



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO  
INTEGRAL REGIONAL UNIDAD OAXACA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE  
RECURSOS NATURALES

Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa*, y su manejo a base de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites.

TESIS  
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS  
(PROTECCIÓN Y PRODUCCIÓN VEGETAL)

PRESENTA:  
KEYLA CRUZ GARCÍA

DIRECTORES DE TESIS

DR. TEODULFO AQUINO BOLAÑOS  
DRA. YOLANDA DONAJÍ ORTIZ HERNÁNDEZ

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, noviembre 2022.



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, 25 de octubre 2022

El Colegio de Profesores de Posgrado de **CIIDIR UNIDAD OAXACA** en su Sesión  
(Unidad Académica)

ordinaria No. 3 celebrada el día 9 del mes marzo de 2022 conoció la solicitud presentada por la alumna:

Apellido Paterno:	Cruz	Apellido Materno:	García	Nombre (s):	Keyla
-------------------	------	-------------------	--------	-------------	-------

Número de registro: B 2 0 0 8 8 6

del Programa Académico de Posgrado: Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

"Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa*, y su manejo a base de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites"

Objetivo general del trabajo de tesis:

Determinar pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa* y su manejo a base de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites en condiciones de laboratorio.

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director: Dr. Teodulfo Aquino Bolaños 2° Directora: Dra. Yolanda Donají Ortiz Hernández  
No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por la alumna en:

El laboratorio de control biológico del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca.

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- La interesada deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director de Tesis

Dr. Teodulfo Aquino Bolaños  
Aspirante

Cruz García Keyla

2° Directora de Tesis

Dra. Yolanda Donají Ortiz Hernández  
Presidente del Colegio

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
UNIDAD OAXACA



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de  siendo las  horas del día  del mes de  del  se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado del:  para examinar la tesis titulada:

**“Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa*, y su manejo a base de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites”**

de la alumna:

Apellido Paterno:	<input type="text" value="Cruz"/>	Apellido Materno:	<input type="text" value="García"/>	Nombre (s):	<input type="text" value="Keyla"/>
-------------------	-----------------------------------	-------------------	-------------------------------------	-------------	------------------------------------

Número de registro:

Aspirante del Programa Académico de Posgrado:

**Aprovechamiento de Recursos Naturales**

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene  % de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo  SI  NO  **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

**JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:** (Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original)

**El 17% de similitud fue encontrado en las referencias bibliográficas, dando créditos a los autores citados, el resto del documento corresponde a la redacción y la estructura original de los autores, por lo que no constituye un posible plagio.**

**\*\*Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron  APROBAR  SUSPENDER  NO APROBAR  la tesis por  UNANIMIDAD  o  MAYORÍA  en virtud de los motivos siguientes:

**La información que se generó en esta investigación fue novedosa ya que por primera vez se determinaron pérdidas que ocasiona *Sphenarium purpurascens* en dos cultivos de importancia económica (*Zea mays* y *Medicago sativa*), además como métodos de control el uso de hongos entomopatógenos formulados en emulsiones de aceites, encontrando una respuesta positiva a este manejo.**

### COMISIÓN REVISORA DE TESIS

\_\_\_\_\_  
Dr. Teodulfo Aquino Bolaños  
Director de Tesis  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Dr. Fidel Diego Nava  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Dr. Jaime Ruiz Vega  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Dra. Yolanda Donaj Cruz Hernández  
2° Directora de Tesis  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Dr. Isidro Morales García  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Dr. Salvador Balboa Belmonte  
Nombre completo y firma  
**PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES**





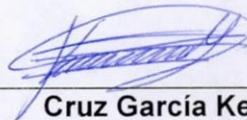
# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de México el día 08 del mes de noviembre del año 2022, la que suscribe **Cruz García Keyla** alumna del programa de **Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales** con número de registro **B200886**, adscrita al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección del **Dr. Teodulfo Aquino Bolaños y la Dra. Yolanda Donají Ortiz Hernández** y cede los derechos del trabajo intitulado **“Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa*, y su manejo a base de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites”**, al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expresado de la autora y/o directores. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo **[key\\_cruz9@hotmail.com](mailto:key_cruz9@hotmail.com)**. Si el permiso se otorga, al usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.



Cruz García Keyla



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
UNIDAD OAXACA

## **DEDICATORIAS**

Todo esto se lo debo a mis padres a quien admiro y agradezco por todos sus esfuerzos, dedicación y consejos que me han enseñado a querer ser mejor cada día.

A mis hermanos por acompañarme en este camino desde principio hasta fin, su apoyo y cariño.

A Tlacaelel mi compañero de vida por estar conmigo durante mi formación y brindarme su apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al CONACYT por la beca otorgada que me permitió cursar de manera satisfactoria mis estudios de posgrado.

Al Instituto Politécnico Nacional y al CIIDIR-Unidad Oaxaca por abrirme las puertas y por brindarme los apoyos necesarios para llevar a cabo mi proyecto de investigación.

Al Dr. Teodulfo Aquino Bolaños mi más sincera gratitud por ser parte de mi formación académica en la maestría, por sus enseñanzas, su paciencia y orientación durante el desarrollo de mi trabajo de investigación.

Al comité tutorial que durante mi estancia y la realización de mi tesis me brindaron su apoyo.

## RESUMEN

Esta investigación se llevó a cabo en condiciones de laboratorio, donde se evaluaron tres experimentos: 1) Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en etapa N4, N5 y etapa adulta en cultivos de alfalfa (*Medicago sativa*) y maíz (*Zea mays*); 2) Viabilidad de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites: neem (*Azadirachta indica*), moringa (*Moringa oleifera*), aguacate (*Persea americana*) y almendra (*Prunus dulcis*) en concentraciones del 20 y 40%, y 3) Efectividad de los hongos entomopatógenos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en emulsiones de aceites de *A. indica*, *M. oleifera*, *P. americana* y *P. dulcis* al 40%. El consumo promedio de *M. sativa* y *Z. mays* por *S. purpurascens* a las 48 h fue: en etapa N4 de 0.61 y 0.60 g/insecto, para N5 de 0.75 y 0.74 g/insecto y en etapa adulta de 1.18 y 1.15 g/insecto. Por otra parte, la viabilidad de esporas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en emulsiones de aceites al 20 y 40% presentaron una germinación del 88.5 al 100% en 48 h. La efectividad y mortandad de *S. purpurascens* se observó a partir de las 24 h en el T10 (*M. anisopliae* + *M. oleifera*) y T11 (*M. anisopliae* + *P. americana*) con un 57.14% y a las 96 h fue del 100% en el T4 (*P. dulcis*), T5 (*B. bassiana* + *A. indica*), T6 (*B. bassiana* + *M. oleifera*), T7 (*B. bassiana* + *P. americana*), T11 (*M. anisopliae* + *P. americana*) y T12 (*M. anisopliae* + *P. dulcis*) al 40%. El número de insectos (3 y 5) con presencia de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites al 40% influyeron en la mortandad de *S. purpurascens* a las 240 h en el T2 (*B. bassiana* + *A. indica*) con un 100%, T4 (*B. bassiana* + *M. oleifera*) y T7 (*M. anisopliae* + *P. americana*) con un 80%.

**Palabras clave:** aceites esenciales, agente biológico, bioinsecticidas

## ABSTRACT

This research was carried out under laboratory conditions, where three experiments were evaluated: 1) Losses caused by *Sphenarium purpurascens* in stage N4, N5 and adult stage in alfalfa (*Medicago sativa*) and corn (*Zea mays*) crops; 2) Viability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in oil emulsions: neem (*Azadirachta indica*), moringa (*Moringa oleifera*), avocado (*Persea americana*) and almond (*Prunus dulcis*) in concentrations of 20 and 40%, and 3) Effectiveness of the entomopathogenic fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae* in oil emulsions of *A. indica*, *M. oleifera*, *P. americana* and *P. dulcis* at 40%. The average consumption of *M. sativa* and *Z. mays* by *S. purpurascens* at 48 h was: in stage N4 0.61 and 0.60 g/insect, for N5 of 0.75 and 0.74 g/insect and in the adult stage of 1.18 and 1.15 g/insect. On the other hand, the viability of the spores of *B. bassiana* and *M. anisopliae* in oil emulsions at 20 and 40% showed germination of 88.5 to 100% in 48 h. The effectiveness and mortality of *S. purpurascens* was observed after 24 h in T10 (*M. anisopliae* + *M. oleifera*) and T11 (*M. anisopliae* + *P. americana*) with 57.14% and at 96 h was 100% in T4 (*P. dulcis*), T5 (*B. bassiana* + *A. indica*), T6 (*B. bassiana* + *M. oleifera*), T7 (*B. bassiana* + *P. americana*), T11 (*M. anisopliae* + *P. americana*) and T12 (*M. anisopliae* + *P. dulcis*) at 40%. The number of insects (3 and 5) with the presence of entomopathogenic fungi in oil emulsions at 40% influenced the mortality of *S. purpurascens* at 240h in T2 (*B. bassiana* + *A. indica*) with 100%, T4 (*B. bassiana* + *M. oleifera*) and T7 (*M. anisopliae* + *P. americana*) with 80%

**Keywords:**, biological agent, bioinsecticides, essential oils

# ÍNDICE

RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	IV
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS .....	3
2.1 OBJETIVO GENERAL .....	3
2.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
III. HIPÓTESIS .....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA .....	5
4.1 Chapulín de la milpa ( <i>Sphenarium purpurascens</i> ) .....	5
4.1.1 Historia de <i>Sphenarium</i> .....	6
4.1.2 Ciclo biológico de <i>Sphenarium purpurascens</i> .....	6
4.1.3 Distribución geográfica.....	8
4.1.4 Daños ocasionados por <i>Sphenarium purpurascens</i> .....	9
4.2 Importancia económica .....	12
4.2.1 Importancia de <i>Zea mays</i> y <i>Medicago sativa</i> en México.....	12
4.3 Métodos de control.....	13
4.3.1 Control químico.....	13
4.3.2 Control cultural.....	14
4.3.3 Control biológico .....	14
4.3.4 Hongos entomopatógenos .....	15
4.3.5 Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos.....	16
4.3.6 <i>Beauveria bassiana</i> .....	18
4.3.7 <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	19
4.4 Aceites esenciales.....	19

4.5 Emulsión .....	20
4.6 Formulaciones de aceites y hongos entomopatógenos .....	20
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
5.1 Localización del área de estudio .....	22
5.2 Colecta de <i>Sphenarium purpurascens</i> en campo.....	22
5.3 Pérdidas ocasionadas por <i>Sphenarium purpurascens</i> en diferentes estadios en cultivo de <i>Zea mays</i> y <i>Medicago sativa</i> en condiciones de laboratorio .....	23
5.4 Determinación de la viabilidad de esporas hongos .....	25
5.4.1 Activación y evaluación de crecimiento micelial de los hongos <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	25
5.4.2 Determinación de la concentración de esporas de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	27
5.4.3 Determinación de viabilidad de esporas en hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites.....	28
5.5 Determinación de efectividad de los hongos <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en emulsiones de aceites en adultos de <i>Sphenarium purpurascens</i> .....	31
5.5.1 Propagación y patogenicidad de los hongos <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en emulsiones de aceites en adultos de <i>Sphenarium purpurascens</i> .....	33
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>37</b>
6.1 Pérdidas ocasionadas por <i>Sphenarium purpurascens</i> en <i>Zea mays</i> y <i>Medicago sativa</i> .....	37
6.2 Determinación de concentración de esporas y velocidad de crecimiento de <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Beauveria bassiana</i> . .....	39
6.3 Viabilidad de esporas de hongos entomopatógenos formulados en emulsiones de aceites.....	41

6.4 Efectividad de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en emulsiones de aceites en adultos de <i>Sphenarium purpurascens</i> en condiciones de laboratorio.....	44
6.4.1 Propagación y patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en emulsiones de aceites en adultos de <i>Sphenarium purpurascens</i> .....	48
<b>VII. CONCLUSIONES</b> .....	52
<b>VIII. RECOMENDACIONES</b> .....	53
<b>IX. LITERATURA CITADA</b> .....	54

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1</b> Pérdidas ocasionadas por <i>Sphenarium purpurascens</i> en <i>Medicago sativa</i> y <i>Zea mays</i> en condiciones de laboratorio .....	24
<b>Cuadro 2</b> Tratamientos para determinar la velocidad de crecimiento de los hongos entomopatógenos.....	26
<b>Cuadro 3</b> Viabilidad de hongos entomopatógenos formulados en aceites + tween al 80 al 0.05 % a dos concentraciones.....	30
<b>Cuadro 4</b> Efectividad de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> formulados en aceites al 40% + tween 80 al 0.05%.....	33
<b>Cuadro 5</b> Patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en adultos de <i>Sphenarium purpurascens</i> formulados en aceites + tween al 80 al 0.05% a una concentración del 40%. .....	35
<b>Cuadro 6</b> Pérdidas ocasionadas por <i>Sphenarium purpurascens</i> en <i>Zea mays</i> y <i>Medicago sativa</i> .....	39
<b>Cuadro 7</b> Crecimiento micelial de los hongos <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> a 25 °C en medio PDA a diferentes tiempos (h).....	41
<b>Cuadro 8</b> Viabilidad de esporas de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> a las 48 h. ....	43
<b>Cuadro 9</b> Efectividad de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites al 40% en adultos de <i>Sphenarium purpurascens</i> cada 24 horas .....	47
<b>Cuadro 10</b> Patogenicidad (%) de adultos de <i>Sphenarium purpurascens</i> tratadas con <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en emulsiones de aceites con tween 80 al 0.05% al 40% cada 48h.....	49

