

Evaluación de formulaciones de *Beauveria bassiana* (Vuill.) en el campo contra el picudo de la yema del manzano *Amphidees* spp. (Coleoptera: Curculionidae) en Arteaga, Coahuila, México

Gallegos-Morales, G.¹
Olayo-Paredes, R. P.¹
Guerrero-Rodríguez, E.¹
Sánchez-Valdez, V. M.¹
Sánchez-Pérez, F. de J.¹
M. Cepeda-Siller¹

RESUMEN. En Arteaga, Coahuila, México, el cultivo del manzano se ve afectado por el complejo de picudos de la yema del manzano *Amphidees* spp., plaga de difícil combate por medios convencionales. Se estudió el empleo de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (*Bb*) como patógenos de adultos de este insecto en dos huertas. Se evaluaron las cepas nativas de *Bb* SAA-1 y HCA-2 en mezcla con citrolina, en polvo y en forma líquida, a concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml, en aplicaciones en dos huertas de manzano. La cepa SAA-1 de *Bb* con citrolina a 1×10^{13} conidias/ml mostró un 32,7% de eficiencia, seguida de la formulación en polvo a la misma concentración con un 22,1% de control en la huerta El Conejo. En la huerta Don Jesús los tratamientos con mejor eficiencia fueron con la misma cepa SAA-1 de *Bb* en formulación con citrolina pero en concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml con 58,1 y 57,9% de control, respectivamente, seguidas de la formulación líquida de la misma cepa en ambas concentraciones, con 44,9 y 33,9%, respectivamente, a lo largo de 36 días de muestreos en las dos huertas. Las condiciones imperantes de manejo en cada una de las huertas afectan de forma particular la actividad de las formulaciones de *Bb* empleadas para combatir el insecto.

Palabras clave: *Amphidees* spp., *Beauveria bassiana*, bioinsecticida, control microbiano.

ABSTRACT. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Vuill.) formulations in the field against *Amphidees* spp. (Coleoptera: Curculionidae) in Arteaga, Coahuila, Mexico. The use of several native strains of *Beauveria bassiana* (*Bb*) as pathogens of the adult bud apple weevils *Amphidees* spp. were studied. The native strains evaluated were *Bb* SAA-1 and HCA-2 mixed with citroline, both in powder and liquid form, at concentrations of 1×10^{12} and 1×10^{13} conidia/ml and applied in two apple orchards. The strain SAA-1 of *Bb* with citroline at a concentration of 1×10^{13} conidia/ml showed an efficiency of 32,7%, followed by the powder formulation at the same concentration with 22,1% at the El Conejo orchard. At the Don Jesus orchard, the most efficient treatments were the same strain SAA-1 of *Bb* formulated with citroline at concentrations of 1×10^{12} and 1×10^{13} conidia/ml, which resulted in 58,1 and 57,9% of control, respectively. The liquid formulation of the same strain at the same concentrations gave a 44,9 and 33,9% control efficiency, respectively, during 36 days of sampling in the two orchards. Management of the orchards affected the specific activity of the formulations of *Bb* used to control the insect pest.

Key words: *Amphidees* spp. *Beauveria bassiana*, bioinsecticide, microbial control.

¹ Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C. P. 25315. (Tel.– fax 01(844) 411 02 26). ggalmor@uaaan.mx

Introducción

En México, el manzano *Prunus malus* L. ocupa una superficie de 66738 ha, de las cuales 54724 ha se encuentran en producción, con un rendimiento de 333833 t. Coahuila ocupa el tercer lugar nacional, con 8282 ha sembradas, y octavo en rendimiento, con 9 t/ha. La Sierra de Arteaga se ubica en la porción suroeste de Coahuila, ocupando el 14% del área total de manzano en México (INEGI 2001), donde se presentan problemas fuertes con el complejo de adultos de picudos de la yema del manzano integrados por *Amphidees latifrons*, *Amphidees macer* y *Amphidees* sp. (Coleoptera: Curculionidae). Estos insectos se distribuyen ampliamente en la zona manzanera de la región, alimentándose de hojas y causando mordeduras en forma de “u” de marzo a octubre sin causar daños económicos (Lezcano 2000) y de noviembre a febrero afectan las yemas vegetativas y florales, causándoles la muerte hasta en un 70% de los casos (Sánchez et ál. 1992). Durante los últimos cinco años, los productores han recurrido al uso inmoderado de dosis altas de insecticidas y mezclas entre los mismos sin lograr un control adecuado del insecto (Jiménez 1996), provocando, además de la contaminación, un incremento en los costos y daño a la fauna benéfica de la región (Lezcano 2000).

