



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

***Leptoglossus zonatus* EN *Jatropha curcas* BAJO DOS AMBIENTES
DIFERENTES Y SU CONTROL BIOLÓGICO CON *Beauveria bassiana***

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

PRESENTA:

OSCAR DANIEL BARRERA SÁNCHEZ



CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, 9 DE DICIEMBRE DE 2010



Leptoglossus zonatus EN *Jatropha curcas* BAJO DOS AMBIENTES DIFERENTES Y
SU CONTROL CON *Beauveria bassiana*

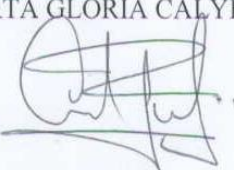
Tesis realizada por **OSCAR DANIEL BARRERA SÁNCHEZ** bajo la dirección del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para
obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



HUMBERTA GLORIA CALYECAC CORTERO



CODIRECTOR:

VICTOR ROGELIO CASTREJÓN GÓMEZ

ASESOR



SAMUEL RAMÍREZ ALARCON



ASESOR

JESÚS AXAYÁCATL CUEVAS SÁNCHEZ

Chapingo México, diciembre de 2010

AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (CONACYT), por el apoyo brindado durante la duración de la maestría, debido a que sin la beca otorgada, no hubiera sido posible continuar con mis estudios.

A la Universidad Autónoma Chapingo por la formación profesional adquirida durante la duración de mis estudios de maestría. Así como a los profesores que me impartieron clases.

Al Dr. Jesús Cuevas, quien durante mucho tiempo me ha apoyado en la medida de lo posible y quien me ha enriquecido como profesionista y como ser humano al aportarme no sólo conocimiento académico, sino filosofía de vida.

A la Dra. Gloria, quien además de la paciencia y guía durante la presente investigación, ha sido un ejemplo de esfuerzo, dedicación y de que también hay otras cosas importantes fuera de una aula de clases, como la familia.

Al Dr. Castrejón, quien me apoyo en la colectas en campo y en las revisiones del presente escrito además de brindarme ánimo para terminar.

A Zenón, Rosa Elba y Jesús, de quienes debo la ayuda brindada en el trabajo de campo y en la información proporcionada. De ellos aprendo que es importante hacer las cosas de manera humilde y desinteresada.

A Jhony Navat por su capacitación, disposición y preocupación para que las cosas quedaran bien aprendidas, además de haber logrado una amistad.

A Fany Valencia, porque desde el inicio creyó en el proyecto que iniciamos y terminamos juntos además de haber estado presente en todas y cada una de las etapas apoyándome, por lo que fue una parte indispensable en esta investigación y de quien estaré siempre agradecido.

A todos los que en el camino he encontrado, que me hacen ver lo afortunado que soy al sumar más y más personas que me estiman y estimo, y que por falta de espacio no terminaría de mencionar.

DEDICATORIA

A mi abuelo, quien ha estado siempre junto a mí en cada decisión que he tomado iluminado por sus sabios consejos, los cuales hasta ahora sigo tratando de entender. A mi madre y hermanas quienes creen en mí y en quienes me he apoyado en todo momento, quizá sin que muchas veces se den cuenta pero quienes siempre tengo presentes.

A la familia que me estima y que me desea que pueda cumplir mis metas, y con quienes comparto muchas de mis experiencias.

A mis amigos con quienes he compartido momentos importantes a lo largo de mi vida y en quienes me he apoyado en situaciones adversas, porque también son parte de mi familia y quienes espero conservar.

A mis profesores de quienes he aprendido algo más que realizar agricultura, sino también quienes me han enseñado filosofía de vida.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por haberme proporcionado las facilidades y los medios necesarios para crecer como persona, y como un recurso humano capaz de contribuir al desarrollo del país.

A la gente de México, que con sus impuestos pude formarme profesionalmente y a quienes espero retribuir con mi trabajo, todo el apoyo recibido.

DATOS BIOGRÁFICOS

Oscar Daniel Barrera Sánchez, nació en 27 de mayo de 1984 en la comunidad de San Miguel Coatlinchan, en el Municipio de Texcoco, Estado de México. Realizó sus estudios de Bachillerato de 1999 a 2002 en la Preparatoria Oficial Número 100 “Luz Sánchez”, ubicada en el municipio de Texcoco, Estado de México. Ingreso en el año 2002 a la Universidad Autónoma Chapingo y concluyó sus estudios como Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia en el año 2007. En el 2008 ingreso al programa de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal en la misma Universidad donde concluyó sus estudios en el año 2010.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	11
ABSTRACT	12
I. INTRODUCCIÓN	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA	16
2.1 <i>Jatropha curcas</i> L.: Centro de origen, distribución y características de la especie	16
2.1.1 Importancia y usos de la especie	17
2.1.2 Descripción botánica	18
2.1.2.1 Flor	19
2.1.2.2 Hojas	19
2.1.2.3 Fruto	19
2.1.2.4 Raíz	19
2.1.3 Aspectos de sanidad del cultivo	20
2.1.3.1 Plagas reportadas a nivel mundial	20
2.1.3.2 Hemiptera: Heteroptera	25
2.1.3.3 Chinchas “pata de hoja” Hemiptera: Coreidae	26
2.1.3.3.1 Importancia económica	27
2.1.3.4 <i>Leptoglossus zonatus</i> (Dallas)	28
2.1.3.4.1 Distribución y Biología	28
2.1.3.4.2 Daños	29
2.1.3.4.3 Control	31
2.2 Hongos entomopatógenos	31
2.2.1 Adhesión de la espora al insecto	33

2.2.2 Germinación de la espora	33
2.2.3 Penetración en el hemocèle	34
2.2.4 Penetración a través de aberturas naturales externas	35
2.2.5 La cutícula de los insectos como barrera	35
2.2.6 Desarrollo del hongo	36
2.2.7 Dispersión de las esporas	37
2.3. <i>Beauveria bassiana</i>	37
2.3.1 Morfología y ciclo de vida	37
2.3.2 Control de <i>B. bassiana</i> en Coleoptera.....	40
2.3.3 Control de <i>B. bassiana</i> en Lepidoptera	42
2.3.4 Control de <i>B. bassiana</i> en Ortoptera	43
2.3.5 Control de <i>B. bassiana</i> en áfidos.....	44
2.3.6 Control de <i>B. bassiana</i> en Hemiptera.....	45
2.3.7 Control de <i>B. bassiana</i> en Heteroptera	45
2.3.8 Control de <i>B. bassiana</i> otros ordenes	45
2.4 Perspectivas de los bioplaguicidas	46
2.4.1 Mercado de bioinsecticidas en México	46
III. MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.1 Fase de campo	50
3.1.1 Búsqueda de <i>L. zonatus</i> en plantaciones de <i>J. curcas</i>	50
3.1.2 Colecta del insecto	51
3.2 Fase de laboratorio.....	52
3.2.1 Establecimiento de la cría	53
3.3 Prodecencia de cepas de <i>B. bassiana</i>	54
3.4 Evaluación de la patogenicidad de tres cepas de <i>B. bassiana</i>	54
3.5 Evaluación de la mortalidad.....	55
3.6 Germinación de conidias	55
3.7 Efectividad biológica de la cepa BB01.....	56

3.8 Análisis de datos.....	56
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
4.1 Presencia de <i>L. zonatus</i> plantaciones de <i>J. curcas</i> bajo dos ambientes diferentes.....	57
4.2 Establecimiento de la cría.....	59
4.3 Patogenicidad de tres cepas de <i>B. bassiana</i>	62
4.4 Efectividad biológica de la cepa BB01 de <i>B. bassiana</i>	65
V. CONCLUSIONES.....	70
VI ANEXOS	71
6.1 Recomendaciones	71
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de distribución y centros de origen del Género <i>Jatropha</i>	16
Figura 2. Partes importantes de <i>J. curcas</i>	18
Figura 3. <i>L. zonatus</i> alimentándose de frutos de piñón.	30
Figura 4. Principales estructuras morfológicas <i>B. bassiana</i>	38
Figura 5. Colecta de <i>L. zonatus</i> en parcelas experimentales de CEPROBI.	52
Figura 6. Jaulas de vidrio para cría de <i>L. zonatus</i>	52
Figura 7. Cámara de cría de <i>L. zonatus</i>	53
Figura 8. Cuarentena de <i>L. zonatus</i>	60
Figura 9. Comparación de esporulación entre cepas de <i>B. bassiana</i> sobre adultos de <i>L. zonatus</i>	63
Figura 10. Tiempo Letal 50 de cepas de <i>B. Bassiana</i>	65
Figura 11. Tiempo Letal 50 para concentraciones de BB01.	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Agente causal, descripción de daño, y lugar de los principales problemas fitosanitarios reportados en el cultivo de <i>J. curcas</i>	21
Cuadro 2. Procedencia de las cepas de <i>B. bassiana</i> utilizadas en los bioensayos.	54
Cuadro 3. Supervivencia en días de ninfas recién emergidas de segundo instar de <i>L. zonatus</i>	61
Cuadro 4. Porcentaje de mortalidad y esporulación, concentración de esporulación y germinación de conidias de tres cepas de <i>B. bassiana</i> sobre adultos de <i>L. zonatus</i>	62
Cuadro 5: Tiempo Letal 50 en días y significancia de tres cepas de <i>B. bassiana</i> sobre adultos de <i>L. zonatus</i>	64
Cuadro 6. Porcentaje de mortalidad y esporulación, concentración de esporulación de cepa BB01 de <i>B. bassiana</i> sobre adultos de <i>L. zonatus</i> . .	66
Cuadro 7. Dosis Letal 50, en conidias mL ⁻¹ de la cepa BB01 de <i>B. bassiana</i> en adultos de <i>L. zonatus</i>	67
Cuadro 8. Tiempo Letal 50 en días de la cepa BB01 de <i>B. bassiana</i> en adultos de <i>L. zonatus</i>	68
Cuadro 10: Tipos y descripción de formulaciones de hongos entomopatógenos.	48

RESUMEN

Leptoglossus zonatus* EN *Jatropha curcas* BAJO DOS AMBIENTES DIFERENTES Y SU CONTROL BIOLÓGICO CON *Beauveria bassiana

Leptoglossus zonatus ha sido reportada como una plaga importante en *Jatropha curcas* (piñón), debido a ello se buscó su presencia en dos sistemas de cultivo de piñón y en traspatio. En la búsqueda de métodos de control de *L. zonatus*, se estudió la patogenicidad y virulencia de cepas de *Beauveria bassiana* sobre adultos de *L. zonatus* en condiciones de laboratorio. *L. zonatus* se encontró presente ocasionando daño en frutos de piñón en monocultivo. También se encontró en plantas de traspatio pero sin ocasionar daños importantes a la planta. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) y LSD ($\alpha=0.06$) en el primer y segundo ensayo respectivamente. Se calculó la DL50 y TL50 mediante un análisis probit. La cepa BB01 tuvo una mortalidad 85.7% y del 100% en el primer y segundo ensayo respectivamente. La Dosis Letal 50 (DL50) fue de 5.2×10^7 conidios mL⁻¹ y el Tiempo Letal 50 (TL50) fue de 5.9 días.

Palabras Clave: *Leptoglossus zonatus*, *Beauveria bassiana*, *Jatropha curcas*, control biológico.

ABSTRACT

Leptoglossus zonatus* IN *Jatropha curcas* IN TWO DIFFERENT ENVIRONMENTS AND ITS BIOLOGICAL CONTROL BY *Beauveria bassiana

Leptoglossus zonatus has been reported as an important pest in *Jatropha curcas* (Physic nut), for this reason this pest was searched in two cropping systems and backyard home. In search of methods to control for *L. zonatus*, was studied the pathogenicity and virulence of strains of *Beauveria bassiana* on adult *L. zonatus* under laboratory conditions. *L. zonatus* was found to causing fruit damage in monoculture Physic nut. Also was found in backyard plants but did not causing significant damage to the plant. For comparison of means used Tukey test ($\alpha = 0.05$) and LSD ($\alpha = 0.06$) in the first and second trial respectively. The LD50 and LT50 was calculated by probit analysis. BB01 strain had a mortality rate of 85.7% and 100% in the first and second trial respectively. Lethal Dose 50 (LD50) was 5.2×10^7 conidia mL⁻¹ and the Lethal Time 50 (LT50) was 5.9 days.

Keywords: *Leptoglossus zonatus*, *Beauveria bassiana*, *Jatropha curcas*, biological control.

I. INTRODUCCIÓN

Los desastres naturales y la pérdida de la biodiversidad son debidos en parte a actividades humanas causando daños irreparables al planeta (Martínez, 2007). La contaminación generada por el uso de productos derivados del petróleo, ha causado el deterioro de la capa de ozono y a su vez, la aceleración del calentamiento de la biosfera del planeta, debida en parte, por el aumento de la concentración de CO₂ en la capa de ozono (Soares, 2010).

La creciente preocupación de las naciones por disminuir y contrarrestar el cambio climático y sus efectos, ha desencadenado que investigadores de diversas disciplinas desarrollen alternativas viables (y otras aún en estudio), para sustituir los productos contaminantes derivados del petróleo y generar energía. Tal es el caso de los biocombustibles, elaborados a partir de procesar el aceite extraído de la semillas de diversas plantas tanto cultivadas como silvestres e incluso se están utilizando plantas no vasculares como algunas algas (Martínez, 2004). Se especula que para el 2015 la demanda mundial de biocombustibles será de 36 billones de litros (Soares, 2010).

Uno de los inconvenientes de utilizar especies oleaginosas para elaboración de biocombustibles, es la crisis alimentaria debida en parte al alza de precios de dichos productos para consumo humano. Por lo anterior, la transformación del aceite de semillas de especies silvestres y no alimenticias a biocombustible o bien para uso multiple, cobra importancia como objeto de estudio a nivel mundial.

Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae), es una planta originaria de México y Centroamérica, utilizada principalmente para obtener biodiesel mediante el

procesamiento del aceite extraído de las semillas. Actualmente esta especie se encuentra distribuida en Centro y Sudamérica, África, India y Sureste de Asia y Australia (Carels, 2009). Por su alto contenido de aceite y proteína (40% y 30%, respectivamente), está siendo estudiada ampliamente en todo el mundo (Martínez, 2004).

El piñón de cerro, como se le conoce comúnmente a *J. curcas*, es un material que en México cuenta con diversos usos tradicionales, principalmente en Las Huastecas y pueblos totonacos; como tutor de la vainilla, condimento para comidas típicas, para reforestación, cercas vivas, conservación de suelos, medicinal y su uso potencial industrial es como bioenergético (Cuevas¹, 2008 comunicación personal).

Actualmente, en las plantaciones establecidas en todo el mundo, se presentan problemas fitosanitarios en diversas partes de la planta y en las diferentes etapas fenológicas, siendo los más comunes; pudrición de raíces y tallos causados por hongos así como daños al follaje y frutos debido a la incidencia de insectos, destacando por su importancia *Pachycoris klugii* Burmeister (Hemiptera: Scutelleridae) y *Leptoglossus zonatus* Dallas (Hemiptera: Coreidae) los cuales en estado adulto se alimentan de frutos inmaduros, causando deformaciones o disminución de su diámetro lo cual repercute en el peso total del mismo, así como en la formación de semillas (Grimm, 1999). La incidencia de *L. zonatus* redujo el rendimiento de semilla en plantaciones de Nicaragua en un 21% (Grimm y Guharay, 1998). En México *J. curcas* se asocia con diversos cultivos y se aprovecha como planta medicinal, de reforestación y alimenticia especialmente en regiones rurales, por lo que el control de dichas plagas debe ser no residual ni tóxico para el hombre.

¹ Profesor investigador y curador del Banco Nacional de Germoplasma Vegetal ubicado en el Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

En los últimos años el piñón se ha sembrado en grades extensiones y se están reportando problemas fitosanitarios, sin embargo falta información sobre éste aspecto, aunque se reporta a *L. zonatus* como una de las plagas más importantes de *J. curcas* además de ser un generalista que se alimenta de otros cultivos como granos de cereales y de frutales y hortalizas de importancia económica.

Debido a lo anterior, los agentes de control biológico cobra importancia. El uso de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* (Bals.) puede resultar en un control eficiente para *L. zonatus* (Grimm y Guharay, 1998).

Objetivos generales

- Determinar de la presencia de *L. zonatus* sobre *J. curcas* en dos sistemas de producción.
- Establecer una cría de *L. zonatus* bajo condiciones de laboratorio.
- Evaluar la patogenicidad y virulencia de tres cepas de *B. bassiana* para el control de adultos de *L. zonatus* en condiciones de laboratorio.

Objetivo particular

- Determinar la DL50 y TL50 de la cepa más patogénica de *B. bassiana* y virulenta en adultos de *L. zonatus* en condiciones de laboratorio.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 *Jatropha curcas* L.: Centro de origen, distribución y características de la especie

Algunos autores señalan a México como posible centro de origen del género *Jatropha* registrándose además de manera frecuente en zonas tropicales de América Central en países como: Belice, Costa Rica, Guatemala, El Salvador, Honduras y Panamá aunque la mayoría pertenecen a México (Figura 1), (Heller, 1996).



Figura 1. Mapa de distribución y centros de origen del Género *Jatropha*

(Fuente: Heller, 2006).

Por otra parte, información derivada de un gran número de ejemplares ubicados en herbarios de especies pertenecientes a este género, al menos se reportan al menos 46 especies diferentes colectadas en toda la República Mexicana (Cuevas¹, 2008; comunicación personal). Sin embargo, la polémica entre taxónomos, no permite precisar aún el número de especies existentes en México.

