



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

**MAESTRIA EN CIENCIAS EN RECURSOS FITOGENÉTICOS
POTENCIALES PARA LA AGRICULTURA**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTÍA

**CONTROL BIOLÓGICO DE *Pieris brassicae* EN COL MEDIANTE
DIATOMEA Y MATRICES DE *Beauveria bassiana***

PRESENTA

FERNANDO ZÁRATE RIVAS

DIRECTORA DE TESIS

DRA. CARMELA HERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ

Noviembre de 2022, San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN RECURSOS FITOGENÉTICOS
POTENCIALES PARA LA AGRICULTURA**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA

**CONTROL BIOLÓGICO DE *Pieris brassicae* EN COL MEDIANTE
DIATOMEA Y MATRICES DE *Beauveria bassiana***

PRESENTA

FERNANDO ZÁRATE RIVAS

ASESORES:

DR. DELFINO REYES LÓPEZ

MC. FABIEL VÁZQUEZ CRUZ

Noviembre de 2022, San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México

La presente tesis titulada: **CONTROL BIOLÓGICO DE *Pieris brassicae* EN COL MEDIANTE DIATOMITA Y MATRICES DE *Beauveria bassiana*** realizada por **Fernando Zárate Rivas**, ha sido revisada y aprobada por el siguiente consejo particular, para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN RECURSOS FITOGENÉTICOS

POTENCIALES PARA LA AGRICULTURA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

Consejo particular integrado por:

Firma

Director: Dra. Carmela Hernández Domínguez

Asesor: Dr. Delfino Reyes López

Asesor: MC. Fabiel Vázquez Cruz

San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México, diciembre de 2022

Se le da el agradecimiento a el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través del Programa Nacional de Posgrado de Calidad (PNPC) por haberme otorgado la beca como apoyo para poder obtener el grado de maestría.

El presente trabajo forma parte del Cuerpo Académico denominado: **BUAP-CA-355 Agrobiotecnología y Recursos Naturales y de la Línea De Investigación: Control Biológico.** Dicho trabajo, fue financiado con recursos propios.

DEDICATORIA

A mis padres Marco Aurelio Zárate Huerta y Julia Rivas Sánchez, por ser siempre un ejemplo de superación y de perseguir metas que permitan desarrollarme mejor como persona y como hijo.

A mi pareja y mejor amiga, Diana García Ortega por ser tan paciente y brindarme su apoyo incondicional a lo largo de este proyecto, por creer en mí y ayudarme siempre a ser mejor persona. Eres una de las personas más importantes en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi hermano Arturo Zárate Rivas por su apoyo y compañía a lo largo de casi toda mi vida.

A los chicos de primera generación de Recursos Naturales por brindarme su apoyo a preparar el terreno en donde se sembró col.

A las estudiantes del Tecnológico Superior de Zacapoaxtla por facilitarme especímenes de larvas de *Galleria mellonella* para fines de este estudio.

Agradezco enormemente a mi directora Dra. Carmela Hernández y asesores Dr. Delfino Reyes y MC Fabiel Vázquez Cruz por brindarme su tiempo, paciencia y conocimientos.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
RESUMEN	4
ABSTRAC	4
I. INTRODUCCIÓN	5
II. OBJETIVOS	8
2.1. Objetivo general	8
2.2. Objetivos específicos	8
III. HIPÓTESIS	9
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	10
4.1. Importancia del cultivo de col en México	10
4.2. Importancia de la agricultura orgánica en México y en el mundo.	10
4.3. Plagas importantes de la col	11
4.3.1. Daños ocasionados por mariposita de la col (<i>Pieris brassicae</i>)	11
4.3.2. Métodos de control de <i>Pieris brassicae</i>	12
4.4. Control biológico <i>Beauveria bassiana</i>	12
4.5. Importancia de los formulados	13
4.6. Usos de la tierra de diatomeas como potenciador del hongo <i>Beauveria bassiana</i>	14
4.7. Inmovilización de conidios en alcohol polivinílico como potenciador del ingrediente activo 15	
V. MATERIALES Y MÉTODOS	16
5.1. Localización	16
5.2. Obtención de cepa <i>Beauveria bassiana</i>, larva de <i>Pieris brassicae</i> y tierra de diatomea .	16
5.2.1. Obtención de <i>Beauveria bassiana</i>	16
5.2.2. Obtención de larvas	16
5.2.3. Obtención de tierra de diatomea	16