Se han realizado estudios con diversos organismos para conocer el impacto del control biológico sobre el complejo de picudos de *Amphidees* spp., ya que es más barato, no daña la fauna benéfica y no contamina. Velázquez et ál. (2002) reportan los parasitoides *Oestrophasia* sp. (Diptera: Tachinidae), mientras que la presencia de hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* y *Beauveria bassiana* (*Bb*) es descrita por Sánchez et ál. (2001).

Existe interés por emplear hongos entomopatógenos como agentes de control biológico; sin embargo, estos deben ser formulados para mantenerse en forma viable y activa en condiciones ambientales desfavorables (Rosas et ál. 2001). Al respecto, Hernández y Lezama (2000) mencionan que en México se han evaluado formulados de *M. anisopliae* en citrolina, aceites vegetales y minerales obteniéndose en laboratorio una buena mortalidad en insectos. Estos formulados presentan muchas variaciones (Sawicka y Couch 1983), ya que no se cuenta con una formulación tipo que proteja las conidias contra la desecación, radiación, acarreo, etc., antes y después de la aplicación (Alatorre 2000).

El presente estudio evaluó en el campo dos cepas nativas de *B. bassiana* formuladas en citrolina como agente protector de la viabilidad y deshidratación de las conidias de este hongo en comparación con formu-

laciones en polvo y en suspensión acuosa para el combate del complejo de *Amphidees* spp. en dos huertas de la Sierra de Arteaga, Coahuila, México.

Materiales y métodos

Preparación in vitro

El trabajo in vitro se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, y el trabajo de campo en las huertas El Conejo y Don Jesús de San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila, México, ubicadas al suroeste y enclavadas en el macizo montañoso que forma parte de la Sierra Madre Oriental (101°50'24"O y 25°25'58"N, entre 1700 y 3700 msnm).

Se trabajó con dos cepas nativas de *Bb* —SAA-1 y HCA-2—, identificadas acorde a las claves de Barnett y Hunter y evaluadas por Olayo et ál. (2002), propagadas mediante el procedimiento de cultivos bifásicos de dos etapas descrito por Tafoya et ál. (1999). Se realizaron pruebas de viabilidad de las conidias de cada una de las cepas incrementadas, de acuerdo con lo citado por Hernández (2001). El sistema de producción de conidias descrito por Tafoya et ál. (1999) consistió en producir primeramente la fase micelial del hongo (Fase 1) y posteriormente las conidias en medio de arroz como sustrato y soporte (Fase 2):

Fase 1. Producción de micelio en caldo dextrosa Sabouraud (CDS). Por cada cepa de *Bb* se utilizó un explante del hongo previamente cultivado en papa dextrosa agar (PDA); este se colocó como inóculo en matraces de 500 ml, con 200 ml de CDS, colocándose en agitación a 150 rpm para su crecimiento por cinco días a 25 ± 3 °C. A los cinco días se le agregó 200 ml de extracto de malta previamente esterilizada (6 g en 1000 ml de agua) más 2 g de tetraciclina (Deltamicin®) añadida por filtración. El crecimiento de *Bb* diluido se utilizó para inocular la segunda fase de producción de conidios de este entomopatógeno.

Fase 2. Producción de conidios de Bb en arroz como sustrato sólido. El arroz se desinfectó con hipoclorito de sodio al 6% agregando 100 ml de este en 1 L de agua por 30 min. El arroz se percoló y lavó con agua corriente para quitar el exceso de cloro, y se depositó en bolsas de polipapel con 250 g de arroz desinfectado; luego, se esterilizó por 20 min a 15 libras de presión, dejándolo reposar por 5 h.