En México el piñón se puede localizar a lo largo de la vertiente del Golfo, desde Tamaulipas y el Norte de San Luís Potosí pasando por los estados de Hidalgo, Puebla y Veracruz, hasta el Norte de Chiapas. En la vertiente del Pacífico se encuentra en la Sierra Madre del Sur, Oaxaca y en la Sierra del Soconusco en Chiapas. También se encuentra en los estados de Tabasco, Yucatán, Michoacán, y Guerrero (Reyes, 2003).

2.1.1 Importancia y usos de la especie

Se desarrolla a una temperatura que oscila entre los 15 y 40°C con una precipitación que va desde los 250 hasta los 3000 mm anuales, también se encuentra en zonas semiáridas debido a que cuenta con mecanismos moleculares de resistencia a sequía. Puede crecer en un amplio rango de tipos de suelo siempre y cuando estén bien drenados y aireados (Carels, 2009).

El contenido de aceite varía de acuerdo al tipo de clima en el que se desarrolle. En países como Brasil, el aceite extraído de las semillas resulta tóxico por su contenido de ésteres de forbol. En México existen materiales que producen semillas comestibles, principalmente en la Sierra Norte de Puebla y Veracruz (Martínez *et al.*, 2004). Lo anterior representa una ventana de oportunidades al poder aprovechar la especie no solamente para la extracción de aceite que servirá para ser transformado en biodiesel, sino también para ser utilizada como alimento. El contenido de aceite está dentro del orden de las semillas oleaginosas y su valor nutritivo es semejante al del aceite de maíz (Cuevas, 2004; comunicación personal¹). En algunos lugares de México, su principal uso es como cercas vivas, pero cuenta con potencial para reforestación, debido a que la especie tiene gran facilidad de enraizamiento (Reyes, 2003).

En algunas comunidades de la Sierra Norte en Puebla, los habitantes consumen la semilla de piñón después de ser tostada para usarla como condimento en alimentos elaborados, o como botana en épocas de frío principalmente. Otro uso importante de la planta en esta región es el medicinal,

al usarse la savia de las ramas para sellar heridas así como tutor del cultivo de vainilla (Bautista, 2007). También se puede asociar con cultivos como café, cacahuete, chíá, frijol y maíz (Cuevas¹, 2009; comunicación personal).

2.1.2 Descripción botánica

Es un arbusto caducifolio de 3 a 5 m de altura, en condiciones favorables puede medir hasta 10 m (Carels, 2009), el diámetro del tronco es de 15 cm o más en arbustos adultos, la corteza es pálida papelosa que se desprende con facilidad y muy delgada de color pardo claro con pequeñas lenticelas, corteza interna lisa verrugosa de color verde oscuro, látex blanquecino con sabor amargo, ramas robustas, ascendentes y glabras. (Hannan-Jones y Csrhues, 2008) (Figura 2).

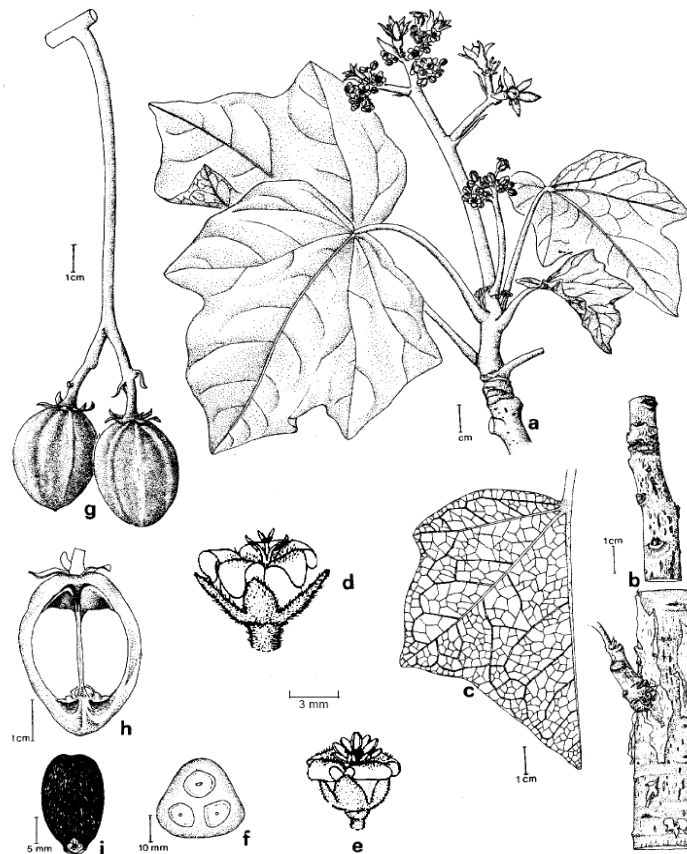


Figura 2. Partes importantes de *J. curcas*

a) Rama con inflorescencia, b) corteza, c) nervaduras de la hoja, d) flor pistilada, e) flor estaminada, f) corte transversal del fruto, g) frutos, h) corte longitudinal del fruto, i) semilla.

Fuente: Heller, 1996.

2.1.2.1 Flor

J. curcas es Monoica. En ocasiones presenta flores hermafroditas. Las flores se encuentran en racimos, cinco sépalos, de hasta 18 mm de largo (Hannan-Jones y Csrhues, 2008). (Figura 2). La flor femenina es rodeada normalmente por flores masculinas. Las flores masculinas abren por un período de 8-10 días en la inflorescencia. Las flores femeninas abren solamente 2-4 días y las bisexuales abren, pero raramente el ovario es funcional (Heller, 1996).

2.1.2.2 Hojas

Las hojas adultas miden de 15 a 20 cm de largo y de 14 a 18 cm de ancho, son alternas con una duración de 7 a 8 meses, pentalobuladas, delgadas, glabras, haz de color verde claro con nervios mediales y secundarios color amarillo y ligeramente unidos, el envés de color verde opaco con los nervios mediales y secundarios muy pronunciados, el margen entero, el ápice agudo, la base cordada, pubescente por el envés, nervación palmitífida, con cinco nervios principales originados desde la base de la hoja (Miller, 1962).

2.1.2.3 Fruto

Es una capsula ovoide, de 4 a 5 cm de largo y 3 a 4 cm de ancho, en estado inmaduro presenta un color verde, y cuando madura se torna de un color amarillo y después café (Hannan-Jones y Csrhues, 2008), las semillas son 3 ovoides por fruto, de 20 a 24 mm de longitud y de 10-12 mm de ancho con una línea blanquecina apical, indicando la posición de la carúncula, endospermo grueso, el embrión con dos cotiledones foliáceos, de 10-13 mm de longitud, de color blanco crema; plántulas con cotiledones simples glabros, con la base redondeada, el margen entero; borde liso (Miller, 1962).

2.1.2.4 Raíz

El desarrollo de la raíz depende de la forma de propagación de la especie. En siembra directa desarrolla raíces laterales y una principal en el centro. (Kumar y Sharma, 2008).

2.1.3 Aspectos de sanidad del cultivo

En diversas partes del mundo se han establecido plantaciones experimentales y comerciales de *J. curcas*. Lo cierto es que en la mayoría de la información obtenida sobre esta planta, se resalta entre sus cualidades, la ausencia de plagas que representen un problema grave para el desarrollo del cultivo. Sin embargo, con la aparición de grandes extensiones de piñón en forma de monocultivo, se están reportando problemas fitosanitarios que limitan su producción, aunque esté no sea un tema fundamental para los investigadores, quienes solo mencionan algunos insectos que se alimentan de hojas y frutos y de enfermedades presentes de manera aislada en plantas de *J. curcas* que se encuentran en forma silvestre y que podrían representar un problema al establecerse en extensivo.

La falta de información sobre temas relacionados con plagas y sanidad de *J. curcas* dificulta la difusión del proceso de producción de ésta importante especie, por lo que la investigación en temas de este tipo es de vital importancia.

2.1.3.1 Plagas reportadas a nivel mundial

Es importante destacar que los materiales con semillas tóxicas y no tóxicas son susceptibles al ataque de plagas y enfermedades. Al establecer plantaciones de *J. curcas* bajo condiciones de monocultivo, es posible que los organismos reportados en el cuadro anterior, representen un problema debido a que son plagas potenciales si se presentan las condiciones ambientales adecuadas (Heller, 1992). En los últimos años a nivel mundial se han reportado organismos que representan un problema fitosanitario en el cultivo de piñón (Cuadro 1).

Cuadro 1. Agente causal, descripción de daño, y lugar de los principales problemas fitosanitarios reportados en el cultivo de *J. curcas*

Agente causal	descripción de daño	Lugar del reporte	Fuente
microorganismos			
<i>Phytophthora</i> spp.	Pudrición de raíz y tallo de plántulas	Australia	Heller, 1992
<i>Phytium</i> spp.	Pudrición de raíz y tallo de plántulas	Australia	Heller, 1992
<i>Fusarium moniliforme</i>	Pudrición de raíz y tallo de plántulas	Australia	Heller, 1992, CABI 2005.
<i>Helmintosporium tetrameta</i>	Manchas en hojas		Singh, 1983
<i>Cochliobolus spicifer</i>	Daño en hojas		CABI, 2005
<i>Pestalotiopsis paraguensis</i>	Manchas en hojas	Australia	Singh, 1983, Kar y Das, 1987
<i>Pestalotiopsis versicolor</i>	Manchas en hojas		Singh, 1983
<i>Cercospora jatrophae-curcas</i>	Manchas en hojas		Heller, 2002, CABI, 2005
<i>Clitocybe tabescens</i>	Pudrición de raíz		Behl, 2009
<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	Manchas en hojas		Behl, 2009
<i>Phakopsora jatrophiicola</i>	Roya en hojas		Behl, 2009
(<i>Capnodium</i> spp.)	Cubre el follaje evitando que realice fotosíntesis		Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Elsinoe brasiliensis</i>	Causa elongación en la planta		Behl, 2009
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv <i>malvacearum</i>	Se puede encontrar en toda la planta, manchas negras en hojas y frutos		CABI, 2005
Insectos plaga			
<i>Julus</i> spp	Ataca plántulas	Australia	Heller, 1992
<i>Oedalus senegalensis</i>	Hojas en plántulas		Heller, 1992
<i>Lepidoptera Larvae</i>	Galerías en hojas		Heller, 1992
<i>Pinnaspis strachani</i>	Manchas negras y muerte regresiva en ramas		Heller, 1992
<i>Ferrisia Virgata</i>	Manchas negras y muerte regresiva en ramas		Heller, 1992
<i>Calleida degrei</i>	Succionan frutos	Australia	Heller, 1992
<i>Nezara viridula</i>	Succionan frutos	Australia	Heller, 1992
<i>Spodoptera litura</i>	Larva que se alimenta de hojas	Australia	Herbison-Evans y Crossley 2006, CABI 2005
<i>Scutellera nobilis</i>	Caída de flores, aborto de frutos, malformaciones en semilla	India	Shanker y Dhyani, 2006
<i>Pempelia morosalis</i>	Se alimenta de flores y frutos	India	Shanker y Dhyani, 2006
<i>Acrocercops thraustica</i>	Minador de hojas		CABI, 2005
<i>Achaea janata</i>	Se alimenta de hojas pero puede dañar frutos y flores	India	CABI, 2005
<i>Agonosoma trilineatum</i>	Se alimenta de las semillas	India	Shanker y Dhyani, 2006
<i>Oxycetonia versicolor</i>	Se alimenta de flores	India	Shanker y Dhyani, 2006

<i>Eurybrachis tomentosa</i>	Se alimenta de hojas	India	Shanker y Dhyani, 2006
<i>Podagrica</i> spp.	Daño en hojas	India	Behl, 2009
<i>Poliphagotarsonemus latus</i>	Daño en flores, hojas, ramas	India	Shanker y Dhyani, 2006
<i>Bemissia tabacci</i> biotipo "B"	Vector del Virus Africano del Mosaico		CABI 2005, Behl 2009,
<i>Pachycoris klugii</i>	Se alimenta de flores y frutos	Nicaragua	Grimm, 1999
<i>Leptoglossus zonatus</i>	Se alimenta de flores y frutos inmaduros	Nicaragua	Grimm, 1999
<i>Brevipalpus phoenicis</i>	Succiona savia de hojas y tallos causando manchas necróticas		CABI, 2005
<i>Pseudococcus jackbeardsleyi</i>	Daño en frutos y hojas, se alimenta de la savia.		CABI, 2005
<i>Diaprepes abbreviatus</i>	Se alimenta de las hojas		CABI 2005
<i>Retitrips silyacis</i>	Daño en hojas, y flores		CABI, 2005
<i>Pachycoris torridus</i>	Succiona savia de tallos y frutos	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Empoasca</i> spp.	Se alimenta de brotes y hojas terminales causando entrenudos cortos	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Oncometopia clarior</i>	Produce arrugamientos de hojas es transmisor de virus	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Molomea consolidata</i>	Produce arrugamientos de hojas es transmisor de virus	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Trigona truculenta</i>	Mastican peciolo, nervaduras y corteza de tallos	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Trigona amaltea</i>	Mastican peciolo, nervaduras y corteza de tallos	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Icerya purchasi</i>	Decoloración de hojas y debido a las excretas en forma de mielecilla permite el crecimiento de fumagina (<i>Capnodium</i> spp)	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Hypothenemus</i> sp.	Larvas y adultos se alimentan del fruto barrenándolo y permiten la entrada de otras enfermedades	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Atta cephalotes</i>	Defolian plantas pequeñas cortando las hojas en trozos	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009
<i>Exophthalmus</i> sp.	Los adultos comen flores y follaje tierno	Perú	Orihuela y Bocanegra, 2009

En el Sur de la India se caracterizó un virus específico para *J. curcas* denominado Virus Mosaico de *Jatropha* (VMJ) el cual tiene como vector a la mosquita blanca *Bemisia tabaci* 'Biotipo B' (Genn.). EL VMJ provoca distorsión y disminución del tamaño de la hoja, ampollas y reducción del crecimiento de la planta de manera general (Hannan-Jones y Csrhues, 2008). Dentro del complejo de hongos que han sido reportados en Australia como presentes en el piñón, se encuentran *Phytophthora*, *Pythium* y *Fusarium*, los cuales provocan pudrición de raíz y tallo en plántulas (Heller 1992). En lo que respecta a la hoja es atacada por *Helminthosporium tetrámera* McKinney, *Pestalotiopsis versicolor* (Phillips) y *Cercospora jatrophae-curcas* (Kar y Das). La pudrición de raíz, es causada por *Clitocybe tabescens* Bres., así como las manchas foliares, (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz), y la roya, (*Phakopsora jatrophiicola* Arth.), comienzan a ser cada vez más frecuentes. La superelongación de la planta causada por *Sphaceloma manihoticola* / *Elsinoe Brasilinesis* (Bitac y Jenkins).

En la India se han reportado más de 40 especies de insectos que afectan a *J. curcas*, de los cuales al menos una docena afectan a las plantaciones en Udumalpettai, Erode y Mettupalayam zonas de Tamil Nadu (Hannan-Jones y Csrhues, 2008). La langosta (*Oedaleus senegalensis* Krauss), se presenta en semillero dañando las hojas (Heller 1996). *Pinnaspis strachani* (Cooley) y la chiche harinosa (*Ferrisia virgata*, Cock.), causan la muerte regresiva de las ramas. La chiche azul, (*Calidea drege* LePelley) y chiche verde (*Nezara viridula* Linn.), dañan los frutos. Pero son dos insectos que están surgiendo como importantes plagas en el cultivo piñón en la India. El primero es una chinche (*Scutellera nobilis* Fabr.) la cual provoca la caída de flores, aborto de frutos y malformación de las semillas. El segundo es un barrenador de los botones florales (*Pempelia morosalis* Saalm-Uller), que causa daños económicos al alimentarse de las flores y en etapas posteriores daña los frutos (Shanker y Dhyani 2006). Las larvas del gusano cortador del tabaco, (*Spodoptera litura*

Fabr.) se alimentan de hojas de *J. curcas* y está presente en al menos dos terceras partes de Australia (Herbison-Evans y Crossley, 2006).

El minador (*Stomphastis thraustica* Meyrick), y *Achaea janta* Linn. pueden causar daños al follaje de piñón. El escarabajo de la flor (*Oxycetonia versicolor* Fabr.), la chinche saltamontes de la hoja (*Eurybrachis tomentosa* Fabr.), los trips de la uva (*Rhipiphorothrips cruentatus* Hood) y el ácaro del chile muranai (*Polphagotarsonemus latus* Banks) causan daño en otras partes de la planta.

En Ecatlán, Municipio de Jonotla, Puebla, es común el daño a frutos por aves como pericos y a las raíces por tuzas (Agapito Bautista Ramírez²; comunicación personal).

Algunas especies del suborden Heteroptera atacan al piñón, de las principales plagas reportadas a nivel mundial que atacan a esta planta se encuentran *P. klugii* y *L. zonatus*, los adultos de dichas plagas se alimentan de frutos maduros, causando deformaciones y aborto de frutos que han sido recién polinizados además de la disminución de su diámetro lo cual repercute en el peso total del fruto así como en la formación de las semillas (Grimm, 1999).

P. klugii es un especialista que solo se encuentra alimentándose y reproduciéndose en plantas de piñón. Las ninfas y adultos se encuentran principalmente en el fruto, pero pueden encontrarse en hojas, flores y ramas. Generalmente los adultos aparecen en las primeras lluvias y permanecen en el árbol hasta la entrada de la estación seca (Grimm, 1999).

Para el caso de *L. zonatus*, los adultos causan mayor pérdida de rendimiento tanto en frutos como en las semillas en comparación con el daño producido por

² Campesino de la comunidad de Ecatlán.

las ninfas (Grimm, 1999). A continuación se describen generalidades del suborden, familia y especie de la “chinche pata de hoja”.

