zonas de vegetación silvestre del estado de Campeche.

Estudiar taxonómicamente la variedad de ácaros, bacterias y protozoarios que parasitan a *S. piceifrons* e identificarlos en campo, esto sería una herramienta muy útil y opción de control biológico alternativo (Anexo Foto 22).

Con base en antecedentes de fuertes infestaciones de la plaga en la península y fenómenos meteorológicos relacionados al incremento de población en zonas gregarígenas, evaluar un modelo de predicción para determinar los tiempos y sitios con mayor probabilidad de presencia de la plaga y saber tomar las medidas de control necesarias para contrarrestar los daños ocasionados a las más de 400 especies vegetales que ataca *S. piceifrons*.

El empleo de organismos entomopatógenos como alternativa al uso de agroquímicos contra poblaciones de langosta es una alternativa viable, misma que por sus bondades puede ser empleada en áreas naturales protegidas con lo que evita daños a especies endémicas, riesgos de contaminación con plaguicidas a la miel en regiones exportadoras y mantos freáticos. Para 2016 el CESAVECAM (Comité Estatal de Sanidad vegetal de Campeche) tuvo como meta aplicar el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* en una superficie de 500 has.

## 11. ANEXOS

Cuadro 1. Importancia económica de la plaga y cultivos afectados en el año 2015 .Fuente: CESAVECAM.

CULTIVO	MUNICIPIO	NUMERO DE PRODUCTORES	SUPERFICIE (HAS)	PRODUCCIÓN (TON)	VALOR DE LA PRODUCCIÓN	COSTO DE PRODUCCIÓN	COSTOS FITOSANITARIOS
CAÑA DE AZUCAR	CHAMPOTON	1	5.00	295.00	122,720.00	30,950.00	950.00
<b>Total Estado</b>		<b>1</b>	<b>5.00</b>	<b>295.00</b>	<b>122,720.00</b>	<b>30,950.00</b>	<b>950.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>1</b>	<b>5.00</b>	<b>295.00</b>	<b>122,720.00</b>	<b>30,950.00</b>	<b>950.00</b>
MAIZ(GRAN O)	CAMPECHE	2	9.00	27.00	78,300.00	76,050.00	0.00
	CHAMPOTON	1	5.00	15.00	43,500.00	22,250.00	0.00
<b>Total Estado</b>		<b>3</b>	<b>14.00</b>	<b>42.00</b>	<b>121,800.00</b>	<b>98,300.00</b>	<b>0.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>3</b>	<b>14.00</b>	<b>42.00</b>	<b>121,800.00</b>	<b>98,300.00</b>	<b>0.00</b>
MONTE	CALKINI	6	72.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CANDELARIA	1	600.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CARMEN	2	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CHAMPOTON	2	12.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	HECELCHAKAN	3	23.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	HOPELCHEN	1	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	TENABO	3	42.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>Total Estado</b>		<b>18</b>	<b>754.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>18</b>	<b>754.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>
PALMA DE ACEITE(Elaeis guineensis)	CAMPECHE	1	200.00	1,500.00	1,800,000.00	2,400,000.00	0.00
	CANDELARIA	2	1,450.00	5,800.00	6,960,000.00	11,893,625.00	656,125.00
	CARMEN	3	2,547.00	10,188.00	12,225,600.00	6,367,500.00	0.00
<b>Total Estado</b>		<b>6</b>	<b>4,197.00</b>	<b>17,488.00</b>	<b>20,985,600.00</b>	<b>20,661,125.00</b>	<b>656,125.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>6</b>	<b>4,197.00</b>	<b>17,488.00</b>	<b>20,985,600.00</b>	<b>20,661,125.00</b>	<b>656,125.00</b>
PALMA DE COCO(Cocos nucifera)	CARMEN	1	3.00	2.10	15,750.00	6,000.00	1,200.00
<b>Total Estado</b>		<b>1</b>	<b>3.00</b>	<b>2.10</b>	<b>15,750.00</b>	<b>6,000.00</b>	<b>1,200.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>1</b>	<b>3.00</b>	<b>2.10</b>	<b>15,750.00</b>	<b>6,000.00</b>	<b>1,200.00</b>
PASTO	CANDELARIA	5	5,135.00	25,675.00	23,107,500.00	0.00	0.00
	CARMEN	3	53.00	318.00	286,200.00	0.00	0.00
<b>Total Estado</b>		<b>8</b>	<b>5,188.00</b>	<b>25,993.00</b>	<b>23,393,700.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>8</b>	<b>5,188.00</b>	<b>25,993.00</b>	<b>23,393,700.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>
SORGO	CAMPECHE	1	500.00	1,550.00	4,650,000.00	950,000.00	150,000.00