Con el inóculo (Fase 1) en el medio sólido (Fase 2), se realizó la inoculación agregando 20 ml de inóculo a cada bolsa, para incubarlas a 26 ± 2 °C por 15 días en cámara bioclimática, oxigenando las bolsas

con movimiento manual cada tres días. Se obtuvieron las conidias de las cepas SAA-1 y HCA-2 mediante el tallado del arroz en tamices de 60, 100 y 200 mallas (esta última equivalente a 75 μ), para preparar las concentraciones y formulados de los bioensayos de campo. Estas cepas fueron seleccionadas por presentar mayor rapidez de crecimiento en el laboratorio (Olayo et ál. 2002). Los conteos previos a los ajustes del número de conidias se efectuaron en la cámara de Neubauer, mientras que las pruebas de viabilidad se efectuaron por crecimiento de conidias en PDA.

Se estimaron por dilución las concentraciones propuestas para ambas cepas, obteniendo primero la de mayor concentración, 1×10^{13} conidias/ml y posteriormente la de 1×10^{12} conidias/ml, y se procedió a preparar las diversas formulaciones con citrolina, líquida y polvo.

Se realizó una prueba de viabilidad a la formulación de conidias con citrolina, que consistió en colocar esporas de *Bb* en este medio por 5 días; luego, se extrajeron las esporas y se sembraron en PDA para observar su germinación. Para lograr una mezcla eficiente en agua, a la citrolina se le agregaron los coadyuvantes Bionex[®] y Tween[®] 20 en una proporción de 7:2:1, respectivamente, en 100 ml del formulado, con lo que se obtuvo una buena emulsión en agua, agregando las conidias de *Bb* para cada dosis a las concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml.

En la formulación líquida se utilizó el coadyuvante Bionex[®] mezclado con agua en una proporción de 1:10 para preparar 100 ml del formulado, con lo que se logró una buena emulsión en agua, a la que se agregó las conidias de *Bb* con las concentraciones adecuadas para obtener las dosis de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml para cada cepa.

Con respecto a la formulación en polvo, se utilizó talco comercial (Chava[®]) como inerte, y se mezcló con conidias de *Bb* en una proporción de 1:10 para preparar dosis de 100 g del formulado; además, se le añadió 2 g de tetraciclina (Deltamicin[®]) para evitar contaminaciones por bacterias que causaran la muerte de las esporas en las concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml para cada cepa.

En todas las formulaciones se realizaron pruebas de viabilidad de conidias; además, en las formulaciones con citrolina y líquido se realizaron pruebas para mantener la emulsión por más de 20 min en agua y lograr una buena suspensión de conidias en las aplicaciones en el campo con bombas de aspersión manual.

Evaluación en el campo

Previo a los bioensayos en el campo, se realizaron varios conteos de preaplicación de picudos del complejo de *Amphidees* spp. en trampas de cartón corrugado de 15 cm de ancho colocado en la base de los árboles de manzano a 30 cm del suelo, para determinar el momento de aplicar los bioinsecticidas y el número de insectos del complejo *Amphidees* spp. presentes en los árboles. Se consideró los factores ambientales que este insecto requiere para su mejor desarrollo, que son una temperatura de 24 ± 4 °C y una HR de $80 \pm 10\%$ (Alatorre 2000), por lo que se optó por aplicar los bioinsecticidas en el transcurso de los meses de junio-septiembre, cuando el insecto alcanzaría sus mayores poblaciones. No se aplicó *Bb* en los períodos críticos de diciembre-febrero por las temperaturas bajas (-4 a -10 °C) que se presentan y que no son propicias para el desarrollo del hongo. Además, se incluyó un testigo comercial de *Bb* (BeaSin[®]) y un testigo absoluto (agua).

Se seleccionaron 90 árboles de manzano de la variedad Golden Delicious de patrón semienano de 12 años de edad. Para cada tratamiento, las formulaciones de *Bb* SAA-1 y HCA-2 con citrolina, líquida y en polvo, se usaron a concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml, con 5 repeticiones, tomando cada árbol de manzano como una repetición. Después de aplicar los productos se realizaron muestreos de post-aplicación a los 4, 7, 15, 22, 28 y 36 días, registrando en estos conteos el número de individuos vivos para establecer la eficacia de los productos.