2.1.3.2 Hemiptera: Heteroptera

Las “chinchas verdaderas”, o Heteroptera, son un suborden del orden Hemiptera. Dicho suborden contiene ocho infra-órdenes, (Enicocephalomorpha, Dipsocoromorpha, Leptopodomorpha, Gerromorpha, Neomorpha, Cimicomorpha, Pentatomomorpha, y Aradomorpha); de los cuales, los últimos cinco contienen especies de importancia económica. A nivel mundial, los hemípteros pueden abarcar 35,000 especies descritas (Triplehorn y Johnson, 2005).

El suborden Heteroptera, es caracterizado por la elongación del aparato bucal que en muchos de los casos, es eficiente para penetrar a otros organismos (planta o animal) y para succionar los fluidos. Las chinchas inyectan enzimas digestivas dentro de la presa por medio del aparato bucal y luego aspiran el líquido o fluido ya digerido por la acción de las enzimas inyectadas. Al igual que muchos otros hemípteros, las chinchas verdaderas son en su mayor parte diurnas, tiene ojos compuestos bien desarrollados. Sus alas son (dos pares, verdaderas como en otros insectos) diferentes unas de otras (“Heteroptera: alas diferentes”). Éste suborden difiere otros subórdenes en que poseen una parte en forma de escudo en el dorso torácico, el escutelo, (“pequeño escudo”) acostado justo en medio del frente de las alas. Pero la principal diferencia es que tiene glándulas odoríferas presentes en ninfas y en adultos sobre el tórax. Además de que se alimentan principalmente de flores, óvulos, ovarios, semillas maduras o en maduración, posiblemente porque éstas son ricas en nitrógeno.

Todos los “no Heteroptera” Hemípteros, son herbívoros, solo algunos heterópteros pueden ser predadores de otros artrópodos y algunos pueden alimentarse de la sangre de algunos vertebrados (Schaefer y Panizzi, 2000).

Puede que este suborden sea el que más grupos de insectos con este tipo de metamorfosis posea y también el más diverso.

Las plantas poseen mecanismos de defensa contra vertebrados e invertebrados mordedores y masticadores, casi todas estas defensas son externas; cutículas gruesas o capas de cera, escamas, espinas, etc. También cuentan con defensas químicas, lo cual impide en muchas ocasiones daños mayores. Pero los Hemípteros penetran la superficie con sus estiletes para obtener su alimento. Por lo tanto evitan las defensas de la planta. Debido a lo anterior, los Hemípteros, representan plagas potenciales al evitar las defensas de las plantas, sobre todo aquellas de interés para el hombre (Schaefer y Panizzi, 2000).

El tamaño de los insectos del suborden Heteroptera le permite llegar de manera más rápida a las plantas hospederas y también buscar nuevos hospederos (Schaefer y Panizzi, 2000).

2.1.3.3 Chinchas “pata de hoja” Hemiptera: Coreidae

Las chinchas de esta familia son comúnmente conocidas como “chinchas pata de hoja”, caracterizadas por la dilatación de la tibia posterior. Después del tercer segmento antenal muestran una foliación similar, especialmente las ninfas. En algunas especies el fémur en uno o ambos sexos y adornados con espinas (Schaefer y Panizzi, 2000).

Como grupo, los coreidos se distinguen del resto de las familias heteropteritas por las numerosas venas en las membranas de los hemélitros. El cuerpo mide de 7 a 45 mm de longitud, su cabeza es pequeña en comparación con el cuerpo. Generalmente los colores del insecto son variables, desde café a gris, pero las ninfas suelen ser de colores brillantes. Su distribución es cosmopolita (Schaefer y Panizzi, 2000).

Los coreidos no son exclusivamente fitófagos. Muchos son gregarios, especialmente las ninfas. Como en otros heteropteros, estos insectos han desarrollado glándulas odoríferas ubicadas ventralmente en el metatórax en los adultos, pero dorsalmente en las ninfas. Dichas glándulas sirven para producir y liberar feromonas de alarma para repeler depredadores y promover la agregación de los insectos. La composición de la secreción de la glándula es variable, pero se han detectado ácidos, aldehídos, alcoholes, o ésteres de acetato o butírico. Algunas hembras de coreidos, liberan volátiles específicos, los cuales posiblemente sirven como feromonas sexuales (Schaefer y Panizzi, 2000).

El número de generaciones por año es variable, depende de la especie, localización geográfica, y planta hospedera específica. Los huevos son generalmente (como en la mayoría de las especies) semicilíndricos (*Phthia*, *Narnia*, *Leptoglossus*, *Mygdonia*, *Anoplocnemis*, *Mictis*, *Elasmopoda*) o esferoides (*Acanthocephala*). El desarrollo de las ninfas usualmente pasa por cinco estadios. Desde el segundo instar hasta adultos, los coreidos pueden succionar fluidos principalmente del tejido vascular (*Cloresmus*, *Notonitus*), células del mesófilo (*Chelinidea*), o partes reproductivas (*Leptoglossus*).

2.1.3.3.1 Importancia económica

Relativamente pocas especies pueden llegar a ser consideradas de importancia económica. De las 2000 especies distribuidas a nivel mundial, aproximadamente solo 82 han sido descritas como plagas potenciales o actualmente perjudiciales. A nivel mundial, granos de leguminosas, arroz, cucurbitáceas, tomates, y otros vegetales así como frutos y nueces han sido atacadas por coreidos. Cuando el tejido vascular es dañado causa disminución del vigor de la planta o interfiere con el desarrollo de la semilla debido a que daña el fruto. En este caso el tipo de daño depende del ambiente y del estado de maduración del fruto. No todos los coreidos implican necesariamente la transmisión de virus. Sin embargo la penetración del estilete en los tejidos

vasculares facilita la entrada de otros organismos fitopatógenos como bacterias y hongos (Schaefer y Panizzi, 2000).

2.1.3.4 *Leptoglossus zonatus* (Dallas)

2.1.3.4.1 Distribución y Biología

Esta especie se encuentra distribuida desde el sureste de Estados Unidos, pasando por México y América Central, hasta el Sur de Brasil. El color de los adultos es de tonalidades cafés presentando usualmente bandas anchas en forma de zigzag a través del coreo, dos grandes manchas blanco-amarillentas en el pronoto. Las dilataciones en las tibias posteriores son externamente filiformes, y las tibias delgadas son lanceoladas en la parte interna (Schaefer y Panizzi, 2000).

Los huevos miden 1.47 mm y son de color verde brillante pero se tornan de color café durante la incubación. En ocasiones colocan los huevos en hilera sobre la nervadura de la hoja (Schaefer y Panizzi, 2000). En el primer instar forman agregaciones colocándose en círculos concéntricos. En el segundo instar solo son gregarios, la dispersión comienza a partir del tercer estadio. Las agregaciones de ninfas ocurren por medio de feromonas de agregación, mientras que en adultos la dispersión ocurre por feromonas de alarma (Schaefer y Panizzi, 2000).

Bajo condiciones de laboratorio con un fotoperiodo de 12:12h a 28°C y 78% HR, los huevos se incubaron en un periodo de 9.6 días. El desarrollo del estadio ninfal requiere 28.7 días alimentándose de granos de maíz y de 31.6 días en sorgo. Las hembras adultas ponen cerca de 5.5 masas de huevos con 15.2 huevos en promedio colocados en línea. Cuando son alimentados con granos de sorgo su longevidad es de 71 días para las hembras y de 54.3 días para los machos (Matrangolo y Waquil, 1994). Las ninfas también pueden ser criadas con éxito en soya y ejotes, pero la mortalidad es alta, el tiempo que tardan para desarrollarse es largo y el peso de los adultos es más bajo a comparación con

los que son criados con granos de maíz. Las hembras alimentadas con soya, pueden tener pocos huevos o ninguno (Pazzini, 1989; citado por Schaefer y Panizzi, 2000). La temperatura óptima para criar a *L. zonatus* es de 25°C con una fecundidad de 367 ± 76 huevos, por hembra y un periodo de pre-oviposición de 22 días, eclosionando los huevos a los 10.2 días (Jackson *et al.*, 1995).

2.1.3.4.2 Daños

L. zonatus es una especie altamente polífaga. En México se reportan daños en algodón, lima, naranja, guayaba, melón, aguacate, sorgo, tomate, cucúrbitas berenjena, zarzamora, granada, entre otros. Se han observado poblaciones en *Actinocheita filicina* (Sessé y Moc.) (Anacardiaceae), y en *Schizocarpum reflexus* (Rose), (Convulvulaceae). En el Este de Texas (E.U.A.) las ninfas y los adultos han sido observados alimentándose de frutos de *Sapium sebiferum* (L.). En Honduras es conocida como “chinche patona” y es considerada una plaga rara, aunque esporádicamente se encuentra en altas densidades, no causa una pérdida económica importante. Los insectos pueden ser colectados en soya, frutos de pimienta, espigas de maíz, flores de guayaba, cítricos, sorgo maduro, tomates, y pepinos (Schaefer y Panizzi, 2000). En Brasil han sido encontrados adultos y ninfas en granada, causando agrietamiento y fisuras color café en los frutos. Si las fisuras son grandes, provoca la separación completa y descomposición del fruto. Otros cultivos reportados en Brasil afectados por *L. zonatus* son naranja, guayaba, fruta de la pasión, cítricos, maíz, soya, sorgo y tomate (Grimm 1999).

Se han colectado en Brasil de manera individual insectos en el cultivo de maíz, que albergan tripanosomatidos en glándulas salivares y en el intestino, por lo cual pueden ser considerados como un vector de éste protozoario (Schaefer y Panizzi, 2000). Se han realizado cultivos puros de tripanosomatidos en las glándulas salivares y en el tracto digestivo de las chinches para posteriormente

infectar plantas de maíz a nivel de laboratorio. La cepa fue identificada como nueva especie *Herpetomonas* sp. (Macgheeii) (Schaefer y Panizzi, 2000).

Se ha identificado que los adultos y ninfas de *L. zonatus* se alimentan de pedúnculos y frutos de *J. curcas* (Figura 3) (Grimm y Maes, 1997). El mayor porcentaje de aborto de frutos se da cuando alcanzan un tamaño de 20-25 mm de diámetro, no así para frutos menores a 15 mm, lo cual indica que el adulto prefiere alimentarse de frutos con cierto grado de madurez (quizá por el menor contenido de látex de estos últimos). La frecuencia de malformación de semillas de piñón es mayor cuando el daño es causado por adultos de *L. zonatus* en comparación con las ninfas. Ocasionalmente la chiche pata de hoja se alimentan de tejido vegetal lo cual es posible que se deba la necesidad de absorción de humedad (Grimm, 1999). La baja incidencia de huevos y ninfas en el cultivo comparadas con los adultos indican que el piñón no es el sitio preferido para la reproducción de dicha chinche (Grimm y Führer, 1998).



Figura 3. *L. zonatus* alimentándose de frutos de piñón.

En Nicaragua la incidencia de esta plaga puede reducir el rendimiento de semilla en un 21% por lo que se recomienda el control químico y biológico (Grimm y Guharay, 1998).

No existen investigaciones en México sobre aspectos fitopatológicos en *J. curcas* por lo que el daño de *L. zonatus* sobre el cultivo de piñón no ha sido estudiado aunque ya está presente en las plantaciones experimentales de los estados de Morelos y Michoacán. (Castrejón y Martínez, 2009³; comunicación Personal).

2.1.3.4.3 Control

Avispas parasitas de los géneros *Gryon*, *Ooencyrtus*, *Anastatus* y *Neorileya*, han sido criadas en huevos de *L. zonatus* en Arizona (Jones, 1993). El segundo, un euromitido, no se conoce que ataque otras especies del género *Leptoglossus*. Parasitoides criados en Brasil incluyen a *Gryon* sp, *Trichopoda* sp. (Souza y Amaral Filho, 1998; citados por Panizzi, 2000). En Nicaragua, dos hongos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., proporcionaron un control satisfactorio de *L. zonatus* en piñón (Grimm y Guharay, 1998).

2.2 Hongos entomopatógenos

El efecto de los hongos entomopatógenos para regular poblaciones de insectos en los agroecosistemas es de gran importancia, existiendo una relación patógeno-hospedero y en muchos casos una especificidad entre ambos organismos (Pucheta *et al.*, 2006). Existen más de 750 especies pertenecientes a casi 100 géneros de hongos que pueden infectar insectos (Kachatourians, 1996).

Los factores bióticos y abióticos determinan la manifestación epizootica de estos hongos, siendo la temperatura, humedad relativa, rayos ultravioleta y aplicación de fungicidas las principales condicionantes abióticas del medio para su desarrollo. La susceptibilidad y la relación con los hospederos se asocian con los nutrimentos presentes sobre el cuerpo de los insectos, los cuales a su vez son el medio para la propagación, dispersión y persistencia de los hongos.

³ Profesores Investigadores de Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN.

Las esporas tienen requerimientos específicos de agua y temperatura así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno que permiten la infección en el hospedero (Hajek, 1997). Los hongos entomopatógenos infectan individuos en todos los órdenes de insectos; principalmente en Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera y Ortoptera (Tanada y Kaya, 1993).

La especificidad del hospedero varía considerablemente, algunos hongos infectan un amplio rango de hospederos y otros están restringidos a unos pocos o a una sola especie de insectos. *B. bassiana* y *M. anisopliae* infectan cerca de 100 especies diferentes de insectos en varios órdenes, pero algunos aislamientos de estos dos hongos tienen un alto grado de especificidad (Fargues *et al.*, 1994).

La mayoría son patógenos obligados o facultativos y algunos son simbióticos. Su crecimiento y desarrollo están limitados principalmente por las condiciones ambientales externas en particular, alta humedad y temperatura adecuada para la esporulación y germinación de esporas. Las enfermedades causadas por estos hongos son denominadas “micosis” (Tanada y Kaya, 1993). Para comprender los mecanismos y procesos de la asociación patógeno hospedero, es necesario conocer los factores que favorecen la actividad del conidio como unidad infectiva al igual que la composición del insecto hospedero, como medio para la germinación y desarrollo del hongo (Enríquez, 2008).

El desarrollo de la micosis puede estar dividido en cuatro fases: (1) adhesión de la espora al insecto, (2) germinación de la espora en la cutícula del insecto (3) penetración en el hemocelo y (4) desarrollo del hongo. Lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto (Alean, 2003). Los hongos producen esporas asexualmente o conidios que son los responsables del proceso de infección y dispersión a través del ambiente donde también se encuentran los hospederos.

Cuando el conidio se establece sobre la cutícula del hospedero, éste germina y se desencadena la activación de reconocimiento enzimático por parte de ambos, el hospedero y el hongo parásito (Samson *et al.*, 1988).

2.2.1 Adhesión de la espora al insecto

Los conidios de los hongos entomopatógenos se adhieren sobre la cutícula del insecto en forma pasiva. El proceso de adherencia es muy complejo, pero se reconocen al menos tres etapas: adsorción, la cual es física o química y no es controlada por el patógeno; adhesión, en la cual el organismo secreta un adhesivo proteico o glucoproteico; y colonización, que depende de los factores ambientales que controlan el crecimiento. Una infección puede ser abortada en la epicutícula si un factor esencial como la adhesión, desarrollo microbial o patogénesis está ausente. Específicamente, durante la infección el hongo debe estar en un ambiente húmedo, lo cual favorece tanto la germinación como la esporulación (Boucias *et al.*, 1988).

2.2.2 Germinación de la espora

Se entiende por germinación el proceso mediante el cual una espora emite uno o varios pequeños tubos germinales, los cuales por crecimiento y alargamiento dan origen a las hifas (Volcy y Pardo 1994). La germinación depende de la humedad ambiental y temperatura. El nivel de agua es determinante en el crecimiento de los hongos (Alean 2003).

Una vez que los conidios se acoplan a la cutícula (epicutícula) y encuentran las condiciones favorables, inician su proceso de hinchamiento o hidratación. La germinación es disparada por mensajeros que generalmente son carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares del insecto (Khachatourians, 1996). La hidratación del conidio es favorecida por la acción antidesecante de su cubierta mucilaginosa, que además funciona como protector ante la presencia de polifenoles tóxicos y enzimas, secretadas por el sistema inmune del insecto.

2.2.3 Penetración en el hemocele

La penetración de la cutícula del insecto por conidias germinadas, ocurre como resultado de una combinación entre la degradación enzimática de la cutícula y la presión mecánica por el tubo germinal. El modo de penetración principalmente depende de las propiedades de la cutícula, grosor, esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales (Alean, 2003).

Después del hinchamiento de la espora tiene lugar la formación del tubo germinativo, durante este proceso las hidrofobinas participan como mediadoras en las interacciones bióticas y abióticas, y en respuesta activan una serie de rutas metabólicas. La fuerza mecánica es notable en el extremo de una hifa invasiva donde la capa cuticular es deformada por presión (Tanada y Kaya, 1993). Se produce un tubo germinativo y un apresorio, con éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto. El tubo germinativo se puede ramificar de tal manera que rastrea y reconoce la superficie del insecto (estructura topológica) para la localización de sitios receptores, habilitando a la hifa para la penetración de la cutícula (Wessels, 1999). En la penetración participa un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula.

El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales causan degradación del tejido en la zona de penetración, lo que facilita la penetración física (Monzón 2001). Las enzimas descubiertas en el tubo germinativo son proteasas, aminopeptidasas, lipasas, esterasas, y N-acetil-glucosamidasa (quitinasas). Estudios in vitro indican que en la digestión del integumento sigue una secuencia de lipasa-proteasa-quitinasa (Tanada y Kaya 1993).

B. bassiana, *M. anisopliae*, *Paecilomyces spp.* y *Verticillium lecanii* Zimm., producen grandes cantidades de proteasas y quitinasas en medios de cultivo líquido. En varios aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* la enzima principal es una endoproteasa que disuelve la proteína matriz que cubre la quitina cuticular. Por lo tanto, la producción de quitinasa ocurre después del proceso de infección y una vez que el hongo atraviesa la cutícula debe vencer el sistema inmunológico del hospedero antes de entrar a la hemolinfa y desarrollarse dentro del insecto (Alean, 2003).