	HOPELCHEN	1	4.00	30.00	36,000.00	12,000.00	0.00
<b>Total Estado</b>		<b>2</b>	<b>504.00</b>	<b>1,580.00</b>	<b>4,686,000.00</b>	<b>962,000.00</b>	<b>150,000.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>2</b>	<b>504.00</b>	<b>1,580.00</b>	<b>4,686,000.00</b>	<b>962,000.00</b>	<b>150,000.00</b>
<b>TECA</b>	CANDELARIA	1	1,200.00	8,400.00	10,080,000.00	5,280,000.00	0.00
	CARMEN	1	800.00	5,600.00	6,720,000.00	13,000,000.00	0.00
<b>Total Estado</b>		<b>2</b>	<b>2,000.00</b>	<b>14,000.00</b>	<b>16,800,000.00</b>	<b>18,280,000.00</b>	<b>0.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>2</b>	<b>2,000.00</b>	<b>14,000.00</b>	<b>16,800,000.00</b>	<b>18,280,000.00</b>	<b>0.00</b>
<b>ZACATE</b>	CAMPECHE	1	16.00	48.00	24,000.00	46,400.00	0.00
	CANDELARIA	2	55.00	110.00	55,000.00	55,000.00	0.00
<b>Total Estado</b>		<b>3</b>	<b>71.00</b>	<b>158.00</b>	<b>79,000.00</b>	<b>101,400.00</b>	<b>0.00</b>
<b>Total Cultivo</b>		<b>3</b>	<b>71.00</b>	<b>158.00</b>	<b>79,000.00</b>	<b>101,400.00</b>	<b>0.00</b>
<b>Total Reporte</b>		<b>44</b>	<b>12,736.00</b>	<b>59,558.10</b>	<b>66,204,570.00</b>	<b>40,139,775.00</b>	<b>808,275.00</b>

