



BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

UNIDAD REGIONAL ACATZINGO

Evaluación de cal viva y *Beauveria bassiana* para el manejo del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) en condiciones de laboratorio.

TESIS

**REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADO EN
INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

PRESENTA

HELDER CASTILLO VICTORIA

ASESOR DE TESIS

DR. AGUSTÍN ARAGÓN GARCÍA

MARZO 2014



**C. HELDER CASTILLO VICTORIA
PASANTE
LICENCIATURA EN INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PRESENTE:**

Oficio No. FIQ/AC/279/2014

Asunto: Modificación de Registro de Tema de Tesis

Fecha: 18 de Febrero de 2014

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial cuyo título es el siguiente:

“EVALUACIÓN DE CAL VIVA Y *BEAUVERIA BASSIANA* PARA EL MANEJO DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) EN CONDICIONES DE LABORATORIO”

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTE
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA**

Director de Tesis: Dr. Agustín Aragón García

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO.**

ATENTAMENTE

“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”

M.I.C. MA. GPE. TITA VÁZQUEZ E. DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADÉMICA

C.c.p. Director de Tesis: Dr. Agustín Aragón García
Archivo.



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA

LIC. Ma. Cristina Laura Gómez Aguirre.
Directora de la Administración Escolar
De la BUAP.
Presente

ASUNTO:
AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESIS

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería Agroindustrial

Helder Castillo Victoria

Quién presenta como tema de tesis:

Evaluación de cal viva y *Beauveria bassiana* para el manejo del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) en condiciones de laboratorio.

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

“Pensar Bien, para Vivir Mejor”

H. Puebla de Z., a 21 de Febrero de 2013

Director de Tesis
Dr. Agustín Aragón García

DEDICATORIAS

A TI PAPA

J. Felipe Castillo Vélez

Por ser una persona trabajadora y de gran ejemplo hacia mí, que cada día que pasa a pesar de los años trabajas para darnos lo necesario a tus hijos gracias por tus palabras siempre las tengo presentes “**Hijo eres riata que no se revienta**”, **¡Échale ganas!** Gracias papa por esas palabras sencillas que me motivaron a seguir eres una gran persona te quiero mucho.

A TI MAMA

M. Evelia Victoria López

Con lágrimas te escribo estas palabras por tu amor incondicional de madre por preocuparte por mí, por animarme y escucharme a ti te dedico en especial este esfuerzo mi Carrera Profesional, te amo mama, eres una gran Señora que luchas a diario por nosotros “Tus hijos”, por tus consejos y con buenos ejemplos a seguir, por confiar en mí para poder lograr una gran meta en mi vida.

A USTEDES HERMANOS

Gildardo, Osbelia, Elbi, Cucherto, Marlen, Yair, Suyorsy, Mis gemelas Mireyli y Yeyli y a ti la más pequeña Yoneri, por su paciencia y el apoyo enorme que me han brindado en toda mi vida los quiero mucho.

MI NOVIA

M. Carmen Candía Zavaleta

Por ser la mujer que Amo, por estar a mi lado en toda la trayectoria de mi carrera profesional por todos aquellos momentos que me comprendiste y animaste a salir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme alcanzar una meta en esta trayectoria de mi vida, por ayudarme a superar aquellos obstáculos y por levantarme de todas aquellas caídas, por darme la fuerza necesaria, paciencia y Fe en este largo caminar.

Dr. Agustín Aragón García a quien agradezco sinceramente por el apoyo que me ha brindado desde el planteamiento, desarrollo y conclusión de mi proyecto de tesis por sus enseñanzas, tiempo y dedicación en la revisión del manuscrito y las observaciones realizadas para el mejoramiento de la misma así como el mejoramiento de mi formación profesional, le agradezco su apoyo y la oportunidad de trabajar con usted y que haya aceptado ser asesor de mi proyecto de investigación.

Dr. Hector Bernal Mendoza, por sus valiosas aportaciones realizadas en este proyecto de investigación que contribuyeron en el mejoramiento de la misma, así como en mi formación profesional y por haber aceptado ser parte de mi comité tutorial.

M.C. Raymundo Hernández Loma, por el apoyo brindado en la unidad regional Acatzingo durante mi formación académica y por sus aportaciones en este proyecto de investigación y por haber aceptado ser parte de mi comité tutorial.

Dr. Betzabeth Cecilia Pérez Torres, por el apoyo brindado en este trabajo por sus consejos y tiempo brindado en el mejoramiento de mi proyecto de tesis y por darme ánimos durante el desarrollo de la investigación.

Dr. Martha D. Bibbis Martínez, por darme la oportunidad de realizar parte de este trabajo en Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA-IPN) de Tepetitla, Tlaxcala.

M.C. Berenice Nava, por el apoyo brindado a este proyecto de investigación en las pruebas de Cal y *Beauveria* sp., por su tiempo y atención brindados en mi formación profesional.

Unidad Regional de Acatzingo de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por el apoyo durante mi formación profesional.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA-IPN de Tepetitla, Tlaxcala, por permitirme realizar una estancia en la experimentación de las pruebas de compatibilidad de este proyecto de investigación.

A mis cuates del Laboratorio, Gerardo, Rafa, Poncho, Emanuel, Marinthia Viridiana, Janet y Lupita, por su apoyo en el establecimiento de la unidad experimental de la tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
III. ANTECEDENTES	4
3.1 Importancia del maíz	4
3.2 El grano de maíz <i>Zea mays</i>	5
3.2.1 Morfología y taxonomía del grano de maíz	5
3.3 Almacenamiento del maíz	7
3.4 Plagas del maíz almacenado	11
3.4.1 Gorgojo de maíz (<i>Sitophilus zeamais</i>)	11
3.4.1.1 Clasificación taxonómica del Gorgojo de maíz (<i>Sitophilus zeamais</i>)	11
3.4.1.2 Biología y ciclo de vida	11
3.4.2 Palomilla de los graneros (<i>Sitotroga cerealella</i>)	13
3.4.3 Roedores	13
3.5 Métodos de control de plagas del maíz	14
3.5.1 Control biológico-	14
3.5.1.1 Hongos Entomopatógenos	14
3.5.1.2 Clasificación taxonómica del hongo Entomopatógeno de <i>Beauveria bassiana</i> .	15
3.5.1.3 Características de <i>Beauveria bassiana</i>	15
3.5.1.4 Mecanismos de acción de <i>Beauveria bassiana</i>	16
3.5.2 Prácticas tradicionales-	17
3.5.2.1 Los extractos vegetales en el control de plagas	18
3.5.2.2 Cal viva (como material inerte)	19
3.5.3 Control químico.	20
IV JUSTIFICACIÓN	21
V OBJETIVOS E HIPÓTESIS	22
5.1 Objetivo general	22
5.2 Objetivos específicos	22
5.3 Hipótesis	23
VI METODOLOGÍA	24

6.1	Lugar de la experimentación	24
6.2	Cría de gorgojos	24
6.3	Evaluación en laboratorio	25
6.3.1	Origen de las cepas	25
6.3.2.	Propagación de la Cepa Bb.09	25
6.3.3.	Determinación de la concentración de esporas	26
6.3.4	Propagación Masiva del hongo	26
6.4	Pruebas de compatibilidad	29
6.4.1	Pruebas de compatibilidad en microcultivo	30
6.5	Viabilidad de <i>Beauveria bassiana</i>	30
6.6	Formulado de Esporas	32
6.7	Tratamientos para los ensayos contra <i>Sitophilus zeamais</i>	32
6.8	Diseño experimental	33
6.9	Establecimiento del experimento	34
6.10	Variables a evaluar	35
6.11	Análisis estadístico	36
VII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
7.1	Compatibilidad de esporas de <i>Beauveria bassiana</i> en presencia de cal	37
7.2	Evaluación de cal y <i>Beauveria bassiana</i> en (<i>Sitophilus zeamais</i>).	41
7.2.1	Mortandad de <i>Sitophilus zeamais</i> .	41
7.2.2	Emergencia de <i>Sitophilus zeamais</i> .	42
7.2.3	Porcentaje de pérdida de peso	43
VIII	CONCLUSION	45
IX	RECOMENDACIONES	46
X	LITERATURA CITADA	47

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Tratamientos utilizados para el control de <i>Sitophilus Zeamais</i> .	33
2	Crecimiento de compatibilidad de <i>B. bassiana</i> con cal viva	37
3	Crecimiento de compatibilidad de <i>B. bassiana</i> con cal viva	38
4	Crecimiento de compatibilidad de <i>B. bassiana</i> con cal viva más Aceite y diatomita.	40
5	Porcentaje promedio de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> bajo diferentes tratamientos en condiciones controladas de temperatura y humedad.	42
6	Porcentaje promedio de emergencia de <i>Sitophilus zeamais</i> bajo diferentes tratamientos en condiciones controladas de temperatura y humedad	43
7	Pérdida en peso por de <i>Sitophilus zeamais</i> al maíz almacenado a los 81 días de establecer el experimento bajo diferentes tratamientos, en condiciones controladas de temperatura y humedad	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Estructura del grano de maíz (tomada de Hosney y Faubion 1992)	7
2	Propagación en placas de Agar dextrosa Papa el hongo Bb.09	26
3	Arroz hidratado escurriendo	27
4	Bolsas de arroz con 200 g. selladas con mechero	27
5	Recuperación de espora colocada en solución de tween al 1 %	28
6	Inoculación de 10 ml de espora Bb.09 en Bolsas de arroz.	28
7	Charolas con arroz incubado a 30°C.	29
8	Microcultivo en placa con PDA para viabilidad de Formulado	30
9	Determinación de la Viabilidad de cal y esporas de <i>B. bassiana</i> en placas de PDA, a) cal más 0.03 g de <i>B. bassiana</i> , b) cal más 0.04 g de <i>B. bassiana</i> .	31
10	Formulado Final para aplicar a bioensayos.	32
11	Distribución de los tratamientos en las unidades experimentales	34
12	Crecimiento en placa del segundo ensayo en la aplicación 2 a los 10 días de su inoculación.	38
13	Microcultivo del ensayo 2 de la 4 aplicación cubriendo la mayor parte de la superficie de PDA.	39

RESUMEN

La agricultura en México, al igual que en cualquier parte del mundo enfrenta una batalla constante e intensiva contra las plagas que provocan cada año pérdidas de almacenamiento. El uso de pesticidas cada vez más potentes y tóxicos a través principalmente de fumigantes ha provocado resistencia en los insectos e irremediables daños al ambiente, sin embargo, los problemas causados por su mal uso han obligado a buscar nuevas alternativas de control, que no sean residuales y que puedan ser elaborados por los mismos productores, sobre todo los de escasos recursos. Con la finalidad de proporcionar una alternativa de control de *Sitophilus zeamais* en el manejo postcosecha del maíz durante su almacenamiento, se experimentaron cal en combinación de *Beauveria bassiana* a diferentes concentraciones y un producto vegetal a base de *Argemone mexicana* en un diagrama de bloques al azar en 36 unidades experimentales, cada una con 100 g de maíz en condiciones de humedad y temperatura controladas.

La aplicación de cal viva y *B. bassiana* se realizó en una concentración del 2% de material inerte (cal), y una concentración de *B. bassiana* de; 10^6 : 10^8 : 10^9 esporas, así mismo, se aplicó el hongo con las mismas concentraciones de; 10^6 : 10^8 : 10^9 esporas sin cal, además se aplicó la cal al 2%, un producto vegetal *A. mexicana* (chicalote) al 2%, y un testigo haciendo un total de 9 tratamientos con cuatro repeticiones. Cada tratamiento se aplicó a las unidades experimentales espolvoreándolo homogéneamente con 100 g de maíz en vasos de vidrio, colocando 10 machos y 10 hembras adultos de *S. zeamais* y se cubrieron con una malla fina. Se colocaron en un cuarto de cría con temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de $70 \pm 10\%$.

Se evaluó la mortalidad a los 5, 10 y 15 días después de haber montado el experimento, así como el porcentaje de emergencia a los 60, 67, 74 y 81 días, y se evaluó el porcentaje de pérdida de peso en los granos.

El análisis de varianza reporto diferencia significativa ($p \leq 0.05$) para las tres evaluaciones de mortalidad de adultos donde se observa que en la lectura de mortalidad a los 5 días de iniciado el experimento los tratamientos que difieren significativamente son *B. bassiana* [10^9], cal más *B. bassiana* [10^8], cal, cal más *B. bassiana* [10^6], y cal más *B. bassiana* [10^9], este último tratamiento a los 10 días reporto el 100% de *S. zeamais*.

Los tratamientos donde se observaron diferencias significativa en la emergencia fueron *B. bassiana* [10^6] con 56.3 % y el testigo con 91.8% los cuales hubo una mayor emergencia de adultos de *S. zeamais*, los tratamientos donde se presento la menor emergencia y que fueron significativamente los más bajos de 0.3% en promedio respecto al testigo fue la cal viva, cal más *B. bassiana* [10^6] mientras que el tratamiento de cal más *B. bassiana* [10^9].reporto 0.0 % de emergencia.

La cal actúa matando a los gorgojos al estar en contacto con ellos, lo que ocasiona que los daños a los granos fueran bajos del 2,9% con respecto al testigo, en donde los daños fueron del 14.8%, reportándose diferencias significativas importantes entre ellos, con este estudio se confirma que es factible la utilización de la cal viva como método tradicional en el combate del gorgojo del maíz *S. zeamais*.