En el análisis de los datos obtenidos se utilizó la fórmula de Henderson y Tilton (1955) para corregir los datos respecto al testigo y establecer el porcentaje de eficiencia de cada tratamiento, dado que en el campo la población del insecto puede aumentar o decrecer por arriba de la plaga según su biología y comportamiento, lo cual hace variar los datos respecto a la actividad del entomopatógeno en evaluación:

$$E = (1 - Td/Cd \times Ca/Ta) \times 100$$

Donde:

Td = número de insectos recolectados después del tratamiento.

Ta = número de insectos recolectados antes del tratamiento.

Cd = número de insectos después de la aplicación en el testigo.

Ca = número de insectos recolectados antes de la aplicación en el testigo.

E = porcentaje de supervivencia.

Los datos se analizaron mediante un diseño de bloques al azar (ANOVA) y prueba de medias por diferencia mínima significativa (DMS) en un paquete de diseños experimentales de cómputo para determinar los mejores tratamientos (Olivares 1994).

Resultados y discusión

Se realizaron muestreos previos a la aplicación de los tratamientos *Bb* sobre el complejo de picudos de la yema del manzano en bandas de cartón corrugado de las dos huertas de manzano bajo estudio, encontrándose al día 15 de junio el mayor número de picudos en los testigos, los que se mantuvieron constantes a través del estudio siendo esta la fecha de aplicación de las cepas de *Bb* en sus diversas formulaciones (Fig. 1). Durante esas fechas las condiciones de humedad y temperatura fueron favorables para la aplicación del patógeno.

Se observó una disminución de la población en los días 4, 7 y 15 en todos los tratamientos (Cuadro 1), aunque en los testigos también se tiene una disminución de picudos en los días 7 y 15; a partir del día 22 en adelante los testigos se mantuvieron constantes en cuanto al número de picudos. Se observó que la cepa con menos población fue la SAA-1 y que la formulación más eficiente fue la de citrolina para ambas cepas, ya que se encontró una disminución de adultos en comparación al resto de los tratamientos.

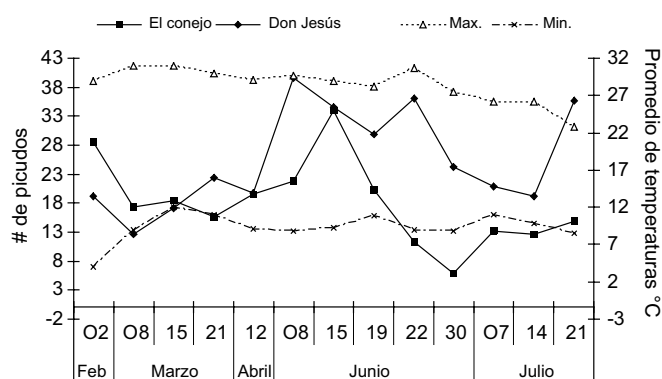


Figura 1. Fluctuación de poblaciones de *Amphi-dees* spp. con relación a la aplicación de *Beauveria bassiana* (Vuill.) y temperaturas diarias durante los muestreos.

Para las diferentes fechas de postaplicación de los tratamientos, en la huerta El Conejo se obtuvieron porcentajes negativos mediante la fórmula de Henderson y Milton (Cuadro 2), lo que refleja un incremento de adultos superior a los testigos. Estos datos indican que la cepa SAA-1 muestra mayor patogenicidad que la cepa HCA-2, dado que esta última presentó un incremento de la población de picudos durante casi todas las fechas de muestreo. La formulación de conidios de *Bb* con citrolina a la concentración de 1×10^{13} mostró porcentajes de control superiores a los demás tratamientos, aunque también las formulaciones con polvo de la cepa SAA-1 controlaron en alguna medida los picudos.