2.2.4 Penetración a través de aberturas naturales externas

Los hongos pueden infectar insectos a través de la cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas de un insecto. Puesto que la humedad no es un problema en el tracto alimenticio, la espora puede germinar rápido en este ambiente; por otra parte, los fluidos digestivos pueden destruir la espora o la hifa germinativa. En algunos casos, la digestión de estructuras fúngicas puede causar la muerte por toxicidad más que por micosis (Alean 2003). Los hongos pueden infectar insectos a través de los espiráculos. *B. bassiana* infecta varias especies de mosquitos a través del sifón posterior; en *Heliothis zea* (Boddie) a través del espiráculo y en el gorgojo de la alfalfa *Hypera postica* (Gyllenhal) a través de la tráquea (Tanada y Kaya 1993).

2.2.5 La cutícula de los insectos como barrera

La cutícula de los insectos es una barrera efectiva contra la penetración de los hongos entomopatógenos. La parte superficial del integumento es la epicutícula con dos capas bien definidas, la capa externa y la capa interna. La capa externa, es fácilmente penetrada por la hifa debido a la secreción de las enzimas extracelulares tales como esterasas que desestabilizan física y químicamente la cutícula. Los lípidos de la epicutícula producen un ambiente altamente hidrofóbico que previene la colonización de muchos de los microbios (Buckner *et al.*, 1996). Adicionalmente, ciertos lípidos tales como ácidos grasos de cadena corta, aldehídos, ceras, cetonas y alcoholes poseen actividad

antimicrobiana. Una vez que la epicutícula es fracturada, la hifa continúa su penetración de manera directa, de tal modo que puede producir un desarrollo lateral de las hifas colonizando la procutícula (Boucias *et al.*, 1988).

2.2.6 Desarrollo del hongo

Después de llegar al hemocèle, la mayoría de los hongos convierten el crecimiento micelial en una fase de levadura (crecimiento por gemación). Se producen toxinas y enzimas, aunque algunos hongos aparentemente no poseen toxinas, matan el insecto al consumir todos los nutrientes o por destrucción física (Bustillo, 2001). Los hongos pueden evitar la defensa inmune de un insecto por (1) desarrollo de protoplastos que no son reconocidos por la población de hemocitos del insecto, (2) formando cuerpos hifales multiplicándose y dispersándose rápidamente y (3) produciendo micotoxinas (Samson *et al.* 1998). Las toxinas causan la muerte del insecto debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido, posterior al desarrollo del hongo en el hemocèle, la micosis induce a síntomas fisiológicos anormales en el insecto tales como convulsiones, carencia de coordinación y comportamientos alterados. Ocurre una competencia entre el hongo y la flora intestinal. En la mayoría de los casos los hongos producen sustancias antibacteriales y cambio de color del cadáver (Ferrón, 1978).

Después de la muerte del insecto, si la disponibilidad de agua es alta los hongos emergen al exterior a través de la cutícula y esporulan sobre el cadáver produciendo inóculo para infectar a otros insectos. Si las condiciones no son favorables, queda dentro del cadáver del insecto, donde puede sobrevivir por algunos meses y eventualmente producirá esporas cuando lleguen las condiciones favorables. La esporulación ocurre generalmente en cadáveres pero puede también ocurrir en insectos vivos (Tanada y Kaya 1993).

2.2.7 Dispersión de las esporas

La dispersión de la espora puede ser un proceso activo o pasivo y depende de las características de la espora y el esporangio. Cada conidia puede adherirse o pasar de un invertebrado a otro por dispersión (Tanada y Kaya, 1993).

2.3 *Beauveria bassiana*

Más de 700 especies de insectos pertenecientes a nueve órdenes, principalmente Lepidoptera y Coleoptera han sido reportados como hospederos de *B. bassiana* (Feng *et al.*, 1994). Sin embargo, este hongo también se ha encontrado en los áfidos de los cereales, chicharritas y chapulines (Khachatourians, 1992).

2.3.1 Morfología y ciclo de vida

B. bassiana es un hongo filamentoso de la clase Hyphomycete, División Deuteromicetes (hongo imperfecto o asexual). Al igual que los demás hongos entomopatógenos, es un organismo eucariótico heterótrofo que posee células quitinizadas y parasita otros insectos, gracias a sus mecanismos físicos y químicos de infección. Fue descrita por primera vez por Jean Beauverie en 1911 con el nombre de *Botrytis bassiana*. Un año más tarde, Vuillemin la reclasificó. Ensayos enzimáticos posteriores, determinaron el género como *Beauveria* sp, y diferenciaron seis especies, a saber: *B. alba*, *B. amorpha* (Von Höhnelt) Samson y Evans, *B. bassiana*, *B. brongniartii* (Sacc.), *B. velata* (Samson y Evans), *B. vermiconia* (Hoog y Rao), y *B. caledonica* (Bissett y Widden). Además se reporta en la literatura la existencia de otras especies, como *B. densa*, *B. stephanoderis* y *B. sulfurescens* (Viaud *et al.*, 1998; Kouassi, 2001).

Morfológicamente, está conformada por hifas septadas de 2.5 a 25 µm de diámetro, de donde se forman conidióforos simples raramente agrupados, con apariencia de jarrón (más ancho en el centro que en los extremos), los cuales

sostienen los conidios, originados de forma simpodial o acrópeta, dando una apariencia en zigzag al raquis (Barron, 2001; Carrillo, 2005; Kouassi, 2001)

Las esporas son esféricas y levemente ovaladas en medios aerobios, pero más ovaladas en medios anaerobios, llamadas blastósporas (Kouassi, 2001). Tanto las esporas como las hifas, no son pigmentadas (hialinas), por lo que su apariencia es blancuzca para el ojo humano (Barron, 2001) (Figura 4).

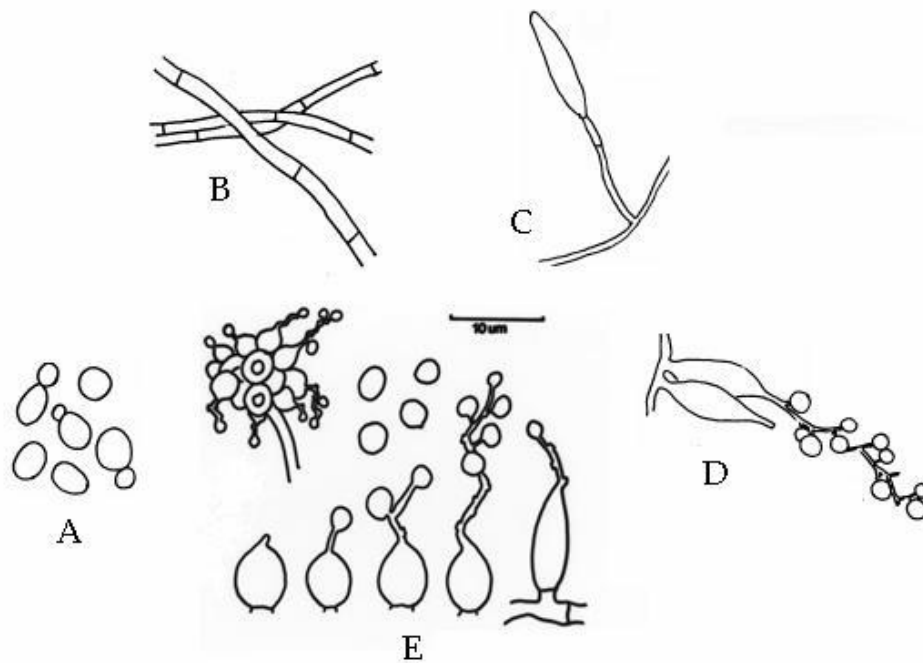


Figura 4. Principales estructuras morfológicas *B. bassiana*.

A. Esporas esféricas ligeramente ovaladas. B. Hifas septadas. C. Conidióforo simple. D. Proliferación simpodial del conidióforo. E. Esquema del proceso de maduración de conidióforo a partir de un conidio (inferior) y vista de un conidióforo completo (superior izquierda). Fuente: Alean, 2003).

El hongo *B. bassiana* puede producir tres tipos de espora: conidia aérea, conidia sumergida y blastosporas. Las principales características de la espora son: hidrofobia, encapsulación, y aglutinación por lecitinas específicas presentes en la superficie de las conidias. La hidrofobicidad de las conidias aéreas y sumergidas es similar, las blastosporas son menos hidrófobas que las

anteriores. La hidrofobicidad es importante en la adhesión de las esporas al cuerpo del hospedero (Hegedus *et al.*, 1992).

El color de las colonias de diferentes aislamientos de *B. bassiana* muestra una variación amplia entre blanco y amarillo. El aspecto de las colonias es también una característica variable (Varela y Morales, 1996). Existen diferencias en el color de las colonias del hongo vistas a través del agar, varía de crema a morado pálido y rojo púrpura. La coloración de rojo se cree que está relacionada con la producción de oosporeina (Feng y Johnson, 1990).

Es probable que este pigmento no esté directamente relacionado con la virulencia, ya que un aislado virulento no lo produce (Varela y Morales, 1996). Aislados con coloración intensa son más patogénicos al pulgón ruso *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) que a la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Feng y Johnson, 1990). La capacidad de producir pigmentaciones de color rojo, amarillo y verde ha sido usada como característica taxonómica en la clasificación de aislados de *Beauveria spp.* (Hegedus *et al.*, 1992).

B. bassiana es el hongo más extensamente estudiado desde que fue reportado por primera vez como un patógeno del gusano de seda *Bombyx mori* L., por Agostino Bassi en 1834 (Feng *et al.*, 1994). Ha sido usado para el control de muchas plagas importantes en varios cultivos de todo el mundo y su virulencia ha sido probada sobre diferentes insectos. Está presente en el suelo, en donde encuentra las condiciones ambientales favorables para las conidias. Puede presentarse en residuos de plantas, y en el tejido vegetal de la planta de maíz (Bing y Lewis, 1991).

En el cultivo de soya en Argentina y Brasil, este hongo regula poblaciones de diferentes coleópteros de los géneros *Diabrotica*, *Colapis* y *Maecolapis*. En Brasil se presenta en altos niveles sobre poblaciones de *Aracanthus*, una plaga importante del cultivo del frijol (Sosa *et al.*, 1994).

Este patógeno infecta huevos, larvas (Lezama *et al.*, 1996), ninfas, pupas o adultos, la infección puede ocurrir después de la germinación de la espora dentro de los intestinos del hospedero o en la superficie de la cutícula. La susceptibilidad de la larva disminuye con el aumento en los estadios larvales, aunque los primeros estadios larvales pueden ser capaces de superar la infección mediante la eliminación del integumento, antes de que la hifa penetre al hemocele (Hare y Andreadis, 1983).

En caso de no ocasionar la muerte por la enfermedad, el hongo puede tener efectos secundarios en sus hospederos. Por ejemplo, las dosis de *B. bassiana* cercana a la DL50 (Dosis Letal media) reduce el potencial reproductivo de *Sitona lineafus* (L.), la fertilidad y fecundidad de *Chilo suppressalis* (Walker) en los insectos que sobreviven a la infección; así como el desarrollo de los huevecillos de las chicharritas en plantas de arroz (Feng *et al.*, 1994). *B. bassiana* es compatible con la mayoría de los insecticidas, siempre y cuando éstos no contengan solventes a base de xileno. Los insecticidas abamectin, triflumuron, y thuringiensin son compatibles con *B. bassiana* (Anderson *et al.*, 1989).

2.3.2 Control de *B. bassiana* en Coleoptera

Los insectos del orden Coleoptera son los más comúnmente infectados por *B. bassiana* (Feng y Johnson, 1990). Así, 16 géneros de coccinélidos depredadores han sido reportados como hospederos de éste hongo. Este hongo produce diferentes grados de toxicidad en larvas de *Coleomegilla maculata* (Degeer), causando hasta un 77.8% de mortalidad por contacto (Todorova *et al.*, 1994), además de ser virulento a la catarina *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville) y posiblemente también a otros coccinélidos (España, 2000).

También reduce significativamente las poblaciones de larvas y adultos de la catarina de la papa *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Anderson *et al.*, 1988).

En un experimento realizado con aplicaciones en diferentes dosis (1×10^4 , 3×10^4 , y 1×10^5 conidias/cm² de área foliar) de *B. bassiana*, todas las larvas de éste escarabajo, mueren antes de pupar (Fargues *et al.*, 1994).

La aplicación de *B. bassiana* en el suelo reducen la emergencia de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* (Mann.), y el daño a la raíz es menos severo en suelo tratado con el hongo que en los suelos infestados con la plaga, sin tratamiento conidial (Krueger y Roberts, 1997).

Cerotoma arcuata (Oliver) es susceptible a *B. bassiana* (Magalhaes *et al.*, 1988). El escarabajo *Ceratosanthes hilariana* (Cogniaux), es infectado por los hongos *B. bassiana* y *M. anisophae* (Daoust y Pereira, 1986). Asimismo, infecta a curculionidos como *Cosmopolifes sordidus* (German), y *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) en Florida, por lo que este hongo es un factor importante en la mortalidad de los adultos en dicho lugar. También infecta a *C. sordidus* y *M. hemipterus* en Puerto Rico, Cuba y Brasil donde se considera un agente de control que ocurre en forma natural (Peña *et al.*, 1995).

B. bassiana es patogénico en el tercer estadio larval del picudo del plátano *C. sordius*, causando mortalidades de 63-97% en los 35 días posteriores a la exposición de las esporas. Con la finalidad de infectar a la hembra durante la oviposición y a las larvas al eclosionar los huevecillos, se pueden realizar aplicaciones de *B. bassiana* durante las oviposturas de la hembra de *C. sordidus* (Kaaya *et al.*, 1993). El adulto de *Chalcodermus bimaculatus* Fiedles, se considera menos susceptible a *B. bassiana* que la larva. Las larvas y adultos del picudo del nogal pecanero *Curculio caryae* (Horn), son infectados por *B. bassiana*, sin tomar en cuenta el lugar, tipo de suelo, o prácticas de manejo de plagas. La virulencia de los hongos entomopatógenos contra este picudo depende del modo de aplicación y el aislamiento del hongo (Harrison *et al.*, 1993).

Adane *et al.*, (1996), reportan aislamientos de *B. bassiana* que fueron virulentos al picudo del maíz almacenado, *Sitophilus zeamais* (Motsch.), en laboratorio, por lo que *B. bassiana* es un agente potencial para el control microbiano de esta plaga. El adulto del escarabajo *Alphitobius diaperinus* (Panzer) es menos susceptible a la infección con *B. bassiana* que la larva. Algunas larvas infectadas logran pupar y la esporulación ocurre en la pupa. Los adultos generalmente repelen la infección, y la mortalidad no excede el 27%.

En muestreo realizado de escarabajos de las familias Carabidae y Staphylinidae, se presentaron niveles de infección bajos (Carabidae: 7.6%, Staphylinidae: 7.0%), el hongo *B. bassiana* infectó hasta un 67% de la población de *Anotylus rugosus* (Fabr.) y 37% de *Gyrohypnus angustatus* (Stephens). Este hongo predominó, ya que fue colectado de las dos familias en todos los sitios de estudio (Steenberg *et al.*, 1995). Este hongo ha sido reportado en el género Scarabeidae, en escarabajos del género *Phyllophaga* spp., ocasionando un alto porcentaje de mortalidad en larvas del mismo insecto. Este hongo es ligeramente infeccioso cuando se administra en el alimento de las larvas; sin embargo, el hongo parece estar asociado más específicamente con el segundo y tercer estadio larval (Poprawski y Yule, 1991). *B. bassiana* y *B. brogniartii* son virulentos a *Osttina nubilalis* (Hübner) (Lecuona *et al.*, 1997). El hongo puede persistir en la planta de maíz para proporcionar un control efectivo de *O. nubilalis* (Lewis *et al.*, 1996).

2.3.3 Control de *B. bassiana* en Lepidoptera

B. bassiana muestra diferentes capacidades de virulencia sobre “el gusano del elote” *Heliothis zea* (Boddie) (Sandhu *et al.*, 1993), y “el gusano cogollero” *Spodoptera exigua* (Hübner) (Hung *et al.*, 1993). En bioensayos realizados, los aislamientos de *B. bassiana* presentan virulencia variable sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith), con una susceptibilidad entre 3 y 90% en huevos y 54 a 100% en larvas; el aislamiento más sobresaliente presentó un TL50 de 3.1 y 2.8 días

en huevos y larvas, respectivamente, y una CL50 de 2.4×10^3 conidias mL^{-1} (Lezama *et al.*, 1998).

El rango de hospederos de *B. bassiana* incluye a la palomilla de la cera *Galleria mellonella*, el cortador de la col *Trichoplusia ni* (Hübner), *Pieris rapae* (L.) y *Plutella xylostella* (L.) (España, 2000);

B. bassiana es efectivo contra el lepidóptero *Malacosoma americanum* (Fabr.), ya que ocasiona la muerte de larvas en 4 días. En algunos casos, las larvas muestran signos de enfermedad (inactividad y melanización de la cutícula) a las 6 horas de la exposición a las esporas. Los niveles altos de susceptibilidad de *M. americanum* a ciertas cepas de *B. bassiana* sugieren que este hongo es ideal para el biocontrol de la plaga (Leathers y Gupta, 1993).