I. INTRODUCCIÓN

Es una realidad considerar a México como un país en vías de desarrollo, no obstante en el área agropecuaria y más específicamente en el sector agrícola aún existe un atraso tecnológico bastante notorio, que no es debido a la falta de capacidad científica sino a la insuficiencia de recursos económicos para su implementación. La mayor parte de las unidades productivas agrarias son de tipo familiar, minifundistas por la dimensión de sus predios y cultivan tradicionalmente granos básicos (Acosta-Reveles, 2010). La agricultura en México, al igual que en cualquier parte del mundo enfrenta una batalla constante e intensiva contra las plagas y enfermedades, las cuales provocan cada año enormes pérdidas, esto a pesar del uso de pesticidas cada vez más potentes y tóxicos. La situación ha provocado que plagas como las insectiles, organismos en buena parte responsables de estas mermas y con una impresionante habilidad de supervivencia. (Cuevas y Romero, 2006). Las pérdidas de granos almacenados por insectos pueden elevarse hasta el 30% (Lindblad y Druben, 1981); llegando en ocasiones a alcanzar el 80%, sobre todo en aquellas zonas rurales más alejadas de los focos de desarrollo (Lagunes, 2001). Los métodos de control utilizados son de naturalezas muy diversas, encontrándose alternativas como el control físico, químico y biológico, entre otros. Hasta la fecha el control de estas plagas se lleva a cabo mediante el empleo de químicos a través principalmente de fumigantes, sin embargo, los problemas causados por el mal uso de estos han obligado a buscar nuevas alternativas de control, como es el uso de la cal y *Beauveria bassiana* en almacenamiento de maíz como nuevo producto que tiene beneficios no tóxico que además, es benéfico para el sistema óseo por su contenido de calcio para el consumidor. El gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*, es considerado una de las plagas más importantes de productos almacenados. De tal manera los agricultores han combatido a los insectos y aceptan el hecho de que éstos consumen y destruyen cierta cantidad de sus semillas principalmente en su almacenamiento ya sean para comercialización, alimentación o siembra para la próxima temporada siendo razones primordiales poder controlar esta plaga por medio de este nuevo

producto con dosis adecuadas, que tenga buenas características y aceptabilidad para el agricultor mexicano.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los granos almacenados constituyen un sistema complejo. Esto se debe a que se producen una serie de interacciones entre luz, temperatura, humedad y agentes bióticos (insectos y hongos). Después de la cosecha los cereales pueden ser atacados por numerosos insectos y los daños que estos causan pueden ser directos e indirectos (Larrain, 1994). El mismo autor cita que este problema es importante para los agricultores de subsistencia, ya que el maíz almacenado es parte de los alimentos básicos consumidos durante el año. Para los agricultores, el uso de insecticidas órgano sintéticos para el control de plagas no es una alternativa factible, dado su elevado costo y la baja rentabilidad de sus cultivos. Entre el 30 y 40% de la producción de maíz en América Latina, se pierde durante el almacenamiento (Lagunes 1994(a)). Para minimizar estas pérdidas, normalmente se utilizan insecticidas químicos sintéticos, pero con frecuencia conducen a problemas de resistencia en los insectos, contaminación del ambiente y presencia de residuos en alimentos. Además, con cierta frecuencia el uso de insecticidas convencionales en áreas rurales implica un riesgo elevado debido al desconocimiento sobre su uso adecuado (Obeng-Ofori & Amiteye, 2005). Debido a esto, y al interés creciente de protección del ambiente, es necesario investigar alternativas de control económicas y de bajo riesgo. En los países en desarrollo hay alternativas para proteger los granos del ataque de insectos en el almacenaje (Páez *et al.*, 1990). Sin embargo, los problemas causados por el mal uso de los insecticidas sintéticos han obligado a buscar nuevas alternativas de control, como es el uso de productos naturales como cal viva en combinación con *Beauveria Bassiana*, generalmente biodegradables y no producen un desequilibrio en el ecosistema.

III. ANTECEDENTES

3.1 IMPORTANCIA DEL MAÍZ

El cultivo del maíz tuvo su origen en América Central, especialmente en México. La evidencia más antigua de la existencia del maíz, de unos 7 000 años de antigüedad, ha sido encontrada por arqueólogos en el Valle de Tehuacán (México) pero es posible que hubiese otros centros secundarios de origen en América (Mac Neish, 1967). El cultivo del maíz es uno de los más importantes en México, tanto desde el punto de vista alimentario, industrial, político y social. La superficie cosechada en el año 2006 fue de 13,7 millones de hectáreas, de las cuales el 90% es de maíz blanco, principalmente destinado al consumo humano (Peinado-Guevara 2010) Es el cereal más ampliamente distribuido a nivel mundial y ocupa la tercera posición en cuanto a producción total, detrás del arroz y del trigo.

El almidón extraído del maíz es de gran pureza, cerca del 25% se comercializa como tal y más del 75% se convierte en edulcorantes y productos de fermentación como el jarabe de maíz con alto contenido de fructosa y etanol. A partir del germen se elabora el aceite de maíz que ocupa el 9% de la producción mundial de aceite vegetal. Aunque es una fuente importante de energía la población mundial consume poco maíz en grano o maíz procesado directamente, si se compara con el consumo de ingredientes alimenticios que tiene como base el maíz. El consumo animal, en los países desarrollados, es el principal uso del maíz, destinándose a la producción de piensos para vacunos, porcinos y avicultura. Por su alto contenido de almidón y baja presencia de fibra el maíz es de fácil consumo por el ganado, constituyéndose en una de las fuentes de energía más concentradas, con alto contenido de nutrientes digeribles totales en relación con otros piensos de grano (Monsanto Agricultura España, 2002).

3.2 EL GRANO DE MAÍZ *Zea mays*

3.2.1 Morfología y taxonomía del grano de maíz tomada de (Anónimo, 2008) es la siguiente.

Reino: Plantae
División: Magnolophyta
Clase: Lillopsida
Subclase: Commelinidae
Orden: Poales
Familia: Poaceae (Gramineae)
Subfamilia: Panicoideae
Tribu: Andropogonaeae
Género: *Zea*
Especie: *Zea mays*

Botánicamente, el maíz (*Zea mays*) pertenece a la familia de las gramíneas y es una planta anual alta dotada de un amplio sistema radicular fibroso. El maíz es una planta de porte robusto y de hábito anual; el tallo es simple, erecto, de elevada longitud alcanzando alturas de uno a cinco m, con pocos macollos o ramificaciones, su aspecto recuerda al de una caña de azúcar por la presencia de nudos y entrenudos y su médula esponjosa. Las hojas nacen en los nudos de manera alterna a lo largo del tallo; se encuentran abrazadas al tallo mediante la vaina que envuelve el entrenudo y cubre la yema floral, de tamaño y ancho variable. Las raíces primarias son fibrosas presentando además raíces adventicias, que nacen en los primeros nudos por encima de la superficie del suelo, ambas tienen la misión de mantener a la planta erecta (Jugenheimer, 1988).

Es una planta monoica de flores unisexuales, que presenta flores masculinas y femeninas bien diferenciadas en la misma planta: la inflorescencia masculina es terminal, se conoce como panícula (o espiga) consta de un eje central o raquis y ramas laterales; a lo largo del eje central se distribuyen los pares de espiguillas de forma polística y en las ramas con arreglo dístico y cada espiguilla está protegida por dos brácteas o glumas, que a su vez contienen en forma apareada las flores estaminadas; en cada florecilla componente de la panícula hay tres estambres donde se desarrollan los granos de polen. La coloración de la panícula está en función de la

tonalidad de las glumas y anteras, que pueden ser de coloración verde, amarilla, rojiza o morada. Las inflorescencias femeninas (mazorcas) se localizan en las yemas axilares de las hojas, son espigas de forma cilíndrica que consisten de un raquis central u olote donde se insertan las espiguillas por pares, cada espiguilla con dos flores pistiladas una fértil y otra abortiva, estas flores se arreglan en hileras paralelas, las flores pistiladas tienen un ovario único con un pedicelo unido al raquis, un estilo muy largo con propiedades estigmáticas donde germina el polen. La inflorescencia femenina (mazorca) puede formar alrededor de 400 a 1000 granos arreglados en promedio de ocho a 24 hileras por mazorca; todo esto encerrado en numerosas brácteas o vainas de las hojas (totomoxtle), los estilos largos saliendo de la punta del raquis como una masa de hilo sedoso se conocen como pelo de elote; el jilote es el elote tierno. Por las características mencionadas, el maíz es una planta de polinización abierta (anemófila) propensa al cruzamiento, la gran mayoría de los granos de polen viajan de 100 a 1000 m (Reyes, 1990; Jugenheimer, 1988).

En la mazorca cada grano o semilla es un fruto independiente llamado cariósipide que está insertado en el raquis cilíndrico u olote; la cantidad de grano producido por mazorca está limitada por el número de granos por hilera y de hileras por mazorca. Como cualquier otro cereal, las estructuras que constituyen el grano del maíz (pericarpio, endospermo y embrión) le confieren propiedades físicas y químicas (color, textura, tamaño, etc.) que han sido importantes en la selección del grano como alimento. Hoy en día su cultivo está muy difundido por todo el resto de países y en especial en toda Europa donde ocupa una posición muy elevada. En América, Estados Unidos es el principal país que destaca por su alta producción en el cultivo de maíz. El maíz es el cereal más cultivado en el mundo, en la fig. 1, se observa las partes que constituyen el grano de maíz.

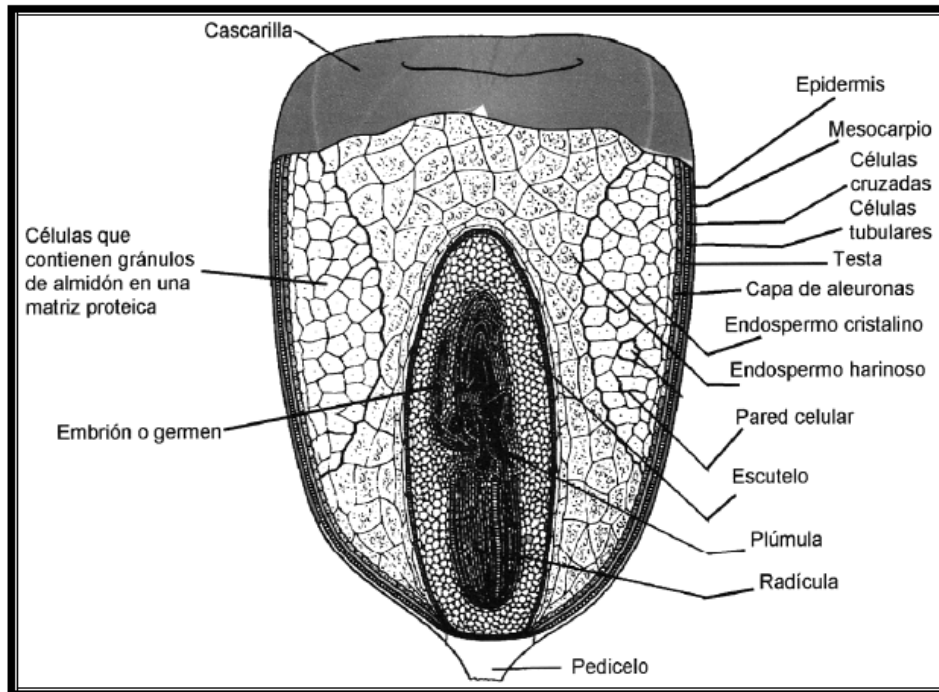


Fig. 1 Estructura del grano de maíz (tomada de Hosenev y Faubion 1992)

3.3. ALMACENAMIENTO DEL MAÍZ

Básicamente, la conservación de un producto de esta naturaleza depende de la disponibilidad de grano o de semilla en buena condición, es decir, sano, limpio y seco, y de la facilidad de tener una troje, bodega, almacén o silo, que mantenga las condiciones de grano almacenado y lo proteja de los factores adversos, durante un corto o largo periodo de almacenamiento. Algunos sistemas de almacenamiento rustico les permiten conservar estos productos por cortos periodos, unos seis meses.

El almacenamiento de granos y semillas en las zonas rurales es efectuado en bodegas y trojes rústicas que los agricultores utilizan para guardar los granos, por lo general no están construidas o adaptadas para conservar dicho material por periodos de tiempo prolongados y comúnmente lo hacen por periodos menores de un año.

La forma y estructura de las trojes o almacenes rústicos reviste una gran variedad, tanto en volumen de almacenamiento como en los materiales que se emplean para

construirlos. Los hay de madera, de carrizo y lodo, de zacate, de carrizo y enjarre de lodo, de paja, de varas y lodo, bambú, de barro, y de tipo criba hechos de madera y tela de alambre. Es común encontrarlos en cada región varios tipos de trojes rústicas que los agricultores emplean para guardar sus granos, sobre todo los destinados a usos alimenticios (Ramírez 1984).