Cuadro 1. Promedio de adultos de *Amphi-dees* spp. por tratamiento con formulaciones en citrolina, líquido y polvo de *Beauveria bassiana* (*Bb*) en La Huerta el Conejo en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila

Tratamientos	Preaplicación	Postaplicación (días)					
		4	7	15	22	29	36
Testigo	34,0	20,4	11,4	5,8	13,2	12,6	14,8
<i>Bb</i> comercial	25,4	17,8	8,0	3,6	14,4	7,4	9,0
SAA-1							
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	38,2	18,8	11,2	9,6	10,4	9,6	16,2
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	43,0	23,8	5,2	7,0	9,6	9,4	13,8
<i>Bb</i> ¹² + polvo	40,8	21,4	7,8	9,4	15,2	8,4	14,4
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	40,6	20,8	8,6	9,6	11,6	10,0	10,4
<i>Bb</i> ¹² + líquido	43,2	15,0	13,0	11,4	12,8	10,2	14,6
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	28,4	16,8	13,4	11,0	13,0	9,8	12,0
HCA-2							
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	42,0	23,6	10,2	13,0	18,6	13,2	13,8
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	37,8	22,8	6,8	9,6	8,0	9,0	11,4
<i>Bb</i> ¹² + polvo	60,2	16,0	13,2	15,4	25,8	19,4	23,8
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	24,0	19,4	7,0	8,8	15,4	11,0	18,6
<i>Bb</i> ¹² + líquido	55,0	31,2	21,2	21,4	31,4	25,4	34,8
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	40,6	26,2	14,2	22,8	22,8	14,4	23,0

Nota: Muestreo de pre-aplicación y aplicación de tratamientos (15 de junio del 2002). *Bb*¹² = 1×10^{12} conidios/ml; *Bb*¹³ = 1×10^{13} conidios/ml.

Cuadro 2. Eficacia de formulaciones con *Beauveria bassiana* (Vuill.) sobre adultos de *Amphidees* spp. en la huerta El Conejo en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila

Tratamientos	Postaplicación (días)					
	4	7	15	22	29	36
<i>Bb</i> comercial	-16,80	6,06	16,92	46,03	21,39	18,60
SAA-1						
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	17,98	12,57	-47,32	29,88	32,19	2,58
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	7,75	63,93	4,57	42,50	41,01	26,27
<i>Bb</i> ¹² + polvo	13,01	42,98	-35,06	4,04	44,44	18,92
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	15,03	36,83	-38,61	26,41	33,54	41,15
<i>Bb</i> ¹² + líquido	42,13	10,25	-54,69	23,68	36,29	22,36
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	1,41	-40,72	-107,02	-17,90	6,89	2,93
HCA-2						
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	6,35	27,57	-81,45	-14,07	15,19	24,52
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	-0,53	46,35	-48,88	45,49	35,75	30,72
<i>Bb</i> ¹² + polvo	55,92	34,71	-49,96	-10,39	13,04	9,18
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	-34,06	13,01	-114,94	-65,28	-23,68	-78,04
<i>Bb</i> ¹² + líquido	5,46	-14,96	-128,09	-47,05	-24,62	-45,36
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	-7,55	-4,31	-229,20	-44,65	4,29	-30,14

Nota: datos transformados por la fórmula de Henderson y Tilton (1955); *Bb*¹² = 1 x 10¹² conidias/ml; *Bb*¹³ = 1 x 10¹³ conidias/ml.

Cuadro 3. Media de adultos de *Amphidees* spp. por fecha de muestreo con formulaciones de *Beauveria bassiana* (Vuill.) y un orgánico en la huerta Don Jesús, en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila

Tratamientos	Preaplicación	Postaplicación (días)					
		4	7	15	22	29	36
Testigo	34,6	29,8	36,0	24,2	20,8	19,2	35,6
<i>Bb</i> comercial	5,8	12,0	19,6	13,0	18,4	12,2	15,0
SAA-1							
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	76,0	46,0	34,8	21,8	22,4	11,0	30,4
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	77,6	29,4	34,6	18,6	26,2	18,4	41,6
<i>Bb</i> ¹² + polvo	38,6	46,8	46,4	27,2	19,8	14,6	36,2
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	55,8	40,4	38,0	19,0	19,6	21,0	34,6
<i>Bb</i> ¹² + líquido	74,4	54,0	51,4	39,4	24,6	13,8	34,6
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	43,4	36,6	23,0	15,4	20,0	15,2	29,6
HCA-2							
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	15,0	17,0	9,8	17,4	13,2	15,0	21,2
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	18,0	19,4	16,6	12,8	18,2	19,8	35,8
<i>Bb</i> ¹² + polvo	9,4	20,4	18,6	12,2	10,4	14,2	18,6
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	12,4	23,4	18,2	11,0	14,6	13,4	24,6
<i>Bb</i> ¹² + líquido	19,6	8,6	9,4	19,8	11,0	9,4	16,6
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	16,8	14,0	10,2	13,4	9,4	8,0	15,2

Nota: *Bb*¹² = 1 x 10¹² conidias/ml; *Bb*¹³ = 1 x 10¹³ conidias/ml.