5.4.	Establecimiento del experimento	17
5.4.1.	Experimento con <i>Galleria mellonella</i>	17
5.5.	Experimento con <i>Pieris Brassicae</i>	19
5.6.	Variables a evaluar.....	20
5.6.1.	Porcentaje de mortalidad de larvas	20
5.6.2.	Porcentaje de emergencia de conidios	20
5.6.3.	Tiempo de emergencia de conidios	21
5.6	Análisis estadístico.....	21
VI.	RESULTADOS.....	22
6.1.	Daño ocasionado por tres marcas de tierra de diatomea sobre la cutícula de <i>Gallería mellonella</i>	22
6.1.1.	Cantidad de formas de caparazón de algas presentes con respecto a la marca de tierra de diatomea.	22
6.1.2.	Descripción las formas de caparazón presentes en las tres marcas de tierra de diatomea.	23
6.1.3.	Relación entre el porcentaje de manchas sobre la cutícula de <i>Galleria mellonella</i> y la cantidad de formas presentes de acuerdo con la marca de tierra de diatomea	25
6.2.	Porcentaje y tiempo de emergencia de conidios de <i>Beauveria bassiana</i> como resultado de los tratamientos sobre la cutícula de <i>Galleria mellonella</i>	29
6.3.	Tiempo y porcentaje de mortalidad de <i>Galleria mellonella</i> y <i>Pieris brassicae</i> después de aplicar los conidios de <i>Beauveria bassiana</i> encapsulados y los cristales de diatomitas.....	32
VII.	CONCLUSIÓN.....	37
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	38

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Página
Cuadro 1. Productos a base de hongos entomopatógenos utilizados para el control biológico	14
cuadro 2. Establecimiento de tratamientos y unidades experimentales.....	19
cuadro 3. Porcentaje de daño sobre la cutícula de larva a las 120 hrs.....	27
cuadro 4. Porcentaje de mortalidad por efecto de los tratamientos en larvas de <i>galleria mellonella</i> y <i>pieris brassicae</i>	32

INDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1. Media de frecuencia de cantidad de formas de caparazones de algas de acuerdo a marca de tierra de diatomea.....	22
figura 2. Media de frecuencia de cantidad de formas de caparazones de algas de acuerdo con la concentración de tierra de diatomea.....	23
figura 3. Formas de caparazones de algas presentes en tres marcas de tierra de diatomea. (a) forma radial con borde liso rb. (b) forma radial sin borde rsb. (c) forma de varilla v. (d y e) forma de elipse e.	24
figura 4. Media de frecuencia de acuerdo a las formas de caparazones encontradas, medias con la misma letra no son significativamente diferentes.	25
figura 5. Manchas presentes sobre cortes de cutícula de <i>galleria mellonella</i> . (a) daño provocado por los caparazones de algas encontrados en la marca gosa sobre la cutícula del abdomen. (b) daño provocado por los caparazones de algas encontrados en la marca echinocactus sobre la cutícula del abdomen. (c) daño provocado por los caparazones de algas encontrados en la marca lombrizmx sobre la cutícula de la parte dorsal (d) piel de testigo.	26
figura 6. Correlación entre el número de formas de caparazones de algas presentes en tres marcas de tierra de diatomea y el porcentaje de manchas presentes sobre la cutícula de <i>galleria mellonella</i>	28
figura 7. Presencia de <i>beauveria bassiana</i> sobre la piel de <i>galleria mellonella</i> . (a y b) conidios emergidos sobre la piel de <i>galleria mellonella</i> a las 48h. (c) presencia de micelio en la base de las propatas de <i>galleria mellonella</i> . (d) micelio de <i>beauveria bassiana</i> después de 72h de inoculación.	29
figura 8. Media de frecuencia de número de manchas provocadas por daño con respecto al tratamiento.....	31
figura 9. Media de frecuencia del número de manchas provocadas por daño con respecto al tiempo.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
figura 10. Porcentaje de mortalidad en ambas especies de larvas por efecto de tratamientos ..	33