El almacenamiento rustico como en cualquier otro sistema de conservación, debe ser siempre complementado con las prácticas adecuadas del manejo de granos tales como: grano limpio y seco, combate sistemático de plagas, hongos y roedores, y la constante vigilancia y limpieza de la bodega. Aunque cabe destacar que estas prácticas tradicionales efectuadas en zonas rurales cada vez más están desapareciendo debido a un alto uso de insecticidas químicos que abundan en el mercado ofreciendo mejores resultados en el control de estas plagas pero sin embargo los efectos residuales al aplicarlos son mucho mayores en la resistencia de éstos o el daño a la salud del consumidor final.

Para garantizar la disponibilidad de granos y semillas en la cantidad y calidad requeridas, es necesario recurrir a su almacenamiento y conservación. El almacenamiento se refiere a concentrar la producción en lugares estratégicamente seleccionados; en tanto que la conservación implica proporcionar a los productos almacenados las condiciones necesarias para que no sufran daños por la acción de plagas, enfermedades o del ambiente, evitando mermas en su peso, reducciones en su calidad o en casos extremos la pérdida total.

El maíz cubre más de la mitad de la superficie cultivada del país. Del total cultivado, sólo el 14% se realiza bajo riego, en las áreas de mejores tierras, alta utilización de insumos industriales, altos rendimientos y destino comercial. El resto, 86% corresponde a áreas de temporal, fundamentalmente a cargo de pequeños agricultores, que cultivan sobre todo para el autoconsumo, en sistemas donde se combinan técnicas prehispánicas, coloniales y modernas, aplicando algunos insumos industriales. Las mayores superficies sembradas con maíz se encuentran en la zona

sub-húmeda tropical y en la templada húmeda y subhúmeda (Kato, *et al.*, 2009). En el caso del maíz, las plagas de almacén causan pérdidas de rendimiento, disminución del valor comercial, pérdidas de calidad en el grano y del valor nutritivo del mismo. Esto, de manera directa, reduce los ingresos del agricultor y su familia y pone en riesgo su seguridad alimentaria (García-Lara *et al.*, 2007).

El almacenamiento inapropiado de grano de maíz constituye una fuente ideal de alimento para los insectos; la magnitud de las poblaciones depende de varios factores: variaciones de la estación de crecimiento, práctica de cultivo, competencia inter e intra-específica, enfermedades y abundancia de los insectos depredadores y parásitos. Los insectos adaptados a este tipo de hábitat (granos almacenados) generalmente son pequeños y altamente reproductivos (Ortega, 1987).

La agroindustria genera demanda para los productos agrícolas y tiene un enorme potencial para el empleo rural agrícola por consiguiente la conservación eficaz del maíz, al igual que la de otros cereales y leguminosas alimenticias, se basa esencialmente en las condiciones ecológicas reinantes durante el almacenamiento, en las características físicas, químicas y biológicas del grano, en la duración del almacenamiento, y por último, en el tipo y características funcionales del local de almacenamiento incluyendo la integración de los procesos de producción, transformación y comercialización de los productos primarios agrícolas como el Maíz este nuevo producto formulado de Cal y *Beauveria bassiana* ayudara a conservar la producción primaria en postcosecha del Maíz a través de su almacenamiento añadiendo un valor agregado, reduciendo pérdidas y tener una transformación e industrialización de este cereal hasta un consumidor final.

Los factores de importancia que influyen al respecto son de dos clases: en primer lugar, los de origen biótico, que comprenden todos los elementos o agentes vivos que encontrándose en condiciones favorables para su desarrollo- utilizarán el grano como fuente de elementos de nutrición y con ello ocasionarán su deterioro (Palafox-Caballero *et al.*, 2008), se trata fundamentalmente de insectos, microorganismos,

roedores y aves. En segundo lugar están los factores no bióticos, que comprenden la humedad relativa, la temperatura y el tiempo transcurrido. Las características físicas y bioquímicas del grano influyen en los efectos de dichos factores bióticos y no bióticos (García-Lara *et al.*, 2007). Se han detectado pérdidas de nutrientes en el maíz almacenado en condiciones deficientes (Quackenbush, 1963).

Independientemente del tipo de almacén o de recipiente que se utilice, el producto almacenado debe mantenerse fresco, seco y protegido de insectos, pájaros, hongos y roedores. En México, algunos de los métodos de almacenamiento de mayor uso son: Los sacos se hacen de yute, henequén, fibras locales y sintéticas. Son relativamente costosos, tienen poca duración, su manipulación es lenta y no proporcionan buena protección contra la humedad, insectos y roedores. Su rotura ocasiona pérdidas del producto almacenado y facilita la infestación por plagas. La protección de semillas constituye uno de los permanentes desafíos para los profesionales e investigadores que trabajan en la protección vegetal y aún más si no se cuenta con la herramienta más recurrida que son los insecticidas de origen sintético (Hernández y Carballo, 2007)

El hombre tiene que competir con el resto de los organismos por los productos alimenticios que le interesan para la conservación de la vida. Los granos y sus derivados constituyen una fuente de nutrición para todos los seres vivos y su disponibilidad, en un momento dado, significa la satisfacción de una necesidad (Ramírez, 1984).

3.4. PLAGAS DEL MAÍZ ALMACENADO

3.4.1. Gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky)

3.4.1.1. Clasificación taxonómica del Gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*)

La ubicación taxonómica de *S. zeamais* de acuerdo a Díaz (1985) es la siguiente:

Phylum: Artrópoda
Subphylum: Mandibulata
Clase: Insecta
Subclase: Pterygota
Orden: Coleoptera
Suborden: poliphaga
Superfamilia: Curculionoidea
Familia: Curculionidae
Subfamilia: Calendrinae
Género: *Sitophilus*
Especie: *Sitophilus zeamais*

El gorgojo del maíz es una plaga cosmopolita considerada plaga primaria del maíz, debido a que es capaz de dañar el grano sano, incluso antes de ser cosechado; una característica importante es que las larvas son las que causan más daño, debido a que comen y se desarrollan en el interior de los granos, transformándose posteriormente en pupas y luego en adultos (Pizarro, 2007). El gorgojo del maíz tiene la particularidad de atacar tanto en campo como en el almacén, pero se ha considerado que produce mayor daño económico cuando ataca los granos ya cosechados. El daño puede traducirse en muerte del embrión, pérdida de la germinación y disminución del contenido de proteínas, aceite y almidón, lo que va en perjuicio de su valor nutritivo. Además, el ataque de este insecto es una puerta de entrada a la infestación de plagas secundarias, como el complejo *Tribolium* y algunas enfermedades fungosas y bacterianas (Rees, 1996).

3.4.1.2. Biología y ciclo de vida

Los gorgojos adultos son de color café o casi negros, miden cerca de cuatro milímetros de largo; infestan el grano tanto en el campo como en el almacén, ya que pueden vivir de cuatro a cinco meses. Tanto las larvas como los adultos se alimentan del grano. La hembra adulta hace un hueco en el grano, deposita un solo huevo por

grano y lo cubre con un fluido gelatinoso. Durante su ciclo de vida una hembra puede depositar de 300 a 550 huevos, los cuales incuban en tres días y originan una larva blanca y suave de tres milímetros (Tinoco *et al.*, 2002).

El ciclo de vida de *S. zeamais* inicia cuando la hembra después de aparearse y localizar un grano, excava un hoyo por masticación y deposita un huevecillo, posteriormente secreta un mucílago que cubre a éste hasta llenar el compartimiento. Este mucílago que sostiene al huevecillo es la única evidencia del grano infestado. Los huevos pueden ser ovipositados en cualquier zona del grano, pero pocos son colocados a nivel del embrión. Usualmente se coloca más de un huevo por grano, pero es raro que más de una larva llegue a la madurez debido al canibalismo entre ellas. Esta especie presenta cuatro estadios larvales, los cuales se desarrollan dentro del grano y duran alrededor de 20 días. El huevo eclosiona después de 6 días e inmediatamente después de que la larva emerge, se inicia el primer instar y la larva consume el alimento que le rodea dentro del grano. Al final del cuarto instar la larva utiliza una mezcla de secreciones para desplazarse y cerrar la madriguera e iniciar la forma pupal. La larva entonces asume la forma de pre-pupa y en un período corto de tiempo se convierte en pupa. (Longstaff, 1981).

Cuando el adulto se ha desarrollado, este permanece en el grano por varios días antes de emerger. La extensión de este periodo depende de la temperatura. El ciclo de vida completo comprende de entre 36.3 y 40.3 días a 27 y 25°C respectivamente. La duración de la fase inmadura depende de las condiciones de temperatura y humedad. Se considera que el primer instar larval es el estado de mayor susceptibilidad. Durante los primeros instares larvales el consumo de oxígeno aumenta drásticamente (3 y 4 instar). Los requerimientos alimenticios durante estas etapas se resumen en amilo-pectinas, proteínas, lípidos y ciertas vitaminas. Durante la fase adulta los cambios en la temperatura fuera del intervalo de 15-30°C incrementa la mortalidad y la reducción en la humedad tiene el mismo efecto. Los adultos llegan a vivir hasta 30 semanas. La reproducción de estos insectos se considera que está en función de la densidad de población, es decir, del número de huevos que puede depositar una hembra durante su vida. La ovoposición depende

de factores ambientales entre las que se encuentran el sustrato, es decir, las características del grano, variaciones geográficas, densidad de población, competencia y presencia de parásitos (Longstaff, 1981).

La diferenciación del sexo de *S. zeamais* se basa en las características del pico. El macho presenta una prominente caprina media en el dorso del pico, se origina en la parte antero-frontal entre los ojos compuestos y se extiende casi hasta el ápice del pico, provocando que éste tenga una apariencia corta y gruesa y con numerosas puntuaciones prominentes que están dispersas aleatoriamente a todo lo largo. El pico de la hembra carece de caprina, es delgado y liso; las puntuaciones son menos numerosas, superficiales y se encuentran en pequeñas hendiduras. En general, el pico de la hembra no es rugoso como el del macho (Sánchez, 1991).

3.4.2. Palomilla de los graneros *Sitotroga cerealella*

Son pequeñas palomillas de color amarillo a grisáceo, que miden de 6 a 9 mm de longitud y cuya expansión alar es de 13-19 mm. Estos insectos pueden infestar los cultivos en el campo, pero es más frecuente encontrarlos en almacén. Atacan todo tipo de cereales, sobre todo maíz y trigo. La presencia de la palomilla se detecta fácilmente al mover las mazorcas o el grano almacenado. Las larvas perforan el grano y se alimentan en su interior. Las palomillas tienden a poner huevos parecidos a escamas en grupos, que cambian de blanco a rojo al acercarse la emergencia de la larva. La hembra pone un promedio de 150 huevos. Las larvas recién nacidas son diminutas y blancuzcas. Las larvas horadan los granos y completan su desarrollo en el interior, hasta la emergencia del adulto (García-Lara, *et al.*, 2007).

3.4.3. Roedores

Los roedores son plagas que causan problemas no sólo en los granos almacenados sino en la salud humana. Los roedores poseen filosos incisivos que crecen de 10 a 12 cm al año, y para desgastarlos necesitan roer constantemente. Esta característica los hace ser muy destructores. Existen tres especies de roedores: rata común (*Rattus norvegicus*), rata de techo (*Rattus rattus*) y rata de casa (*Mus musculus*). Es

una plaga con distribución cosmopolita. Cabe destacar que en muchas zonas el ataque de roedores constituye una plaga no insectil de gran importancia, presentando el índice de reproducción más alto entre los mamíferos. Son capaces de poblar completamente un cultivo partiendo de una baja población. Se sabe que se reproducen de 6 a 10 veces por año con un promedio de 8 crías por parto, las cuales, a su vez, alcanzan la madurez sexual a los tres o cuatro meses de edad, (García-Lara *et al.*, 2007). Ocasionalmente dañan tanto al grano que está en el campo como en bodega. Pueden consumir grandes cantidades de grano, sobre todo si las estructuras de almacenamiento no cuentan con protección.

3.5. MÉTODOS DE CONTROL DE PLAGAS DEL MAÍZ

3.5.1 Control biológico.

El enemigo natural del gorgojo es una avispa perteneciente a la familia Pteromalidae, Hymenoptera, que comúnmente se encuentra en el maíz almacenado, junto con la plaga. La avispa actúa localizando la galería que forma la larva del gorgojo hasta introducir su ovipositor en el pericarpio colocando sus huevecillos muy cerca de la larva del gorgojo. Al eclosionar la larva de la avispa va desarrollándose en el interior de su hospedero, emerge al día 14 y la larva del gorgojo muere (García-Lara, 2007). No se optó trabajar con este enemigo natural debido a que la cal y *Beauveria bassiana* tienen mayor facilidad de obtención y están al alcance del productor.

3.5.1.1 Hongos Entomopatógenos

Los hongos Entomopatógenos son reguladores naturales importantes de las poblaciones de insectos y han atraído la atención como agentes de control biológico para los insectos plaga (Clarkson y Charnley 1996). Los hongos entomopatógenos infectan individuos en todos los órdenes de insectos; la mayoría comúnmente son Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera y Orthoptera. En algunos órdenes de insectos los estados inmaduros (ninfas o larvas) son más a menudo

infectados que en los maduros o estado adulto, en otros puede suceder lo contrario. Los estados de huevo y pupa no son frecuentemente infectados por los hongos (Tanada y Kaya, 1993). Los hongos entomopatógenos constituyen actualmente una alternativa para el control de insectos plaga ya que constituyen un grupo de más de 750 especies (Pucheta *et al.*, 2006).