En cuanto al número promedio de adultos del complejo de *Amphidees* spp. en los diferentes tratamientos en la aplicación a la huerta Don Jesús en las diferentes fechas, el testigo tuvo un mejor comportamiento que en la huerta El Conejo al no haber diferencia durante los 36 días de estudio. En cuanto al número de individuos en los formulados con citrolina, en la cepa SAA-1 hubo una mayor eficacia de control en los picudos observados al final del estudio en comparación con el número inicial de individuos.

En cuanto al porcentaje de eficiencia en el campo de los formulados de *Bb* (Cuadro 4), para la huerta de Don Jesús en varios tratamientos se observan datos negativos, lo que indica incrementos en la población de insectos superiores a la del testigo. Los formulados más eficaces fueron los de citrolina durante los 36 días de observación en la cepa SAA-1, con ambas concentraciones, obteniéndose en el último muestreo un 61,1 y 47,9% de eficacia, respectivamente, seguido del formulado líquido, donde se obtuvo una buena actividad

Cuadro 4. Porcentaje de eficacia de formulaciones con *Beauveria bassiana* (Vuill.) sobre adultos de *Amphidees* spp. en la huerta Don Jesús en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila

Tratamientos	Postaplicación (días)					
	4	7	15	22	29	36
<i>Bb</i> comercial	-140,22	-224,79	-220,46	-427,72	-279,06	-151,36
SAA-1						
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	29,73	55,99	58,99	50,97	73,91	61,12
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	56,02	57,15	65,73	43,84	57,27	47,90
<i>Bb</i> ¹² + polvo	-40,78	-15,53	-0,75	14,67	31,84	8,85
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	15,94	34,55	51,32	41,57	-552,48	39,74
<i>Bb</i> ¹² + líquido	15,73	33,60	24,29	44,10	66,57	54,80
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	2,09	49,07	49,27	23,34	36,89	33,71
HCA-2						
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	-31,59	37,21	-65,85	-46,39	-80,21	-37,36
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	-25,14	11,36	-1,67	-68,19	-98,23	-93,30
<i>Bb</i> ¹² + polvo	-151,98	-90,18	-85,56	84,04	-172,23	-92,31
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	-119,11	-41,07	-26,83	-95,86	94,74	-92,81
<i>Bb</i> ¹² + líquido	49,06	53,91	-44,43	6,64	13,57	17,69
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	3,25	41,65	-14,04	6,93	14,19	12,07

Notas: datos transformados por la fórmula de Henderson y Tilton (1955). $Bb^{12} = 1 \times 10^{12}$ conidias/ml; $Bb^{13} = 1 \times 10^{13}$ conidias/ml.

en ambas cepas, aunque mayor en la SAA-1, siendo a su vez muy superior al formulado con polvo. Además, en general se observa mayor patogenicidad de la cepa SAA-1 con respecto a la cepa HCA-2. Por otro lado, se encontró que el producto comercial de *Bb* (BeaSin[®]) fue poco eficaz, lo cual puede deberse a que la cepa empleada para su producción no fue aislada de este insecto, al contrario de los aislados nativos de *Bb*.