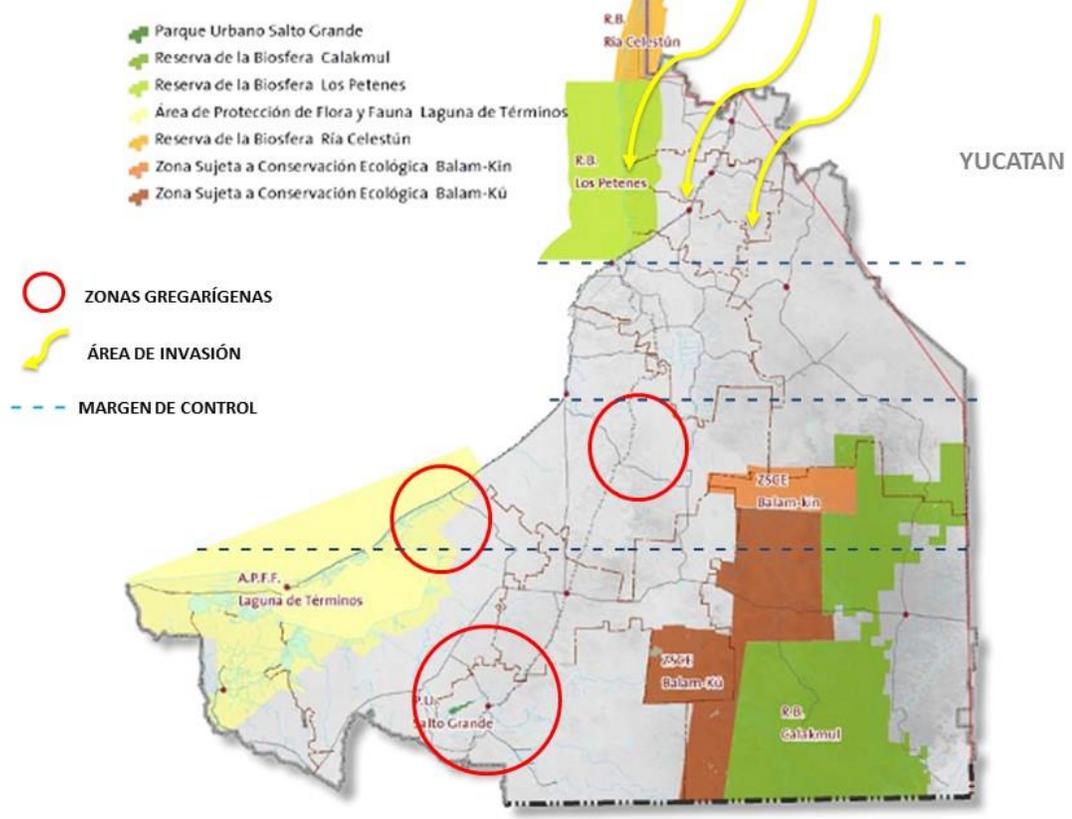


Gráfica 1. Histórico de superficie controlada de *S. piceifrons* en los últimos 5 años en el estado de Campeche. Fuente: CESAVECAM.



Foto 22. Individuo de *S. piceifrons piceifrons* parasitado posiblemente por algún ácaro; espécimen encontrado en Sabancuy, Campeche.

### Áreas Naturales Protegidas en el Estado



Mapa 1. Zonas gregarígenas del estado de Campeche, áreas de invasión y áreas naturales protegidas.