Sin embargo, su uso ha sido ilimitado por su baja eficiencia y el desconocimiento de los mecanismos de la patogénesis en insectos que puede ayudar el desarrollo de micoinsecticidas más eficientes. *Beauveria bassiana* es un patógeno fungicida bien conocido que infecta en una variedad de insectos plaga, incluyendo parásitos agrícolas y vectores patógenos de humanos, y se ha investigado profundamente como alternativa amigable del ambiente con respecto a los pesticidas químicos Zhang *et al.*, 2010).

3.5.1.2 Clasificación taxonómica del hongo Entomopatógeno de *Beauveria bassiana*.

La clasificación taxonómica de *B. bassiana* según Gallegos *et al.*, 2004, es:

Reino: Mycetae

División: Amastigomicotina

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Deutermycetes

Subclase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Beauveria*

Especie: *Beauveria bassiana*

3.5.1.3 Características de *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana es uno de los hongos entomopatógenos más usados a nivel mundial para el control de insectos plaga en la industria agrícola y forestal (Inglis *et al.*, 2001). El hongo *B. bassiana* está ampliamente distribuido en todas las regiones del mundo y puede ser aislado de insectos, ácaros y suelo, donde el hongo es parte

normal de la flora microbiana y otros sustratos (Alves *et al.*, 2002). La razón de esta preferencia reside en un amplio rango de acción cerca de 750 especies de insectos, así como el alto grado de conocimiento a nivel molecular entre la interacción hospedero-patógeno del desarrollo del sistema de producción de este hongo (Feng *et al.*, 1994). Este hongo, presenta un gran potencial como agente de control microbiano debido a su facilidad de producción masiva, mejor formulación, como una cepa patogénica específica a ciertos organismos blanco (Haraprasad *et al.*, 2001).

El hongo en cultivo puro, a una edad de 15 días, presenta un micelio de aspecto algodonoso de color blanco y tiene una esporulación abundante de color crema con textura de talco. El micelio se ramifica formando conidióforos simples e irregulares que terminan en vértices en forma de racimo, el conidióforo es abultado en su base, surgiendo un adelgazamiento en el área donde se insertan los conidios los cuales son globosos de 2.09 μ de largo 1.6 μ de ancho, estos se insertan sobre estigmas dispuestos en zigzag. La cantidad de conidios aumenta con el transcurso del tiempo, a los 12-15 días de edad la colonia presenta abundante esporulación de color crema; la temperatura óptima para su crecimiento micelial se encuentra: entre 10 y 30 °C, en cambio las esporas toleran variaciones a altas temperaturas hasta 98°C durante cinco horas continuas en atmósferas secas, pero a atmósferas húmedas y expuestas a 40 °C soportan solamente 24 horas, a bajas temperaturas no sufre reacción alguna. La temperatura óptima para su crecimiento y esporulación es de 28 °C (Alcocer, 1979). Este hongo se desarrolla adecuadamente en humedades relativas de 92.5% o más y a temperatura de 15 a 30 °C (Nava, 2006).

3.5.1.4. Mecanismos de acción de *Beauveria bassiana*

Las fases que desarrollan los hongos sobre sus hospedantes son: germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción. La unidad infectiva está constituido por las estructuras de reproducción asexual, es decir esporas (Monzón, 2001).

El proceso de infección se inicia cuando la espora por contacto se adhiere a la cutícula del insecto a través de mecanismos hidrofóbicos, luego se produce la germinación de la espora formándose un tubo germinativo y la penetración de las hifas al interior del cuerpo del insecto a través de la cutícula (Kamp y Bidochka, 2002). La cutícula del insecto es la primera barrera que el hongo debe traspasar. Los microambientes en la superficie de la cutícula son esenciales para la germinación de la espora, puesto que ahí se forman cavidades con alta humedad (Bidochka *et al.*, 2000; Talaei-hassanloui, *et al.*, 2006). En la penetración de las hifas participan dos mecanismos uno físico y otro químico, el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática principalmente por proteasas, lipasas y quitinasas. Las enzimas tienen un efecto específico sobre cada uno de los componentes de la cutícula, así la epicutícula o capa más externa, formada por lípidos (ácidos grasos y parafina) es desintegrada por lipasas y proteasas, la quitinasa desintegra la quitina, sustancia que confiere resistencia y dureza a la cutícula, facilitando la penetración física (Mata, 2008).

3.5.2 Prácticas tradicionales.

Para el gorgojo del maíz se recomienda aplicar mezclas de agentes protectores (cal, tierra de diatomea o tizate) entre capa y capa de grano, o vaciar los agentes y mezclarlos con el grano. El uso más sencillo de estos compuestos en la protección de granos almacenados es como polvos.

Otra alternativa es el uso de plantas como agentes repelentes: entre estos el epazote común, harina de chícharo, hojas de eucalipto, hojas del árbol Neem u hoja de maravilla los cuales pueden reducir hasta en un 25% la presencia del gorgojo, (García-Lara *et al.*, 2004). Las plantas son secadas, molidas, y se mezclan con el grano, lo que modifica el ecosistema de las plagas presentes en los granos almacenados (Weaver y Subramanyam, 2000).

3.5.2.1 Los extractos vegetales en el control de plagas

Los extractos vegetales son sustancias naturales de acción específica, activos a pequeñas dosis y con nula o baja toxicidad, por lo tanto no constituyen peligro de contaminación al ambiente, la resistencia se desarrolla más lentamente y son productos biodegradables (Rodríguez, 1999)

Este método es utilizado principalmente en los países menos desarrollados donde crecen localmente y representan un recurso renovable, accesible y económico que los insecticidas sintéticos; esta práctica se ha usado a través de generaciones y en la actualidad adquiere mayor importancia con el resurgimiento de la agricultura libre de residuos químicos como un elemento del control integrado de plagas (López-Olguín, 1998).

México es el país de origen del chicalote *Argemone mexicana* que se encuentra ampliamente distribuido en el territorio nacional y es considerado una maleza. También se le encuentra en los trópicos de todos los continentes. Además se le conoce como amapola montés, cardo, o cardo santo (Báez, R. I. 2010).

Es una planta herbácea, erecta, de un metro o menos de alto. Tallo verde-azulado y sin tricomas, con numerosas espinas firmes y punzantes. Las hojas son sésiles, alternas, de color verde-azuloso. Flores solitarias situadas sobre 2-3 brácteas muy similares a las hojas, posee 3 sépalos con espinas en el ápice y seis pétalos amarillos. El fruto es una cápsula con espinas contiene semillas redondas y negras. Raíz pivotante. Características especiales: látex amarillo-blancuzco (Carmona *et al.*; 2008).

En 1994 Lagunés, realizó pruebas de 430 plantas sobre diversas plagas y de estas, solo ocho resultaron prometedoras, estando entre ellas *A. mexicana* en la aplicación en polvo al 1.5% en mazorcas de maíz almacenado a nivel laboratorio sobre la mortalidad, infestación y pérdida de peso que ocasionan el gorgojo de maíz *S.*

zeamais, fue del 71% de mortalidad, 18.48% de infección y 5.27% de pérdida de peso (Aragón y López, 1994).

De Poll (1998) cita que *A. mexicana* se ha utilizado para el combate de plagas por insectos, debido a los compuestos tóxicos contenidos en la semilla, obteniendo un aceite para controlar la hormiga blanca y el barrenillo. El extracto acuoso de la planta es tóxico a altas concentraciones para *alternaria tenuis*, *Helminthosporium* sp., *D. koenigii*, *Spodoptera litura* (plagas de algodón), *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne javanica*.

(Cuevas y Romero, 2006) evaluaron la efectividad de diferentes especies vegetales y materiales diversos en diferentes formulaciones y dosis, destacan acción contra el gorgojo del maíz *S. zeamais* (Mots.), las plantas de chicalote *Argemone* sp. y valeriana *Valeriana officinalis* ambas provocando 98.9% de mortalidad, 0% de emergencias de la primera generación y 0% de daño al grano: se incluye también la ruda *Ruta graveolens* con 43.3%, 0% y 0%. Como material diverso la cal causó 100%, 0% y 0% respectivamente.

3.5.2.2 Cal Viva

Una de las practicas mayormente utilizadas para el control *S. zeamais*, en maíz almacenado es el uso de la cal viva, la materia prima utilizada en la elaboración es la piedra caliza, que es una roca sedimentaria compuesta mayoritariamente por carbonato de calcio (CaCO_3), generalmente calcita (Coloma, 2008).

Se forma óxido de calcio cuando el carbonato de calcio se quema en el aire. En gran escala se produce calentando caliza en grandes hornos de cal llamados también caleras. En la fabricación de la cal, la presión parcial del dióxido de carbono se mantiene inferior a la del equilibrio insuflando a través del horno una corriente de aire que arrastra el CO_2 y mantiene una atmósfera pobre en este gas, (Herrera, 2012).

El óxido de calcio reacciona violentamente con el agua, haciendo que ésta alcance los 90 °C. Se forma entonces hidróxido de calcio, también llamado cal apagada, o $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Este proceso es muy utilizado en la nixtamalización del maíz, debido a que la mayor parte del maíz cosechado es utilizado para autoconsumo del productor.

La utilización de la cal viva como método tradicional en el combate plagas, es utilizada en los graneros de maíz, donde el productor una vez cosechado tiende a almacenar el maíz ya sea en mazorca o en grano en cuartos donde aplica como tratamiento de cal viva, lo cual les permite que tengan un control de plagas como el gorgojo del maíz *S. zeamais*.

3.5.3 Control químico.

Control mediante insecticidas sintéticos, se puede obtener una buena conservación del grano almacenado mediante la aplicación de un insecticida preventivo y curativo al grano en movimiento o en el momento de transferir el grano de una celda a otra. Algunos de los agroquímicos actualmente en uso para el tratamiento de semilla.

El control de los insectos plaga del maíz ha sido realizado en larga escala con el uso de productos químicos, donde el expurgo con fosfato de aluminio, cuyo principio activo es la fosfina, es la técnica más empleada en el control de insectos que consumen el maíz, y que representa un grande riesgo para el almacenamiento, ya que existe gran número de reportes donde se muestra el desarrollo de resistencia a la fosfina por *S. zeamais* (De Sousa *et al*, 2006).

IV. JUSTIFICACIÓN

Los métodos de control utilizados son de naturalezas muy diversas, aunque el más utilizado en la actualidad son los métodos químicos. La protección de semillas constituye uno de los permanentes desafíos para los investigadores que trabajan en la protección vegetal y aún más si no se cuenta con la herramienta más recurrida, que son los insecticidas de origen sintético.

En la presente investigación, se busca poder brindar al productor nuevas alternativas accesibles, de fácil manejo para poder sustituir los métodos químicos utilizados durante el almacenamiento del maíz, que además de provocar daños a la salud del consumidor, causa daños irreparables al ambiente. El insecticida orgánico a base de cal y *B. bassiana* sería una alternativa de gran importancia debido a que tiene distintos beneficios como son: ayuda en el proceso de nixtamalización, así como su aportación de calcio para el desarrollo de huesos al consumir la tortilla. Por lo que se pretende generar un paquete tecnológico para el control de plagas que en un momento dado se pueda industrializar y poner a la venta de los productores.

V. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

5.1. OBJETIVO GENERAL:

Elaboración de insecticida biológico a base de *Beauveria bassiana*, combinado con cal viva para el control del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) en condiciones controladas de temperatura y humedad.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 5.2.1. Conocer la mortalidad del gorgojo del maíz al ser tratado con la aplicación de cal agrícola y *B. bassiana*, en condiciones controladas de temperatura y humedad.
- 5.2.2. Estimar la pérdida que le ocasiona el gorgojo, al maíz almacenado y tratado con cal agrícola y *B. bassiana* en cautiverio
- 5.2.3. Obtener el efecto de *Argemone mexicana*, cal y *B. bassiana* sobre *Sitophilus zeamais* en el maíz almacenado.
- 5.2.4. Determinar la viabilidad en la combinación de la cal agrícola y la cepa de *B. bassiana* 09 y Buscar la dosis más adecuada para disminuir los daños por el gorgojo del maíz.
- 5.2.5. Generar una propuesta para la elaboración de un producto Agroindustrial a base de cal y *B. bassiana* para el manejo postcosecha del maíz que pueda ser extensivo para que los productores lo elaboren.

5.3. HIPÓTESIS

Con la aplicación de al menos uno de los tratamientos a base de *B. bassiana*, cal viva y *A. mexicana* se logrará una mayor mortalidad del gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*, a una significancia de $p \leq 0.05$ y por ende se protegerá el grano del maíz de los daños por esta plaga.

VI. METODOLOGÍA

6.1 LUGAR DE LA EXPERIMENTACIÓN

El trabajo se realizó en el Laboratorio de entomología del Centro de Agroecología del instituto de Ciencias, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y las pruebas de viabilidad y obtención del formulado de hongo y cal viva se realizaron en el Centro de Investigación de Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional en Tlaxcala.

La piedra caliza obtenida se procesa en el municipio de Tecali de Herrera, Puebla, de la Empresa “**Oxical de Tecali S.A. de C.V.**” dedicada a la producción de **óxido de calcio**, especializada en cal viva de alta pureza, cuenta con una calidad total en el producto terminado.