2.3.4 Control de *B. bassiana* en Ortoptera

El chapulín *Melanoplus sanguinipes* (Fabr.) es susceptible a varios hongos imperfectos, incluyendo a *B. bassiana* (Khachatourians, 1992). Las ninfas de este acrídido son altamente susceptibles a la infección por *B. bassiana* formulado en cebo, y la eficacia de la formulación depende del grado en que las ninfas contaminen su superficie cuticular durante y en la ingestión del cebo (Inglis *et al.*, 1996).

La mortalidad de *M. sanguinipes* está relacionada con la dosis ingerida de esporas (54.3-60.0 mg por chapulín), las primeras muertes atribuidas a *B. bassiana* ocurren en los días 6 y 7 en dosis de 1.1×10^7 y 5.4×10^6 conidias mL^{-1} , mientras que las dosis bajas de 1.1×10^4 y 1.2×10^5 conidias mL^{-1} ocasionan la muerte hasta los días 13 y 14 respectivamente (Jeffs *et al.*, 1997).

En bioensayos realizados sobre *M. sanguinipes*, las cepas de *B. bassiana* GK2016, “tipo nativo” (virulento), y GK2051, presentaron un TL50 de 5.8 y 7.8

días respectivamente, aunque son sólo dos días de diferencia en el valor de TL50 la cepa GK2051 consistentemente requiere 17 días para matar el 90% de la población y nunca produce 100% de mortalidad, mientras que la cepa “tipo nativo” GK2016, causó el 100% de muerte en 8-10 días (Kosir *et al.*, 1991). El éxito de *B. bassiana* contra chapulines en campo depende del desarrollo de las estrategias bioracionales que superan la luz y la temperatura como limitantes del hongo (Inglis *et al.*, 1997). Sin embargo, por la elevación de la temperatura de su cuerpo, los chapulines pueden inhibir y/o prevenir las enfermedades causadas por *B. bassiana* y *M. flavoviride*, los efectos de la termorregulación son considerados más inhibitorios para *B. bassiana* que para *M. flavoviride* (Inglis *et al.*, 1997a).

En ambiente controlado, la mezcla de conidias de *B. bassiana* con arena como substrato para oviposición causó una mortalidad extensiva por infección durante la oviposición de las hembras de *M. sanguinipes*, en machos asociados y subsecuentemente en la emergencia de las ninfas (Inglis *et al.*, 1995).

2.3.5 Control de *B. bassiana* en áfidos

El hongo *B. bassiana* es un control biológico potencial de áfidos, en un bioensayo realizado, con dosis de 1×10^4 a 1×10^8 conidias mL^{-1} , el hongo exhibió un alto nivel de virulencia sobre el pulgón *Phorodon humuli* (Schrank); bteniendose una CL50 de 1.37×10^5 conidias mL^{-1} , el TL50 se redujo en la medida del incremento de la dosis conidial (Dorschner *et al.*, 1991). Asimismo, puede infectar al pulgón ruso *Diuraphis noxia*, sin embargo, la virulencia de los aislamientos es variable (Feng y Johnson, 1990).

En la mayoría de los casos *B. bassiana* es más virulento que *V. lecanii* cuando se aplica sobre diferentes especies de áfidos (Feng *et al.*, 1990).

2.3.6 Control de *B. bassiana* en Hemiptera

B. bassiana también ejerce un control efectivo sobre algunos hemípteros como *Blissus Leucopterus* (Ramoska y Todd, 1985), al igual que adultos de *Lygus hesperus*, siempre y cuando se presenten las condiciones adecuadas de temperatura y humedad relativa (Spurgeon, 2010). Takuji y Strickler (2000), reportan que *B. bassiana* también es patogénica a 25°C en huevos de *L. hesperus* no así a 35°C, por lo que también este hongo es una alternativa viable.

2.3.7 Control de *B. bassiana* en Heteroptera

Cepas nativas de *B. bassiana* en Nicaragua son patogénicas y virulentas a *L. zonatus* a una concentración de 1×10^7 conidias mL^{-1} con mortalidades del 88 al 99% después de 28 días y con una esporulación de 67 al 88% (Grimm y Guharay, 1998).

2.3.8 Control de *B. bassiana* otros ordenes

Asimismo, éste hongo produce un 77% de mortalidad sobre ninfas del cicadelido *Empoasca kraemeri* Ross y More (Magalhaes *et al.*, 1988). *B. bassiana* es un agente potencial de control biológico en el himenoptero hormiga de fuego, *Solenopsis invicta* Buren (Siebenelcher *et al.*, 1992). Este hongo tiene la capacidad de crecer, dispersarse, y esporular en nidos y suelos de la hormiga de fuego (Pereira *et al.*, 1993). Bajo condiciones de laboratorio, el hongo *B. bassiana* infecta poblaciones de *S. invicta*. La presencia o ausencia de suelo no influye en la susceptibilidad de las hormigas al patógeno (Pereira y Stimac, 1992).

El hongo *B. bassiana* también es un agente de control promisorio para la mosca casera *Musca domestica* L. en establos asperjados con conidias se detectó al hongo en el 43 a 47% de adultos colectados (Watson *et al.*, 1996). Este hongo puede ser aplicado en suelos forestales para el control de trips *Taeniothrips inconsequens* (Uzel), plaga importante de los árboles, sin ocasionar efectos

negativos en la población natural de invertebrados de áreas forestales (Parker *et al.*, 1997). En un experimento realizado, se obtuvo un 24% de mortalidad en larvas de trips del melón *Thrips palmi* (Karny) tratadas con *B. bassiana* (Castineiras *et al.*, 1996).

2.4 Perspectivas de los bioplaguicidas

En los primeros años del Siglo XXI, las proyecciones sobre el incremento poblacional indican que en las décadas venideras habrá necesidad de producir más y mejores alimentos para satisfacer la demanda mundial. Sin embargo, este reto es amenazado por plagas agrícolas, que representan un serio problema para los agricultores, reduciendo su rentabilidad y competitividad. Por otro lado, actualmente existe evidencia de que un uso irracional de plaguicidas para controlar las plagas puede generar problemas de medio ambiente y salud humana. Entre los métodos innovadores se incluye el uso de enemigos naturales, como los hongos entomopatógenos, una de cuyas ventajas es reducir el riesgo de causar efectos negativos en el ambiente o en las personas. (Cañedo y Ames, 2004).

Actualmente el comercio mundial de bioinsecticidas es muy importante, en Norteamérica se calculan ventas por 110 mmd, Europa 101 mmd y 49 mmd en el resto del mundo. Ante estas expectativas globales, en México se hace notoria la necesidad de políticas que definan el futuro de la industria de los bioplaguicidas (García y Medrano, 2006).

2.4.1 Mercado de bioinsecticidas en México

En virtud de que los bioinsecticidas deben competir en precio y efectividad contra los insecticidas químicos, es muy importante que su producción se realice de manera económica y eficiente para su uso generalizado. El éxito en

la comercialización de estos productos depende de conocimientos técnicos y de mercado por lo que se deben tomar en cuenta los siguientes aspectos:

1: La plaga y el tipo de mercado: Se refiere al espectro de plagas que se pueden controlar con un mismo producto y al impacto en los insectos benéficos. También se debe considerar la variación que se puede obtener en campo y el grado de avance tecnológico del producto, como la producción y formulación, envasado y distribución así como el tipo de aplicación en campo (Boyetchko *et al.*, 1999; citados por García y Mendrano, 2006).

2: Inversión e Investigación: Debido a que las ganancias generadas por bioinsecticidas no son suficientes en el plazo inmediato para recuperar la inversión, se requiere de apoyo gubernamental. La forma más común para el desarrollo de un producto es la colaboración entre empresas y universidades e instituciones de investigación.

3: Compatibilidad: La formulación e bioinsecticidas debe ser compatible con los equipos de aspersión y métodos de aplicación de los productos agrícolas debido a la dificultad de los productores para adquirir nuevas tecnologías. (Miller *et al.*, 1983; citados por García y Mendrano, 2006).

Dentro de los factores en el mercado que pueden afectar la factibilidad económica y aceptación de los bioinsecticidas se tienen:

1: Necesidad de mercado: Justificar la necesidad real y potencial de utilizar un producto en base a lo innovador, las ventajas que ofrezca sobre los ya existentes.

2: Tamaño de Mercado: Conocer la superficie sembrada del cultivo de interés, y el tipo de plagas en las que se usara el producto. Definir tipo de áreas de cultivo de interés, si son invernaderos, cultivos de riego, temporal.

3: Comercialización. Relacionado con efectividad del producto, formulación, y presentación comercial además de compatibilidad, forma, métodos y equipos de aplicación, lo cual determinara su permanencia en el tiempo.

4: Competencia: Los bioinsecticidas compiten en el mercado contra los productos químicos encontrándose en desventaja en precio y en eficiencia. Sin embargo los avances tecnológicos en aspectos de toxicidad y formulación los hacen competitivos. Existen algunos casos donde las normas de inocuidad, agricultura orgánica y una producción más limpia implican el uso de bioinsecticidas que cumplen con los esquemas de producción y con la calidad para el mercado interno y de exportación.

5: Nicho de Mercado: Es la oportunidad de bioinsecticidas para sustituir a los de origen químico en el control de plagas de cultivos importantes.

Entre las instituciones y empresas que comercializan bioinsecticidas en México se encuentran Bayer Crop Science, Bio Technique S.A de C.V, Du Pont de México, Down AgroScience de México, Koppert de México, Monsanto, Plant Health Care de México, Savia S.A de C.V., Syngenta.

Existen diversas presentaciones comerciales en que pueden ser liberados al mercado los hongos entomopatógenos en el cuadro 9 se muestran algunas de ellas.

Cuadro 10: Tipos y descripción de formulaciones de hongos entomopatógenos.

Tipo de formulación	Descripción
Suspensión concentrada	Líquido con el activo en suspensión, para aplicar diluido en agua.
Concentrado emulsionable	Líquido homogéneo para ser aplicado como emulsión, luego de ser diluido en agua.
Polvo soluble	Polvo para aplicación luego de suspensión de la(s) sustancia(s) activa(s) en agua, en forma de solución verdadera.
Polvo mojable	Polvo para aplicar como suspensión, luego de ser

	dispersado en agua.
Granulado dispersable	Gránulos para aplicación en forma de suspensión, luego de su desintegración y dispersión en agua.
Polvo seco	Formulación sólida, uniforme, en forma de polvo con buena movilidad, únicamente para aplicación directa en forma de espolvoreo.
Granulado	Formulación sólida, uniforme, en forma de gránulos con dimensiones bien definidas, para aplicación directa.
Granulado encapsulado	Gránulos para aplicación directa, que poseen una cobertura para protección o para liberación controlada de la(s) sustancia(s) activa(s).

Fuente: Urtubia, 2009.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento consistió en una fase de campo y otra de laboratorio, a continuación se describe cada una de ellas.

3.1 Fase de campo

3.1.1 Búsqueda de *L. zonatus* en plantaciones de *J. curcas*

Se visitó periódicamente una parcela de piñón asociada con café y plantas en traspatio en las comunidades del municipio de Jonotla y Xochitlán, ubicadas en la Sierra Norte de Puebla, con la finalidad de coleccionar ejemplares de *L. zonatus* en caso de que dicho insecto estuviera presente. La primera visita se realizó en el mes de mayo de 2009. En adelante y hasta el mes de noviembre de 2010 se realizaron visitas periódicas a las parcelas anteriormente mencionadas.

La Sierra Norte de Puebla se localiza entre los 19°45' y 20° 50' N y 97° 10' y 98° 17' O. Es una zona que presenta gran diversidad ambiental, biológica y cultural. Comprende un intervalo de elevación entre los 100 y 2300 msnm que genera un gradiente climático cálido y semicálido húmedo en las partes bajas, y templado húmedo en las zonas de mayor elevación. Los tipos de vegetación que responden a este gradiente son: Bosque tropical perennifolio, bosque mesófilo de montaña y bosques de pino, bosque de encino y mezclas de éstos últimos, con amplias zonas de ecocline entre los tipos de vegetación contiguos. Entre los cultivos más importantes en la región, se encuentra el maíz, frijol, constantemente asociados con café, y algunos otros cultivos como caña de azúcar, papa, chile verde, frutales como cítricos, ciruela, manzana y durazno (Martínez et al., 2007).

La otra parte de la búsqueda se realizó en plantaciones de *J. curcas* bajo sistema de monocultivo en el Municipio de Yautepec, Morelos, que se encuentra a una elevación de 1210 msnm con una precipitación de 947.5 mm anuales y una temperatura promedio anual de 21.7°C.

La vegetación nativa del municipio de Yautepec es selva baja caducifolia con dominancia de especies como *Stemmadenia obovata* (H. & A.) K. Schuneman, *Ceiba aesculifolia* (H. B. K.) Britt & Baker, *Thevetia* sp., *Amphipterygium adstringens* Schiede ex Schlent., *Psidium guajava* L., *Gonolobus sororius* A. Gray, *Serjania schiedeana* Schlecht., *Guazuma ulmifolia* Lam, *verbena* sp., *Bursera schlechtendalii* Engl., *dioscorea* sp., *Ficus* sp., *Ipomea arborescens* (Hum. F. Bonpl.) Don., *I. praecana* House, *I. purpurea* (L.) Roth, *Jacaratia mexicana* A.D.C. y *Leucopremma mexicana* (A. D. C.) (Soria, 1985).

3.1.2 Colecta del insecto

Las colectas de adultos de *L. zonatus* se realizaron en la plantación experimental de *J. curcas* (Figura 5), del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional (CEPROBI), ubicado en Barranca Honda, Yautepec, con coordenadas geográficas 12° 12' N y 21° 17' O, y una elevación de 1100 msnm con una precipitación de 1050 mm anuales y una temperatura promedio de 22°C (García, 1987), al igual que en parcelas de frijol y sorgo de la comunidad de San Isidro Yautepec, en las cercanías del CEPROBI y en parcelas de sorgo dentro de la cabecera municipal. La primera colecta fue llevada a cabo la última semana del mes de Septiembre del 2009, las colectas posteriores se realizaron a lo largo del mes de Octubre y hasta mediados del mes de Noviembre del mismo año.



Figura 5. Colecta de *L. zonatus* en parcelas experimentales de CEPROBI.

3.2 Fase de laboratorio

Después de que los adultos de *L. zonatus* fueron colectados, se establecieron en el laboratorio del Banco Nacional de Germoplasma Vegetal (BANGEV) del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, (km 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México).

Los insectos fueron aislados en jaulas de vidrio de 30 x 30 x 40 cm y sometidos a observación por cinco días para asegurar de que estuvieran libres de patógenos y parasitoides (Figura 6)



Figura 6. Jaulas de vidrio para cría de *L. zonatus*.

3.2.1 Establecimiento de la cría

Se acondicionó una cámara de cría hecha de madera y vidrio dentro del laboratorio del BANGEV (Figura 7), manteniendo un rango de temperatura de 25 a 30 °C y humedad relativa de 65 al 78 % (Grimm, 1999). La humedad fue controlada con un humidificador eléctrico marca Duracraft.



Figura 7. Cámara de cría de *L. zonatus*

Los adultos de *L. zonatus* fueron alimentados con granos de maíz tierno, frutos frescos de piñón y vainas frescas de frijol, previamente lavados con agua destilada estéril (Matrangolo y Waquil, 1994).

Todos los días se revisaron las jaulas con el propósito de eliminar todo material vegetal descompuesto, desechos producidos por los insectos y para introducir material fresco en caso de ser necesario.

Para su apareamiento se colocaron parejas de machos y hembras por separado en jaulas de vidrio de 15x15x15cm. Las hembras que lograron aparearse se aislaron en otras jaulas similares a las anteriormente descritas para obtener una cría y asegurar un número suficiente de insectos para el experimento. Los huevos fueron contados y separados en jaulas similares. Las ninfas obtenidas, fueron separadas de acuerdo a su estado de desarrollo y alimentadas con

granos tiernos de maíz, vainas frescas de frijol y miel. La limpieza de las jaulas fue la misma que en el caso de los insectos colectados.

3.3 Prodecencia de cepas de *B. bassiana*

Las cepas utilizadas en los bioensayos (Cuadro 2) fueron proporcionadas por el Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Guanajuato (CESAVEG) a través del M.C. Fernando Tamayo y reactivadas en la Universidad Autónoma Chapingo en medio de cultivo solidificado Agar Dextrosa Saborau (ADS), y mantenidas en cajas Petri de plástico a 25°C hasta su utilización en los bioensayos.

Cuadro 2. Procedencia de las cepas de *B. bassiana* utilizadas en los bioensayos.

Cepa	Aislamiento	Lugar de colecta y coordenadas geográficas	Fecha de colecta	Fecha de reactivación
BB01	Chapulín <i>Melanoplus</i> spp.	San Bartolo, Municipio de Apaseo el Alto, Guanajuato (20°30'47.77"N, 100°33'2.05"O.)	10 de febrero de 2004	14 de abril de 2009
BB02	Chinche <i>Lygus</i> spp. en maíz	Irapuato (20°44'50.71"N, 101°19'38.1"O).	8 de agosto de 2004	14 de abril de 2009
BB32	<i>Bactericera</i> spp en chile	Irapuato	8 de agosto de 2004	14 de abril de 2009

Las cepas fueron reactivadas en medio de cultivo solidificado Agar Dextrosa Saborau (ADS) y mantenidas en cajas Petri de plástico a 25°C hasta su utilización en los bioensayos.