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Clasificación taxonómica de <i>Sphenarium purpurascens</i> .....	5
<b>Figura 2</b> Etapas de desarrollo de chapulín durante su estadio ninfal hasta su etapa adulta (Sánchez Flores, 2018) .....	8
<b>Figura 3</b> Distribución de las especies de <i>Sphenarium</i> (Sanabria Urbán et al., 2017) .....	9
<b>Figura 4</b> Ubicación del Laboratorio de control biológico CIIDIR-Unidad Oaxaca.....	22
<b>Figura 5</b> Evaluación de pérdidas ocasionadas por <i>Sphenarium purpurascens</i> .....	23
<b>Figura 6</b> Velocidad de crecimiento <i>Metarhizium anisopliae</i> en PDA a $25 \pm 2$ °C .....	26
<b>Figura 7</b> Diluciones para determinar la concentración de esporas del hongo <i>Beauveria bassiana</i> .....	28
<b>Figura 8</b> Efectividad de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites.....	32
<b>Figura 9</b> Recipientes de 10 L de capacidad para evaluación de propagación y patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en emulsiones de aceites. ....	34
<b>Figura 10</b> Observación microscópica a 40X de germinación de esporas de a) <i>Beauveria bassiana</i> b) <i>Metarhizium anisopliae</i> a las 48 horas.....	44
<b>Figura 11</b> <i>Sphenarium purpurascens</i> con micosis a) <i>Beauveria bassiana</i> + <i>Azadirachta indica</i> b) <i>Metarhizium anisopliae</i> + <i>Persea americana</i> .....	46

## I. INTRODUCCIÓN

En México, la alfalfa (*Medicago sativa*) es de los principales cultivos forrajeros, ocupa una superficie de 583,561 ha que representa un 57.1% mientras que el maíz, la avena y el sorgo constituyen el 42.9% (Medina García et al., 2020). Por otra parte, en la agricultura se han presentado diversos problemas que influyen en el crecimiento, desarrollo y producción, entre los que destacan factores bióticos como los insectos plaga que ocasionan daños y pérdidas en el rendimiento de los cultivos hasta de un 30% (Hernández Trejo et al., 2019). Dentro de los insectos plaga que ocasionan estos daños se encuentran los Orthopteros comúnmente denominados chapulines, langostas y saltamontes, siendo 12 especies las que ocasionan pérdidas severas al dañar su follaje en los cultivos de frijol, alfalfa y maíz (Ramírez Méndez et al., 2019; Romero Arenas et al., 2020). El género *Sphenarium* es un grupo de saltamontes que son económica y culturalmente de importancia tanto como fuente de alimento como plagas agrícolas (Pedraza Lara et al., 2015). Entre los diversos métodos de control para insectos plaga, los más utilizados son los insecticidas químicos, los cuales provocan resistencia de la plaga, afectaciones a la salud humana y al medio ambiente, por lo cual es conveniente realizar medidas de control biológico (Morales De León, Jarquín Gálvez, Gómez Ruíz Jaime et al., 2014) que sean más amigables con el medio ambiente, como son los bioinsecticidas a base de organismos benéficos con hongos entomopatógenos (Acuña Jiménez et al., 2015). Estos hongos tienen la capacidad de penetrar la cutícula del insecto (Amaro Leal et al., 2018; Huerta et al., 2014), además de causar inmovilidad y coordinación, detención de la alimentación y provocar la muerte (Hernández Trejo et al., 2019). Se encuentran varios géneros de hongos entomopatógenos que tienen esa

capacidad única de infectividad y especificidad, como *Beauveria bassiana* (Bals-Criv.) Vuill, *Metharhizium anisopliae* (Metchn.), *Metarhizium acridum* (Driver y Milner) y *Entomophaga grylli* Fresen, los cuales son patógenos naturales de los saltamontes (Quesada Béjar et al., 2017, 2020). Por otro lado, hay alternativas ecológicas como extractos vegetales, acuosos o aceites esenciales, que han demostrado tener actividad como insecticida (Bustos et al., 2017; Vázquez Jorge et al., 2016), estos investigadores mencionan que en el cultivo de amaranto (*Amaranthus hypocondriacus* L.) en campo, los extractos de higuera + chiles combinados con *Beauveria bassiana* alternadas con jabón tuvieron efectividad en el control de *S. purpurascens*. Con base a lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar en condiciones de laboratorio las pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa* y su manejo a base de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites de neem (*Azadirachta indica*), moringa (*Moringa oleifera*), aguacate (*Persea americana*) y almendra (*Prunus dulcis*).

## II. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa* y su manejo a base de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites en condiciones de laboratorio.

#### 2.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en diferentes estadios de desarrollo en *Zea mays* y *Medicago sativa* en condiciones de laboratorio.
2. Determinar la viabilidad de hongos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*) en emulsiones de aceites a dos concentraciones de *Azadirachta indica*, *Moringa oleifera*, *Persea americana* y *Prunus dulcis*.
3. Determinar la efectividad y patogenicidad de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites para el manejo de *Sphenarium purpurascens* en condiciones de laboratorio.

### III. HIPÓTESIS

**Ha:** La aplicación de al menos una de las cepas de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites en la etapa adulta de *Sphenarium purpurascens* genera mortandad igual o mayor que un insecticida químico.

**Ho:** Ninguna de las cepas de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites aplicados en la etapa adulta de *Sphenarium purpurascens* genera mortandad igual o mayor que un insecticida químico.

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 Chapulín de la milpa (*Sphenarium purpurascens*)

El género *Sphenarium* se encuentra dentro de la familia Pyrgomorphidae (Orthoptera: Caelifera) es un insecto que no presenta alas, es conocido por su coloración corporal que durante su etapa adulta varia de un pardo oscuro a un verde olivo brillante con manchas negras, donde los machos son más delgados que las hembras y sus llamativos patrones en el esclerito específicamente en el pronoto el cual es convexo con forma de silla de montar (Bautista Viveros, 2015; Castellanos Vargas y Cano Santana, 2009; Mariño Pérez y Song, 2019). De acuerdo con Anaya Rosales et al. (2000) clasifica a *Sphenarium purpurascens* (Charpentier 1841-45) de la siguiente forma:

---

Reino: Animal

Phyllum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Orthoptera

Suborden: Caelifera

Superfamilia: Acridoidea

Familia: Pyrgomorphidae

Géneros: *Sphenarium*

Especie: *Sphenarium purpurascens*

Nombre común: chapulín de milpa



---

**Figura 1** Clasificación taxonómica de *Sphenarium purpurascens*

#### **4.1.1 Historia de *Sphenarium***

Pyrgomorphidae (Orthoptera: Caelifera) es una de las familias de saltamontes más conocidas en la cual se han reportado 487 especies que se encuentran distribuidas mayormente en el Viejo Mundo como África, Asia y Europa. Estas especies de pyrgomórfidos son misteriosas y poco conocidas ya que estas se han diversificado en el Nuevo Mundo (incluye América del Norte, América del Sur y América Central). Donde se han identificado 41 especies de la familia Pyrgomorphidae en el Nuevo Mundo, representado por 13 géneros divididos en cuatro tribus las cuales tienen una distribución muy específica: podemos encontrar a Ichthiacridini e Ichthyotettigini que son endémicas de México, y Omurini en la mitad norte de América del Sur. La tribu Sphenariini incluye una subtribu que se distribuye desde México hasta Costa Rica y República Dominicana, y las tres restantes en Madagascar, China y África Oriental. El género *Sphenarium* ha sido ampliamente estudiado en cuanto a su biología de apareamiento, variación de tamaño y color, y patrones filogenéticos (Mariño Pérez y Song, 2019). Donde en zonas de México por su amplia distribución estas especies han sido consideradas plagas agrícolas en cultivos de importancia económica como el maíz y frijol, mientras que en Oaxaca se han utilizado como alimento (Cerritos y Cano Santana, 2008).

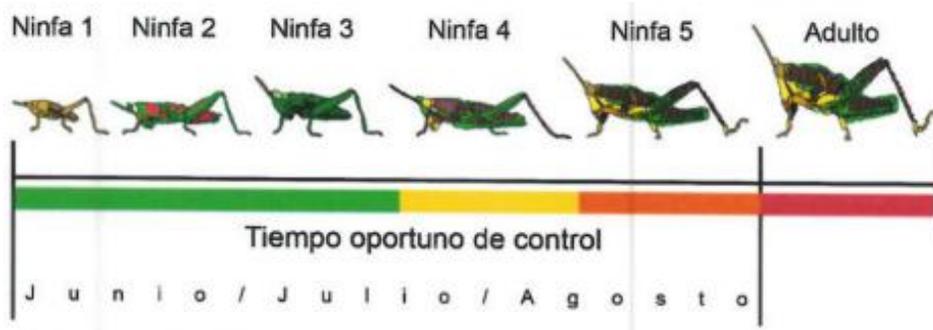
#### **4.1.2 Ciclo biológico de *Sphenarium purpurascens***

El chapulín de la milpa (*Sphenarium purpurascens*) tiene un ciclo biológico univoltino que quiere decir que su ciclo biológico lo completan en un año. Su apareamiento empieza de agosto a septiembre teniendo una duración de siete horas aproximadamente, posteriormente a los cinco días ocurre la oviposición a las orillas de los cultivos,

incubándose de 1.5 a 5 cm de profundidad en el suelo con una temperatura de 30 °C durante ocho y nueve meses. La eclosión de los huevos ocurre entre mayo y junio después de las lluvias en el centro- norte de México. Las fases de desarrollo que presenta el chapulín son tres: huevo, ninfa y adulto. En la época de invierno los huevecillos se encuentran en etapa de diapausa (Anaya Rosales et al., 2000). Durante este tiempo las ootecas que son depositadas por las hembras que contienen de veinte a cuarenta huevos, presentan una forma alargada y ovalada, para llegar a la etapa de ninfa hay un periodo de 40 a 60 días hasta llegar a convertirse en adulto que tardan de 20 a 25 días en madurar e iniciar su reproducción a finales de julio y principios de agosto. Aunque actualmente se observa su etapa adulta durante el mes de septiembre. Se le conoce como ninfa a los chapulines que aún no llegan a su etapa adulta, crecen de  $5 \pm 1$  mm a  $18 \pm 1.2$  mm (Huerta et al., 2014). Las etapas de desarrollo ninfal son las siguientes (Sánchez Flores, 2018):

- Primer estadio ninfal (N1) su tamaño oscila de  $0.6 \pm 0.1$  mm. Su cuerpo es fusiforme, la cabeza es más grande que el cuerpo, donde destacan sus ojos por su tamaño. Presentan una coloración pardo-pálida con manchas negras dispuestas en todo el cuerpo y sus antenas son más gruesas en relación con su cuerpo y cuentan con ocho artejos; el sexo se puede determinar debido a que la placa subgenital es notoria en los machos, en cambio en las hembras no se logran observar las valvas.
- Segundo estadio (N2) miden de  $0.8 \pm 0.3$  mm, estas son semejantes a las ninfas de primer estadio, solo que esta presenta su cabeza alargada. Su coloración es más oscura y las manchas del cuerpo son notorias.

- Tercer estadio (N3) miden 10.0 +/- 1.2 mm. Donde las manchas se vuelven de forma irregular variando de tamaño y coloración definida (amarillo, verde, gris, pardo o negro) en todo su cuerpo; sus patas son más largas.
- Cuarto estadio (N4) miden 16 +/- 0.2 mm, su cuerpo se va ensanchando en la parte media, con aspecto robusto y coloración definida, esta va a variar de un individuo a otro. Las antenas ahora tienen 14 artejos; patas vigorosas y sus espinas de las patas son gruesas.
- Quinto estadio (N5) su tamaño oscila entre 20 +/- 1.2 mm, su cuerpo es más alargado debido a sus segmentos abdominales. Sus antenas largas y delgadas, con 14 artejos. Sus ojos grandes de color negro; Presentando patas frágiles y espinas, uñas más robustas (Figura 2).

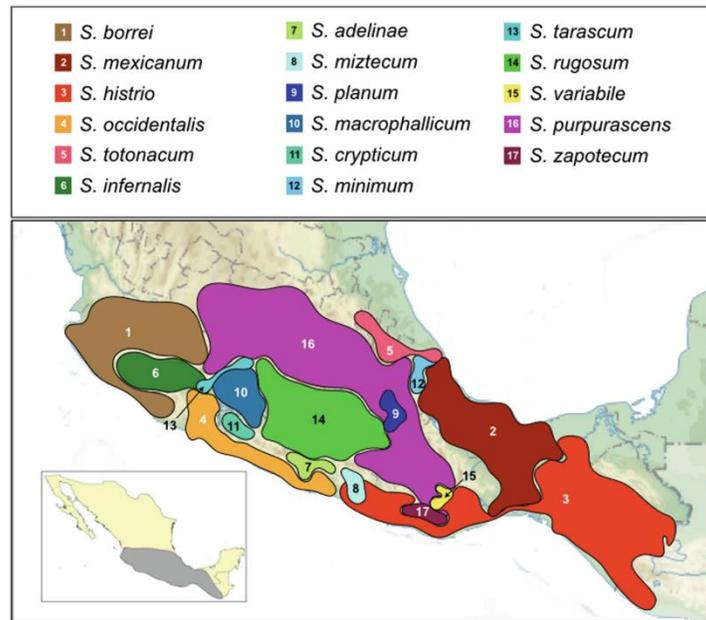


**Figura 2** Etapas de desarrollo de chapulín durante su estadio ninfal hasta su etapa adulta (Sánchez Flores, 2018)

#### 4.1.3 Distribución geográfica

Esta especie de *Sphenarium* la encontramos desde el centro de México hasta el noroeste de Guatemala (Figura 3), donde las cadenas montañosas delimitan su distribución

(Sanabria Urbán et al., 2017). *Sphenarium purpurascens* es un organismo cosmopolita, se encuentran en zonas tropicales, desérticas y mayormente en praderas, alcanzando altas densidades (Amaro Leal et al., 2018). En estados donde se produce el maíz, Distrito Federal, Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Chiapas y Tabasco (Castellanos Vargas y Cano Santana, 2017).