6.2 CRÍA DE GORGOJOS

En el Laboratorio de entomología del Centro de Agroecología del instituto de Ciencias, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, se estableció una cría masiva de *Sitophilus zeamais*. Se recolectaron los insectos de graneros rústicos en noviembre del 2012, la cual se inició a partir de adultos (hembras y machos), para su reproducción se colocaron 300 individuos en 2 envases de plástico de 3 l de capacidad. El maíz empleado para el pie de cría fue de la variedad cacahuazintle, los envases fueron cubiertos con mallas finas para que se dé el intercambio de oxígeno y colocadas en un cuarto de cría con temperatura de 24 ± 1 °C y humedad relativa de 70 ± 10 %. Los insectos se dejaron por un periodo de 30 días, durante el cual se dio la reproducción entre macho-hembra, de esta forma se obtuvo la primera emergencia, para depurar la cría al cumplirse este periodo de tiempo se retiraron todos los insectos de los dos frascos, tamizándolos en una maya de #10, los insectos se tomaron con pinzas de aluminio flexibles los muertos se desechan al igual que los residuos de polvo o pedazos de grano, dejando solo organismos vivos en otro

recipiente con maíz, para continuar aumentando su reproducción. El maíz infestado con huevecillos y larvas se mantuvo hasta lograr una población de aproximadamente 1200 individuos de recién emergencia que fueron los utilizados para las pruebas biológicas.

6.3 EVALUACIÓN EN LABORATORIO

El trabajo de las pruebas de viabilidad de cal viva y el hong entomopatógeno *B. bassiana* se realizó en el Centro de Investigación de Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional de Tlaxcala.

6.3.1 Origen de las cepas

Como material biológico, se utilizó la Cepa Bb.09 de *Beauveria* sp (conservado en silica gel) proporcionada por el Centro de Investigación de Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional de Tlaxcala. Para estos estudios el hongo se conservó en placas de medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) a 4°C.

6.3.2 Propagación de la Cepa Bb.09

Se preparó Medio de Cultivo Agar Dextrosa Papa (PDA) para la propagación de *Beauveria* sp. se homogenizaron 23.4 g de PDA (BIOXON®) en 600ml. de agua destilada (AD) en un frasco con capacidad de 1 L. se homogenizo y clareando en un horno de microondas durante 3 min. Fue esterilizado en autoclave a 121 lb de presión por 15 minutos. El medio fue vertido en una campana de flujo laminar y una vez gelificadas fueron incubadas en una estufa a 30 °C durante 24 h, para prueba de esterilidad. En las placas fueron colocados granos de silica gel cepa Bb.09 y incubadas a 30°C por 21 días. La propagación en placa del hongo Entomopatógeno *B. bassiana*, se realizó recuperando espora con un asa estéril de la placas con silica para obtener material biológico necesario para la propagación masiva. Se realizó propagación en una campana de flujo laminar desinfectada. Se tomó con el asa

bacteriológica flameando al rojo vivo con ayuda del mechero y enfriándola en AD, ya estéril se tomó esporas de Bb.09 colocándolo al centro de la caja Petri, para posteriormente ser expandido por toda la caja con la ayuda de un asa con punta en forma de triángulo Fig. 2. Este procedimiento fue para cada una de las placas en cada uso el asa se esterilizaba.

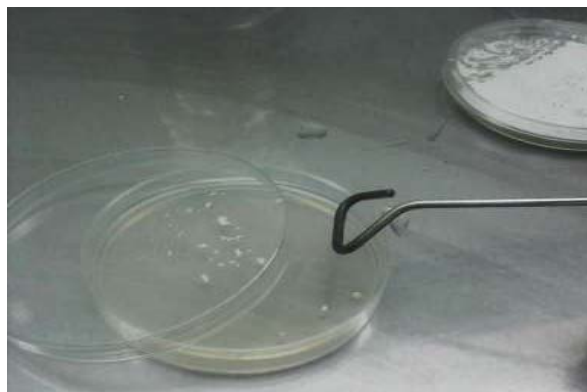


Fig. 2. Propagación en placas de Agar dextrosa Papa el hongo Bb.09

6.3.3 Determinación de la concentración de esporas

Para determinar el inóculo para la propagación masiva se realizó un conteo de esporas con la ayuda de una cámara de Neubauer haciendo diluciones seriadas de la solución al 0.01 % obteniendo una dilución de 2.3×10^9 para realizar la inoculación en las propagación masiva los cálculos se realizaron con la siguiente Formula.

Calculo de Esporas Bb.09 en Camara de Neubauer

$$X = 19 (10^{-2}) * 2500 = 4750 = 2.3 \times 10^8$$

6.3.4 Propagación masiva del hongo

La propagación masiva de hongo *Beauveria* sp. de la cepa Bb.09 se realizó en arroz como sustrato, se prepararon 10 bolsas de polipapel con 200 g de arroz en cada bolsa. La preparación del sustrato consistió en calentar 1500 ml de AD a una temperatura de 80 °C, al alcanzar esta temperatura se agregó el arroz, se dejó

enfriar y fue adicionado 0.005 g de antibiótico de amplio espectro con la finalidad de eliminar bacterias presentes y dejando reposar por 30 m, después de este tiempo el arroz hidratado se escurrió el agua del arroz en una coladera. Como se observa en la Fig. 3.



Fig. 3 Arroz hidratado escurriendo

Después de haber escurrido el arroz fueron colocados 200 g por bolsa de polipapel sellándola con un mechero. En la parte de abajo se hizo un pequeño orificio el cual fue cubierto con cinta, esto se hizo con la finalidad de que a través de este mismo se realice la inoculación de la espora, como se muestra en la Fig. 4. Posteriormente se esterilizaron las bolsas en autoclave a 121 lb durante 15 minutos, dejando enfriar a temperatura ambiente, las bolsas con arroz estéril se dejaron reposar por 24 horas.



Fig. 4 Bolsas de arroz con 200 g. selladas con mechero

Para la inoculación del arroz, en una campana de flujo laminar con un asa estéril se hizo la recuperación de espora de tres placas de Bb.09, colocándola en una solución de Tween y Agua al 1 % como se observa en la Fig. 5.



Fig. 5 Recuperación de espora colocada en solución de tween al 1 %

La suspensión se homogenizo totalmente aplicando un bortex por 1 m, posteriormente se inocularon las bolsas de arroz estériles con una suspensión de esporas a una concentración de 2.3×10^8 esporas/ml agregando con una pipeta 10 ml de la suspensión a cada bolsa, cubriendo todo el grano para tener una distribución homogénea de la suspensión del sustrato como se muestra en la Fig. 6.



Fig. 6 Inoculación de 10 ml de espora Bb.09 en Bolsas de arroz.

Las bolsas inoculadas se incubaron bajo condiciones controladas, temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa $80\pm 5\%$ y fotoperiodo de 12:12 hrs. Luz-oscuridad, por 20 días donde se observó esporulación abundante. Posteriormente se colocaron en charolas por dos días para eliminar el contenido de humedad y fueron incubadas a 30°C como se observa en la Fig. 7



Fig.7 Charolas con arroz incubado a 30°C .

Después de concluirse este periodo de tiempo se recuperó la espora tamizando el arroz con un tamiz en un bote totalmente estéril para evitar cualquier tipo de contaminación y fueron guardadas en un tubo falcón cubierto con aluminio a temperatura de 4°C .

6.4 PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD

Se realizaron pequeñas formulaciones para determinar las pruebas de compatibilidad en tres formulados; en el formulado 1 se tuvo una combinación de 1 g de cal y 0.02 g de esporas en peso de la cepa Bb26 y fueron colocados en un vial, en otro vial se colocó 1 g de cal y 0.06 g de espora en peso, y 1 g de cal en otro vial; formulado 2, en un vial se colocó 0.05 g de cal+0.03 g de espora Bb09, en otro vial se agregó el mismo peso de cal pero con 0.04 g de espora de la misma cepa Bb09, en otro vial

solo fue cal; en el tercer formulado se realizaron las siguientes combinaciones en 1 g de cal + 0.03 g de espora Bb09, 1 g de cal + 0.04 g de Bb09, 1 g de cal + 0.03 g de espora Bb09 + aceite, 1 g de cal + 0.04 g de espora Bb09 + aceite, 1 g de cal + 0.03 g de espora Bb09 + diatomita y cal como control.

6.4.1 Pruebas de compatibilidad en microcultivo

Para cada una de las combinaciones se realizaron pruebas de compatibilidad que consistió en preparar microcultivos: en una caja Petri se colocó un triángulo siendo el soporte para el porta objeto donde es colocado el medio PDA aproximadamente de 1 cm², previamente gelificado Fig. 8.

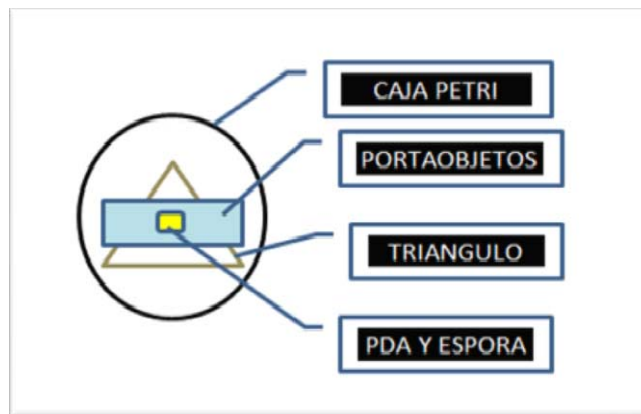


Fig. 8 Microcultivo en placa con PDA para viabilidad de Formulado.

En cada microcultivo se agregó cada formulación en una pequeña cantidad de manera espolvoreada posteriormente se incubaron a una temperatura de 30 °C dejándolos a que pudiera crecer la espora en el medio con las diferentes combinaciones.

6.5. VIABILIDAD DE *Beauveria bassiana*

Se realizó un ensayo preliminar para determinar la viabilidad de las esporas con la cal viva, de las combinaciones de cal más 0.03 g de *B. bassiana* y cal más 0.04 g de

B. bassiana en placas de PDA, se agregó cada formulación en una pequeña cantidad de manera espolvoreada en la superficie de la placa, posteriormente se incubaron a 30 °C, al día seis se revisaron las placas y comenzó a germinar el hongo, para el día 10 el hongo creció en la mayor parte de la superficie de la placa Fig. 9, en ambas formulaciones la viabilidad fue determinada con base al crecimiento germinativo de las esporas en la placa, considerando una cepa viable aquella que presentó más de 90% de esporas germinadas de acuerdo a la siguiente escala: (X) = 1 a 25%, (XX) = 26 a 50%, (XXX) = 51 a 75%, y (XXXX) = 76 a 100% de viabilidad de esporas de *Beauveria bassiana* en presencia de cal.

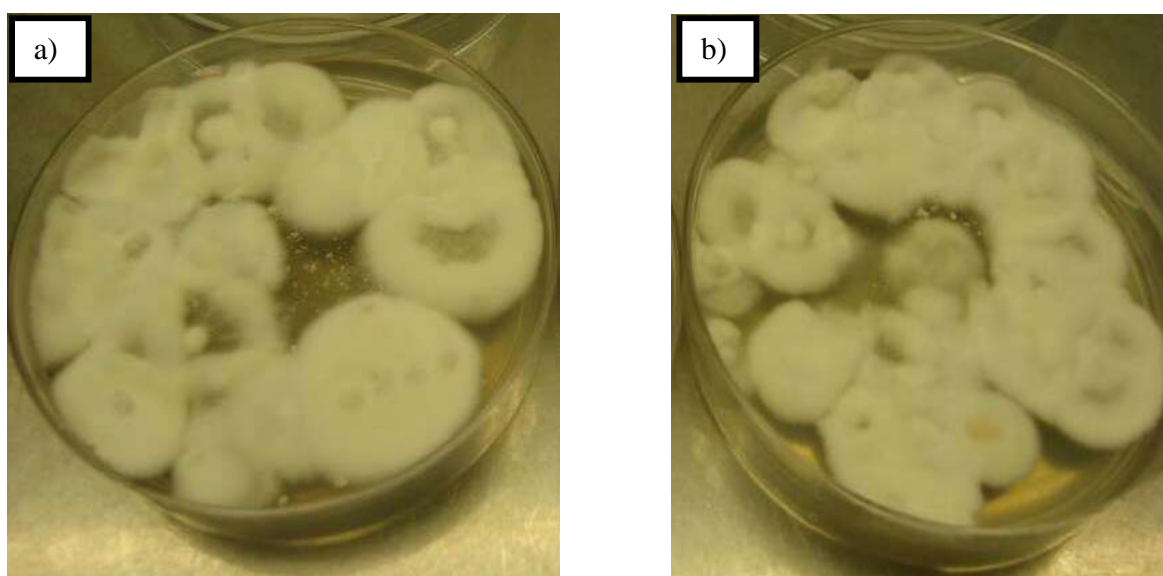


Fig. 9 Determinación de la Viabilidad de cal y esporas de *B. bassiana* en placas de PDA, a) cal más 0.03 g de *B. bassiana*, b) cal más 0.04 g de *B. bassiana*.

Para verificar que la viabilidad se mantuviera por un periodo de cinco meses se repitió esta prueba con el material obtenido, obteniendo una viabilidad del 90%, estos resultados muestran que la combinación de cal más *B. bassiana*, tienen un porcentaje de viabilidad favorable para su elaboración.