Las medias generales del porcentaje de eficacia de los diferentes tratamientos evaluados sobre picudos de la yema del manzano en las dos huertas de manzano de San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila (Cuadro 5) muestran que para ambas huertas los mejores tratamientos fueron los de la cepa nativa SAA-1 de *Bb* formulada con citrolina a las concentraciones de 1×10^{13} conidias/ml, donde se encontró un 32,71 y 57,92% de eficacia, respectivamente. En las demás aplicaciones y formulaciones de *Bb* sobre el complejo de *Amphidees* spp. la eficacia fue variable y no concordante con la concentración de conidias, lo cual posiblemente se deba a la variación de la población entre especies de *Amphidees* por huerta y por árbol. Sin embargo, en la misma formulación con citrolina se encontró la mayor eficiencia de control de 58,10% a la concentración de 1×10^{12} conidias/ml en la huerta de Don Jesús. Esta eficiencia de control es superior a las reportadas por García et ál. (1998) sobre el complejo *Amphidees* spp., posiblemente debido a que estos autores emplearon conidias sin formular,

Cuadro 5. Análisis estadístico del porcentaje de eficacia de los formulados de *Beauveria bassiana* (Vuill.) utilizados en dos huertas de manzano contra el complejo de *Amphidees* spp. en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila, México

Tratamiento	% de eficacia por huerta			
	El Conejo		Don Jesús	
	Media	*	Media	*
Bio-Crack [®]	5,53	abcd	2,09	abcd
<i>Bb</i> comercial	16,80	ab	-205,40	e
SAA-1	12,29	abc	58,10	a
<i>Bb</i> ¹² + citrolina				
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina	32,72	a	57,93	a
<i>Bb</i> ¹² + polvo	18,45	ab	5,27	abcd
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	22,13	ab	-44,80	cd
<i>Bb</i> ¹² + líquido	17,60	ab	44,91	ab
<i>Bb</i> ¹³ + Líquido	-18,00	bcde	33,96	abc
<i>Bb</i> ¹² + citrolina	2,87	abcde	-29,88	bcd
HCA-2	20,96	ab	-36,74	bcd
<i>Bb</i> ¹³ + citrolina				
<i>Bb</i> ¹² + polvo	16,10	abc	-71,26	d
<i>Bb</i> ¹³ + polvo	-39,85	e	-38,36	cd
<i>Bb</i> ¹² + líquido	-28,52	cde	16,57	abc
<i>Bb</i> ¹³ + líquido	-38,71	de	11,55	abc

Notas: * Valores seguidos de la misma letra se consideran estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de medias por DMS ($P \leq 0,05$). $Bb^{12} = 1 \times 10^{12}$ conidias/ml; $Bb^{13} = 1 \times 10^{13}$ conidias/ml.

lo cual posiblemente redujo su supervivencia en el medio ambiente. Por otro lado, estos resultados concuerdan con lo reportado para formulados en aceites por Pereira y Donald (1991) y Bateman et ál. (1993),

quienes citan una mayor eficiencia de control de formulaciones de entomopatógenos al usar suspensiones de conidias con citrolina, lo cual señalan se atribuye a que se mantiene la viabilidad de las conidias. Los formulados en polvo en la huerta El Conejo y líquidos en la huerta de Don Jesús son estadísticamente iguales ($P > 0,05$), y aunque son menos eficaces sí son viables (Alatorre 2000, Hernández y Lezama 2000).

Hubo diferencias en la eficacia de control de los picudos entre las concentraciones de los formulados empleados, lo que podría deberse a la concentración de conidias viables en atención a las condiciones externas del medio ambiente, tal como lo señalan Burgos et ál. (1998) y Alatorre (2000).

Agradecimientos

Al Dr. Alfonso Pámanes Guerrero, por su valiosa colaboración en la revisión, comentarios de este trabajo; a Edgar Quintero Cadena, Francisco Bautista Cristóbal y Adrián Sánchez Rodríguez por su colaboración y apoyo para realizar este trabajo.