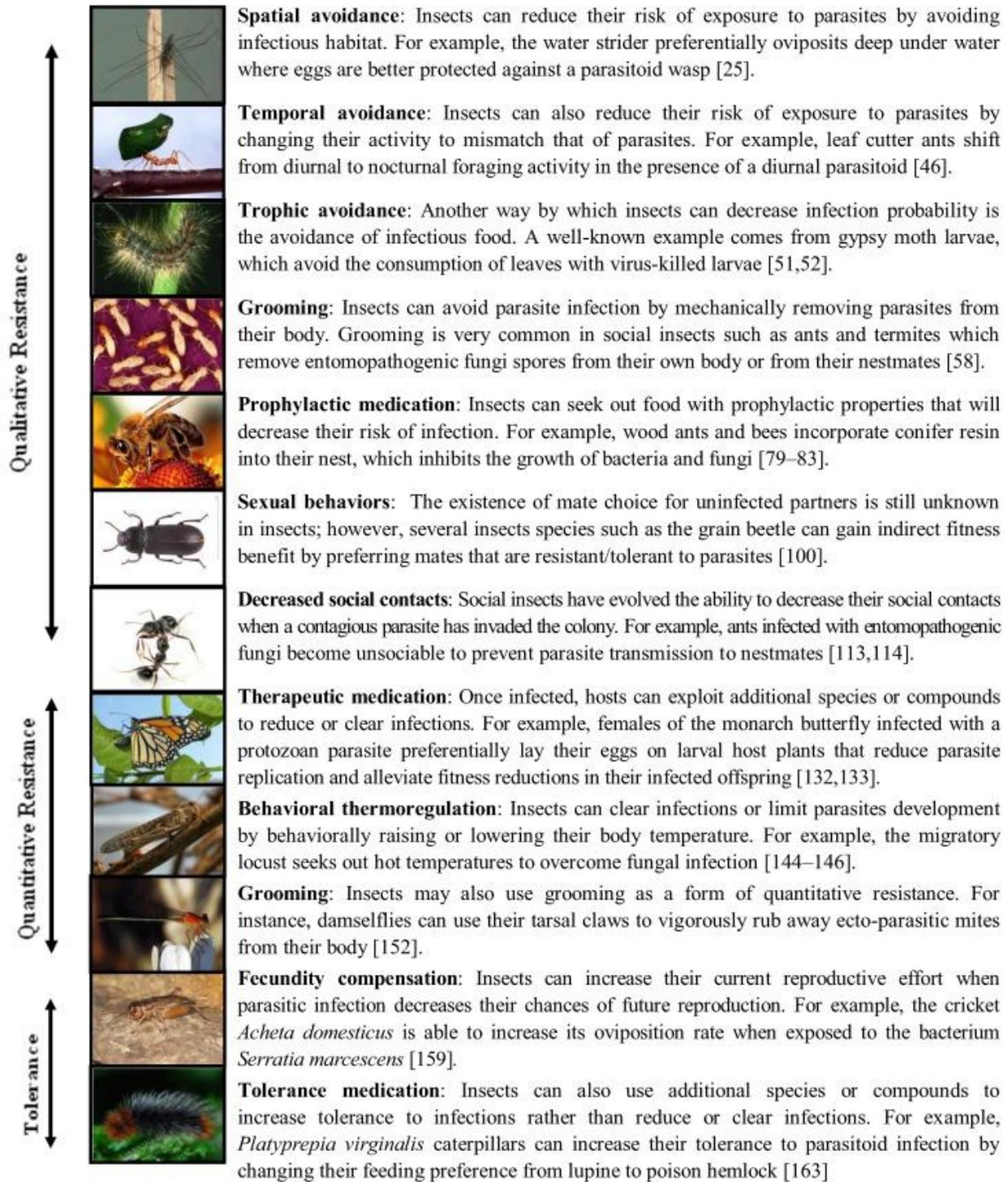


Figura 21. Cualidades de resistencia y tolerancia de insectos.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amedegnato, C. 1993 African–American relationships in the acridians (Insecta, Orthoptera). In The Africa–South America connection (ed. W. George & R. Lavocat), pp. 59–75. Oxford, UK: Clarendon Press.
- Apperson CS, Federici BA, Tarver FR, Stewart W. 1992. Biotic and abiotic parameters associated with an epizootic of *Coelomomyces punctatus* in a larval population of the mosquito *Anopheles quadrimaculatus*. *J Invertebr Pathol* 60: 219-228.
- Apperson CS, Federici BA, Tarver FR, Stewart W. 1992. Biotic and abiotic parameters associated with an epizootic of *Coelomomyces punctatus* in a larval population of the mosquito *Anopheles quadrimaculatus*. *J Invertebr Pathol* 60: 219-228.
- Asaff TA, Reyes VY, López LVE, De la Torre MM. 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva, México* 21: 291-295.
- Asaff, A.; Cerda-García-Rojas, C.; Viniegra González, G.; de la Torre, M. 2006. Carbon distribution and redirection of metabolism in *P. fumosoroseus* during solid-state and liquid fermentations. *Process Biochem.* 41 (6): p. 1303-1310.
- Astacio., 1987. Manual del prospector antiacrididiano. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). División de Sanidad Vegetal. Boletín técnico. Costa Rica. 22: 1- 49.
- Barrientos L. 2001. Taxonomía y Sistemática de Acridoideos, especies más importantes en México. *Ecología, Manejo y Control de la Langosta Voladora (Schistocerca piceifrons piceifrons, Walker). Memorias Curso I Internacional.* Instituto Tecnológico de Ciudad Victoria, Tamaulipas. México
- Barrientos, L. 2003. *Orthopteros Plaga de México y Centro América: Guía de Campo.* Instituto Tecnológico de Cd. Victoria, COSNET, SEP-CONACYT. México. 114 p.

- Barrientos, L.L., 1992 Manual técnico sobre la langosta voladora (*Schistocera piceifrons* Walker 1870 y otros acridoideos de Centro America y Sureste de Mexico. FAO-AGOLIOIRSA. San salvador, El salvador. 162 p.
- Bidochka M.J., Khachatourians G.G. The implication of metabolic acids produced by *Beauveria bassiana* in pathogenesis of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. J. Invertebr. Pathol. 1991;58:106–117. doi: 10.1016/0022-2011(91)90168A:1007529617032)
- Bidochka, J. M., Kamp, A. M. Kamp and Amrhita de Cross, J.N. 2000. Insect pathogenic fungi: from genes to populations. In: Fungal Pathology Kronstad, J.W. Springer, Inc. 400 p.
- Bidochka, M. J., St. Leger, R. J., y Roberts, D. W. 1997. Mechanisms of deuteromycete fungal infections in grasshoppers and locusta: an overview. Memoirs of the Entomological Society of Canada, 171: 213-224.
- Bustillo, A., 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. In: seminario Uso de entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá, pp. 30-53.
- Castineiras, A; Peña, J. E; Duncan, R. Y Osborne, L. 1996. Potential of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as biological control agents of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae). Florida Entomologist. 79 (3); 458-461.
- Clarkson, J. M., and A. K. Charnley. 1996. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insect. Trends Microbiol.4:197–203.
- Dillman AR & Sternberg PW (2012) Entomopathogenic nematodes. *Curr. Biol.* 22(11): R430-1
- Dirsh, V. M. 1974 Genus *Schistocerca* (Acridomorpha, Insecta). The Hague, The Netherlands:

- Edgington, S., Segura, H., De la Rosa, W. and Williams T. 2000. Photoprotección of *Beauveria bassiana*: testing simple formulations for control of the coffee berry borer. *International journal of pest management*, 46(3) 169-176.
- Fang, W., M. Pava-ripoll, S. Wang, and R. J. St. Leger. 2009. Protein kinase A regulates production of virulence determinants by the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Fungal Genet. Biol.* 46:277–285.
- FAO, (2011). Los efectos económicos de las plagas y enfermedades transfronterizas de los animales y de las plantas. *Estado mundial de la agricultura y la alimentación*. New York.
- FAO-SAGARPA 2001. Evaluación Establecimiento de Praderas 2000. *Sistema de Evaluación de la Alianza para el Campo* [www.evalalianza.org.mx]
- Freimoser, F.M., A. Grundschober, U. Tuor, M. Aebi, 2003. Regulation of hyphal growth and sporulation of the insect pathogenic fungus *Entomophthora thripidum* in vitro. *FEMS Microbiology Letters* 222:281-287.
- Galindo mendoza, maria Guadalupe, (2011), “los fundamentos de un sistema de vigilancia epidemiológica fitosanitaria” en Ma.guadalupe Galindo mendoza, carlos contreras s. y cristobal Aldama a. (coords), la vigilancia epidemiológica fitosanitaria en mexico: un acercamiento metodológico. Universidad autónoma de san Luis potosí. Mexico.
- Galindo Mendoza María Guadalupe, Contreras Servín Carlos, 2015, antecedentes históricos de las plagas en Mexico, , Atlas Nacional fitosanitario pg 16. Primera edición.
- Galindo Contreras María Guadalupe, Contreras Servín Carlos, Ibarra Zapata Enrique. 2013. La plaga de la langosta *Schistocerca piceifrons piceifrons* (Walker) una visión multidisciplinaria desde la perspectiva del desastre fitosanitario en México. Universidad autónoma de San Luis Potosí. Pag. 22-24.
- Gallegos, G; Olayo, R; Guerrero, E; Sánchez, M; Cepeda.M; Grant, Y. Y Quiroz, H. 2003. Native strains evaluation of *Beauveria bassiana* (vuill.) under *Amphidees spp.* in arteaga, Coahuila. p: 1-6.
- Garza, E., (2005), “LA LANGOSTA *Schistocerca piceifrons piceifrons* Y SU MANEJO EN LA PLANICIE HUASTECA”. *Folleto Técnico No. 12*. SAGARPA, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. San Luís Potosí, México. 23 p.

- Glare R., T. 1992. Fungal Pathogens Of Scarabs. En: Jackson, T.A. And Glare, R.T. Use Of Pathogens In Scarabs Pest Management. London: Atheneum Press. P: 63-79.
- Hajek, A. E., y St. Leger, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. Annual Review of Entomology, 39 293 - 322.
- Herrera, A., (1943), Plagas de la Agricultura y Manera de Combatirlas. Un Tesoro Para los Agricultores. *La Prensa*. México. 145p.
- Holder, D. J., B. H. Kirkland, M. W. Lewis, and N. O. Keyhani.2007. Surface characteristics of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* Microbiology 153:3448–3457
- Huerta et al., 2014. Control biológico del chapulín en Mexico. Biotecnología vol.8, no.1. *Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad Politécnica de Pachuca*
- Kermani N, Abu Hassan Z-A, Suhaimi A, Abuzid I, Ismail NF, et al. (2014) Parasitism Performance and Fitness of *Cotesia vestalis* (Hymenoptera: Braconidae) Infected with *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae): Implications in Integrated Pest Management Strategy. PLOS ONE 9(6): e100671. doi: 10.1371/ journal.pone.0100671
- Kevan, D. K. M. 1989 Transatlantic travelers. Antenna 13,12–15.
- Lomer C. J., Bateman R. P., Johnson D. L., Langewald J., Thomas M. 2001. Biological control of locusts and grasshoppers. Annual Review of Entomology 46: 667 702.
- Lozano M. M. Rodríguez, N. Vásquez y G. Gutiérrez. 2000. Efecto de *Metarhizium anisopliae* sobre plagas rizófagas de arracacha (*Arracaria anthorrhiza*) en Colombia. Manejo integrado de plagas (Costa Rica). 56:58-64.
- Luna, R. J. A. Y Lecuona, R. E. 2001. Selección de hongos entomopatógenos nativos para el control de la tucura *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae) INTA. Argentina, RIA, 31(1):67-84.