**Figura 3** Distribución de las especies de *Sphenarium* (Sanabria Urbán et al., 2017)

#### 4.1.4 Daños ocasionados por *Sphenarium purpurascens*

Las especies que tienen importancia económica en México son *Sphenarium purpurascens*, *Sphenarium mexicana*, *Melanoplus spp.*, *Taeniopoda eques* y *Brachystola magna*, afectando una extensión de 300,000 ha en el norte y altiplano (Bautista Viveros, 2015).

*Sphenarium purpurascens* presenta dos tipos de comportamiento en relación con la vegetación: la alimenticia y de asentamiento (Ramos Elorduy B y Vázquez Mora, 2009).

La alimentación incrementa conforme avanza el ciclo biológico del chapulín y esto puede deberse a que las características morfológicas van cambiando, en especial las estructuras mandibulares; posiblemente el hecho de que durante su desarrollo ninfal al estar en contacto con una mayor diversidad de plantas, incremente la aceptabilidad de nuevas especies durante la fase adulta y, como resultado de la variación temporal y espacial, de la vegetación que esté disponible.

- a) En relación con la conducta de asentamiento, los chapulines no solo utilizan las plantas para alimentarse, también para resguardarse, aparearse o termorregulación.

De acuerdo con el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad los estados cuya altitud es mayor a 2000 msnm, el chapulín ha provocado pérdidas en cultivos básicos. Para el año 2008 empezó a funcionar la campaña contra el chapulín, con el objetivo de detectar y controlar las infestaciones de este insecto con la finalidad de reducir las densidades de 15 ninfas/m<sup>2</sup> a menos de 5 ninfas/m<sup>2</sup> en superficies agrícolas (Ramírez Méndez et al., 2019).

La especie de *Sphenarium purpurascens* se alimenta de una gran variedad de cultivos entre los cuales encontramos al maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), calabaza (*Cucurbita* sp.), avena (*Avena sativa* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.), trigo (*Triticum* sp.) y diversas gramíneas y algunas especies silvestres de pastos como: bermuda, navajito, estrella, pangola, guinea (Aquino Olmedo, 2015; Quesada Béjar et al., 2019). Por lo que en los últimos años el chapulín se ha convertido en una de las principales plagas del maíz y frijol en lugares de temporal, por

su capacidad de reproducción, hábitos migratorios y su diversidad de hospederos (Ramírez Méndez et al., 2019).

En Tochimilco-Puebla el cultivo de amaranto ha sido infestado por diversos insectos plaga causando defoliaciones en el follaje y la panoja entre los que destaca *Sphenarium purpurascens*. Donde comienza a defoliar el cultivo a partir de su crecimiento y durante todo su ciclo vegetativo. Ante la amenaza de este insecto los agricultores de amaranto han incrementado el uso de insecticidas sintéticos y a consecuencia han adquirido resistencia, además que han ocasionado problemas como contaminación del suelo, agua, aire y de salud (Vázquez Jorge et al., 2016). Para el 2014 los chapulines causaron daños económicos a la economía regional de 24 municipios del norte de Michoacán, donde se promediaron 65 chapulines por metro cuadrado, considerándolo una de las plagas más importantes en este estado (Quesada Béjar et al., 2020). La incidencia de *Sphenarium purpurascens* se ha encontrado en el Valle de Puebla-Tlaxcala, donde los cultivos más afectados han sido el maíz, alfalfa, calabaza y haba. El Valle de Puebla-Tlaxcala tienen cultivos de maíz, frijol y alfalfa que han sido atacados por *Sphenarium purpurascens*, alimentándose principalmente del follaje de estos cultivos provocando pérdidas económicas para el agricultor. Cabe destacar que esta especie se encuentra desde Guatemala y algunas islas del Caribe (Rivera Tapia et al., 2021). Los factores que originan la abundancia de chapulines se encuentran asociado al clima, periodos largos de sequía además de lluvias frecuentes, provocando proliferación de ortópteros plaga. El incremento en las temperaturas perjudica a los insectos defoliadores como a las plantas, acelerando su fenología y metabolismo, pero si en uno de estos cambios es más rápido el otro tendrá problemas. Si los insectos tienen una mayor respuesta al aumento de la

temperatura, esto se verá reflejado en un incremento en la frecuencia y la virulencia de las defoliaciones, debido a que estos encontrarán tejidos poco endurecidos y desarrollados, que podrán sobrevivir y causar daños a los cultivos (Hódar et al., 2012).

## **4.2 Importancia económica**

Los estados de Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Oaxaca, México, Querétaro, Guanajuato y Michoacán producen aproximadamente 350 mil toneladas de chapulines en temporada de reproducción. Aunque los cultivos principalmente infestados por *S. purpurascens* es el maíz (*Zea mays* L.), alfalfa (*Medicago sativa*) y frijol (*Phaseolus* sp.) donde solo llega a cosecharse una tonelada de cuatro por cada hectárea sembradas, lo que con lleva a tener pérdidas considerables en estos cultivos (Arcos Estrada et al., 2020).

### **4.2.1 Importancia de *Zea mays* y *Medicago sativa* en México**

El cultivo de maíz (*Zea mays*) es importante desde el aspecto cultural, económico, social, político y ecológico (Reséndiz Ramírez et al., 2014), debido a su amplia distribución, variabilidad morfológica y fenológica, sus características de rendimiento y resistencia a condiciones ambientales, además de su influencia en la alimentación humana y su gran variedad de usos. De acuerdo con Ramírez Méndez et al. (2019) el maíz es la principal fuente de proteínas, carbohidratos y grasas. Además de ser el grano que más se cultiva en el mundo, donde se destina para el consumo humano 267 g per cápita por día, el cual se encuentra afectado por diversas plagas, incluyendo al chapulín. En el estado de Puebla-Tlaxcala se ven afectados por *Sphenarium purpurascens* alimentándose del

follaje del maíz (Amaro Leal et al., 2018). En México la alfalfa (*Medicago sativa*) es considerada la leguminosa forrajera más importante ya que se le atribuye al desarrollo de la ganadería bovina (Jolalpa Barrera et al., 2009). También es utilizada para prevenir la degradación de praderas, como cobertura vegetal, y contribuye a la sostenibilidad de la agricultura y ganadería (Rojas García et al., 2017).

### **4.3 Métodos de control**

#### **4.3.1 Control químico**

Garza Urbina (2005) menciona que el uso de controles químicos de plagas ha sido utilizado con el objetivo de prevenir el desarrollo de poblaciones de insectos mediante sustancias químicas, la cual ha sido una solución a las infestaciones de chapulín en áreas de cultivo de importancia económica. El uso excesivo de estos productos ha causado daños al suelo, agua, medio ambiente, provocando riesgos a los animales y afectando la biomasa benéfica del suelo. Una forma de control químico ha sido el uso de paratión y malatión para el control del chapulín de forma intensiva desde la década de 1980. Aunque se tiene registro de uno de los primeros insectos del orden orthoptera *Melanoplus spretus* de origen sudafricano como extinto a causa de insecticidas químicos Por lo que cabe destacar que al igual que *Melanoplus sanquinipes* cuando se encuentra a altas densidades provoca daños severos a los cultivos, sin embargo, a bajas densidades esta puede tener un impacto benéfico porque se alimenta de diversas malezas (Cerritos y Cano Santana, 2008).

### **4.3.2 Control cultural**

Una de las consideraciones para los insectos plaga es la temporada del cultivo, para lo cual se pueden realizar diversas actividades como la limpieza de malezas para evitar las plagas. Además de realizar barbecho con el objetivo de remover el suelo de los terrenos de cultivo donde las hembras ovipositaron y de esta manera puedan exponerse a enemigos naturales y a condiciones climáticas (Garza Urbina, 2005).

### **4.3.3 Control biológico**

El control biológico es “el uso de organismos vivos para reducir la densidad poblacional o el impacto de un organismo plaga específico, haciendo a esta menos abundante o perjudicial de lo que sería de otra manera” (Eilenberg et al., 2001). El control biológico es una alternativa natural y amigable con el ambiente, donde se usan organismos benéficos como hongos, nematodos, bacterias y virus que tienen como función disminuir y controlar las densidades de plagas. Las ventajas del manejo biológico de plagas agrícolas es disminuir pérdidas económicas, reducir los efectos nocivos y reemplazar el uso de plaguicidas químicos. Los organismos que se utilizan para el control biológico tienen ciertos requerimientos como tener una alta capacidad de reproducción y supervivencia, un crecimiento rápido, libres de antagonistas naturales, ser competitivos, adaptabilidad de la planta estudiada y presentar una versatilidad alta en el ambiente (Viera Arroyo et al., 2020).

Para el control biológico de plagas se encuentran cuatro estrategias (Hajek, 2004):

1. Control biológico clásico: la liberación de un agente de control biológico exótico de forma permanente para el control de plaga a largo plazo.
2. Control biológico inoculativo: la liberación intencional de un organismo vivo para que se pueda multiplicar y halla un control de la plaga en un tiempo prolongado.
3. Control biológico inundativo: el uso de organismos vivos para el control de plagas cuando este ha sido logrado solo por la liberación de los organismos benéficos.
4. Control biológico por conservación: modificación del ambiente para la protección de los enemigos naturales específicos u otros organismos para reducir los efectos de las plagas.

Este tipo de control biológico es un elemento fundamental para poder controlar a *Sphenarium purpurascens* mediante el uso de hongos entomopatógenos.

#### **4.3.4 Hongos entomopatógenos**

De acuerdo con Esparza Mora et al. (2017) son un grupo de microorganismos heterótrofos, unicelulares, eucariotas que se reproducen sexual o asexualmente mediante esporas. Con la capacidad de atacar insectos utilizándolos como hospederos y lograr desarrollar su ciclo de vida, reducen poblaciones de plagas que han causado daños económicos en los cultivos o sirven como medio de control en la reducción de enfermedades. En este grupo de hongos entomopatógenos se incluyen a especies de *Oomycetes*, *Chytriomycota*, *Microsporidia*, *Entomophthoromycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota* los cuales se distinguen por su capacidad de infección, pero son diferentes entre sí en su filogenia, morfología y ecología. Por mencionar unos

encontramos *Beauveria*, *Cordyceps*, *Hirsutella*, *Metarhizium* y *Nomurdea* (Islam et al., 2021).

Los hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae* (Metchn.), *Beauveria bassiana* (Bals-Criv.) y *Metarhizium acridum* (Driver y Milner) son enemigos naturales de la mayoría de los insectos (Quesada Béjar et al., 2020). Debido a que poseen un gran potencial como biocontroladores de plagas por su forma de infección ya que son los únicos que pueden atravesar la cutícula del insecto y no es necesario que el chapulín se alimente de ellos, además que no afecta al humano y medio ambiente. En la actualidad se conocen más de 750 hongos entomopatógenos, de los cuales los siguientes están asociados al control de chapulín: *Beauveria bassiana* (Bálsamo), *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) y *Entomophaga grylli Fresen* han sido empleado como control biológico ya que son enemigos naturales de los saltamontes que pueden regular sus poblaciones cuando se usan como métodos de control biológico (Huerta et al., 2014; Quesada Béjar et al., 2017).

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

Los hongos entomopatógenos tienen la capacidad de penetrar de forma directa la cutícula o el tracto digestivo del insecto. Donde la cutícula del insecto es la primera barrera y está formada por tres capas: la epicutícula es la capa de lípidos, resistente a la degradación enzimática y puede ayudar a evitar el paso de enzimas fúngicas, pero si esta se rompe las hifas se extienden lateralmente (Pedrini et al., 2007), la procutícula se divide en tres capas exo, meso y endocuticular las cuales contienen proteína esclerotizada y

quitina y la epidermis que rodea principalmente las estructuras internas del insecto (Ortiz Urquiza y Keyhani, 2013). Según Tellez Jurado et al. (2009) el desarrollo de micosis se lleva a cabo en tres fases:

a) Adhesión de la espora a la cutícula del insecto y la germinación de la espora

Se lleva a cabo cuando el hongo entomopatógeno tiene contacto con el insecto, y la espora se adhiere al hospedero. La adhesión ocurre en tres etapas: la primera consiste en la absorción de la espora en el insecto, mediante reconocimiento de receptores glicoproteicos, la segunda ocurre con la adhesión de la interfase entre la espora pregerminada y la epicutícula y por último la germinación y el desarrollo del apresorio.

b) Penetración en el hemocele

La penetración en el hemocele se da por acción mecánica física y química: la primera es debido a la presión ejercida en el haustorio, la cual deforma la cutícula, provocando la ruptura de áreas esclerosas y membranas; en la segunda intervienen acciones enzimáticas, como actividades hidrolíticas, la cual degrada la zona de penetración, permitiendo el acceso al hongo. Otros medios por el cual los hongos pueden penetrar al hemocele son mediante la cavidad bucal, espiráculos y aberturas externas del insecto.

c) Replicación en el hemocele

Una vez penetrado el hemocele, el hongo realiza la transición dimórfica de micelio a levadura, después de haber invadido el sistema inmune del insecto, se produce una septicemia. La micosis produce cambios anormales en el insecto como comportamientos alterados, falta de coordinación, convulsiones, conductas alteradas y parálisis. La muerte

es provocada por daños físicos en tejido, toxicosis y deshidratación de las células por pérdida de fluido y gasto de nutrientes.