6.6 FORMULADO DE ESPORAS

Se agregó en 3 tubos falcón estériles 10 g de cal viva en cada uno, se pesó a diferentes concentraciones, 2 g de espora con una concentración de (10^9), 0.2 g de espora con una concentración de (10^8), 0.002 g de espora con una concentración de (10^6), cada concentración se agregó en cada tubo falcón con 10 g de cal viva, aplicando un bortex durante 1 m para una mejor homogenización. Para el tratamiento del hongo únicamente, este se pesó la espora con las mismas concentraciones, 2 g de espora con una concentración de (10^9), 0.2 g de espora con una concentración de (10^8), 0.002 g de espora con una concentración de (10^6), colocando cada concentración en tres viales estériles Fig.10.

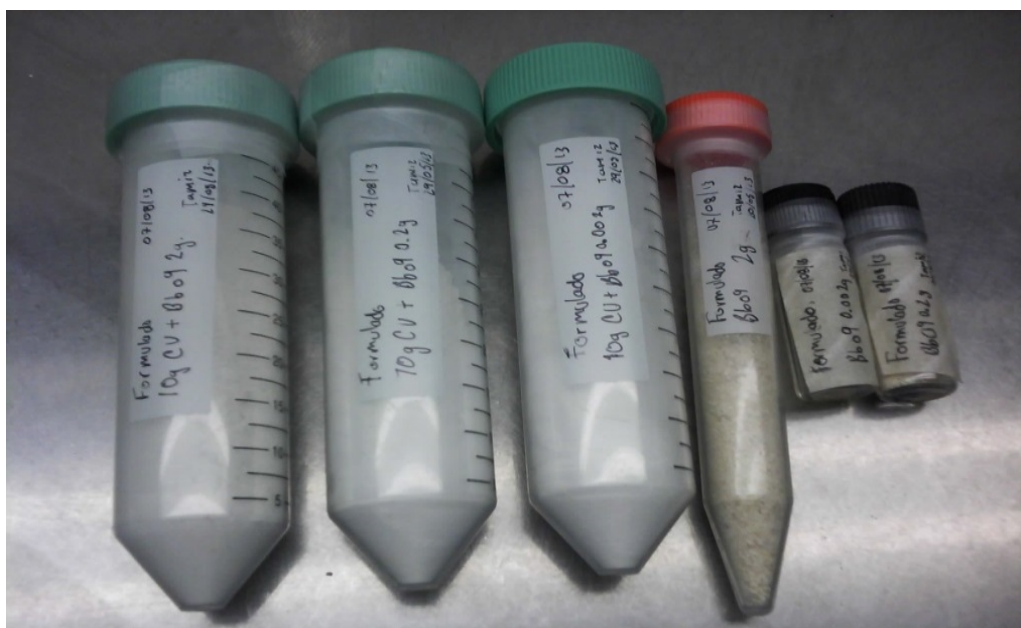


Fig. 10 Formulado Final para aplicar a bioensayos

6.7 TRATAMIENTOS PARA LOS ENSAYOS CONTRA *Sitophilus zeamais*

En el Cuadro 1, se presentan los tratamientos que se utilizaron para el combate de *S. zeamais* a nivel de laboratorio.

Cuadro 1. Tratamientos utilizados para el control de *Sitophilus zeamais*.

No. De Tratamiento	Tratamiento	Concentración (%)
1	cal viva + <i>B. bassiana</i>	2% (10^6)
2	cal viva + <i>B. bassiana</i>	2% (10^8)
3	cal viva + <i>B. bassiana</i>	2% (10^9)
4	<i>B. bassiana</i>	(10^6)
5	<i>B. bassiana</i>	(10^8)
6	<i>B. bassiana</i>	(10^9)
7	cal viva	2%
8	<i>A. mexicana</i>	2%
9	Testigo	0

6.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para evaluar el efecto de los tratamientos del cuadro 1 para el control de *S. zeamais* en granos de maíz, estos se probaron en un experimento bajo un diseño de bloques al azar con 4 repeticiones, por lo que se contó con 36 unidades experimentales, cada unidad experimental consistió de un vaso de vidrio, en el que se depositaron 100 g de maíz estéril, así como 10 hembras y 10 machos adultos de *S. zeamais* de recién emergencia. El maíz se esterilizó exponiéndolo a radiaciones en un microondas durante tres minutos. En la Fig. 11, se presenta el diagrama del diseño y los números de cada celda (unidad experimental), corresponden a los tratamientos mencionados en el Cuadro 1.

Bloques

I	9	6	7	5	4	2	1	8	3
II	6	7	2	4	9	3	5	1	8
III	5	8	3	1	7	6	4	2	9
IV	1	2	5	9	3	7	8	6	4

Fig.11 Distribución de los tratamientos en las unidades experimentales

6.9 ESTABLECIMIENTO DEL EXPERIMENTO

La aplicación del formulado de cal viva y *B. bassiana* se realizó en una concentración del 2% de material inerte (cal), y una concentración de *B. bassiana* de; 10^6 : 10^8 : 10^9 esporas, así mismo, se aplicó el hongo con las mismas concentraciones de; 10^6 : 10^8 : 10^9 esporas sin cal, además se aplicó la cal al 2%, un producto vegetal *A. mexicana* (chicalote) al 2%, y un testigo.

La aplicación de cada tratamiento se realizó de la siguiente forma; tratamiento 1: cal viva + Bb.09 [10^6], tratamiento 2: cal viva + Bb.09 [10^8], tratamiento 3: cal viva + Bb.09 [10^9], tratamiento 4: *B. bassiana* Bb.09 [10^6], tratamiento 5: *B. bassiana* Bb.09 [10^8], tratamiento 6: *B. bassiana* Bb.09 [10^9], tratamiento 7: *A. mexicana* (producto vegetal), tratamiento 8: cal viva, tratamiento 9: testigo.

Cada tratamiento se aplicó a las unidades experimentales espolvoreándolo homogéneamente con 100 g de maíz en vasos de vidrio, colocando 10 machos y 10 hembras adultos de *S. zeamais* y se cubrieron con una malla fina. Se colocaron en un cuarto de cría con temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de $70 \pm 10\%$.

6.10 VARIABLES A EVALUAR

6.10.1. Mortalidad de los adultos, para determinar este parámetro se realizó el conteo de adultos muertos, en tres lecturas durante los días 5, 10 y 15 después de haber establecido el experimento.

Para calcular el porcentaje de mortalidad se empleó la fórmula de Abbott (Lagunes, 1984).

$$MC = \frac{X-Y}{100-Y} (100)$$

Dónde: MC= Mortalidad corregida
X= Mortalidad en el tratamiento
Y= Mortalidad en el testigo

6.10.2. Número de adultos emergidos a partir de la primera generación, esto se evaluó a los 60, 67, 74 y 81 días después de haber establecido el experimento.

6.10.3. Pérdida de peso de acuerdo a la fórmula de coeficiente de daño expresada en porcentaje a partir del peso del maíz dañado y el maíz sano, reportada por (Judenko, 1973).

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \frac{PS-PD}{PS} (100)$$

Dónde: PS= Peso promedio de granos sanos
PD= Peso promedio de granos dañados

6.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se verificó la hipótesis de varianzas homogéneas mediante la prueba de Bartlett y se realizó el análisis de la varianza de acuerdo con el diseño experimental utilizado y la comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey (Steel and Torrie, 1960). Todos los cálculos y pruebas estadísticas se realizaron utilizando el software estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics, 2010) a un nivel de confianza del 95%.

VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 COMPATIBILIDAD DE ESPORAS DE *Beauveria bassiana* EN PRESENCIA DE CAL

Durante las pruebas de compatibilidad, se realizaron tres ensayos en el primero se realizó un formulado compuesto por tres tratamientos a) cal viva más 0.02 g de esporas de *B. bassiana*, b) cal viva más 0.06 g de esporas de *B. bassiana* y c) cal viva, los resultados del crecimiento bacteriano se presentan en el cuadro 2, en donde podemos observar que el crecimiento del hongo se dio a los 35 días de establecer el ensayo, esto pudo deberse a que a esa cantidad de esporas no hay compatibilidad de la cal viva con *B. bassiana*, ya que se inhibe su crecimiento por un periodo mayor al que esporula *B. bassiana*. Una formulación comercial debe de tener una germinación superior al 85% a las 24 horas de inoculación (Vélez *et al.* 1997). Su crecimiento y desarrollo están limitados principalmente por las condiciones ambientales externas en particular, alta humedad y temperatura adecuada para la esporulación y germinación de esporas. Las enfermedades son denominadas “micosis” (Tanada y Kaya 1993). El hongo que creció a los 35 días fue una contaminación de varias especies.

Cuadro 2. Crecimiento de compatibilidad de *B. bassiana* con cal viva

Tratamientos	Días después de la Aplicación				
	D1	D3	D16	D35	D38
cal + 0.02g <i>B. bassiana</i>	-	-	-	-	-
cal + 0.06g <i>B. bassiana</i>	-	-	-	X	X
cal viva	-	-	-	-	-

Nota: (-) No hay crecimiento de *B. bassiana*
(X) Hay crecimiento de *B. bassiana*

En el segundo ensayo se realizó un formulado compuesto por tres tratamientos en donde se incremento la dosis de *B. bassiana* siendo estos: a) cal viva más 0.03g de esporas de *B. bassiana*, b) cal viva más 0.04g de esporas de *B. bassiana* y c) cal viva, se realizaron cuatro aplicaciones; en la aplicación 1 y 2 se inoculo el formulado en placas de PDA en la aplicación 3 y 4 se inoculo el formulado en microcultivo

incubados en una estufa a 30 °C, los resultados del crecimiento bacteriano se presentan en el cuadro 3, en donde se observa que en la aplicación 1 el crecimiento de *B. bassiana* se dio a los 13 días de establecer el ensayo y para el día 19 y 22 se observó mayor crecimiento en toda la superficie de la placa, en la aplicación 2 se observó que el crecimiento de *B. bassiana* al día 7 fue mucho más rápido, en comparación a la primera aplicación, al día 10 creció en toda la superficie de la placa obsérvese en la Fig. 12, tiempo en el cual esporula este hongo, por lo tanto se considera que si es viable la cal viva con *B. bassiana* a una dosis de 0.03 g y 0.04 g en peso.



Fig. 12 Crecimiento en placa del segundo ensayo en la aplicación 2 a los 10 días de su inoculación.

Cuadro 3. Crecimiento de compatibilidad de *B. bassiana* con cal viva

Tratamientos	Aplicación 1			Aplicación 2		Aplicación 3		Aplicación 4	
	D13	D19	D22	D7	D10	D6	D9	D6	D*9
cal + 0.03g <i>B. bassiana</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X
cal + 0.04g <i>B. bassiana</i>	-	X	X	X	X	X	X	X	X
cal viva	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nota: (-) No hay crecimiento de *B. bassiana*
 (X) Hay crecimiento de *B. bassiana*

De la aplicación 3 y 4 se sembraron en microcultivo como se observa en la Fig. 13, esto con el fin de verificar si el hongo que creció fue *B. bassiana*, en el cuadro 3 se puede observar que el crecimiento en las dos aplicaciones 3 y 4 hubo un comportamiento igual en el periodo de germinación de la spora y se dio a partir del día seis después de que se sembró, con esto se confirma que si es compatible *B. bassiana* con la cal viva e incluso su desarrollo se dio a los 6 días de su siembra y al día 9 cubrió totalmente el agar donde fue inoculado, para verificar que la viabilidad se mantuviera por un periodo de cinco meses se repitió esta prueba con el material obtenido en el segundo ensayo, obteniendo resultados similares en las cuatro aplicaciones. Con esto podemos decir que si el producto sale al mercado su viabilidad se garantiza por un periodo de cinco meses, dado el tiempo dedicado a la tesis no fue posible repetir la prueba a los 10 meses para ver la vida de anaquel del producto.



Fig. 13 Microcultivo del ensayo 2 de la 4 aplicación cubriendo la mayor parte de la superficie de PDA.

En el tercer ensayo se realizó un formulado compuesto por cinco tratamientos siendo estos: a) cal viva, más 0.03 g de esporas de *B. bassiana*, b) cal viva, más 0.04 g de esporas de *B. bassiana*, c) cal viva, más aceite, más 0.03 g de esporas de *B.*

bassiana, d) cal viva, más aceite, más 0.04 g de esporas de *B. bassiana* y e) cal viva, más diatomita, más 0.03 g de esporas de *B. bassiana*. Se realizaron dos aplicaciones; en microcultivo los resultados del crecimiento bacteriano se presentan en el cuadro 4, en donde podemos observar que en la aplicación 1 el crecimiento de *B. bassiana* en la formulación con aceite se dio a los 7 días de establecer el ensayo con una germinación de la espora mucho más rápido en comparación de las demás combinaciones y para el día 10 se observó crecimiento en la combinación de cal más hongo y cal más diatomita más hongo, en la aplicación 2 se observó el crecimiento de *B. bassiana* al día 4 en las diferentes formulaciones del ensayo y para el día 7 creció totalmente en todos los microcultivos, en comparación a la primera aplicación se observó un crecimiento mucho más rápido.