3.4 Evaluación de la patogenicidad de tres cepas de *B. bassiana*

Para la patogenicidad y virulencia se evaluaron las tres cepas y un testigo utilizando un diseño completamente al azar, cada tratamiento tuvo tres repeticiones y nueve insectos por repetición. Por cinco días, los adultos de *L. zonatus* se mantuvieron aislados. Al termino de la cuarentena, se sumergieron por tres segundos en una suspensión acuosa de Tween 80 al 0.03% con 1×10^8 conidias mL^{-1} para cada cepa. El testigo consistió solamente en la inmersión de

los insectos en agua con Tween 80 al 0.03%. Inmediatamente después de la inmersión, los insectos fueron colocados en cajas Petri con papel filtro con la finalidad de eliminar el exceso de suspensión. Posteriormente los insectos fueron colocados en recipientes de plástico de 500 cm³ de acuerdo a cada tratamiento y fueron alimentados con frutos frescos de *J. curcas* y vainas frescas de frijol. Durante el bioensayo, los insectos permanecieron en una incubadora (marca Seedburo modelo MP6-3000 B) a una temperatura de 24°C ± 1 con un rango de humedad relativa de 65 a 78% (Grimm, 1999).

3.5 Evaluación de la mortalidad

La mortalidad de los insectos fue contada diariamente durante 20 días y fue corregida mediante la fórmula de Abbott. Los insectos muertos fueron colocados de manera individual en cajas Petri con papel filtro esterilizado y humedecido con agua destilada estéril e incubados por dos semanas a 25°C para favorecer el crecimiento de micelio y producción de conidios.

Se determinó el porcentaje de esporulación y también la intensidad de la misma sumergiendo los insectos esporulados en una solución Tween 80 al 0.03%. Se agitó manualmente por 1 minuto y después se tomó una alícuota de 10µL y se diluyó en 1 mL de solución “Tween 80” al 0.03% y se procedió al conteo de conidios usando una cámara de Neubauer.

3.6 Germinación de conidias

El porcentaje de germinación de conidias se determinó tomando muestras de la misma suspensión utilizada en este bioensayo (1×10^8 conidios mL⁻¹) y colocando alícuotas de 10 µL en cajas Petri con medio ADS solidificado e incubadas durante 24 h a 25±1 °C. Una vez transcurrido este periodo, se contabilizó el número de unidades germinadas de cada 300 conidias utilizando una cámara Neubauer. Este paso se realizó seis veces por cada cepa.

3.7 Efectividad biológica de la cepa BB01

Una vez que se determinó que la cepa BB01 fue la cepa más patogénica y virulenta de acuerdo a los resultados del ensayo anterior se establecieron seis tratamientos con tres repeticiones, ocho insectos por repetición. Los tratamientos consistieron en cinco concentraciones de conidios (1×10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 conidios mL^{-1}) suspendidas en una solución Tween 80 al 0.03% y el testigo el cual solo fue la solución Tween 80 al 0.03%.

Las concentración de conidias que provocan el 50% de la mortalidad, Dosis Letal 50 (DL50), fue calculada tomando en cuenta el número de insectos vivos al inicio y al final de cada tratamiento incluidas las repeticiones. El tiempo en el que murió el 50% de la población, El Tiempo Letal 50 (TL50), fue evaluado para ambos ensayos y calculado mediante el análisis Probit.

3.8 Análisis de datos

Los datos de las variables porcentaje de mortalidad, porcentaje e intensidad de esporulación y germinación de esporas, fueron sometidos a una prueba de análisis de varianza y una prueba de comparación de medias mediante la prueba de Tukey con un intervalo de confianza de $\alpha = 0.05$ para el primer bioensayo y con la prueba de LDS y un $\alpha = 0.06$ para el segundo bioensayo, utilizando un diseño Completamente al Azar (DCA) usando el programa estadístico SAS versión 9.0.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existe poca información sobre aspectos relacionados con plagas en el cultivo de *J. curcas*, sin embargo algunos autores reportan daños por la presencia de plagas en la planta, bajo condiciones de monocultivo.

4.1 Presencia de *L. zonatus* plantaciones de *J. curcas* bajo dos ambientes diferentes

En la parcela experimental de piñón en la comunidad de Ecatlán, en la primer visita que se realizó en el mes de mayo de 2009, solo se encontró un ejemplar adulto de *Leptoglossus* spp, en una planta de cítrico a 100 metros de dicha parcela. Las siguientes visitas (marzo, mayo, junio y julio de 2010) no se encontraron ejemplares del insecto. En Jonotla, en plantas de piñón ubicadas en traspatio, se localizó solamente un ejemplar macho de *L. zonatus* en la colecta de finales de junio.

Debido a la amplia diversidad registrada (758 especies, agrupadas en 128 familias y 456 géneros) en la Sierra Norte de Puebla (Martínez *et al.*, 2007), y a las condiciones ambientales y de relieve montañoso con pendientes pronunciadas, el establecimiento de monocultivos como sorgo, maíz, frijol los cuales son hospederos de *L. zonatus*, se dificulta, es común observar a éstas especies vegetales asociadas entre ellas y con algunas especies más en la región, y aún no existen parcelas grandes de piñón bajo sistema de monocultivo, por lo que es posible que *L. zonatus*, el cual se está volviendo un insecto especialista en piñón, aún no se encuentra causando daño además de existir una gran diversidad de plantas de las cuales se puede alimentar.

Por otra parte en el área de Barranca Honda, Yautepec, es común que el sorgo y frijol se encuentren bajo monocultivo, y sirven como alimento y hospederos

para *L. zonatus*, teniendo hospederos alternantes durante el resto del año en la vegetación nativa, precisamente en plantas como guayaba y algunos otros matorrales a las orillas de las parcelas o en las laderas aledañas, y recientemente, alimentándose de *J. curcas* debido a su introducción.

La presencia de *L. zonatus* en plantaciones de piñón en Yautepec coincide con la floración y fructificación de *J. curcas* y la chinche se encuentra presente en mayor incidencia durante el desarrollo del fruto de piñón al igual que con la maduración de grano en el cultivo de sorgo y con el desarrollo de vainas en frijol, los cuales son cultivos comunes en esta época del año en dicho municipio.

Cuando se realizan aplicaciones de algún producto químico (septiembre a noviembre) para el control de la chinche pata de hoja en las plantaciones experimentales de piñón en el CEPROBI, el insecto se hospeda en la vegetación aledaña o en cultivos aledaños (Zenón Ramírez⁴, 2009; comunicación personal).

Comportamiento de *L. zonatus*

En las plantaciones de piñón, el insecto se encuentra en mayor concentración en las plantas ubicadas en la periferia de la parcela, alimentándose principalmente de los frutos y tiene poca actividad por la mañana, por lo que se puede capturar con cierta facilidad con ayuda de una red entomológica de golpeo o inclusive -si se tiene cuidado- se pueden capturar manualmente ya que el insecto no tiende a volar a esa hora.

Después de medio día, conforme la temperatura aumenta, el insecto muestra mayor movilidad y vuela con facilidad, por lo que su captura se vuelve difícil incluso valiéndose del uso de redes. La presencia del insecto, es en su mayoría de adultos hembras y machos, se observan pocas ninfas de los primeros

⁴ Zenón Ramírez Domínguez, trabajador encargado de campo del CEPROBI.

instares y de manera esporádica se pueden encontrar hileras de huevos sobre peciolo, hojas y algunas ramas.

Lo anterior concuerda con Grimm y Führer (1998), quienes reportan que la baja incidencia de huevos y ninfas en el cultivo de piñón, comparadas con los adultos indican que dicha planta no es el sitio preferido para la reproducción de *L. zonatus*. Aunque se han encontrado cadenas de hasta 50 huevos en tallos, ramas, hojas y pedúnculos.

En plantaciones de sorgo y frijol la tendencia del insecto es a concentrarse en las plantas de la periferia de las parcelas, con la diferencia de que en sorgo se encuentran en la panícula y en frijol se encuentran en las vainas. De manera contraria a lo observado en piñón, en estos cultivos se pueden encontrar agregaciones de ninfas, generalmente de los primeros tres instares, en las panojas o en las hojas de la planta de sorgo y también en las vainas y hojas de frijol. Schaefer y Panizzi, (2000), mencionan que generalmente los coreidos durante el primer y el segundo instar son gregarios, la dispersión comienza a partir del tercer estadio.

4.2 Establecimiento de la cría

La primera colecta de *L. zonatus* fue realizada en el cultivo de piñón, dentro de las instalaciones del CEPROBI. Los insectos fueron aislados por tres días de manera individual en frascos de vidrio y alimentados con frutos de piñón (figura 8). Durante el aislamiento se descartó a los insectos más débiles, no se encontraron insectos parasitados.



Figura 8. Cuarentena de *L. zonatus*.

De los insectos colectados, solo dos hembras ovipositaron 25 huevos cada una, los huevos fueron aislados inmediatamente en frascos limpios de vidrio y se colocó miel y frutos inmaduros de piñón para alimento de las ninfas que emergieron. Los frascos se colocaron en el laboratorio del Banco de Germoplasma a temperatura ambiente de 18-22°C en el día y de noche hasta 14C°. A los tres días de ser aislados, los huevos fueron atacados por un hongo y no lograron desarrollarse, posiblemente a que se les colocó el alimento y se mantuvieron fuera de la cámara de cría.

Al respecto, Grimm y Somarriba (1999), criaron a *L. zonatus* alimentándolos solamente con frutos inmaduros de piñón, a un rango de temperatura de 26.7 a 31.1°C, logrando no solo la sobrevivencia del insecto, sino también completando su ciclo biológico con éxito. Pazzini (1989), evaluó el desarrollo de *L. zonatus* con diferentes dietas a una temperatura constante de 25°C $\pm$ 1°C, completando el ciclo de vida de *L. zonatus*. Matrangolo y Waquil (1994), establecieron una cría del mismo insecto a 28°C $\pm$ 2°C y también lograron completar el ciclo del insecto.

Los insectos que lograron sobrevivir se colocaron dentro de la cámara de cría después de haber sido calibrada nuevamente a una temperatura de entre 24 y 26°C en el día y de 22°C por la noche con un fotoperiodo de 12:12h. Se aparearon dos parejas de *L. zonatus* las cuales ovipositaron 40 y 41 huevos respectivamente. Después de 15 días, emergieron en total 65 ninfas (80.24%) y

las ninfas que lograron sobrevivir, mudaron al segundo instar a los 7 días. Jackson *et al.*, (1995), encontraron que la temperatura optima para obtener el mayor porcentaje de eclosión de huevos es a 20°C. Grimm y Somarriba (1999) reportan que entre 26 y 31°C Los huevos de *L. zonatus* pasan a ninfas de primer instar en 8.4 días después de haber sido ovipositados y a los 2.4 días pasan al segundo instar. Dado lo anterior, es posible que la temperatura haya influido en el porcentaje de eclosión de los huevos y en la maduración de las ninfas. En el cuadro 3 se muestra la sobrevivencia de ninfas de segundo instar.

Cuadro 3. Sobrevivencia en días de ninfas recién emergidas de segundo instar de *L. zonatus*

jaula	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
2	13	11	9	3	3	3	2	2 (1 muda 3er instar)	0
3	18	16	16	14	7	5	3	3 (2 mudan 3er instar)	0

Las ninfas fueron alimentadas con vainas frescas de frijol, se les colocó un algodón humedecido con agua destilada estéril y algunas gotas de miel de abeja. Para el séptimo día habían muerto el 80% de las ninfas y al octavo día solo tres ninfas de las cinco sobrevivientes mudaron al tercer instar, aunque al día siguiente murieron. La temperatura se mantuvo entre 22 y 26°C. Grimm y Somarriba (1999), reportan que incluso las ninfas de *L. zonatus* se pueden alimentar solamente con frutos inmaduros y frescos de piñón, sin necesidad de proporcionarles agua, criándose a una temperatura de 26.7 a 31.1°C y que bajo estas condiciones, las ninfas del segundo instar pasan al tercer instar en cinco días, con una mortalidad total de ninfas del 41.5%. Pazzini (1989), al evaluar la crianza de *L. zonatus* bajo dietas de granos inmaduros de maíz, soya y vainas de frijol a 25°C y 65% $\pm$ 5% de humedad relativa, obtuvo una mortalidad de

ninfas de segundo al quinto instar de 50% en maíz, y de 85% en vainas frescas de frijol.

En la segunda colecta se encontraron ninfas de *L. zonatus* del tercer al quinto instar en el cultivo de sorgo y se colocaron en la cámara de cría. De las ninfas colectadas, siete hembras y siete machos lograron desarrollarse y llegar al estado adulto. Las ninfas de *L. zonatus* completan su desarrollo hasta convertirse en adultos en promedio el 26 días, y su ciclo completo es de 71 y 84 días para machos y hembras, alimentándose solo de frutos frescos de piñón a una temperatura de entre 26 y 31 °C (Grimm, 1999), comparado con los 29 días en maíz a 25°C o los 31 días en sorgo para el desarrollo de ninfas y de 71 y 54 días el ciclo de vida completo de hembras y machos respectivamente (Matrangolo y Waquil, 1994). Las condiciones más favorables para el desarrollo de *L. zonatus* es de entre 25 y 30°C, por lo que en México existen diversas regiones donde se puede presentar dicho insecto en plantaciones de *J. curcas* L. y llegar a representar un serio problema.

4.3 Patogenicidad de tres cepas de *B. bassiana*

La cepa BB01 aislada de *Melanoplus* sp fue la cepa que presentó la mayor mortalidad (85.71%) y un mayor porcentaje de germinación de esporas (99.28%), en comparación con las otras dos cepas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Porcentaje de mortalidad y esporulación, concentración de esporulación y germinación de conidias de tres cepas de *B. bassiana* sobre adultos de *L. zonatus*.

CEPA	MORTALIDAD (%)	ESPORULACIÓN (%)	CONCENTRACIÓN DE LA ESPORULACIÓN (1)	GERMINACIÓN DE CONIDIAS (%)
BB01	85.71 a *	93.33 a	18.8925 a	99.28 a
BB02	42.86 ab	66.67 a	19.2370 a	96.67 b
BB32	47.62 ab	88.89 a	18.5920 a	95.40 b
TESTIGO	22.22 b	0.00 b	-----	-----

(1); Ln de la cantidad de conidias mL⁻¹, *, letra diferente indica diferencia significativa (p≤0.05) en la prueba de tukey.

Aunque en las variables de porcentaje y concentración de esporulación, no hubo diferencias estadísticamente significativas, se puede observar físicamente que la esporulación de las cepas es más marcada en la cepa BB01, que en la BB02 y en la BB32 (Figura 9).

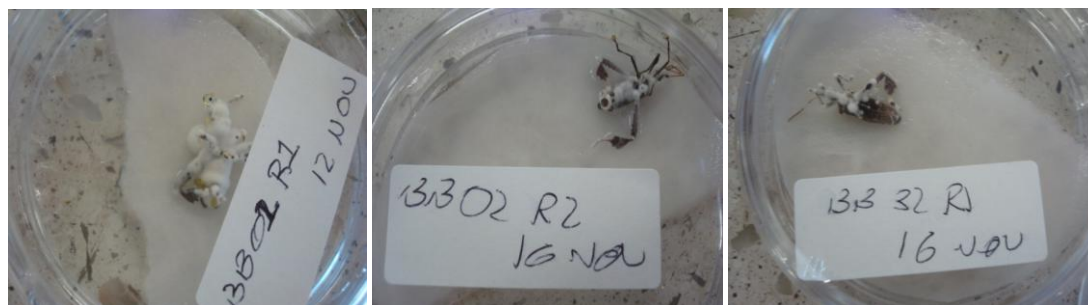


Figura 9. Comparación de esporulación entre cepas de *B. bassiana* sobre adultos de *L. zonatus*.

Beauveria bassiana ha sido utilizada para regular poblaciones de diferentes coleópteros de los géneros *Diabrotica*, *Colapis*, y *Maecolapis* (Sosa et al., 1994), también es patogénico en adultos del pulgón ruso *D. noxia* y en la broca del café *H. hampei* (Feng y Johnson, 1990). Además reduce significativamente las poblaciones de larvas y adultos de la catarina de la papa *L. decemlineata* (Anderson et al., 1988). La aplicación de *B. bassiana* en el suelo reducen la emergencia de adultos de *D. undecimpunctata*, y el daño a la raíz es menos severo en suelo tratado con el hongo que en los suelos infestados con la plaga, sin tratamiento conidial (Krueger y Roberts, 1997). Grimm y Guharay (1998), mencionaron que también se puede utilizar como un agente de control biológico para *L. zonatus* y *Pachycoris Klugii*.

B. bassiana también ejerce un control efectivo sobre algunos hemípteros como *B. Leucopterus* (Ramoska y Todd, 1985), al igual que adultos de *L. hesperus*, siempre y cuando se presenten las condiciones adecuadas de temperatura y humedad relativa. Takuji y Strickler (2000), reportan que *B. bassiana* también es patogénica a 25°C en huevos de *L. hesperus* no así a 35°C, por lo que también este hongo es una alternativa viable de control para dicho insecto.

Es posible que *B. bassiana* pueda ejercer un control efectivo en *L. zonatus* debido al alto porcentaje de mortalidad obtenido pero se debe tomar en cuenta que para que un organismo sea utilizado como agente de control biológico, no es suficiente un alto porcentaje de mortalidad sobre el organismo objetivo, también debe lograr la mortalidad con cierta rapidez, por lo que el Tiempo Letal 50, es una variable que cobra importancia. La cepa BB01 evaluada en éste trabajo alcanzó TL50 a los 7.8 días, seguida por la BB02 y BB03 con 16.9 y 17.4 días respectivamente (Cuadro 5).

Cuadro 5: Tiempo Letal 50 en días y significancia de tres cepas de *B. bassiana* sobre adultos de *L. zonatus*.