- Luz C, Fargues J. 1997. Temperature and moisture requirements for conidial germination of an isolate of *B. bassiana*, pathogenic to *R. prolixus*. *Mycopathologia* 138: 117-125.
- Márquez, A., (1963), *La lucha contra la langosta en México*. Edit. Fournier, S.A. México. 220 p.
- Monzon, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. (63): 95-103.
- Monzon, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. (63): 95-103.
- Motta-Delgado PA & Murcia-Ordoñez B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Revista Ambiente y Agua* 6(2): 77-90.
- Mujica, P., (1975), *La plaga de la "langosta" en México (Schistocerca paranensis, Börmeister)*. Dirección General de Sanidad Vegetal. México. 14 p.
- N. R. Lovejoy<sup>1,2,\*</sup>, †, S. P. Mullen<sup>2,5</sup>, †, G. A. Sword<sup>3</sup>, R. F. Chapman<sup>4</sup> and R. G. Harrison<sup>2</sup>, "Ancient trans-Atlantic flight explains locust biogeography: molecular phylogenetics of *Schistocerca*", 2005, *The Royal Society B* (2006) 273, 767–774 doi:10.1098/rspb.2005.3381. Published online 21 December 2005
- Ouedraogo R.M., Goettel M.S., Brodeur J. 2004. Behavioral thermoregulation in the migratory Locust: a therapy to overcome fungal infection. *Oecologia*, 138(2):312-9
- Parker, J. y R. Connin., (1997), *LANGOSTA sus hábitos y sus perjuicios*. Centro Regional de Ayuda Técnica, agencia para el Desarrollo Internacional. Lima. S.A. México. 30 p.
- Pech, C.; 2013. Diversidad Genética Y Expresión Diferencial De Enzimas Extracelulares En Hongos Entomopatógenos Nativos De Suelos Del Trópico Mexicano. Tesis para obtener el título de maestro en ciencias. Colegio de postgraduados. Campeche – Mexico. P:66.

- Pedrini, N., R. Crespo, M.P. Juárez, 2007. Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 146:124-137.
- Pérez Romagnoli, E. 2011. Saltamontes y langostas de las praderas uruguayas. Sitio argentino de producción animal
- Pucheta Díaz, M., A. Flores Macías, S. Rodríguez Navarro, M. de la Torre, 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia* 31:856-860.
- Richard, F.J., A. Aubert, C.M. Grozinger, 2008. Modulation of social interactions by immune stimulation in honey bee, *Apis mellifera*, workers. *BMC Biology* 6:1-13.
- Ritchie, M. & Pedgley, D. E. 1989 Desert locusts cross the Atlantic. *Antenna* 13, 10–12.
- Roberts, D. W., and R. J. St. Leger. 2004. *Metarhizium* spp., Cosmopolitan insect-pathogenic fungi: Mycological aspects. *Adv. Appl. Microbiol.* 54:1–70.
- Rodríguez, A. Y Del Pozo, E. 2003. Aislamiento de hongos entomopatógenos y evaluaron su virulencia sobre *Trialeurodes vaporariorum* (west). *Agrociencia*. 7(2): 71-78.
- Rosenberg, J. & Burt, P. J. A. 1999 Windborne displacements of Desert Locusts from Africa to the Caribbean and South America. *Aerobiologia* 15, 161–175. (doi:10.1023/
- Samson, R.; Evans, H.; Latge, J. 1988. "Atlas of Entomopathogenic Fungi". Springer-Verlag, Berlin. 300 pp.
- Scholte, E; Knols, B; Samsom, R; Taken, W. 2004. Entomopathogenic fungi for mosquito control: A review. *Journal of Insect Science*. 4(19): 24 pp.
- Solter LF, Becnel JJ (2000) Entomopathogenic microsporidia. In *Field Manual of Techniques for the Evaluation of Entomopathogens* (ed. Lacey, L. A. and Kaya, H.), 231–254. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