Literatura citada

- Alatorre, RR. 2000. Hongos entomopatógenos. Curso Nacional de Control Biológico (11, México). Guanajuato, MX, Sociedad Mexicana de Control Biológico. p. 123-134.
- Barnett, GJ; Hunter, BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4 ed. Estados Unidos, MacMillan Publishing Company. 218 p.
- Bateman, MRP; Moore, CD; Prior, C. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviridae* in oil formulations to desert locust at low humidities. *Ann. Appl. Biol.* 122:145-152.
- Burgos, CW; González, IJS; Hernández, VI; Jiménez, ZJ; Mánica R; Ma. L. 1998. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Moniliales:Moniliaceae), para el control de la broca del grano del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). *In* Congreso Nacional de Control Biológico (21, Río Bravo, Tamaulipas, MX). Memoria. México. p. 247-248.
- García, MM; Sánchez, PSR; Quechulpa, MF; Castelán, IC. 1998. Aplicación en laboratorio y campo de hongos entomopatógenos contra el picudo de la yema del manzano *Crocidema* sp. (Coleoptera:Curculionidae). *In* Congreso Nacional de Control Biológico (21, Río Bravo, Tamaulipas, MX). Memoria. México. p. 252-254.
- Henderson, FC; Tilton, EW. 1955. Test with acaricides against the brown wheat mite. *J. Econ. Entomol.* 48(2):157-161.
- Hernández, VVM; Lezama, GR. 2000. Formulación y aplicación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* para el control de *Schistocerca piceifrons* en México. *In* Congreso Nacional de Control Biológico (23, Guanajuato, MX). Memoria. México. p. 194-196.
- _____. 2001. Formulación y control de calidad de hongos entomopatógenos. Memorias de Entrenamiento en Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos. Tecoman, Colima, MX, Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, DGSV-SAGAR. p. 21-26.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 2001. Anuario estadístico: Coahuila de Zaragoza. México, INEGI. p. 331-349.
- Jiménez, MJA. 1996. Evaluación en campo de mezclas de insecticidas para el control del picudo de la yema del manzano *Anametis granulatus* Say. de la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, MX, UAAAN. 43 p.
- Lezcano, BJA. 2000. Biología de *Amphidees latifrons* (Sharp) y susceptibilidad de larvas a insecticidas (Coleoptera: Curculionidae) en la Sierra de Arteaga. Tesis de Maestría. Saltillo, Coahuila, MX, UAAAN. 111 p.
- Olayo, PRP; Gallegos, MG; Guerrero, RE; Sánchez, VVM. 2002. Evaluación de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (Vuill.) SOBRE *Amphidees* spp. (Coleoptera: Curculionidae) de Arteaga, Coahuila. *In* Congreso Nacional de Control Biológico (25, Hermosillo, Sonora, MX). Memorias. México. p. 193-195.
- Olivares, SE. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Nuevo León, MX, Facultad de Agronomía UANL.
- Pereira, RM; Donald, WR. 1991. Alginate and cornstarch mycelial formulations of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Econ. Entomol.* 84(6):1657-1661.
- Rosas, GNM; Arévalo, NK; Medrano, RH; Galán, WLJ; Luna, OHA; Morales, RLH. 2001. Spray – dried encapsulated *Beauveria bassiana* formulations using biodegradable polymers. *Southwestern Entomologist* 26(3):259-267.
- Sánchez, PSR; Quechulpa, MF; García, MM. 2001. Natural enemies of the apple bud weevil (Coleoptera: Curculionidae), an apple pest in Coahuila, Mexico. *J. Entomol. Sci.* 36(2):211-213.
- Sánchez, VVM; Martínez, VRA; Sánchez, PF de J. 1992. Ecuaciones predictivas de daño en base a la densidad y tiempo de exposición de *Anametis* sp. (Coleoptera: Curculionidae) en manzano. *In* Congreso Nacional de Entomología (27, San Luis Potosí, MX). Memorias. p. 266-267.
- Sawicka, EM; Couch, TL. 1983. Formulations of entomopathogens. *In* Kaneko, TM; Akesson, NB. eds. Pesticide Formulations and Application Systems: Third Symposium, ASTM STP 828. Philadelphia. US, American Society for Testing and Materials. p. 5-11.
- Tafoya, RG; Gallegos, MG; Olayo, PRP; Cepeda, SM. 1999. Efecto de dos cofactores de crecimiento sobre el contenido de conidias producidas por *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., en un sistema tradicional sólido de producción bifásica. *In* Congreso Nacional de Control Biológico (22, Colegio de Postgraduados Montecillos, Edo. de México, MX). Memorias. p. 208-210.
- Velázquez, DNJ; Guerrero, RE; Sánchez, VVM; Aguirre, ULA. 2002. Biología y comportamiento de *Oestrophasia* sp. parasitoide del picudo de la yema del manzano *Amphidees* spp. *Entomología Mexicana* 1:289-291.