En respuesta el sistema inmune del insecto desarrolla estrategias defensivas e inmunodepresoras, produciendo toxinas o cambios en su pared celular. Los hongos entomopatógenos producen metabolitos que tienen varios modos de acción y varios casos son la causa directa del insecto, actuando sobre las células especializadas del sistema inmune para evitar su ataque a las estructuras invasivas de los hongos. Factores que intervienen como la humedad y la temperatura son adecuadas, las hijas del hongo emergen al exterior del cadáver del insecto, donde esporulan. Esto ocurre generalmente en cadáveres, pero también se puede dar en insectos vivos y la dispersión de esporas puede ser un proceso activo o pasivo que va a depender de las características de la espora y el esporangio.

#### **4.3.6 *Beauveria bassiana***

*Beauveria bassiana* es un hongo entomopatógeno con una distribución amplia, comúnmente encontramos insectos infectados en áreas templadas como tropicales. Algunos de los órdenes de insectos que se ha encontrado en *B. bassiana* como patógeno son: Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Homoptera, Hemiptera, Orthoptera, Isoptera, Siphonaptera, Mantodea, Thysanoptera, Neuroptera, Blattariae, Dermaptera, Embioptera (Zimmermann, 2007). El método de acción de *Beauveria bassiana* antes de matar a su hospedero produce pérdida de sensibilidad, letargo, nula coordinación, falta de apetito y parálisis. La esporulación se lleva a cabo cuando el insecto muere y

posteriormente se puede dar la dispersión del hongo, permitiendo un buen control (Malpartida Zevallos et al., 2013).

#### **4.3.7 *Metarhizium anisopliae***

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* ha sido empleado como bioinsecticida, por su amplio rango de hospederos de diferentes órdenes. Los insectos muertos tienen un crecimiento micelial de color blanco, que después de que el hongo esporula presenta una coloración verde (Acuña Jiménez et al., 2015). Como menciona Batta (2003) *Metarhizium anisopliae* llega a infectar a más de 100 especies diferentes de insectos.

#### **4.4 Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son compuestos orgánicos de origen vegetal cuyas mezclas de metabolitos secundarios pueden contener diversos compuestos que son originados del metabolismo secundario de las plantas. Los aceites esenciales tienen un papel importante como insecticida contra herbívoros, antivirales, antifúngicas además de atraer insectos o repeler a los que tengan efectos indeseables (Usano Alemany et al., 2014). Los aceites esenciales conocidos también como aceites volátiles o esencias son compuestos lipofílicos con bajo peso molecular, y su volatilidad se debe a que se evaporan cuando son expuestos al aire o a temperatura ambiente, por lo que es alta su presión de vapor (Marín Loaiza y Céspedes, 2007). Al igual que estos actúan localmente o a distancia provocando al insecto la incapacidad de volar, de alimentarse u ovipositar (Bustos et al., 2017).

## **4.5 Emulsión**

Las emulsiones son dos sustancias que no se pueden mezclar como es el caso del agua y el aceite particularmente, pero pueden permanecer mezcladas cuando se agrega una tercera sustancia que es un emulsionante. Por lo que se suele utilizar emulsiones inversas (tipo agua en aceite) como biocontrol de insectos plaga de cultivos, enfermedades de plantas etc., donde se pueden formular en emulsión inversa como en los hongos entomopatógenos, ya que en condiciones ambientales si solo se hace la suspensión de esporas a base de agua se evaporará rápidamente pero si le incorporamos a esta solución un emulsificante, lo que pasara es que la fase acuosa se homogeneizara con la fase oleosa, por lo que durante ese tiempo las gotas de agua más pequeñas quedan rodeadas de gotas de aceite más grande, y por consiguiente evitara que las gotas de agua se evaporen en condiciones de altas o bajas temperaturas (Batta, 2016).

## **4.6 Formulaciones de aceites y hongos entomopatógenos**

Las formulaciones las podemos encontrar en diferentes presentaciones con respecto al ingrediente activo, como aceites provenientes del petróleo, aceites vegetales, diluyentes en polvo o granulados, donde se han visto afectados en la viabilidad de las esporas. Por lo que al momento de realizar una formulación se debe tener en cuenta la virulencia debido a que algunos son elaborados a base de polvo, aceites o granulados, donde a pesar de que se mantuvieron almacenados a temperaturas de los 4°C no hubo problemas en su germinación, pero si en su virulencia (Morales De León, Jarquín Gálvez, Gómez Ruiz et al., 2014). Estas formulaciones con hongos entomopatógenos mediante el cual su ingrediente activo, se mezclan con algún solvente o emulsificante, van a tener la

función de proteger los conidios. Además, que al momento de realizar una formulación se deben tomar en cuenta ciertos criterios como que no deben de afectar la actividad del hongo, al momento de su aplicación deben de ser fácil de usar, deben ser inocuos al medio ambiente y económicamente rentables (Motta Delgado and Murcia Ordoñez, 2011). Sin embargo la mayoría de las formulaciones que se han realizado con algunos hongos entomopatógenos como el caso de *Metarhizium anisopliae* son polvos humectantes y no a base de formulaciones líquidas de agua y aceite (Batta, 2003).



### 5.3 Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en diferentes estadios en cultivo de *Zea mays* y *Medicago sativa* en condiciones de laboratorio

Para determinar las pérdidas que ocasionó *S. purpurascens* se trabajó en condiciones de laboratorio con una humedad relativa (HR) máxima de  $56 \pm 8.36$  y una mínima de  $45 \pm 8.68\%$  y una temperatura máxima de  $28 \pm 2.26$  y una mínima de  $20 \pm 2.1$  ° C. Se trabajaron con botes de plástico transparentes de 300 mL de capacidad, a las tapas de los recipientes se le realizaron pequeñas perforaciones con agujas entomológicas para permitir la entrada de aire, posteriormente en el bote se colocó un insecto de *S. purpurascens*. A cada uno de los tratamientos de estadio N4, N5 y adulto se alimentó con 3 g del cultivo a evaluar, alfalfa (*Medicago sativa*) y maíz (*Zea mays*), donde se determinaron las pérdidas por etapa de desarrollo de *S. purpurascens* (Cuadro 1). Para esta evaluación se siguió la metodología propuesta por Aquino Bolaños et al., (2016), cada 48 h se registraron los pesos y se cambió el follaje por cultivo y así poder determinar el consumo real (g/h) durante 16 días (Figura 5).



**Figura 5** Evaluación de pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens*

**Cuadro 1** Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Medicago sativa* y *Zea mays* en condiciones de laboratorio.

<b>Tratamientos</b>	<b>Composición</b>
<b>T1</b>	Ninfa 4 + <i>Medicago sativa</i>
<b>T2</b>	Ninfa 4 + <i>Zea mays</i>
<b>T3</b>	Ninfa 5 + <i>Medicago sativa</i>
<b>T4</b>	Ninfa 5 + <i>Zea mays</i>
<b>T5</b>	Adulto + <i>Medicago sativa</i>
<b>T6</b>	Adulto + <i>Zea mays</i>

### **Análisis estadístico**

El experimento consistió en un diseño estadístico completamente aleatorio con un arreglo factorial 3 (estadios) x 2 (cultivos) el cual tuvo en total 6 tratamientos con ocho repeticiones. Con los resultados obtenidos de pérdidas se realizó un análisis de varianza y se establecieron las diferencias entre las medias a través de la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05% con el programa Statistical Analysis System (2004).

## **5.4 Determinación de la viabilidad de esporas hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites**

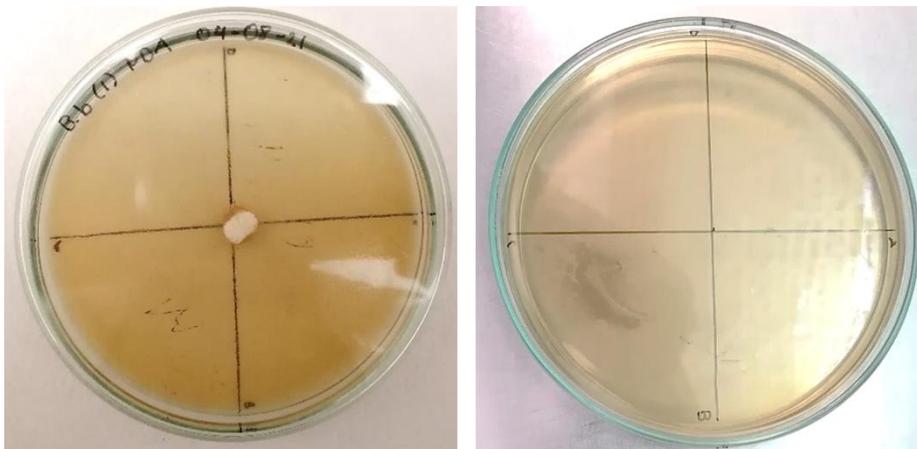
### **5.4.1 Activación y evaluación de crecimiento micelial de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae***

En el laboratorio de control biológico del CIIDIR unidad Oaxaca se tienen preservadas cepas de los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Los hongos fueron reactivados en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) los cuales fueron utilizados como métodos de control en insectos de *S. purpurascens*. Una vez reactivadas las cepas de hongos se evaluó su velocidad de crecimiento radial, donde se inocularon discos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* con un sacabocados de 0.8 mm de diámetro de aislamientos de 29 días de crecimiento en medio de cultivo PDA, después se colocaron en el centro de las cajas Petri. Posteriormente se incubaron a una temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , y las mediciones se realizaron al reverso de la caja Petri cada 48 h con la ayuda de un vernier digital (KNOVA), las mediciones terminaron cuando una de las cepas colonizo completamente la caja Petri (Figura 6). Para este experimento se evaluaron dos tratamientos con cinco repeticiones cada uno (Cuadro 2).

**Cuadro 2** Tratamientos para determinar la velocidad de crecimiento de los hongos entomopatógenos.

Tratamientos	Composición
T1	<i>Beauveria bassiana</i>
T2	<i>Metarhizium anisopliae</i>

Para determinar la velocidad de crecimiento radial (mm/día) se obtuvo un promedio de las mediciones del diámetro de los micelios en dirección vertical y horizontal de acuerdo con la metodología establecida por Ruiz Sánchez et al. (2011) con cada una de las cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* tomando como referencia el centro hacia un extremo de la caja Petri.



**Figura 6** Velocidad de crecimiento *Metarhizium anisopliae* en PDA a  $25 \pm 2$  °C

## **Análisis estadístico**

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y así establecer las medias a través de la prueba de Tukey, mediante el programa Statistical Analysis System (2004).

### **5.4.2 Determinación de la concentración de esporas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae***

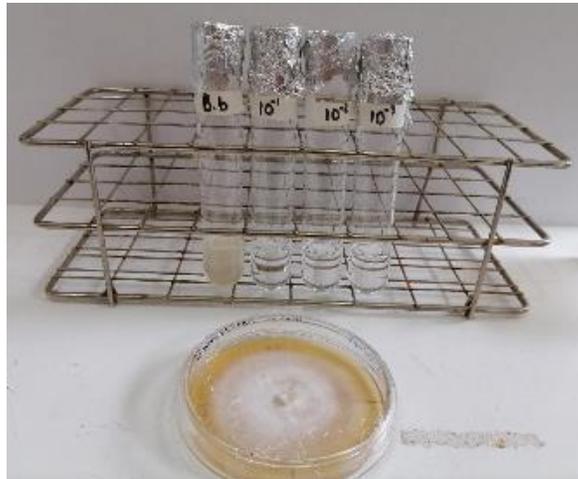
Cuando los hongos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* tuvieron un crecimiento de 29 días, se realizó la obtención de esporas por medio de un raspado en la superficie y posteriormente se suspendieron en una solución de 5000  $\mu\text{L}$  de agua destilada estéril más tween 80 al 0.05% y con una micropipeta de 1000  $\mu\text{L}$  (Acumax) se tomó un mL de la solución y se vertió en un tubo de ensayo de 9 mL de agua destilada estéril obteniendo la solución madre. Siguiendo la metodología de Chiriboga Pareja et al. (2015) a partir de la solución se prepararon diluciones en serie ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), y de la dilución  $10^{-3}$  se realizaron tres repeticiones para determinar la concentración de esporas mediante la cámara de Neubauer y un microscopio óptico (Figura 7). De la dilución  $10^{-3}$  se agito durante 30 seg y con una micropipeta se tomaron 0.01 mL colocándolo en la cámara de Neubauer, después se observó en el microscopio óptico y se procedió al conteo de esporas en el objetivo 40X, verificando que la dilución contenga de 50 a 150 esporas para el conteo. Para conocer la concentración de esporas se utilizó la siguiente formula (Poma Laura y López Blanco, 2017).

$$C = N \times \text{Dilución empleada} \times \text{Factor de cámara}$$

Dónde:

C= Concentración que se quiere conocer

N= Número promedio de esporas por cuadrante



**Figura 7** Diluciones para determinar la concentración de esporas del hongo *Beauveria bassiana*

#### **5.4.3 Determinación de viabilidad de esporas en hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites**

Para poder determinar la viabilidad de esporas de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* se trabajó a una concentración  $1 \times 10^9$  esp/mL más cuatro aceites de neem (*Azadirachta indica*), moringa (*Moringa oleifera*), aguacate (*Persea americana*) y almendra (*Prunus dulcis*), utilizados como adherentes a dos concentraciones al 20 y 40% más tween 80 al

0.05% utilizado como dispersante. Con una micropipeta de 10-100  $\mu\text{L}$  (Pipet-Lite XLS) para la concentración del 20% se tomaron las siguientes cantidades (0.20 $\mu\text{L}$  de aceite *A. indica* + 0.80  $\mu\text{L}$  *B. bassiana* + tween 80 al 0.05% + agua destilada); para la concentración del 40% (0.40  $\mu\text{L}$  de *A. indica* + 0.60  $\mu\text{L}$  de *B. bassiana* + tween 80 al 0.05% + agua destilada) (Cuadro 3). Para la evaluación de germinación se siguió la metodología de Berlanga Padilla y Hernández Velázquez, (2002), la suspensión se colocó en portaobjetos y sobre estos se colocó un cubreobjetos para facilitar la observación de las esporas. El porcentaje de germinación se determinó a las 48 h, contando 100 esporas por cada portaobjetos, observándose con un microscopio óptico a 40X. El criterio para evaluar la germinación fue el tamaño del tubo germinativo, donde se consideró viable cuando era mayor o igual al tamaño de la espora. De los datos registrados, se sacó un promedio de las lecturas y se calculó el porcentaje de esporas germinadas y no germinadas mediante la fórmula propuesta por Malpartida Zevallos et al. (2013).

$$\% \text{ Germinación} = \frac{\mathbf{a}}{\mathbf{a + b}} \times \mathbf{100}$$

Donde:

a=Número de conidios germinadas

b=Número de conidios sin germinar

**Cuadro 3** Viabilidad de hongos entomopatógenos formulados en aceites + tween al 80 al 0.05% a dos concentraciones.

<b>Tratamientos</b>	<b>Composición</b>	<b>Aceite (%)</b>
T1	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>	20
T2	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>M. oleifera</i>	20
T3	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>	20
T4	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>	20
T5	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>	40
T6	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>M. oleifera</i>	40
T7	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>	40
T8	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>	40
T9	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>	20
T10	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>M. oleifera</i>	20
T11	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>	20
T12	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>	20
T13	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>	40
T14	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>M. oleifera</i>	40
T15	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>	40
T16	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>	40
<b>Testigo</b>	Agua destilada (A.D)	

### **Análisis estadístico**

Para la evaluación de viabilidad, se utilizó un diseño completamente aleatorio con un arreglo factorial de 2 (hongos) x 4 (aceites) x 2 (concentraciones) con un total de 16 tratamientos con siete repeticiones y un testigo. Con los porcentajes de viabilidad

obtenidos se hizo una transformación por arcoseno para normalizar los datos y posteriormente se realizó un análisis de varianza y así establecer las diferencias entre las medias a través de la prueba de Tukey mediante el programa Statistical Analysis System (2004).