CEPA	TL50	Pr > ChiSq
BB01	7.80679	<.0001
BB02	16.98266	<.0001
BB32	17.43740	<.0001

En relación a la rapidez del hongo en tener un efecto sobre sus hospedero, Lezama *et al.*, (1998), mencionan que algunas cepas de *B. bassiana* presentan virulencia variable sobre *S. frugiperda*, con un parasitismo de hasta 90% en huevos y 100% en larvas, el aislamiento más sobresaliente presentó un TL50 de 3.1 y 2.8 días en huevos y larvas del mismo insecto, y una CL50 de 2.4×10^3 conidias mL⁻¹. Por otra parte, en bioensayos realizados sobre el picudo del plátano *C. sordius*, *B. bassiana* causa mortalidades de 63-97% en los 35 días posteriores a la exposición de las esporas. (Kaaya *et al.*, 1993). Dado lo anterior, es posible notar que la mortalidad y rapidez con que actúa *B. bassiana*, depende del organismo inoculado, la concentración de la aplicación del hongo, e incluso el estado de desarrollo del organismo objetivo.

En bioensayos realizados sobre *M. sanguinipes*, las cepas de *B. bassiana* GK2016, “tipo nativo” (virulento), y GK2051, presentaron un TL50 de 5.8 y 7.8 días respectivamente, aunque fueron sólo dos días de diferencia en el valor de TL50, la cepa GK2051 requirió 17 días para matar el 90% de la población y nunca produjo 100% de mortalidad, mientras que la cepa “tipo nativo” GK2016,

causó el 100% de muerte en 8-10 días (Kosir *et al.*, 1991). Grimm y Guharay (1998), reportan que al evaluar la mortalidad de adultos de *L. zonatus* inoculados con tres diferentes cepas de *B. bassiana*, se alcanzó el 50% de la mortalidad entre los 10 y 13 días después de la inoculación. Es posible deducir que la mortalidad del organismo, no solo depende de las características de éste, sino también depende de las características de la cepa utilizada. Considerando los resultados obtenidos, la cepa BB01 de *B. bassiana* evaluada en éste experimento (Figura 10), es más patogénica y virulenta sobre adultos de *L. zonatus* que las cepas del mismo hongo reportadas por Grimm y Guharay (1998), para el control de éste mismo insecto.

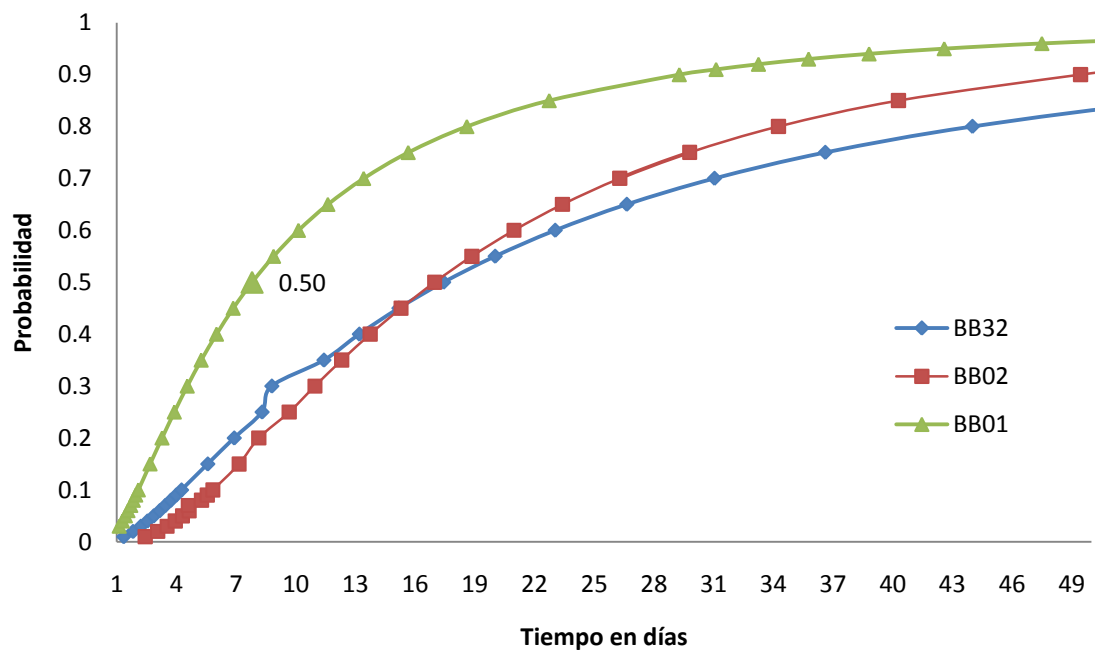


Figura 10. Tiempo Letal 50 de cepas de *B. Bassiana*

4.4 Efectividad biológica de la cepa BB01 de *B. bassiana*

Debido al mayor porcentaje de mortalidad (85.7%), menor tiempo en días para alcanzar el TL50 (7.8 días) y al mayor porcentaje de germinación de esporas (99.28%), la cepa BB01, fue utilizada para realizar el segundo bioensayo. La

suspensión de 1×10^8 conidios mL^{-1} fue la que presentó los valores más altos en las variables de mortalidad (100%), esporulación (79.16%) y en la concentración de la esporulación (19.53), en comparación con las demás tratamientos (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de mortalidad y esporulación, concentración de esporulación de cepa BB01 de *B. bassiana* sobre adultos de *L. zonatus*.

TRATAMIENTO	MORTALIDAD (%)	ESPORULACIÓN (%)	CONCENTRACIÓN DE LA ESPORULACIÓN
1×10^4	75.12 ab*	50.233 b	18.4533 c
1×10^5	70.15 b	62.667 ab	19.4600 ab
1×10^6	70.14 b	53.373 b	18.7333 bc
1×10^7	80.11 ab	68.053 ab	19.1300 abc
1×10^8	100.0 a	79.167 a	19.5333 a
TESTIGO	16.67 c	0.000 c	0.0000 d

*, Diferente letra indica diferencias significativas entre tratamientos bajo la prueba LSD ($p \leq 0.06$).

Al respecto, la mortalidad de larvas y adultos de la catarina de la papa *L. decemlineata* está relacionada con aplicaciones en diferentes dosis (1×10^4 , 3×10^4 , y 1×10^5 conidios cm^2^{-1} de área foliar) de *B. bassiana* (Fargues *et al.*, 1994). Por otra parte, Grimm y Guharay (1998), al estudiar el efecto de diferentes cepas de *B. bassiana* (1×10^7 conidios mL^{-1}), sobre adultos de *L. zonatus*, encontraron mortalidades del 88 al 99%. Las diferentes dosis de la cepa BB01 de *B. bassiana* (cuadro 6), evaluadas en el presente trabajo, presentaron mortalidades desde el 70% hasta el 100%, este último valor obtenido en la concentración de 1×10^8 conidios mL^{-1} , por lo que la mortalidad de *L. zonatus* también está relacionada con las dosis aplicadas del hongo.

La susceptibilidad y la relación de los hongos con los hospederos se asocian con los nutrimentos presentes sobre el cuerpo de los insectos, los cuales a su vez son el medio para la propagación, dispersión y persistencia de dichos organismos (Hajek, 1997). Debido a lo anterior la esporulación del hongo en el cuerpo del insecto es un medio de dispersión y propagación tal y como se

observa en nidos de la hormiga de fuego, *S. invicta*, donde *B. bassiana* crece y esporula (Pereira *et al.*, 1993), por lo que representa un agente potencial de control biológico para dicha hormiga (Siebenelcher *et al.*, 1992). En éste experimento, la dosis de 1×10^8 conidias mL^{-1} tuvo la mayor esporulación (cuadro 6), por lo que la capacidad de dispersión del hongo y de infección a otros insectos, es mayor.

La DL50 de la cepa BB01 sobre adultos de *L. zonatus* fue de 5.2×10^7 conidias mL^{-1} ($\text{Pr} > \text{ChiSq} = 0.0021$) (Cuadro 7), por lo que la DL50 se encuentra dentro del rango de las concentraciones evaluadas en el presente trabajo.

Cuadro 7. Dosis Letal 50, en conidias mL^{-1} de la cepa BB01 de *B. bassiana* en adultos de *L. zonatus*.

TIEMPO	DL50	Pr > ChiSq
8 DÍAS	52903196	0.0021

Al respecto dosis de *B. bassiana* cercana a la DL50 redujeron el potencial reproductivo de *S. lineatus*; la fertilidad y fecundidad de *C. suppressalis* así como el desarrollo de los huevecillos de las chicharritas en plantas de arroz (Feng *et al.*, 1994). Por otra parte aislamientos de *B. bassiana* sobre larvas y adultos de *S. frugiperda*, presentaron una DL50 es de 2.4×10^3 conidias mL^{-1} y una TL50 de 3.8 días (Lezama *et al.*, 1996).

La dosis de 1×10^8 conidias mL^{-1} fue la que presentó el menor valor en el TL50 (5.9 días) (Cuadro 8), por lo que es la dosis que mata con mayor rapidez al 50% de la población de *L. zonatus*. (Figura 13).

Cuadro 8. Tiempo Letal 50 en días de la cepa BB01 de *B. bassiana* en adultos de *L zonatus*.

CEPA	TL50	Pr > ChiSq
1×10^4	13.15832	<.0001
1×10^5	16.22547	<.0001
1×10^6	15.41490	<.0001
1×10^7	10.88828	<.0001
1×10^8	5.95965	<.0001

La mortalidad de *M. sanguinipes* está relacionada con la dosis ingerida de esporas (54.3-60.0 mg por chapulín), las primeras muertes atribuidas a *B. bassiana* ocurren en los días 6 y 7 en dosis de 1.1×10^7 y 5.4×10^6 conidias mL^{-1} , mientras que las dosis bajas de 1.1×10^4 y 1.2×10^5 conidias mL^{-1} ocasionan la muerte hasta los días 13 y 14 respectivamente (Jeffer *et al.*, 1997). Por otra parte *B. bassiana* es un organismo potencial para ser usado en el control biológico de áfidos, en un bioensayo realizado, con dosis de 1×10^4 a 1×10^8 conidias mL^{-1} , el hongo presentó un alto nivel de virulencia sobre el pulgón *P. humuli*, obteniéndose una DL50 de 1.37×10^5 conidias mL^{-1} , y el TL50 se redujo en la medida del incremento de la dosis conidial (Dorschner *et al.*, 1991). Algo similar ocurrió en el presente trabajo debido a que las dosis más altas presentaron los valores más bajos en el TL50 (Figura 11).

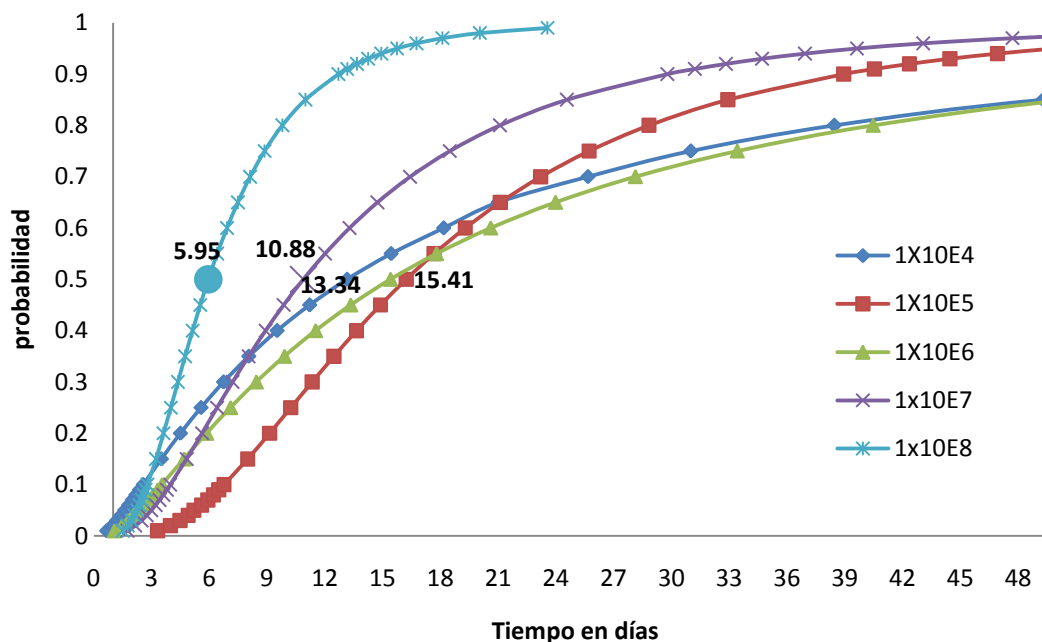


Figura 11. Tiempo Letal 50 para concentraciones de BB01.

Considerando lo anteriormente citado, *B. bassiana* es un hongo que puede ser utilizado para el manejo de las poblaciones de *L. zonatus* de una forma sustentable, ya que no genera contaminación al ambiente y no mata organismos benéficos. Sin embargo habrá que realizar los estudios correspondientes en condiciones de invernadero y de campo para validar la efectividad de este hongo contra *L. zonatus* en las condiciones antes mencionadas.

V. CONCLUSIONES

Sólo se encontró la presencia de *Leptoglossus zonatus* en *Jatropha curcas* bajo condiciones de monocultivo en el municipio de Yuatepec así como en los cultivos de sorgo y frijol.

En la Sierra Norte de Puebla, se encontró la presencia de *L. zonatus* (Solamente un macho), en plantas de traspatio.

Bajo las condiciones mencionadas en este experimento, no se pudo completar el ciclo biológico de *L. zonatus* en laboratorio.

Las tres cepas de *Beauveria bassiana* manejadas en el presente trabajo son patogénicas y virulentas sobre adultos de *L. zonatus* en condiciones de laboratorio.

La cepa más virulenta y patogénica fue BB01 causando 100% de mortalidad en adultos de *L. zonatus* con una DL50 de 5.2×10^7 conidias mL⁻¹ y un TL50 de 5.9 días.

Existe una relación proporcional entre la patogenicidad y virulencia de cepas de *B. bassiana* (BB01) con la dosis aplicada sobre adultos de *L. zonatus*.

VI ANEXOS

6.1 Recomendaciones

Es importante mantener un seguimiento a la presente investigación, debido a que en esta primer fase, se observa que es posible utilizar hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana*) para el control de *L. zonatus*. Debido a que los bioensayos presentados en este trabajo de tesis se realizaron bajo condiciones controladas en laboratorio, se deben diseñar nuevos experimentos que conduzcan a evaluar la efectividad biológica de *B. bassiana* en campo, donde las condiciones ambientales no se pueden controlar, por lo que conocer el comportamiento del hongo y su efecto en *L. zonatus* es determinante para estudios posteriores que conduzcan a la elaboración de algún bioplaguicida encaminado hacia el control de la chinche pata de hoja, e inclusive al control de otros insectos que puedan representar un riesgo en el cultivo de piñón.

Para llevar a cabo el experimento en campo los insectos pueden ser inoculados en laboratorio y llevados a campo utilizando plantas de *J. curcas* en fructificación previamente aisladas por jaulas hechas de maya, para evitar la salida de los adultos pero sin perjudicar a la planta.

Debido a las dificultades observadas en la crianza de *Leptoglossus zonatus* en condiciones de laboratorio, es recomendable modificar algunos factores como la temperatura. La literatura reporta que para que los huevos eclosionen tienen que mantenerse a una temperatura de 20°C (Jackson *et al.*, 1995) y una vez que ya se tienen ninfas, se pueden mantener de 26 a 31°C y alimentarse solo con frutos de *J. curcas* (Grimm y Somarriba, 1999), por lo que se puede evaluar diferentes dietas y la longevidad de *L. zonatus* en cada dieta y a diferentes temperaturas.

Por lo anterior, si se desea establecer una cría, es preferible que se realice entre el mes de septiembre, por ser el periodo de tiempo cuando se pueden encontrar frutos de *J. curcas* en las plantaciones experimentales del CEPROBI. Se ha demostrado que el efecto de la dieta a la que se somete *L. zonatus*, puede ser determinante en la sobrevivencia del mismo a través de los diferentes estadios así como la duración del ciclo biológico.

Es recomendable continuar con estudios encaminados a la búsqueda de alternativas de control de *L. zonatus*. Una de las alternativas es la búsqueda de enemigos naturales (otros hongos entomopatógenos, organismos parasitoides, depredadores.) en los diferentes ambientes donde se establecen plantaciones de piñón.

También es importante tomar en cuenta que *L. zonatus* no es el único organismo que representa un riesgo potencial como plaga de *J. curcas* bajo condiciones de monocultivo, existen diversos organismos que deben ser estudiados ya que se encuentran presentes en México y en los ambientes naturales donde se puede cultivar al piñón por lo que ampliar las investigaciones hacia otras posibles plagas de piñón es necesaria.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Adane K., Moore D., y Archer S., A. 1996. Preliminary studies on the use of *Beauveria bassiana* to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. *Journal of Stored Products Research*, 23(2): 105-113.

Alean Carreño I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis Doctoral Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá Colombia, 101p.

Anderson T. E., Hajek A. E., Roberts D. W., Preisler H. K., y Robertson J. L., 1989. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): effects of combinations of *Beauveria bassiana* with insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 82(1): 83-89.

Barron G. 2001. George Barron`s Website on Fungi. Universidad de Guelph, Ontario, Canadá. Consultado 25 de julio de 2010. Disponible en: <http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/nov01.htm>

Bautista R. E. 2007. Contribución al Estudio Etnobotánico del Piñón (*Jatropha curcas* L.) y Alternativas para la Conservación de su Plasma Germinal. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma Chapingo. 126p.

Boucias, D.G., Pendland, J.C. y Latgé, J.P. 1988. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. *Applied and Environmental Microbiology* 54(7): 1795-1805.

Bing L. A., y Lewis L., C. 1992. Temporal relationships between *Zea mays*, *Ostrinia núbilalis* (Lep. Pyralidae) and endophytic *Beauveria bassiana*. *Entomophaga*, 37(4): 525-536.

Behl H. M. 2008. Commercial Plantation. *Jatropha*, Best Practices. Noviembre 6 y 7. Miami. EE.UU.