- Song, H. 2004 On the origin of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forska<sup>o</sup>) (Orthoptera: Acrididae: Cyrtacanthacridinae). Proc. R. Soc. B 271, 1641–1648. (doi:10.1098/rspb.2004.2758)
- Tanada, Y. And H. K. Kaya. 1993. Insect pathology. Academic Press, San Diego, California, USA: 666p.
- Tanada, Y.; Kaya H. 1993. Microbial control. In: Tanada Y.; Kaya H. (eds.). Insect pathology. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Tanzini M., S. Alves, A. Setten y N. Augusto. 2001. Compatibilidad de agentes tensoactivos con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Manejo integrado de plagas. (Costa Rica). 59:15-18.
- Trujillo, G. (1975). El problema de la Langosta *Schistocerca paranensis* Burm. Baja California, MEXico: sociedad de Geografía y estadística.
- Vargas, M. 2003. Caracterización de tres cepas de *Beauveria Brongniartii* (saccardo) petch y su virulencia en *Phthorimea operculella* (Séller) Y *Symmetrischema tangolias* (Gyen). Tesis para optar el Título de Biólogo con Mención en Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú. 78pp
- Vera, A. Y Lagnaoui, A. 2002. Evaluación de la patogenicidad de diferentes aislamientos de *b. brongniartii* sobre larvas de *premnolyces* spp. Convención Nacional de Entomología. Resúmenes. Lima, Perú. 82pp.
- Víctor M. Hernández-Velázquez, David M. Hunter, Ludivina Barrientos-Lozano, Roberto Lezama-Gutiérrez And Filiberto Reyes-Villanueva. 2003. Susceptibility of *Schistocerca piceifrons* (Orthoptera: Acrididae) to *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes): laboratory and field trials. Journal of Orthoptera Research 2003, 12(1): 89-92
- W. Junk. Harvey, A. W. 1981 A reclassification of the *Schistocerca americana* complex (Orthoptera: Acrididae). Acrida 10, 61–77.

Waage, JK. 1991. Biodiversity as a resource for biological control. En Hawksworth, D.L., (edit.), The biodiversity of microorganisms and invertebrates: its role in sustainable agriculture. C.A.B. International, U.K., pp. 149-163

Xianhui Wang<sup>1</sup>, Xiaodong Fang<sup>2</sup>, Pengcheng Yang<sup>1,3</sup>, Xuanting Jiang<sup>2</sup>, Feng Jiang<sup>1,3</sup>, Dejian Zhao<sup>1</sup>, Bolei Li<sup>1</sup>, Feng Cui<sup>1</sup>, Jianing Wei<sup>1</sup>, Chuan Ma<sup>1,3</sup>, Yundan Wang<sup>1,3</sup>, Jing He<sup>1</sup>, Yuan Luo<sup>1</sup>, Zhifeng Wang<sup>1</sup>, Xiaojiao Guo<sup>1</sup>, Wei Guo<sup>1</sup>, Xuesong Wang<sup>1,3</sup>, Yi Zhang<sup>1</sup>, Meiling Yang<sup>1</sup>, Shuguang Hao<sup>1</sup>, Bing Chen<sup>1</sup>, Zongyuan Ma<sup>1,3</sup>, Dan Yu<sup>1</sup>, Zhiqiang Xiong<sup>2</sup>, Yabing Zhu<sup>2</sup>, Dingding Fan<sup>2</sup>, Lijuan Han<sup>2</sup>, BoWang<sup>2</sup>, Yuanxin Chen<sup>2</sup>, JunwenWang<sup>2</sup>, Lan Yang<sup>2</sup>, Wei Zhao<sup>2</sup>, Yue Feng<sup>2</sup>, Guanxing Chen<sup>2</sup>, Jinmin Lian<sup>2</sup>, Qiye Li<sup>2</sup>, Zhiyong Huang<sup>2</sup>, Xiaoming Yao<sup>2</sup>, Na Lv<sup>4</sup>, Guojie Zhang<sup>2</sup>, Yingrui Li<sup>2</sup>, Jian Wang<sup>2</sup>, Jun Wang<sup>2</sup>, Baoli Zhu<sup>4</sup> & Le Kang<sup>1,3</sup>, The locust genome provides insight into swarm formation and long-distance flight., NATURE COMMUNICATIONS | 5:2957 | DOI: 10.1038/ncomms3957 |www.nature.com/naturecommunications, 2014

Zimmermann, G. 1992. *Metarhizium Anisopliae* - An Entomopathogenic Fungus. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer. 45 (1):113 -128.

Zimmermann, G. 1986. Insect pathogenic fungi as pest control agents. En: Biological Plant and Health Protection. (Franz, J. M., Ed.) G. Fischer Verlag, Stuttgart. pp. 217 – 231