### **5.5 Determinación de efectividad de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites en adultos de *Sphenarium purpurascens***

En condiciones de laboratorio se determinó la efectividad de las cepas de hongos entomopatógenos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* a una concentración de  $1 \times 10^9$  esp/insecto en emulsiones de cuatro aceites: neem (*Azadirachta indica*), moringa (*Moringa oleifera*), almendra (*Prunus dulcis*) y aguacate (*Persea americana*) con tween 80 al 0.05% a una concentración del 40% en adultos de *S. purpurascens*. De un cultivo de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* con una micropipeta con capacidad de 100  $\mu\text{L}$  se tomaron las siguientes cantidades: 0.40  $\mu\text{L}$  de aceite de *A. indica* + 0.60  $\mu\text{L}$  de *B. bassiana* + agua destilada + tween 80 al 0.05%. En recipientes de plástico de 300 mL de capacidad se colocó hojas de *M. sativa* que sirvió como alimento para el insecto *S. purpurascens*, después se procedió a inocular el hongo entomopatógeno más el aceite al insecto (Figura 8). Para el testigo (agua destilada) se emplearon adultos de *S. purpurascens* a la que se aplicó la misma metodología antes señalada (Cuadro 4). Las observaciones se realizaron cada 24 h hasta observar el 100% de mortandad de adultos de *S. purpurascens*. Los cadáveres se colocaron en cámaras húmedas para determinar el motivo real de su mortandad, después los insectos adultos de *S. purpurascens* muertos

con presencia de micelio se observaron bajo el microscopio estereoscopico para verificar la micosis por hongos entomopatogénos. Además de realizar las pruebas de necropsia, observando en su interior la presencia de agentes entomopatogénos, al mismo tiempo de realizar los postulados de Koch.



**Figura 8** Efectividad de hongos entomopatogénos en emulsiones de aceites

**Cuadro 4** Efectividad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* formulados en aceites al 40% + tween 80 al 0.05%.

<b>Tratamientos</b>	<b>Composición</b>
<b>T1</b>	<i>Azadirachta indica</i>
<b>T2</b>	<i>Moringa oleifera</i>
<b>T3</b>	<i>Persea americana</i>
<b>T4</b>	<i>Prunus dulcis</i>
<b>T5</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>
<b>T6</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>M. oleifera</i>
<b>T7</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>
<b>T8</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>
<b>T9</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>
<b>T10</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>M. oleifera</i>
<b>T11</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>
<b>T12</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>
<b>Testigo</b>	Agua destilada (AD)

### 5.5.1 Propagación y patogenicidad de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites en adultos de *Sphenarium purpurascens*

Para determinar la propagación y la patogenicidad de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* se trabajó con una concentración de  $1 \times 10^9$  esp/insecto con los aceites *P.*

*americana*, *P. dulcis*, *A. indica* y *M. oleifera* al 40%. Se trabajo con la metodología propuesta por Pelizza et al. (2019), que consistió en recipientes de 10 L de capacidad fueron colocados 10 adultos de *S. purpurascens* sanos, como alimento se utilizó hojas de *Medicago sativa*, después de 24 h que los insectos ya se adaptaron y vivos se introdujeron al bote los siguientes tratamientos 5, 3, 1 insecto adultos de *S. purpurascens* infectados con los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* en emulsiones de aceites (Figura 9). Las observaciones se realizaron cada 48 h hasta observar presencia de mortandad en adultos de *S. purpurascens*, posteriormente cada uno de los cadáveres se colocaron en cámaras húmedas para observar la presencia de micosis y así conocer el motivo de su mortandad y al mismo tiempo se realizaron los postulados de Koch.



**Figura 9** Recipientes de 10 L de capacidad para evaluación de propagación y patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites.

**Cuadro 5** Patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en adultos de *Sphenarium purpurascens* formulados en aceites + tween al 80 al 0.05% a una concentración del 40%.

	<b>Tratamientos</b>	<b>Insectos inoculados</b>
<b>T1</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>	5
<b>T2</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>	3
<b>T3</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>A. indica</i>	1
<b>T4</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>M. oleífera</i>	5
<b>T5</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>M. oleífera</i>	3
<b>T6</b>	<i>B. bassiana</i> + tween + AD + <i>M. oleífera</i>	1
<b>T7</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>	5
<b>T8</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>	3
<b>T9</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. americana</i>	1
<b>T10</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>	5
<b>T11</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>	3
<b>T12</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD + <i>P. dulcis</i>	1
<b>Testigo</b>	Agua destilada (AD)	0

### **Análisis estadístico**

Los porcentajes de efectividad y patogenicidad de los hongos entomopatógenos se determinaron mediante la fórmula corregida de (Abbott, 1925).

$$\% \text{ infectividad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

P<sub>i</sub>= Población inicial

P<sub>f</sub>=Población final

Para estos experimentos se trabajó y evaluaron 12 tratamientos con 7 repeticiones y un testigo (Cuadro 5). Con los porcentajes obtenidos se realizó una transformación por arcoseno y así realizar un análisis de varianza (ANOVA) y establecer las medias con la prueba de Tukey con un alfa de 0.05% con el programa Statistical Analysis System (2004).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa*

Las pérdidas que se encontró por insecto en diferentes etapas de desarrollo de *S. purpurascens* fue que a las 48, 96, 120, 144, 192, 240 y 336 h se observó que si existe una relación directa entre las etapas de desarrollo (estadio ninfal N4, N5 y la etapa adulta) de *S. purpurascens* con el consumo de los cultivos *Z. mays* y *M. sativa*. El consumo promedio de *S. purpurascens* en etapa N4 en *Z. mays* y *M. sativa* fue de 0.605 g/insecto y para N5 fue de 0.745 g/insecto y finalmente en su etapa adulta fue de 1.165 g/insecto, encontrando diferencia estadística entre los tratamientos T5 y T6 con el resto de los tratamientos (T1, T2, T3, T4). Es de resaltar que este insecto en etapa adulta en 1 mes (30 días) consume en cultivo de *Z. mays* 17.25 g/insecto y en el cultivo de *M. sativa* 17.7 g/insecto, en este mismo tiempo con presencia de 100 insectos se tendría un consumo en *Z. mays* de 1.720 kg y en cultivo de *M. sativa* de 1.770 kg, además se pude observa que existe preferencia mayor por el cultivo de *M. sativa* que el cultivo de *Z. mays* en todos sus estadios de desarrollo de este insecto. (Cuadro 6). Información que complementa Morales Martínez et al. (2012) encontró que los chapulines tienen preferencia en cultivos de alfalfa debido a que les brinda mayor protección y alimento, donde la incidencia fue de 30.33 insectos/m<sup>2</sup>, y considerando los umbrales de infestación propuestos por Garza Urbina (2005) es considerado un nivel de infestación severo para lo cual necesita medidas de control. El consumo encontrado por estadio de desarrollo en este trabajo en el cultivo de *M. sativa* es mayor a lo encontrado por, Huerta et al. (2014) reporta que el chapulín cuando se encuentra en estadio de ninfa y adulto causa daños severos

consumiendo en un día lo equivalente a 0.25 g es decir que 10 chapulines/m<sup>2</sup> en una hectárea se llegan a consumir 25 kg de forraje verde, que es lo que consume una res al día. Con base al promedio de alimento consumido en *M. sativa* por *S. purpurascens* en su etapa adulta consume 0.59 g/día por lo tanto si encontramos 10 chapulines/m<sup>2</sup> en una hectárea estos llegan a consumir 59 kg de alfalfa en un día. *S. purpurascens* en Chiautla de Tapia, Puebla provocó daños significativos al follaje de cultivos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cuando la planta tenía 50 cm de altura con una incidencia de 11 chapulines por planta (Pérez torres et al., 2009). Mariottini et al. (2018) realizó un trabajo con *Dichroplus maculipennis* durante su etapa adulta la cual ocasionó daños severos en *Festuca arundinacea*, en jaulas colocó diferentes densidades, donde 8 ind/m<sup>2</sup> provocaron una pérdida de forraje de 749 kg/ha, con 16 ind/m<sup>2</sup> (1107.4 kg/ha) y con 32 ind/ha (1873 kg/m<sup>2</sup>), estos datos son superiores a los que se obtuvieron en este experimento por *S. purpurascens*.

**Cuadro 6** Pérdidas ocasionadas por *Sphenarium purpurascens* en *Zea mays* y *Medicago sativa*.

Tratamientos	Pérdidas (g/ hora)								
	48	96	120	144	192	240	288	336	$\bar{X}$
T1 N4+ <i>M. sativa</i>	0.73bc	0.42b	0.55de	0.53b	0.67c	0.72b	0.53c	0.77b	0.61c
T2 N4+ <i>Z. mays</i>	0.56c	0.48b	0.53e	0.58b	0.65c	0.77b	0.51c	0.75b	0.60c
T3 N5 + <i>M. sativa</i>	0.65bc	0.53b	0.80bc	0.68b	0.93b	0.76b	0.83b	1.10a	0.75b
T4 N5 + <i>Z. mays</i>	0.66bc	0.58b	0.73cd	0.67b	0.85bc	0.60b	0.86b	1.02a	0.74b
T5 Adulto+ <i>M. sativa</i>	1.08a	1.16a	0.96ab	1.18a	1.46a	1.36a	1.10a	1.21a	1.18a
T6 Adulto+ <i>Z. mays</i>	0.85ab	1.16a	1.01a	1.17a	1.45a	1.42a	1.05a	1.16a	1.15a

N4= Ninfa 4, N5= Ninfa 5

Medias con diferente letra en columnas indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ )

## 6.2 Determinación de concentración de esporas y velocidad de crecimiento de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*.

Una vez reactivadas las cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* se obtuvo una concentración promedio de esporas de  $1.8 \times 10^9$  esp/mL para *B. bassiana* y de  $2.04 \times 10^9$  esp/mL para *M. anisopliae* donde presento mayor concentración de esporas, para ambas

cepas se ajustó a una concentración de  $1 \times 10^9$  esp/mL. A las 48 h para ambas cepas se observó el mismo comportamiento de crecimiento *B. bassiana* 0.43 cm y para *M. anisopliae* 0.45 cm al no encontrar diferencia estadística durante el tiempo evaluado. A las 96, 144, 192, 240 h se encontró una diferencia estadística con el tratamiento T2 con respecto al T1 en crecimiento y finalmente a las 288 h a la cepa de *M. anisopliae* ya había invadido toda la caja Petri con una velocidad de crecimiento de 3.38 cm en cambio *B. bassiana* a este mismo tiempo tuvo un crecimiento de 2.64 cm (Cuadro 7). Estos valores coinciden con los reportados por Ruiz Sánchez et al. (2011) al evaluar las cepas de *M. anisopliae* de diferentes hospederos en medio de cultivo Sabourand Dextrosa Agar (SDA) a  $27 \pm 3$  °C,  $75 \pm 5\%$  de humedad relativa, presento una velocidad de crecimiento de 0.31 a 0.37 cm/día a los 15 días. Otro estudio llevado a cabo por Malpartida Zevallos et al. (2013) en una cepa de *B. bassiana* en promedio registro un crecimiento radial de 3.45 mm/día a los 10 días. Estas diferencias en el crecimiento micelial de las cepas de acuerdo con estudios de Espinoza y Vallejos (2016), va a depender de diversos factores como el tipo de cepa, la condición del medio de cultivo en donde se desarrolló, además de las temperaturas a las que se incubo.

**Cuadro 7** Crecimiento micelial de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* a 25 °C en medio PDA a diferentes tiempos (h).