La tercera aplicación se realizó a los dos meses de su elaboración del formulado al día seis crecieron las formulaciones de cal y diatomita más *B. bassiana* y en la formulación con aceite no hubo germinación de las esporas, al día 15 se mantuvo el mismo resultado debido a que la formulación con aceite dejó de ser viable a los 2 meses de su elaboración se observó un color amarillento en su combinación de cal más aceite y *B. bassiana*, en comparación de las otras formulaciones su composición se mantenía viable y con características aceptables a considerar.

Cuadro 4. Crecimiento de compatibilidad de *B. bassiana* con cal viva más aceite y diatomita.

Tratamientos	Aplicación 1			Aplicacion2			Aplicación 3		
	D1	D7	D10	D1	D4	D7	D1	D6	D*15
cal+0.03g <i>B. bassiana</i>	-	-	X	-	-	X	-	X	X
cal+0.04g <i>B. bassiana</i>	-	-	X	-	X	X	-	X	X
cal+0.03g <i>B. bassiana</i> +aceite	-	X	X	-	-	X	-	-	-
cal+0.04g <i>B. bassiana</i> +aceite	-	X	X	-	X	X	-	-	-
cal+0.03g <i>B. bassiana</i> +diatomita	-	-	X	-	X	X	-	X	X

Nota: (-) No hay crecimiento de *B. bassiana*
(X) Hay crecimiento de *B. bassiana*

De acuerdo a las pruebas de compatibilidad de las esporas de *Beauveria bassiana* en cal se pudo observar que en el formulado 2 se mantuvo una viabilidad de las esporas durante 5 meses a temperatura ambiente a diferencia del formulado 3 en la combinación con aceite que al transcurrir 2 meses tornó un color amarillento al color normal de la cal, en la tercera aplicación en microcultivo dejó de ser viable debido a que no hubo germinación de las esporas, por lo tanto la mejor combinación que se determinó durante las aplicaciones de los 3 ensayos formulados fue el ensayo 2 que mostró mejores resultados de viabilidad y germinación de las aplicaciones realizadas en placa y en microcultivo en la combinación de cal viva más *B. bassiana*, así como en el tercer ensayo la combinación de cal más diatomita y *B. bassiana* tuvo una buena viabilidad. Estos resultados indican que las esporas pueden ser formuladas en cal sin afectar su viabilidad y por consiguiente representa una nueva alternativa para ser aplicadas conjuntamente.

7.2 EVALUACION DE CAL Y *Beauveria bassiana* EN *Sitophilus zeamais*.

7.2.1 Mortalidad de *Sitophilus zeamais*.

El análisis de varianza reportó que la mortalidad de adultos de *S. zeamais*, evaluados a los 5, 10 y 15 días después de haber montado el experimento, mostró diferencia significativa en los tratamientos establecidos en las tres evaluaciones. Los promedios de mortalidad corregida se presentan en el cuadro 5, observando que los 5 días se presentan cuatro grupos de medias, siendo los tratamientos que mayor mortalidad ocasionaron, cal más *B. bassiana* [10^6] y cal con *B. bassiana* [10^9], con mortalidades de 90 y 98.7% respectivamente, presentando evidencias estadísticas importantes con respecto al testigo donde la mortalidad fue del 0%. Para la segunda evaluación se presentaron tres grupos de medias siendo los mejores tratamientos cal+*B. bassiana* [10^8], cal, cal+*B. bassiana* [10^6] y cal+ *B. bassiana* [10^9] donde las mortalidades fueron del 95 al 100%. Este mismo resultado se presentó a los 15 días de establecer el experimento. Estos datos concuerdan con lo reportado por Coloma (2008), quien cita que una de las prácticas utilizadas para el control *S. zeamais*, en

maíz almacenado es el uso de la cal viva, compuesta por carbonato de calcio. De acuerdo a las observaciones de este trabajo la cal actúa matando a los gorgojos al estar en contacto con ellos y muy probablemente se presente una obstrucción a nivel de los espiráculos, así mismo con la aplicación de *B. bassiana* [10⁶] y [10⁸] no se observó una mortalidad significativa con respecto al testigo, esto no concuerdo con lo reportado por Netzahual 2011, quien cita una mortalidad por *B. bassiana* del 70%, mientras que en este trabajo la mortalidad más alta con *B. bassiana* fue de 62.50% durante la tercera evaluación (15 días), esto probablemente pueda deberse a que en este trabajo se evaluó a los 5 10 y 15 días mientras que en el trabajo de Netzahual 2011 no especifican el tiempo de evaluación.

Cuadro 5. Porcentaje promedio de mortalidad de *Sitophilus zeamais* bajo diferentes tratamientos en condiciones controladas de temperatura y humedad.

Tratamientos	% de mortalidad + Error Estandar y significancia*		
	5 días	10 días	15 días
Testigo	0.0 ± 0.0 a	2.5 ± 2.5 a	5.0 ± 2.0 a
<i>B. bassiana</i> [10 ⁶]	6.2 ± 2.3 ab	15.0 ± 4.5 ab	21.2 ± 4.7 a
<i>B. bassiana</i> [10 ⁸]	8.7 ± 1.2 ab	25.0 ± 9.1 ab	31.2 ± 6.2 ab
<i>A. mexicana</i>	12.5 ± 3.2 b	52.5 ± 15.6 b	60.0 ± 12.2 bc
<i>B. bassiana</i> [10 ⁹]	12.5 ± 4.3 b	52.5 ± 13.4 b	62.5 ± 11.0 c
cal+ <i>B. bassiana</i> [10 ⁸]	77.5 ± 3.2 c	95.0 ± 2.8 c	95.0 ± 2.8 d
Cal	87.5 ± 4.3 cd	98.7 ± 1.2 c	98.7 ± 1.2 d
cal+ <i>B. bassiana</i> [10 ⁶]	90.0 ± 3.5 d	97.5 ± 2.5 c	98.7 ± 1.2 d
cal+ <i>B. bassiana</i> [10 ⁹]	98.7 ± 1.2 d	100.0 ± 0.0 c	100.0 ± 0.0 d

* Medias con la misma letra, no difieren significativamente. Prueba de Tukey (p ≤ 0.05)

7.2.2 Emergencia de *Sitophilus zeamais*.

Para la evaluación de la emergencia se realizaron cuatro lecturas, a los 60, 67, 74 y 81 días después de haber montado el experimento. El análisis de varianza detecto efecto significativo de los tratamientos sobre la emergencia de adultos en las cuatro lecturas. En el cuadro 6 se muestran los promedios de emergencia donde se observa que la primera lectura realizada a los 60 días hay diferencias significativas en las medias de los tratamientos presentándose tres grupos de medias.

Cuadro 6. Porcentaje promedio de emergencia de *Sitophilus zeamais* bajo diferentes tratamientos en condiciones controladas de temperatura y humedad.

Tratamientos	% de emergencia ± Error Estándar y significancia*			
	60 días	67 días	74 días	81 días
cal+B. bassiana [10 ⁹]	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a	0.0±0.0 a*
cal	0.3±0.3 a	0.3±0.3 a	0.3±0.3 a	0.3±0.3 a
cal+B. bassiana [10 ⁶]	0.3±0.3 a	0.3±0.3 a	0.3±0.3 a	0.3±0.3 a
cal+B. bassiana [10 ⁸]	0.7±0.7 a	0.7±0.7 a	0.7±0.7 a	1.0±1.0 ab
B. bassiana [10 ⁹]	9.8±5.6 a	13.3±5.7 ab	14.0±6.5 ab	17.9±5.9 bc
A. mexicana	14.4±5.9 ab	21.4±5.3 bc	23.2±6.6 bc	25.7±6.1 c
B. bassiana [10 ⁸]	28.5±4.6 bc	38.3±5.8 cd	41.5±5.4 cd	47.5±1.5 d
B. bassiana [10 ⁶]	36.2±4.0 c	46.4±1.8 de	51.7±3.1 de	56.3±1.9 d
Testigo	44.3±1.6 c	58.4±2.9 e	65.8±3.7 e	91.8±5.4 e

* Medias con la misma letra, no difieren significativamente. Prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

Los tratamientos donde se observó la mayor emergencia a los 60 días son: *B. bassiana* [10⁶] y el testigo con una emergencia de 36.2 a 44.3% respectivamente, siendo estadísticamente diferente (significativa de $p \leq 0.05$) al resto de los tratamientos. A los 81 días de haber establecido el experimento, los mejores tratamientos fueron cal+B. *bassiana* [10⁹], cal y cal+B. *bassiana* [10⁶] en donde la emergencia fue menor al 0.3%, esto se debe a que como en estos tratamientos se presentó la mayor mortalidad de gorgojos desde los primeros días de establecer el experimento, no hubo oviposición de huevos y por lo tanto no se presentó desarrollo de organismos, lo que confirma que la cal es el mejor tratamiento para evitar la presencia de *S. zeamais*. La aplicación de *A. mexicana* contribuye a la protección del grano, ya que evita la emergencia considerablemente siendo estadísticamente ($p \leq 0.05$) menor a la del testigo este dato concuerda con lo reportado por Aragón y López, 1994 quienes citan que *A. mexicana* en la aplicación en polvo al 1.5% en mazorcas de maíz almacenado infestado con *S. zeamais* a nivel laboratorio, ocasiona 71% de mortalidad, 18.48% de infección y 5.27% de pérdida de peso, esto puede deberse a que la planta de chicalote contiene compuestos tóxicos en la semilla De Poll (1998).

7.2.3 Porcentaje de pérdida de peso

Se evaluó este parámetro tomando los datos de peso de granos sanos y dañados, y se aplicó la fórmula de coeficiente de daño de porcentaje reportada por Judenko en 1973. Al someter los datos al análisis de varianza se observó una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre el efecto de los tratamientos sobre la pérdida en peso ocasionada al maíz por los daños de *S. zeamais*. Con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), se detectó diferencia significativa entre los promedios de pérdida ocasionados por *S. zeamais* bajo los tratamientos empleados observando tres grupos de medias cuadro 7. Los tratamientos donde se observa menor pérdida de peso en comparación del testigo son: cal, cal más *B. bassiana* [10^9] y cal más *B. bassiana* [10^8], los tratamientos con mayor pérdida de peso fueron *B. bassiana* [10^6] y el testigo. De acuerdo a las observaciones de este trabajo la cal actúa matando a los gorgojos al estar en contacto con ellos, lo que ocasiona que los daños a los granos sean bajos del 2,9% con respecto al testigo, en donde los daños fueron del 14.8%, estos datos concuerdan con lo reportado por Padin *et al.* (2002) quien cita que cuando los granos de maíz son tratados con productos naturales, los daños por gorgojos disminuyen hasta en un 20%. Con este estudio se confirma que es factible la utilización de la cal viva como método tradicional en el combate del gorgojo del maíz *S. zeamais*, por lo que se recomienda que los productores que almacenan maíz para el auto consumo lo traten con cal viva.

Cuadro 7. Pérdida en peso por *Sitophilus zeamais* al maíz almacenado a los 81 días de establecer el experimento bajo diferentes tratamientos, en condiciones controladas de temperatura y humedad.

Tratamientos	Pérdida en peso \pm Error Estándar y significancia*	
	81 días	
Cal	2.9 \pm 1.4	a
cal+ <i>B. bassiana</i> [10^9]	3.3 \pm 0.8	a
cal+ <i>B. bassiana</i> [10^6]	3.6 \pm 1.1	a
cal+ <i>B. bassiana</i> [10^8]	3.9 \pm 0.8	ab
<i>B. bassiana</i> [10^9]	5.5 \pm 0.4	ab
<i>A. mexicana</i>	7.1 \pm 0.6	ab
<i>B. bassiana</i> [10^8]	7.6 \pm 0.8	ab
<i>B. bassiana</i> [10^6]	9.3 \pm 0.3	bc
Testigo	14.8 \pm 2.2	c

* Medias con la misma letra, no difieren significativamente ($p \leq 0.05$)

VIII CONCLUSIONES

1. La combinación de cal viva más *B. bassiana* [10⁹], fue el mejor tratamiento sobre la mortalidad, reportando en la primera evaluación el 98.75% y en la segunda el 100% de mortandad de *S. zeamais*.
2. La cal viva en combinación con *B. bassiana* actúa matando a los gorgojos, lo que ocasiona que los daños a los granos fueron bajos del 2,9% con respecto al testigo, en donde los daños fueron del 14.8%.
3. Uno de los mejores productos para proteger al maíz del daño que le puede ocasionar el gorgojo es la cal viva más *B. bassiana* [10⁹], factible para su elaboración como un nuevo producto agroindustrial para el tratado del maíz durante su almacenamiento.
4. Con la investigación realizada podemos decir que si el producto sale al mercado su caducidad se garantiza por un periodo de cinco meses, debido a que demostró una viabilidad de 76-100%.
5. La tecnología generada para el control de *S. zeamais*, es una buena alternativa para que los productores puedan reducir las pérdidas hasta un 80.4% en daños al grano, sin aplicar productos químicos sintéticos que provocan graves daños a la salud y al ambiente, además se retomarían las tradiciones ancestrales en el control de plagas de productos básicos como el maíz.

IX RECOMENDACIONES

1. Se propone la elaboración de este nuevo producto Agroindustrial a base de cal viva y *B. bassiana* para el manejo postcosecha del maíz, como nueva tecnología que los productores pudieran aplicar a su producción.
2. Darle seguimiento a esta investigación con un estudio del posible impacto regional de las zonas maiceras del estado.
3. Se recomienda realizar estudios de costos de un posible producto agroindustrial que pudiera ser comercializado.