Buckner, J.S., Mardaus, M.C. and Nelson, D.R. 1996. Cuticular lipid composition of *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* pupae. *Comprehensive Biochemical Physiology* 114B:207-216.

Cañedo V. y Armes T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la papa, Perú, 62p.

Carels N. 2009. *Jatropha curcas*: A Review. In: *Advances in Botanical Research* by Jean-Claude Kader and Michel Delseny (Eds), Vol 50:39-86. DOI: Doi 10.1016/S0065-2296(08)00802-1.

Carrillo L. 2005. Los hongos de los alimentos y forrajes: Estructuras. Universidad Nacional de Salta. Facultad de Ciencias Agrarias. Consultado 25 de julio de 2010. Disponible en: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/micologia.htm>

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.

Cruz y Victoria, M.T., Contreras-Tinoco, K.E., Anaya-Sosa, I. Aceite de (*Jatropha curcas*), análisis de su composición. Graduados en Alimentos.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional.
(www.ipn.mx)

Champlin F. R., Cheung P. Y., Perku K. S., Smith R. J., Buton R. L., and Grula E., A. 1981. Virulence of *Beauveria bassiana* mutants for the pecan weevil. *Journal of Economic Entomology*, (74): 617-621.

Daoust, R. A., y Pereira, R. M. (1986). Stability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on beetle-attracting tubers and cowpea foliage in Brazil. *Environmental Entomology*, 15(6): 1237-1243.

Dorschner, K. W., M. G. Feng y C. R. Baird. 1991. Virulence of an aphid-derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) to the hop aphid, *Phorodon humuli* (Homoptera: Aphididae). *Environ. Entomol* (20):690–693.

Enríquez Vara Jhony Navat. 2008. Producción de enzimas extracelulares y esporas de *Lecanicillium lecanii* en arroz- quitina de camarón y efecto sobre *Brevycorene brassicae*". Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados, Montecillos, México, 91p.

España Luna Martha Patricia. 2000. Caracterización enzimática de aislados de *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) y su virulencia sobre *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). Tesis de Maestría, Universidad de Colima, 72p.

Esser J. 2005. *Jatropha* Haiti/Dominican, sistema de *Jatropha* en la zona fronteriza. Fact. Seminar *Jatropha curcas* L. The Netherlands march 2007.

Fargues J., Delmas J. C., y Lebrun R., A. 1994. Leaf consumption by larvae of colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the

entomopathogen, *Beauveria bassiana*. Journal of Economic Entomology, 87(1): 67-71.

Feng M. G., Poprawski T. J., y Khachatourians, G., G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current Status. Review. Biocontrol Science and Technology, (4):3-34.

Feng M. G., y Johnson J., B. 1990. Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology, (19): 785-790.

Ferron, P. 1978. Biological control of insect pest by entomopathogenous fungi. In: Annual review of entomology (United States). (23): 409-442

García M., E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Cuarta edición. Enriqueta García de Miranda. Universidad Nacional autónoma de México, México D.F, 217p.

García G., C. y Mendoza R., H. 2006. Biotecnología financiera aplicada a bioinsecticidas. Instituto Politécnico Nacional e Instituto tecnológico de Durango. ISBN: 03-2006 112912263000-01.

Grimm C. 1999. Evaluation of damage to physic nut (*Jatropha curcas*) by true bugs. Entomologia Experimentalis et Applicata, Vol 92, (2): 127-136(10).

Grimm C., y J. M., Maes. 1997a. Arthropod fauna associated with *Jatropha curcas* L. in Nicaragua: a synopsis of species, their biology and pest status. In G.M. Gubitz M., Mittellbach and M. Trabi (eds). Biofuels and Industrial Products from *Jatropha curcas*. Dbv- Verlag, Graz. pp. 31-39.

Grimm C., y J. M. Maes. 1997b. Insectos asociados al cultivo de template (*Jatropha curcas*) en el pacific de Nicaragua. III. Coreoidea (Heteroptera). Revista Nicaragüense de Entomología. (42): 15-34.

Grimm C., y Führer E. 1998. Population dynamics of true bugs (Heteroptera) in physic nut (*Jatropha curcas*) plantations in Nicaragua. Journal of Applied Entomology (122): 515–521.

Grimm C. y Guharay F. 1998. Control of leaf-footed bug *Leptoglossus zonatus* and shield-backed bug *Pachycoris klugii* with entomopathogenic fungi. Biocontrol Science and Technology (8):365–376.

Grimm C. y Somarriba A. 1999. Suitability of physic nut (*Jatropha curcas* L.) as single host plant for the leaf-footed bug *Leptoglossus zonatus* Dallas (Het., Coreidae) Journal Applied Entomology, (123): 347-350.

Hajek A.E. y Leger R. J. 1994. Interaction between fungal pathogens and insects hosts. Annu. Rev. Entomol. (39):293-322.

Hajek A., E. 1997. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. Adv. Microb. Ecol. (15): 193-249.

Hannan-Jones M., y Csrhues S. 2008. Pest Plant Risk Assessment Physic nut, *Jatropha curcas*. Queensland Government, Departament of Primary Industries and Fisheries. 24p.

Hare O. J., y Andreadis T. G., 1983. Variation in the susceptibility of *Leptinotarsa decemlineafa* (Coleoptera: Chrysomelidae) when reared on different host plants to the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* in the field and laboratory. Environmental Entomology, (12):1892-1897.

Harrison, R. D., Gardner, W. A., y Kinard, D. J. (1993). Relative susceptibility of pecan weevil fourth instars and adults to selected isolates of *Beauveria bassiana*. *Biological Control*, (3): 34-38.

Hegedus D. D., Bidochka M. J., Miranpuri G. S., y Khachatourians G., G. 1992. A comparison of the virulence, stability and cell-wall-surface characteristics of three spore types produced by entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, (36): 785-789.

Heller J. 1992. Untersuchungen über genotypische Eigenschaften und Vermehrungs- und Anbauverfahren bei der Purgiernuß (*Jatropha curcas* L.) [Studies on genotypic characteristics and propagation and cultivation methods for physic nut (*Jatropha curcas* L.)] Dr. Kovac, Hamburg.

Heller Joachim. 1996. Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome.

Herbison-Evans D., y Crossley S. 2006. *Spodoptera litura* (Fabricius, 19775) (updated December 2006), www.usyd.edu.au/museums/larvae/acro/litura.html (accessed 21 May 2007)

Hung S. Y., Boucias D. G., y Vey A., J. 1993. Effect of *Beauveria bassiana* and *Candida albicans* on the cellular defense response of *Spodoptera exigua*. *Journal of Invertebrate Pathology*, (61): 179-187.

Inglis, G. D., Feniuk, R. P., Goettel, M. S., y Johnson, D. L. (1995b). Mortality of grasshoppers exposed to *Beauveria bassiana* during oviposition and nymphal emergence. *Journal of Invertebrate Pathology*, (85): 139-146.

Inglis G. D., Johnson D. L., y Goettel M., S. 1996. Effect of bait substrate and formulation on infection of grasshopper nymphs by *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology*, (6): 35-50.

Inglis G. D., Johnson D. L., y Goettel M. S. 1997. Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symptendriales) of grasshoppers under field conditions. *Environmental Entomology*, (26): 400-409.

Inglis G. D., Johnson D. L., y Goettel M. S. 1997a. Field and laboratory evaluation of two conidial batches of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against grasshoppers. *Canadian Entomologist*, 129(1): 171-186.

Jackson, C. G., M. S. Tveten y P. J. Figuli, 1995. Development, longevity and fecundity of *Leptoglossus zonatus* on a meridic diet. *Southwestern Entomologist* (20): 43-48.

Jeffs L. B., Feng M. G., Falkowsky J. E., y Khachatourians G., G. 1997. Infection of the migratory grasshopper (Orthoptera: Acrididae) by ingestion of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Economic Entomology*, 90(2): 383-390.

Kaaya, G. P., Seshu-Reddy, K. V., Kokwaro, E. D., y Munyinyi, D. M., 1993. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Serratia marcescens* to the banana weevil *Cosmopolites sordidus*. *Biocontrol Science and Technology*,(3): 177-187.

Khachatourians G., G. 1992. Virulence of five *Beauveria* strains. *Paecilomyces farinosus*, and *Verticillium lecani* against the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *Journal of Invertebrate Pathology*, (59):212-214.

Khachatourians G.,G. 1996. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. In: Howard, D.H., and Miller, J.D. (Eds.) The Mycota VI. Human and animal relationship. Springer. Berlin, Alemania. pp 331-364.

Kar A. K., y Das A. 1998. New records of fungi from India, Indian Phytopathology 41 (3): 505.

Kouassi M. 2001. Les possibilités de la lutte microbiologique emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. Universidad de Québec, Montreal, Canada. Vertigo. La revista en ciencias ambientales de la web. 2 (2). Consultado 25 julio de 2010. Disponible en: www.vertigo.uqam.ca/.../mathias_de_kouassi.html

Kosir, J. M., MacPherson, J. M., y Khachatourians G., G. 1991. Genomic analysis of a virulent and a less virulent strain of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, using restriction fragment length polymorphism. Canadian Journal of Microbiology, (37): 534-541.

Krueger S. R., y Roberts D., W. 1997. Soil treatment with entomopathogenic fungi for corn rootworm (*Diabrotica* spp.) larval control. Biological Control, (9): 67-74.

Kumar, A., Sharma, S. 2008. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review, Ind. Crops Prod. doi:10.1016/j.indcrop.2008.01.001

Lezama G. R., Alatorre R. R., Bojalil J. L. F., Molina O. J., Arenas V. M., González R. M., y Rebolledo D. O. 1996. Virulence of five entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and neonate larvae. Vedalia, (3): 35-39.

Lewis L. C., Berry E. C., Obrycki J. J., y Bing L., A. 1996. Aptness of insecticides (*Bacillus thuringiensis* and carbofuran) with endophytic *Beauveria bassiana*, in suppressing larval populations of the european corn borer. Agriculture Ecosystems and Environmnt, (57): 27-34.

Leathers T. D., y Gupta S., C. 1993. Susceptibility of the eastern tent caterpillar (*Malacosoma americanum*) to the entomogenous fungus *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology, (61): 217-219.

Lecuona R., Loc C. J., Riba, G., Joulie C., y Juárez, P. 1997. Spore germination and hyphal growth of *Beauveria* sp. on insect lipids. Journal of Economic Entomology, 90(1): 119-123.

Magalhaes B. P., Lord J. C., Wraight S. P., Daoust R. A., y Roberts D. W. 1988. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Zoopthora radicans* to the coccinellid predators *Coleomegilla maculata* and *Eriopis connexa*. Journal of Invertebrate Pathology, (52): 471-473.

Martínez H., J. 2004. El piñón (*Jatropha curcas*) una planta nativa de México con potencial alimentario y agroindustrial. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. IPN. (www.ipn.mx).

Martínez H. J., Martínez A. A. L., Rodríguez A. S. L., y Sánchez R. M. M. 2004 Características Estructurales y funcionales de las proteínas del piñón mexicano (*Jatropha curcas* L.) Biótica, (1):17-26.

Martínez H., J. 2007. Biocombustible, de la nueva era genética. Hypatia, 22 (6): 14-15.

Martínez M. A., Evangelista V., Basurto F., Mendoza., Cruz-Rivas A. 2007. Flora útil de los cafetales en la Sierra Norte de Puebla, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* (78): 15-40.

Matrangolo W. R., y Waquil J., M. 1994. Biología de *Leptoglossus zonatus* (Dallas) (Hemiptera: Coreidae) alimentados com milho e sorgo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* (23):419–423.

Monzón A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. (63): 95-103.

Miller K. I., Grady L., y Webster L. 1962. Systematic position of *Cnidoscolus* and *Jatropha*. *Brittonia* (14): 174-180.

Napat S. 2007. "Cultivation of *Jatropha curcas* on wastelands of drought- prone regions: projections and realities". Seminar *Jatropha curcas* L. The Netherlands march 2007.

Peña J. E., Davis R. M., G., y Duncan R. 1995. Impact of indigenous *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin on banana weevil and rotten sugarcane weevil (Coleoptera: Curculionidae) populations in banana in Florida. *Journal of Agricultural Entomology*, 12(2-3): 163-167.

Pereira, R. M., Alves, S. B., y Stimac, J. L., 1993. Growth of *Beauveria bassiana* in fire ant nest soil with amendments. *Journal of Invertebrate Pathology*, (62): 9-14.

Pereira R. M., Alves S. B., y Stimac J. L. 1993. Growth of *Beauveria bassiana* in fire ant nest soil with amendments. *Journal of Invertebrate Pathology*, (62): 9-14.

Pucheta Diaz M., Flores Macias A., Rodríguez Navarro S., y De la Torre M. 2006. Mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia*, 31 (12): 856-860.

Poprawski, T. J., y Yule, W. N. 1991. Incidence of fungi in natural populations of *Phyllophaga* spp. and susceptibility of *Phyllophaga anxia* (LeConte) (Coleoptera: Scarabeidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina). *Journal of Applied Entomology*, (112): 359-365.

Ramoska, W. A. y Tood, T. 1985. Variation in Efficacy and Viability of *Beauveria bassiana* in the Chinch Bug (Hemiptera: Lygaeidae) as a Result of Feeding Activity on Selected Host Plants. *Environ. Entomol.*, 14, (2): 146-148.

Reyes Quintanar C., K. 2003. Fitorremediación de un suelo contaminado con petróleo empleando *Jatropha curcas* L., una planta productora de biodisel. Colegio de Posgraduados. México.

Sandhu, S. S., Rajak, R. C., y Agarwal, G. P. 1993. Studies on prologed storage of *Beauveria bassiana* conidia: Effects of temperature and relative humidity on conidial viability and virulence against chickpea borer, *Helicoverpa armigera*. *Biocontrol Science and Technology*, (3): 47-53.

Samson R. A, Evans H. C, Latgé J-P. 1998. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Berlin : Springer Verlang 300p.

Schaefer W. C., and Panizzi R. A., 2000. Heterptera of economic importance. CRC. EE.UU. 489-490, 813p.

Shah P. A., Godonou I., Gbongbou C., y Lomer C., J. 1994. Natural levels of fungal infections in grasshoppers in northern bening. *Biocontrol Science and Technology*, (4): 331-341.

Shah P. A. y Pell J. K. 2003. Entomopathogenic fungi and biological control agents. *Appl Microbiol Biotechnol* (2003) 61:413–423 DOI 10.1007/s00253-003-1240-8.

Shanker C., y Dhyani S., K. 2006. Insect pests of *Jatropha curcas* L. and the potential their management, *Current Science* 91 (2): 162-163.

Siebeneicher, S. R., Vinson, S. B., y Kenerley, C. M. (1992). Infection of the red imported fire ant by *Beauveria bassiana* through various routes of exposure. *Journal of Invertebrate Pathology*, (59): 280-285.

Soares Pinto M. Global Market for Biofuels “Challenges and Opportunities” in World Biofuels Markets. Amsterdam, March 17h 2010.

Sosa R. G., Batista S. A., y Tigano M., M. 1994. Characterization and phonetic analysis of geographical isolates of *Beauveria* spp. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 29(3): 401-409.

Soria R. G. 1985. Flora de Morelos. Descripción de especies vegetales de la selva baja caducifolia del cañon de lobos, Mpio. de Yautepec. Serie Ciencias Naturales y de la Salud. Programa Florístico-Faunístico. Univ. Auton. Edo. Morelos. 165 p.

Spurgeon, D.W. 2010. Efficacy of *Beauveria bassiana* against *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) at Low Temperatures. *J.Entomol. Sci.* (45): 211-219.

Steenberg T., Langer, V., y Esbjerg, P. 1995. Entomopathogenic fungi in predatory beetles (Col: Carabidae and Staphylinidae) from agricultural fields. *Entomophaga*, 40(1): 77-85.

Tanada Y., Kaya H. 1993. Insect Pathology. Academic Press. San Diego, California. (USA). 666 p.

Takuji N. y Karen S. 2000. Effects of *Beauveria bassiana* on *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) Feeding and Oviposition. Environmental Entomology 29(2):394-402.

Todorova S. I., Côté J. C., Martel P., y Coderre O. 1994. Heterogeneity of two *Beauveria bassiana* strains revealed by biochemical test, protein profiles and bioassays on *Leptinotarsa decemlineata* (Col.: Chrysomellidae) and *Coleomegilla maculata* lengi (Col: Coccinellidae) larvae. Entomohaga, (39): 159-169.

Triplehorn A.C., and Johnson F. N. 2005. Introduction to the study of insects. 7th edition, Thompson books/cole EE.UU. 864p.

Urtubia H., I. 2009. Formulaciones de hongos entomopatógenos para el control de plagas agrícolas. Centro Tecnológico de control biológico de Chile. ISSN 0716 – 6265.

Varela A., y Morales E. 1996. Characterization of some *Beauveria bassiana* isolates and their virulence toward the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. Journal of Invertebrate Pathology, (67): 147-152.

Viaud M., Counteaudier., and Riba G. 1998. Molecular analysis of hypervirulent somatic hybrids of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria sulfurescens*. Applied and Environmental Microbiology. 64 (1): 88-93.

Volcy. C. y Pardo V. 1994. Principios de Micología. Centro de Publicaciones, Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 141 p.

Watson D. W., Rutz D. A., and Long, S., J. 1996. *Beauveria bassiana* and sawdust bedding for the management of the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in calf hutches. Biological Control, (7): 221-227.

Wessels, J.G.H. 1999. Fungi in their own right. Fungal Genetic Biology (27):134-145.

Otras Fuentes

- <http://agrociencia-panama.blogspot.com/2008/09/observaciones-sobre-las-plagas-y.html>
- <http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx?Link=T&Rec=294446>