		Crecimiento micelial (cm/h)					
Tratamientos		48	96	144	192	240	288
T1	<i>Beauveria bassiana</i>	0.43a	0.58b	1.36b	1.70b	2.13b	2.64b
T2	<i>Metarhizium anisopliae</i>	0.45a	0.95a	1.92a	2.59a	3.0a	3.38a

Medias con diferentes letras en columnas tienen diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

### 6.3 Viabilidad de esporas de hongos entomopatógenos formulados en emulsiones de aceites.

A las 48 h en el (Cuadro 8) se observan que es viable utilizar las emulsiones de aceites en hongos entomopatógenos, donde se encontró que el hongo *B. bassiana* a  $1 \times 10^9$  esp/mL a la concentración del 20 y 40% con los aceites *A. indica* y *M. oleifera* mostraron el 100% de viabilidad y con el aceite *P. americana* presento un 92% de viabilidad que es un porcentaje alto. Para el hongo *M. anisopliae* a  $1 \times 10^9$  esp/mL a la concentración 20 y 40% con los aceites *A. indica* y *M. oleifera* mostraron el 95% de viabilidad y con el aceite *P. americana* sus porcentajes de viabilidad fueron mayores del 90% nuevamente considerado como buenos y altos. Es de resaltar que el testigo no presento sobrevivencia en agua a las 48 h y que estadísticamente es diferente a todos los tratamientos puestos

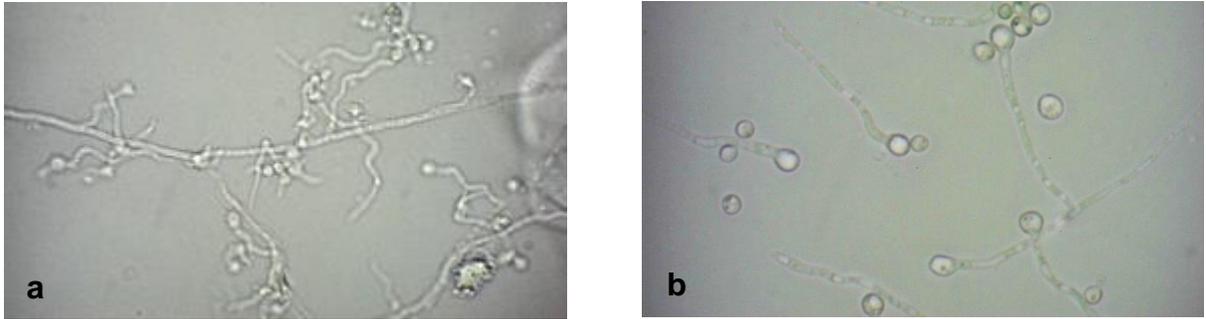
con aceites. Las dos concentraciones del 20 y 40% no influyeron en la sobrevivencia y viabilidad de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* es de resaltar que una aportación encontrada en los aceites evaluados nos permiten aumentar la adhesión de las esporas en la cutícula del insecto como menciona Bandani et al. (2006) que los aceites protegen las esporas ante factores externos, aumentan la viabilidad de los conidios y además se obtienen buenos resultados al agregar un surfactante como fue el caso de tween 80 al 0.05% ya que este nos permitió una buena dispersión de la formulación. Al respecto Rivera Tapia et al. (2020) evaluó la viabilidad de un biopreparado a base de Zeolita + Diatomita + *Beauveria bassiana* donde obtuvo el mayor número de conidios viables del 89.1%, donde menciona que el seleccionar preparados con mayor viabilidad tiene mayor efectividad cuando estas se utilizan en campo, ya que son más resistentes a factores bióticos y abióticos. Finalmente, Ruiz Sánchez et al. (2011) menciona que el crecimiento y germinación de esporas, está asociada directamente a la virulencia de los hongos entomopatógenos.

**Cuadro 8** Viabilidad de esporas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* a las 48 h.

	<b>Tratamientos</b>	<b>Concentración</b>	<b>Viabilidad %</b>
<b>T1</b>	<i>B. bassiana</i> + tween +AD+ <i>A. indica</i>	20	100a
<b>T2</b>	<i>B. bassiana</i> + tween +AD+ <i>M. oleífera</i>	20	100a
<b>T3</b>	<i>B. bassiana</i> + tween +AD+ <i>P. americana</i>	20	92abc
<b>T4</b>	<i>B. bassiana</i> + tween +AD+ <i>P. dulcis</i>	20	88.5c
<b>T5</b>	<i>B. bassiana</i> + tween +AD+ <i>A. indica</i>	40	100a
<b>T6</b>	<i>B. bassiana</i> + tween +AD+ <i>M. oleífera</i>	40	100a
<b>T7</b>	<i>B. bassiana</i> + tween +AD+ <i>P. americana</i>	40	92.7abc
<b>T8</b>	<i>B. bassiana</i> + tween +AD+ <i>P. dulcis</i>	40	94abc
<b>T9</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween +AD+ <i>A. indica</i>	20	94.8abc
<b>T10</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween +AD+ <i>M. oleífera</i>	20	99.7a
<b>T11</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween +AD+ <i>P. americana</i>	20	91.1bc
<b>T12</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween +AD+ <i>P. dulcis</i>	20	97.2ab
<b>T13</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD+ <i>A. indica</i>	40	99.4a
<b>T14</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween +AD+ <i>M. oleífera</i>	40	99.2a
<b>T15</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween %+AD+ <i>P. americana</i>	40	97.4ab
<b>T16</b>	<i>M. anisopliae</i> + tween + AD+ <i>P. dulcis</i>	40	96.5abc
<b>Testigo</b>	Agua destilada		0d

Medias con diferentes letras tienen diferencia significativa de acuerdo con la prueba de

Tukey ( $P \leq 0.05$ )



**Figura 10** Observación microscópica a 40X de germinación de esporas de a) *Beauveria bassiana* b) *Metarhizium anisopliae* a las 48 horas.

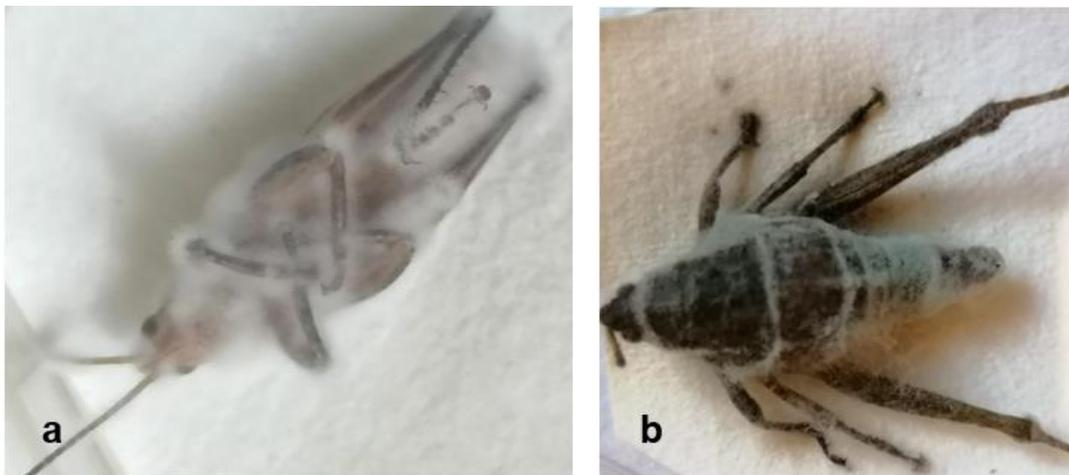
#### **6.4 Efectividad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites en adultos de *Sphenarium purpurascens* en condiciones de laboratorio.**

La efectividad y mortandad se observó a partir de las 24 h en los tratamientos T10 y el T11 con un 57.14 % de mortandad de *S. purpurascens*. El efecto encontrado a las 72 h en el T11 fue del 100% de efectividad, además es estadísticamente diferente a todos los tratamientos, incluido el testigo. A las 96 h se encontraron seis tratamientos (T4, T5, T6, T7, T11 y T12) que presentaron el 100% de mortandad y a las 120 h tres tratamientos más (T1, T9 y T10) tuvieron el 100% de mortandad en insectos adultos de *S. purpurascens*. Se encontró un efecto positivo con los tratamientos puestos con aceites puros en adultos de *S. purpurascens* a las 96 h el T4 de *P. dulcis* y a las 120 h *A. indica* causaron una mortandad del 100%. Para el caso del testigo no se tuvieron registros de mortandad a los siete días que duro el experimento (Cuadro 9).

Trabajo realizado por Vázquez Jorge et al. (2016) utilizo la cepa *B. bassiana* a dos concentraciones  $1 \times 10^8$  y  $1 \times 10^9$  esp/mL originando una mortandad en ninfas de segundo

y cuarto estadio a los ocho días y en adultos a estas mismas concentraciones fue de 76 y 81% de mortandad a los seis días después de la aplicación en *S. purpurascens*, en campo se determinó que el extracto de *Argemone mexicana* + *Capsicum frutescens* + *B. bassiana* y *B. bassiana* (sin extractos) contra *S. purpurascens* disminuyo de 48 y 18% en el cultivo de *Amaranthus hypocondriacus* L. Además, este mismo autor sugiere que el mezclar chicalote, chile e higuierilla alternados con jabón neutro es eficaz debido a que al estar en contacto con la cutícula la descompone, y su membrana se deshidrata y por ende va a impedir que pasen a otro estadio. Mientras que Rivera Tapia et al. (2020) utilizó *B. bassiana* para el control de *S. purpurascens* donde alcanzo el 72% de mortandad al cuarto día con un biopreparado (Zeolita + Diatomita+ *B. bassiana*) a una concentración de  $1 \times 10^8$ . Así como los datos de García Gutiérrez y González Maldonado, (2009) para el control de *Brachystola magna* en Durango, México, evaluaron la toxicidad de *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin el cual consistió en introducir hojas de frijol en diluciones de  $1.2 \times 10^9$  blastosporas/mL donde a las 72 h causo mortandad de ninfas del 100%. Por otro lado, *M. anisopliae* var. *acridum* con aceite de soya o citrolina a una concentración de  $1.2 \times 10^{12}$  esp/ha tuvo una efectividad del 100% a los siete días de aplicación en campo para el control del chapulín *Menanoplus sp.* en la Planicie Huasteca (Garza Urbina, 2005). Se tienen reportes del uso de dos aislados de *M. anisopliae* var *anisopliae* Driver and Milner de suelo canadiense (Alberta 11S-1, Alberta 6W-2 y Green Guard) para el control de *Melanoplus bivittatus* (Say), alimentados con hojas de lechuga suspendidas  $5 \times 10^7$  conidios en aceite de girasol, causando el 50% de mortandad en 5-6 días y más del 90% para el 7 día (Adatia et al., 2010). En un estudio realizado por Quesada Béjar et al. (2020) evaluó la patogenicidad de dos cepas nativas 6MaEM y 9MaEm de *M. anisopliae*, donde

obtuvo que bajo condiciones controladas a la concentración de  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$  esp/mL los saltamontes de segundo y tercer estadio tenían una supervivencia del 20% seis días después de la inoculación. Estos resultados son similares a los obtenidos debido a que nuestras cepas en emulsiones de aceites a los seis días el 98.8% de los chapulines en estadio adulto tratados presentaban mortandad, estas diferencias pudieron deberse a la concentración a la que se trabajó, como menciona Arguedas et al. (2008) que conforme la concentración es más alta mayor es la eficacia de la cepa.



**Figura 11** *Sphenarium purpurascens* con micosis a) *Beauveria bassiana* + *Azadirachta indica* b) *Metarhizium anisopliae* + *Persea americana*

**Cuadro 9** Efectividad de hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites al 40% en adultos de *Sphenarium purpurascens* cada 24 horas.

Tratamientos		Efectividad (h)				
		24	48	72	96	120
<b>T1</b>	<i>Azadirachta indica</i>	28.57c	42.85c	57.14d	85.71b	100a
<b>T2</b>	<i>Moringa oleifera</i>	28.57c	28.57d	42.85e	57.14c	71.42c
<b>T3</b>	<i>Persea americana</i>	28.57c	28.57d	57.14d	57.14c	85.71b
<b>T4</b>	<i>Prunus dulcis</i>	42.85b	57.14b	85.71b	100a	100a
<b>T5</b>	Bb + tween + AD+ <i>A. indica</i>	14.28d	28.57d	57.14d	100a	100a
<b>T6</b>	Bb + tween + AD+ <i>M. oleifera</i>	28.57c	42.85c	71.42c	100a	100a
<b>T7</b>	Bb+ tween + AD+ <i>P. americana</i>	0e	42.85c	85.71b	100a	100a
<b>T8</b>	Bb + tween + AD+ <i>P. dulcis</i>	14.28d	71.42a	85.71b	85.71b	85.71b
<b>T9</b>	Ma + tween + AD+ <i>A. indica</i>	14.28d	42.85c	57.14d	85.71b	100a
<b>T10</b>	Ma + tween + AD+ <i>M. oleifera</i>	57.14a	71.42a	85.71b	85.71b	100a
<b>T11</b>	Ma + tween + AD+ <i>P. americana</i>	57.14a	57.14b	100a	100a	100a
<b>T12</b>	Ma + tween + AD+ <i>P. dulcis</i>	42.85b	71.42a	71.42c	100a	100a
<b>Testigo</b>	Agua destilada	0	0	0	0	0c

Bb=*Beauveria bassiana*; Ma= *Metarhizium anisopliae*

Valores con diferente letra en columnas indican diferencia \*Prueba de Tukey ( $\leq 0.05$ )

#### **6.4.1 Propagación y patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites en adultos de *Sphenarium purpurascens***

La patogenicidad en adultos de *S. purpurascens* se encontró a las 48 h donde los tratamientos con mayor porcentaje fueron con 5 adultos inoculados (T7 y T10) con el hongo *M. anisopliae* y los aceites *P. americana* y *P. dulcis* con el 33.3% de mortandad (Cuadro 10). A las 96 h estos mismos tratamientos presentaron los porcentajes más altos T10-46.6% y T7-66.6%, donde ambos tratamientos se les introdujo 5 adultos inoculados con el hongo *M. anisopliae* y los aceites antes señalados, cabe resaltar que el T7 (66.6%) es estadísticamente diferente a los demás tratamientos. A las 240 h se encontraron tres tratamientos T2, T4 y el T7 con más del 80% de mortandad resaltando el T2 con el 100% que fue diferente estadísticamente a los demás, donde se introdujeron 3 adultos tratados con el hongo *B. bassiana* y el aceite *A. indica*. Se necesitaron 22 días (528h) para que siete tratamientos presentaran el 100% de mortandad en adultos de *S. purpurascens* y el testigo no presento mortandad alguna, de resaltar que los aceites no influyeron en su infectividad y mortandad. El número de adultos infectados 5 y 3 influyen directamente en la mortandad de los adultos de *S. purpurascens* (Cuadro 10).