X LITERATURA CITADA

- Acosta-Reveles, 2010, citado en Aragón A. Manejo Agroecológico de Sistemas Vol. II 2011. Primera edición. pp.4-5.
- Alcocer, G. L. 1979. Incidencia del hongo *Beauveria bassiana* en México y su producción en laboratorio para el control microbiano incluido. VII Reunión Nacional de Control Biológico. Veracruz. DGSV-SARH, pp.107- 110.
- Alves, R. T., Bateman R. P., Gun, J., Prior, C. H., and Leather S. R. 2002. Effects of Different Formulations on Viability and Medium-Term Storage of *Metarhizium anisopliae* Conidia. Neotropical Entomology 31(1):091-099.
- Anónimo. 2008., <http://faostat.fao.org/>. 20de Enero 2008, en: Caracterización morfológica y térmica del almidón de Maíz (*Zea mays* L) obtenido por diferentes métodos de aislamiento.
- Aragón, G. A. y J. F. López O. 1994. Estudio en laboratorio de dos plantas utilizadas para el combate de las principales plagas de maíz almacenado. Resúmenes del V Encuentro Regional de Investigadores en Flora y Fauna de la región Centro Sur de la República Mexicana. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. p.9.
- Báez, R. I. 2010. Evaluación de plantas medicinales con potencial en el control biológico del vector transmisor de dengue *Aedes aegypti*. Tesis de Maestría Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada IPN. Tepetitla Tlaxcala.
- Bidochka, M. J., Kamp, A. M: and De Croos, L. N. A. 2000. Insect pathogenic fungi: from genes to populations. In fungal Pathology en: Mata, V. T. 2008. Evaluación de matrices de esporulación y formulación de un micoinsecticida a base de esporas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. Tesis de

Maestría. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada IPN Tepetitla Tlaxcala.

Carmona A. J., Gil. O. R., Rodríguez A. 2008. Descripción taxonómica, morfológica y etnobotánica de 26 hierbas comunes que crecen en la ciudad de Mérida-Venezuela. Boletín Antropológico 73:113-12.

Clarkson, J., Charnley, K. 1996. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. Trends in Microbiology en: 4 (5):197-202.

Coloma Á., G., 2008. La Cal: Es un reactivo químico. Santiago-Chile., pp. 38-45.

Cuevas S. M. I., Romero N. C. A. 2006, Insecticidas naturales para el control de la principal plaga de maíz, frijol y garbanzo almacenados, en: Revista Investigación Agropecuaria 2008. 5(2): 117-126.

De Poll, E. 1998. Plantas tóxicas de Guatemala en casa y en el campo. en: Ciencia y Acción No. 5 Universidad del valle de Guatemala. Guatemala. 5 p.

De Sousa A. H., P. M. Borges, A. C. Almeida, A. G. Soto y T. F. P. Costa. 2006. Desempeño de *Sitophilus zeamais* (coleóptera:curculionidae) en diferentes variedades de maíz y condiciones atmosféricas. Revista verde. Janeiro 1 (1): 20-25.

Díaz. V. G. E. 1985. Actividades de aceites vegetales para proteger maíz almacenado contra el gorgojo *Sitophilus zeamais* Motsch (coleóptera: cuculionidae)., en: Evaluacion de polvos para el combate de *Sitophilus zeamais* (coleóptera: cuculionidae) en maíz almacenado de Papalotla de, Tlaxcala. 1994.

- Feng, M. G.; Poprawski, T. J.; Khachatourians, G. G. 1994. Production formulation application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insects control worldwide. *Biocontrol Sciences and Technology* 4: 3-34.
- Gallegos, M. G., Zepeda, S. M., Olayo, P. R. P. 2004. *Entomopatógenos*. Edit. Trillas. México 148 p.
- García Lara S, D. J. Bergvinson, A. J. Burt, A. I. Ramputh, D. M. Diaz Pontones y J. T. Arnason. 2004. The role of pericarp cell Wall components in maize weevil resistance. *Crop Sci.* 44: 1546-1552pp.
- García-Lara, C. Espinosa Carrillo y D.J. Bergvinson. 2007. *Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control*. México, D.F.: CIMMYT.
- Haraprasad, N., Niranjana, S. R., Prakash, H S., Shetty H. S. and Wahab, Seema. 2001 *Beauveria bassiana*- A Potential Mycopesticide for the Efficient Control of Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) in India. *Biocontrol Science and Technology* 11.251-260pp.
- Hernández G. J. A.; Carballo C. A. 2007. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. *Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural pesca y alimentación.*, p. 5.
- Herrera Robaldino D. M 2012. Tesis de Diseño de procesos de elaboración de un proceso para acabado de paredes, a partir del hidróxido de calcio resultante de la combustión de la piedra caliza. Riobamba. p.140.
- Hoseney R. C y Faubion J. M. 1992. Physical properties of cereal grains. In: Saucer DB editor. *Storage of cereal grains and their products*. St. Paul MN, USA: Am. Assoc Cereal Chem., pp. 1-38.

- Inglis, D. G.; Goettel, S. M.; Butt, M T.; Strasser, H. 2001. Use of hypomycetous fungi for managing insect pests, pp. 23-69. En : butt, T. M.; Jackson, C.; Maagan N. (eds.). Fungi as biocontrol agents. CAB International. Wallingford.
- Judenko, E. 1973. Analitical method for assessing yield losses caused by pest on cereal crops with and without pesticides. Trp. Pest. Bull. No. 2 center for averseas pest research. Hull printers Ltd. England.
- Jugenheimer, R.W. 1988. Maíz, variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Limusa. México. 841p.
- Kamp, A. M., and Bidochka, M. J. 2002. Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars. The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied microbiology, 35, 74-77pp.
- Kato, T. A., C. Mapes, L. M. Mera, J. A. Serratos, R. A. Bye. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 116 p.
- Lagunes, T .A. 1994. (a) Extractos, polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia". Memorias del Colegio de Postgraduados, en: Usaidconacyt-boruconsa. Efectos toxicológicos de cuatro plantas sobre el gorgojo del maíz *sitophilus zeamais* motschulsky 1855 (coleoptera: curculionidae) y sobre el gorgojo de las galletas *Stegobium paniceum* (Linnaeus 1761) (coleoptera: anobiidae) en peru, Gayana 69(2): 234-240.
- Lagunes, A. 1994(b). Extractos, polvos vegetales, y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia.

Memorias del Colegio de Postgraduados USAID-CONACYT-BORUCONSA. Montecillo. Texcoco. México. 32 p.

Lagunes, T., A., 2001. Comida Segura y Sana. Memorias de la Sociedad Mexicana de Entomología. II Simposio Internacional y VII Nacional sobre Substancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas, en: Cuevas S. M. I., García M. J. C., Romero N. C. A., Boln. Asoc. esp. Ent., 30 (1-2): 83-92, 2006.

Larraín, P. 1994. Manejo integrado de plagas en granos almacenados., en: Silva A. G., González G. P., Hepp G. H, Casals B. P., Control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky con polvos inertes Agrocienza, 38(5)529-536.

Lindblad, C. y Druben. (1981). Almacenamiento del grano. Manejo-Secado-Silos. Control de insectos y roedores, en: Cuevas Salgado., Manejo de productos naturales para el control de insectos en almacén. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Longstaff, B. C. 1981. Biology of the grain pest species of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae): a critical review. Protection Ecol. 2:83-130.

López-Olguín, J. F. 1998. Actividad y modo de acción de productos de *Trichilia havanensis* Jacq. y *Scutellaria alpina* subsp. *javalambrensis* (Pau), sobre *Leptinotarsa decemlineata* (say) y *Spodoptera exigua* (Hübner). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. España. 137 p.

MacNeish, R. S. 1967. Summary of subsistence. In: Byers D. S. (ed.). ae prehistory of the Tehuacan Valley. Vol.1. Environment and susbsistence. Austin,Texas: University of Texas Press. pp. 290-309.

Mata, V. T. 2008. Evaluación de matrices de esporulación y formulación de un micoinsecticida a base de esporas del hongo entomopatógeno *Beauveria*

- bassiana*. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada IPN Tepetitla Tlaxcala.
- Monsanto Agricultura España. 2002. Seguridad del maíz Roundup Ready®) GA21 genéticamente tolerante a glifosato, en: Silva, C. C. A. Maíz genéticamente modificado, publicación de agro-bio Primera edición Octubre 2005.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos Entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas Costa Rica (63):95-103.
- Nava, G. S. B. 2006. Evaluación de hongos entomopatógenos para el control de broca de café (*Hypothenemus hampei* Coleoptera: Scolytidae), y propuesta de un plan para su manejo integrado, Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada IPN Tepetitla Tlaxcala..
- Obeng-Ofori & Amiteye 2005. Efficacy of mixing vegetable oils with pirimiphos-methyl against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. Motschulsky in stored maize. J. Stored Prod. Res. 41: 57-66.
- Ortega, A. 1987. Insects pest of maize. A guide for field identification. Centro Internacional para el mejoramiento del Maíz y Trigo. El Batán, Estado de México, México 45 p.
- Padín S, G Dal Bello and M Fabrizio. 2002. Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. Journal of Stored Products Research 38: 69–74.
- Páez, A., A. Lagunes, J. L. Carrillo, y J. C. Rodríguez. 1990. Polvos vegetales y materiales inertes para el combate del gorgojo *Sitophilus zeamais* (Coleoptera. Curculionidae) en maíz almacenado. Agrociencia 1: 35-46.

- Palafox-Caballero A, M. Sierra-Macías, A. Espinosa-Calderón, F. Rodríguez Montalvo y E. N. Becerra-Leor. 2008. Tolerancia a infestación por gorgojos (*Sitophilus* spp.) en genotipos del maíz comunes y de alta calidad proteínica. *Agronomía mesoamericana* 19(1):39-46.
- Peinado-Guevara, P. V. 2010. Impacto de los apoyos fiscales para la producción y comercialización del maíz blanco en el Valle de Guasave, Sinaloa, en: Manejo agroecológico de sistemas vol. II. Aragón G.A., D.Jiménez G. y M. Huerta L. (Eds.). 2011. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. pp. 1-14. ISBN: 978-607-487-395-5.
- Pizarro D. D. I. 2007. Polvo, aceites esenciales y extractos de *Peumus boldus* Molina para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en laboratorio. Tesis de Maestría, Chillán – Chile.
- Pucheta M, A. Flores, S. Rodríguez y M de la Torre. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia*. 31 (12):856-860.
- Quackenbush, FW 1963. Carotenoides Corn: efectos de la Temperatura y la humedad sobre las pérdidas durante el almacenamiento. *Cereal Chem.*, 40: 266-269.
- Ramírez, G. A. 1984. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. CIA. Editorial continental, S.A. DE C. V., pp. 71-104.
- Rees, P. 1996. Coleoptera Integrated management of insects in stored products in B. Subramanyam, and D. Hagstrum (eds.). Marcel Dekker, New York, USA. p. 1-40.
- Reyes C., P. 1990. El maíz y su cultivo. AGT-EDITOR S.A. México, D.F. pp.56.

- Rodríguez, H. C. 1999. Recetas del Nim *Azadirachta indica* (Meliaceae) contra plagas. Memorias del XXXIV Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Mexicana de Entomología, A. C. Aguas Calientes, Ags; México. p. 696.
- Sánchez L. V. 1991. Especies vegetales del noreste de México para el control del gorgojo, *Sitophilus zeamais* mots. (coleoptera: curculionidae). en maíz almacenado. Tesis de Maestría. Marín, Nuevo León.
- Statgraphics. 2010. Statgraphics Centurion XVI User Manual. Stat Point Technologies, Inc. E. S. A. 305 p.
- Steel, R. G and J. H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistic. McGraw-Hill Book Company Inc. New York, EUA. 362 p.
- Talaei-hassanloui, R., Kharazi-pakdel, A., Goettel, M. S., Little, S., Mozaffari, J. 2006. Germination polarity of *Beauveria bassiana* conidia and its possible correlation with virulence. Journal of Invertebrate pathology. (94): 102-107.
- Tanada, Y. and H. K Kaya. 1993. Insect Pathology. Academic Press, New York., pp. 666.
- Tinoco, CA; Rodríguez, FA; Sandoval, JA; Barrón, FS; Palafox, CA; Esqueda, EV; Sierra, MM; Romero, MJ. 2002. Manual de producción de maíz para los estados de Veracruz y Tabasco. Guía Técnica Núm. 20. 113 p.
- Vélez, P. E., Posadas, F. J., Marín, P. M., Gonzalez, M. T., Osorio, E. V. and Bustillo, A. E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatogenos. Cenicafé. Boletín Técnico. (17):37.

Weaver, D. and B. Subramanyam. 2000. Botanicals. p. 303-320. *In* B. Subramanyam, and D. Hagstrum (eds.) Alternatives to pesticides in stored product IPM. Kluwer Academic Press, Boston, USA.

Zhang, S., Fan Y. y Xian Y. 2010. Sulfonylurea resistance as a new selectable marker for the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Genetic Engineering Research Center, College of Bioengineering. Appl. Microbiology Biotechnol 87: 1151-1156. Springer-Verlag 2010.