Es por ello la importancia del control biológico para disminuir las pérdidas de los cultivos ya que conforme *S. purpurascens* alcanza su estadio adulto se vuelven más voraces y llegan provocar estas afectaciones a los cultivos. Bautista Viveros (2015), menciona que evaluó el extracto acuoso hierba de perro (*Pscaliopsis purpussi*) que le dio mayor protección al cultivo, este comportamiento es debido a que la planta presento repelencia al chapulín provocando que los daños al follaje de *Raphanus sativus* L., disminuyera un 11.41%. en *Raphanus sativus* L., por *S. purpurascens*.

**Cuadro 10** Patogenicidad (%) de adultos de *Sphenarium purpurascens* tratadas con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en emulsiones de aceites con tween 80 al 0.05% al 40% cada 48h.

Tratamientos		Tiempo de evaluación (horas)					
		Insectos inoculados	48	96	192	240	528
T1	<i>Bb + Ai</i>	5	20e	33.3e	53.3ef	66.6c	100a
T2	<i>Bb + Ai</i>	3	23d	38.4c	84.6a	100a	100a
T3	<i>Bb + Ai</i>	1	27.2b	36.3d	54.5de	63.6c	100a
T4	<i>Bb + Mo</i>	5	26.6c	26.6g	73.3b	80b	93.3b
T5	<i>Bb + Mo</i>	3	15.3f	15.3i	46.1fg	61.5c	100a
T6	<i>Bb + Mo</i>	1	0h	9j	36.3h	45.4d	100a
T7	<i>Ma + Pa</i>	5	33.3a	66.6a	74b	80b	86.6c
T8	<i>Ma + Pa</i>	3	15.3f	30.7f	38.4gh	46.1d	100a
T9	<i>Ma + Pa</i>	1	0h	18.1h	36.3h	36.3e	72.7d
T10	<i>Ma + Pd</i>	5	33.3a	46.6b	66.6bc	66.6c	66.6e
T11	<i>Ma + Pd</i>	3	23d	38.4c	61.5cd	61.5c	100a
T12	<i>Ma + Pd</i>	1	9g	9j	18.1i	36.3e	63.6f
T13	AD	0	0	0	0	0	0g

Valores con diferente letra en columnas indican diferencia \*Prueba de Tukey ( $\leq 0.05$ )

Este bioensayo en adultos de *S. purpurascens* nos ayudó a comprender la importancia de los procesos infectivos que tienen los hongos entomopatógenos asociados a los

organismos sanos acompañados de la ecología del insecto (hábitos). Pelizza et al. (2019) demostró que la utilización de cebos combinados de aceite de canola con salvado de trigo y conidios de *B. bassiana*  $1 \times 10^8$  fuera deseables para ninfas de tercer estadio de *D. maculipennis* en laboratorio y en jaulas de campo tuvieron una mortandad de 10 a 15 días después de la inoculación. En cambio, para el control de la langosta Centroamericana (*Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker) utilizo *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* formulado en aceite de soya crudo a una concentración de  $4 \times 10^{10}$  esporas/g, tuvo un 90% de mortalidad entre 14 y 17 días después de la aplicación en ninfas del cuarto al sexto estadio en campo, en uno de sus ensayos la aplicación la realizo sobre la soya siendo un cultivo de poca altura el cual le brindo una mejor distribución del bio-insecticida contribuyendo a que las ninfas tuvieran contacto y así se pudiera dispersar la cepa de *M. a. acridum* (Barrientos Lozano et al., 2005). Con base a los resultados de los estudios mencionados anteriormente la efectividad de las cepas va a depender de la formulación y la concentración ya que al utilizar un aceite va facilitar la adherencia de las esporas a la cutícula del insecto facilitando su efectividad y así mismo su infectividad va depender del contacto con el cultivo o incluso si este formulado se aplica directamente, los chapulines al ser insectos saltadores van a dispersar las esporas en donde se asienten o si están en etapa de apareamiento van a tener en contacto con la hembra y esta al infectarse ya no va tener descendencia, además que una hembra durante la oviposición deja alrededor de ocho ootecas las cuales tienes alrededor de 20-40 huevecillos (Huerta et al., 2014). De acuerdo con Garza Urbina, (2005) para el control de ninfas y adultos de la especie de *Melanoplus* spp. recomienda 1 L de *Azadirachta indica* más 1 L de citrolina por hectárea con una efectividad del 100% a los siete días después

de la aplicación. Por el contrario, el uso de *Beauveria bassiana* + tween 80 al 0.05% + AD+ *Azadirachta indica* en condiciones de laboratorio se obtuvo el 100% de mortandad a los 10 días después de su aplicación.

Cabe destacar que no se han realizado pruebas a nivel de campo, por lo que es recomendable evaluar su efectividad de estos hongos entomopatógenos en emulsiones de aceites.

## VII. CONCLUSIONES

1. Existe una relación directa entre las etapas de desarrollo N4, N5 y la etapa adulta de *S. purpurascens* con el consumo de los cultivos *Z. mays* y *M. sativa*. El consumo promedio de *S. purpurascens* en etapa N4 en *Z. mays* y *M. sativa* fue de 0.605 g/insecto y para N5 fue de 0.745 g/insecto y finalmente en su etapa adulta fue de 1.165 g/insecto en 48 h.
2. La viabilidad de las esporas de las cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en emulsiones de aceites al 20 y 40% presento una germinación de 88.5 al 100% en 48 h, mostrando que es viable utilizar estas cepas en emulsiones de aceites más tween 80 al 0.05% ya que nos permitió una buena dispersión de la formulación y adhesión de las esporas a la cutícula de *S. purpurascens*.
3. La efectividad y mortandad de *S. purpurascens* se observa a partir de las 24 h encontrando dos tratamientos (T10 y el T11) con un 57.14%. y a las 96 h se encontró el 100% de mortandad en seis tratamientos (T4, T5, T6, T7, T11 y T12).
4. El número de insectos (3 y 5) inoculados con los hongos entomopatógenos formulados en los aceites *A. indica*, *M. oleifera*, *P. americana*, y *P. dulcis* al 40% en adultos de *S. purpurascens* influyen directamente en la mortandad encontrando porcentajes en *B. bassiana* del 45.4-100% y en *M. anisopliae* del 36.3-80% en 240 h.

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Seguir evaluando diferentes tipos de aceites y compararlos con los ya evaluados para conocer si hay mortandad en adultos de *S. purpurascens*.
2. Evaluar las cepas de *Metarhizium anisopliae* + *Persea americana* y *B. bassiana* + *A. indica* en *S. purpurascens* con la finalidad de observar su comportamiento en condiciones de campo.
3. Evaluar el uso de más organismos biológicos, solos o formulados en emulsiones de aceites de *A. indica*, *M. oleifera*, *P. americana* y *P. dulcis* para conocer su efectividad en adultos de *S. purpurascens*.

## IX. LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. En *Journal of the American mosquito control association* (Vol. 3, Issue 2).  
[https://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/JAMCA\\_V03\\_N2\\_P302-303.pdf#:~:text=ln%20computing%20the%20effectivenessof%20insecticides.when%20an%20actual%20count,and%20the%20treated%20plat%2098%20per%20cent%20dead%20then](https://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/JAMCA_V03_N2_P302-303.pdf#:~:text=ln%20computing%20the%20effectivenessof%20insecticides.when%20an%20actual%20count,and%20the%20treated%20plat%2098%20per%20cent%20dead%20then)
- Acuña Jiménez, M., García Gutiérrez, C., Rosas García, M. N., López Meyer, M. y Saínz Hernández, J. C. (2015). Formulación de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin con polímeros biodegradables y su virulencia contra *Heliothis virescens* (Fabricius). *Rev. Int. Contam. Ambie*, 31(3), 219–226.
- Adatia, A., Johnson, D. y Entz, S. (2010). Pathogenicity of two new isolates of *Metarhizium anisopliae* from Canadian soil to *Melanoplus bivittatus* (Orthoptera: Acrididae) and *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Canadian Entomologist*, 142(2), 128–134.  
<https://doi.org/10.4039/n09-041>
- Amaro Leal, L. J., Romero Arenas, O., López Olguín, J. F., Parraguirre Lezama, C., Sanchez Morales, P. y Rivera Tapia, J. A. (2018). Mortality of *Sphenarium purpurascens* with Bio-preparations of *Beauveria bassiana* and Diatomite in vitro. *Southwestern Entomologist*, 43(4), 1029–1039. <https://doi.org/10.3958/059.043.0420>
- Anaya Rosales, S., Romero Napoles, J. y Lopez Martinez, V. (2000). Manual de Diagnóstico para las Especies de Chapulines (orthoptera: acridoidea) del Estado de Tlaxcala y Estados Adyacentes.

[https://www.researchgate.net/publication/299429389\\_Manual\\_de\\_Diagnostico\\_para\\_las\\_Especies\\_de\\_Chapulines\\_orthoptera\\_acridoidea\\_del\\_Estado\\_de\\_Tlaxcala\\_y\\_Estados\\_Adyacentes](https://www.researchgate.net/publication/299429389_Manual_de_Diagnostico_para_las_Especies_de_Chapulines_orthoptera_acridoidea_del_Estado_de_Tlaxcala_y_Estados_Adyacentes)

Aquino Bolaños, T., Martínez Gutiérrez, G. A., Escamirosa Tinoco, C., Cortés Martínez, C. I. y Martínez Sánchez, D. (2016). Loss caused by fruit worm and its treatment with entomopathogenic nematodes in fruits of *Physalis ixocarpa* Guenee. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*, 4, 60–65. <http://dx.doi.org/10.33500/ijambr.2016.04.008>

Aquino Olmedo, S. T. (2015). Efecto de la temperatura y humedad en el ciclo biológico del chapulín *Sphenarium purpurascens* Charpentier.

Arcos Estrada, E. G., Díaz Ramírez, M., Jiménez Guzmán, J., Fabela Morón, M. F., Rayas Amor, A. A., León Espinosa, E. B., García Garibay, M. y Cruz Monterrosa, R. G. (2020). Análisis fisicoquímico y proteínico de la pasta de chapulín (*Sphenarium purpurascens* Charpentier). *Agro Productividad*, 13(6), 77–83. <https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1729>

Arguedas, M., Álvarez, V. y Bonilla, R. (2008). Eficacia del hongo entomopatógeno *Metharrizium anisopliae* en el control de *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae). *Agronomía Costarricense*, 32(2), 137–147. [www.cia.ucr.ac.cr](http://www.cia.ucr.ac.cr)

Barrientos Lozano, L., Hunter, D. M., Ávila Valdéz, J., García Salazar, P. y Horta Vega, J. v. (2005). Control biológico de la langosta Centroamericana *Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker (Orthoptera: Acrididae) en el noreste de México. *VEDALIA*, 12(2), 119–128.

[https://www.academia.edu/14701346/CONTROL\\_BIOL%C3%93GICO\\_DE\\_LA\\_LANGO](https://www.academia.edu/14701346/CONTROL_BIOL%C3%93GICO_DE_LA_LANGO)

STA\_CENTROAMERICANA\_SCHISTOCERCA\_PICEIFRONS\_PICEIFRONS\_WALKE  
R\_ORTHOPTERA\_ACRIDIDAE\_EN\_EL\_NORESTE\_DE\_M%C3%89XICO?email\_work  
\_card=view-paper

Batta, Y. A. (2003). Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Crop Protection*, 22, 415–422. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(02\)00200-4](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00200-4)

Batta, Y. A. (2016). Invert emulsion: Method of preparation and application as proper formulation of entomopathogenic fungi. *MethodsX*, 3, 119–127. <https://doi.org/10.1016/J.MEX.2016.02.001>

Bautista Viveros, R. (2015). Aplicación de productos naturales para el manejo del chapulín *Sphenarium purpurascens* (Charpentier, 1841-45) en el cultivo de *Raphanus sativus* L., en Tepeaca, Puebla. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/12517/633715T.pdf?sequence=1>

Berlanga Padilla, A. M. y Hernández Velázquez, V. M. (2002). Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de *Metarhizium anisopliae*, M. a. var. *acridum* y *Beauveria bassiana* en *Schistocerca piceifrons piceifrons*. *Manejo Integrado de Plagas*, 63, 51–55. [https://www.researchgate.net/publication/325904471\\_Efecto\\_de\\_la\\_temperatura\\_sobre\\_el\\_crecimiento\\_y\\_la\\_virulencia\\_de\\_Metarhizium\\_anisopliae\\_M\\_a\\_var\\_acridum\\_y\\_Beauveria\\_bassiana\\_en\\_Schistocerca\\_piceifrons\\_piceifrons](https://www.researchgate.net/publication/325904471_Efecto_de_la_temperatura_sobre_el_crecimiento_y_la_virulencia_de_Metarhizium_anisopliae_M_a_var_acridum_y_Beauveria_bassiana_en_Schistocerca_piceifrons_piceifrons)

- Bustos, G., Silva, G., Fisher, S., Figueroa, I., Urbina, A. y Rodríguez, J. C. (2017). Repelencia de Mezclas de Aceites Esenciales de Boldo, Laurel Chileno, y Tepa Contra el Gorgojo del Maíz. *Southwestern Entomologist*, 42(2), 551–562. <https://doi.org/10.3958/059.042.0224>
- Castellanos Vargas, I. y Cano Santana, Z. (2009). Historia natural y ecología de *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae). <https://docplayer.es/80299925-Historia-natural-y-ecologia-de-sphenarium-purpurascens-orthoptera-pyrgomorphidae.html>
- Castellanos Vargas, I. y Cano Santana, Z. (2017). Variaciones ecomorfológicas de las ootecas de *Sphenarium purpurascens* Charpentier (Orthoptera: Pyrgomorphidae) en un matorral xerófilo del centro de México. *Folia Entomologica Mexicana*, 3(2), 54–69.
- Cerritos, R. y Cano Santana, Z. (2008). Harvesting grasshoppers *Sphenarium purpurascens* in Mexico for human consumption: A comparison with insecticidal control for managing pest outbreaks. *Crop Protection*, 27, 473–480. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.08.001>
- Chiriboga Pareja, J. H., Gómez B, G. y Garcés E, K. (2015). Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumo: *Beauveria bassiana*, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras (Ysaú). <http://repositorio.iica.int/handle/11324/2646>
- Eilenberg, J., Hajek, A. y Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. En *BioControl* (Vol. 46). [https://www.esf.edu/efb/parry/Biocontrol19/Eilenberg\\_etal\\_2001.pdf](https://www.esf.edu/efb/parry/Biocontrol19/Eilenberg_etal_2001.pdf)
- Esparza Mora, M. A., Conteiro Castilho, A. M. y Fraga, M. E. (2017). Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. *Arquivos Instituto Biológico*, 84, 1–10. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000552015>

- García Gutierrez, C. y González Maldonado, M. B. (2009). Control biológico de plaga de chapulín (Orthoptera: Acrididae) en Durango, México. *VEDALIA*, 13(2), 79–83.
- Garza Urbina, E. (2005). El chapulín *Melanoplus* sp. y su manejo en la planicie Huasteca. <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/147.pdf>
- Hajek, A. (2004). Natural Enemies: An Introduction to Biological Control. En *Chapter 3: Classical biological control* (pp. 37–97).
- Hernández Trejo, A., Estrada Drouaillet, B., Rodríguez Herrera, R., García Giron, J. M., Patiño Arellano, S. A. y Osorio Hernández, E. (2019). Importancia del control biológico de plagas en maíz (*Zea mays* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(4), 803–813.
- Hódar, J. A., Zamora, R. y Cayuela, L. (2012). Cambio climático y plagas: algo más que el clima. *Ecosistemas*, 21(3), 73–78. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2012.21-3.09>
- Huerta, A. J., Espinoza, F., Tellez Jurado, A., Maqueda Gálvez, A. P. y Arana Cuenca, A. (2014). Control Biológico del Chapulín en México. <https://www.researchgate.net/publication/261392289>
- Islam, W., Adnan, M., Shabbir, A., Naveed, H., Abubakar, Y. S., Qasim, M., Tayyab, M., Noman, A., Shahid Nisar, M., Khan, K. A. y Ali, H. (2021). Insect-fungal-interactions: A detailed review on entomopathogenic fungi pathogenicity to combat insect pests. En *Microbial Pathogenesis* (Vol. 159, pp. 1–16). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105122>
- Jolalpa Barrera, J. L., Espinosa García, J. A., Cuevas Reyes, V., Moctezuma López, G. y Romero Santnillán, F. (2009). Necesidades de investigación en la cadena productiva de

alfalfa (*Medicago sativa* L) en el Estado de Hidalgo. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 25, 104–115. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14118560011>

Malpartida Zevallos, J., Narrea Cango, M. y Dale Larraburre, W. (2013). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12(2), 75–81. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v12n2/a02v12n2.pdf>

Marín Loaiza, J. C. y Céspedes, C. L. (2007). Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. *Artículo de Revisión Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4), 327–351. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61030401>

Mariño Pérez, R. y Song, H. (2019). On the origin of the New World Pyrgomorphidae (Insecta: Orthoptera). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 139, 1–12. <https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2019.106537>

Mariottini, Y., de Wysiecki, M. L. y Lange, C. E. (2018). Forage loss caused by different densities of *Dichroplus maculipennis* (Acrididae: Melanoplinae) in *Festuca arundinacea* Schreb pasture. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 44(1), 1–9. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1669-23142018000100013&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1669-23142018000100013&lng=es&nrm=iso)

Medina García, G., Echavarría Cháirez, F. G., Ruiz Corral, J. A., Rodríguez Moreno, V. M., Soria Ruiz, J. y de la Mora Orozco, C. (2020). Global warming effect on alfalfa production in Mexico. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 11, 34–48. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V11S2.4686>

Morales De León, A. D., Jarquín Gálvez, R., Gómez Ruiz, J., Díaz Gómez, O. y Marín Sánchez, J. (2014). Evaluación de un formulado de aceite vegetal de *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio para el control de la broca del café. *Fitosanidad*, 18(1), 5–14. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209131412001.pdf>

Morales De León, A. D., Jarquín Gálvez, R., Gómez Ruíz Jaime, Díaz Gómez, O. y Marín Sánchez, J. (2014). Evaluación de un formulado de aceite vegetal de *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio para el control de la broca del café. En *Fitosanidad* (Vol. 18, Issue 1).

Morales Martínez, N., Hernández Hernández, E. M., Ramírez Alarcón, S. y Solís Aguilar, J. F. (2012). Abundancia de *Sphenarium purpurascens* Charpentier (Orthoptera: Pyrgomorphidae) en cultivos de importancia económica en la localidad de Tepepa, San Miguel Tenancingo, Tlaxcala. 1122–1127.

Motta Delgado, P. A. y Murcia Ordoñez, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Revista Ambiente e Agua*, 6(2), 77–90. <https://doi.org/10.4136/1980-993X>

Ortiz Urquiza, A. y Keyhani, N. O. (2013). Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. En *Insects* (Vol. 4, pp. 357–374). <https://doi.org/10.3390/insects4030357>

Pedraza Lara, C., Barrientos Lozano, L., Rocha Sánchez, A. Y. y Zaldívar Riverón, A. (2015). Montane and coastal species diversification in the economically important Mexican grasshopper genus *Sphenarium* (Orthoptera: Pyrgomorphidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 84, 220–231. <https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2015.01.001>

- Pedrini, N., Crespo, R. y Juárez, M. P. (2007). Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. En *Comparative Biochemistry and Physiology* (Vol. 146, pp. 124–137). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.08.003>
- Pelizza, S. A., Mariottini, Y., Russo, L. M., Vianna, F. M., Scorsetti, A. C. y Lange, C. E. (2019). Application of *Beauveria bassiana* using different baits for the control of grasshopper pest *Dichroplus maculipennis* under field cage conditions. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4), 1511–1515. <https://doi.org/10.1016/J.JKSUS.2019.02.014>
- Pérez torres, B. C., Aragón García, A., Bautista Martínez, N., Tapía Rojas, A. M. y López Olguín Jesús Francisco. (2009). Entomofauna asociada al cultivo de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en el municipio de Chiautla de Tapia, Puebla. *Acta Zoológica Mexicana* , 25(2), 239–247.
- Poma Laura, H. J. y López Blanco, C. (2017). Esporulación de conidias de beauveria bassiana en sustratos de arroz. *Revista de La Carrera de Ingeniería Agronómica*, 3(2), 500–513.
- Quesada Béjar, V., Nájera R, M. B., Reyes Novelo, E. y González Esquivel, C. E. (2017). Ortópteros (Caelífera) y sus hongos entomopatógenos en agroecosistemas de maíz en Erongarícuaro, Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(6), 1357–1370. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263153306010>
- Quesada Béjar, V., Nájera Rincón, M. B., Reyes Novelo, E. y González Esquivel, C. E. (2019). Susceptibility of *Sphenarium purpurascens purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) instars to a commercial strain of *Metarhizium acridum* (hypocreales: Clavicipitaceae) in Michoacan, Mexico. *Revista Colombiana de Entomología*, 45(2), 1–6. <https://doi.org/10.25100/socolen.v45i2.7959>

Quesada Béjar, V., Nájera Rincón, M. B., Reyes Novelo, E. y González Esquivel, C. E. (2020). Pathogenicity of *Metarhizium* spp. on *Sphenarium purpurascens* in Central Mexico. *Southwestern Entomologist*, 45(1), 57–68. <https://doi.org/10.3958/059.045.0106>

Ramírez Méndez, V. A., González Villegas, R. y Nájera Rincón, M. B. (2019). *DISTRIBUCIÓN Y DIVERSIDAD DE CHAPULINES (ORTHOPTERA: ACRIDOIDEA) EN AGROECOSISTEMAS DE MAÍZ DE LA CUENCA DEL LAGO DE PÁTZCUARO.*

Ramos Elorduy B, J. y Vázquez Mora, A. (2009). Composición vegetal y desarrollo poblacional de algunos acridoideos del municipio de Cuautitlán Izcalli (Estado de México, México), utilizados en la alimentación humana, con énfasis en *Sphenarium purpurascens* Ch. (Insecta: Orthoptera: Acridoidea) y su conservación. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 44, 587–595.

Reséndiz Ramírez, Z., López Santillán, J. A., Briones Encinia, F., Mendoza Castillo, Ma. del C. y Varela Fuentes, S. E. (2014). Situación actual de los sistemas de producción de grano de maíz en Tamaulipas, México. *Investigación y Ciencia*, 22(62), 69–75. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67432507009>

Rivera Tapia, A., Amaro Leal, L. J., Valencia De Ita, M. A., Parraguirre Lezama, C., Sangerman Jarquín, D. M. y Romero Arenas, O. (2020). Materiales porosos como soporte de viabilidad de *Beauveria bassiana* para el biocontrol de *Sphenarium purpurascens* in vitro. *Informacion Tecnica Economica Agraria*, 117(2), 90–107. <https://doi.org/10.12706/itea.2020.032>

Rivera Tapia, A., Amaro Leal, L. J., Valencia De Ita, M. A., Parraguirre Lezama, C., Sangerman Jarquín, D. M. y Romero Arenas, O. (2021). Porous materials as viability support of

*Beauveria bassiana* for the biocontrol of *Sphenarium purpurascens* in vitro. *Información Técnica Económica Agraria*, 117(2), 90–107. <https://doi.org/10.12706/itea.2020.032>

Rojas García, A. R., Torres Salado, N., Joaquín Cancino, S., Hernández Garay, A., Maldonado Peralta, M. de los Á. y Sánchez Santillán, P. (2017). Componentes del rendimiento en variedades de alfalfa (*Medicago sativa*). *AGROCIENCIA*, 51(7), 697–708.

Romero Arenas, O., Amaro Leal, L. J., Rivera, A., Parraguirre Lezama, C., Sánchez Morales, P. y Villa Ruano, N. (2020). Formulations of *Beauveria bassiana* MABb1 and mesoporous materials for the biological control of *Sphenarium purpurascens* in maize crops from Puebla, Mexico. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(3), 653–659. <https://doi.org/10.1016/J.ASPEN.2020.05.005>

Ruiz Sánchez, E., Chan Cupul, W., Pérez Gutiérrez, A., Cristóbal Alejo, J., Uch Vazquez, B., Tun Suárez, J. M. y Munguía Rosales, R. (2011). Crecimiento, esporulación y germinación in vitro de cinco cepas de *Metarhizium* y su virulencia en huevos y ninfas de *Bemisia tabaci*. *Revista Mexicana de Micología*, 3, 9–15.

Sanabria Urbán, S., Song, H., Oyama, K., González Rodríguez, A. y Cueva Del Castillo, R. (2017). Integrative taxonomy reveals cryptic diversity in neotropical grasshoppers: Taxonomy, phylogenetics, and evolution of the genus *Sphenarium* Charpentier, 1842 (Orthoptera: Pyrgomorphidae). *Zootaxa*, 4274(1), 1–86. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4274.1.1>

Sánchez Flores, M. (2018). Manual operativo de la campaña contra el chapulín.

SAS. (2004). *SAS/STAT 9.1: user's guide*. SAS Pub. [https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/sasdoc\\_91/stat\\_ug\\_7313.pdf](https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/sasdoc_91/stat_ug_7313.pdf)

- Tellez Jurado, A., Cruz Ramírez, M. G., Mercado Flores, Y., Asaff Torres, A. y Arana Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología*, 30, 73–80.  
<https://www.researchgate.net/publication/237041725>
- Usano Alemany, J., Palá Paúl, J. y Díaz, S. (2014). Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. *Reduca (Biología). Serie Botánica*, 7(2), 60–70.
- Vázquez Jorge, M. de los Á., Aragón García, A., Bibbins Martínez, M. D., Castillo Hernández, D., Nava Galicia, S. B. y Pérez Torres, B. C. (2016). *Sphenarium purpurascens* control with *Beauveria bassiana* and extracts amaranth (*Amaranthus hypocondriacus* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(2), 235-247.
- Viera Arroyo, W. F., Tello Torres, C. M., Martínez Salinas, A. A., Navia Santillán, D. F., Medina Rivera, L. A., Delgado Párraga, A. G., Perdomo Quispe, C. E., Pincay Verdezoto, A. K., Báez Cevallos, F. J., Vásquez Castillo, W. A. y Jackson, T. (2020). Biological Control: A tool for sustainable agriculture, with a point of view of its benefits in Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 128–149.
- Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553–596.  
<https://doi.org/10.1080/09583150701309006>