figura 11. Mortalidad en larvas de *pieris brassicae* tras inoculación de tratamientos. (a y d) presencia de micosis por el hongo *beauveria bassiana*. (b y c) iniciado el proceso de descomposición de larva muerta.35

figura 12. Mortalidad en larvas de *galleria mellonella* tras inoculación de tratamientos. (a y b) presencia de micosis a través de la cutícula por el hongo *beauveria bassiana*. (c) iniciado el proceso de descomposición de larva muerta. (d) herida sobre la cutícula de la parte ventral, dando inicio al proceso de micosis.... **¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

RESUMEN

La larva de la col (*Pieris brassicae*, Lepidóptera: Pieridae), es una plaga importante debido a su capacidad para defoliar grandes cantidades de cultivo. Los métodos de control con productos químicos de esta plaga han generado problemas a la salud humana y al medio ambiente, por lo que se buscan alternativas de control más sostenibles. En este contexto, se evaluó el potencial de control de *Beauveria bassiana* sola (Bb) y en combinación en matrices de alcohol polivinílico (BbI), tierra de diatomea (TD), así como la combinación entre estos (BbI+TD) (Bb+TD) en 90 larvas de *P. brassicae* inoculadas por aspersión, 60 larvas de *Galleria mellonella* inoculadas por aspersión y 30 por inmersión. Previo al experimento, se evaluó la viabilidad de las cepas de *B. bassiana* en laboratorio, y eligió una de tres marcas comerciales de tierra de diatomea evaluadas de acuerdo con el daño hecho sobre la piel de 15 larvas de *G. mellonella*. Cuatro días después de la inoculación de los tratamientos las larvas mostraron manchas sobre la cutícula, y el mayor número de manchas por larva se obtuvo con el tratamiento Bb+TD el cual tuvo una media de 7.22, seguido del tratamiento BbI+TD con una media de 6. La mortalidad más alta en larvas de *P. brassicae* fue 42.1% con el tratamiento BbI+TD a las 120h de inoculación, mientras que la mortalidad más alta en larvas de *G. mellonella* fue 70.1% con el tratamiento Bb a las 120h de inoculación. En este estudio también se pudo observar que el método de inoculación por aspersión del tratamiento Bb+TD causó mayor daño sobre la piel a diferencia del método de inmersión, sin embargo el porcentaje de mortalidad en *G. mellonella* fue mayor con el tratamiento de conidios en agua destilada aplicados por inmersión, así mismo se puede observar la susceptibilidad de *G. mellonella* en comparación con *P. brassicae* de acuerdo a los tratamientos aplicados, dichos aspectos se deben de tomar en cuenta para la formulación de productos a partir de hongos entomopatógenos y tierra de diatomea.

ABSTRACT

The cabbage worm (*Pieris brassicae*, Lepidoptera: Pieridae), is an important pest because it has ability to defoliate large amounts of crop. Control methods with chemical products in this pest have generated problems for human health and environment, therefore, more sustainable control alternatives are sought. In this context, the potential control of *Beauveria bassiana* alone (Bb), in combination with matrices of polyvinyl alcohol (BbI), diatomaceous earth (TD), as well as the combination of them (BbI+TD) (Bb+TD) was evaluated. For this experiment, 90 worms of *P. brassicae*, and 60 worms of *G. mellonella* were inoculated by spray and 30 worms of *G. mellonella* were inoculated by immersion, but prior to the experiment, the viability of the *B. bassiana* strains was evaluated in the laboratory, and one of three brands of diatomaceous earth was evaluated according to damage caused on the skin of 15 *G. mellonella* worms. Four days after the inoculation of the treatments belonging to experiment, the larvae showed spots on the cuticle, and the highest number of spots per larva, was obtained with the Bb+TD treatment, which had a mean of 7.22, followed by the BbI+TD treatment (Means 6). The highest mortality in *P. brassicae* worms was 42.1% with the BbI+TD treatment at 120h after inoculation, while the highest mortality in *G. mellonella* worms was 70.1% with the Bb treatment at 120h after inoculation. In this research it was possible to observe that the spray inoculation method of the Bb+TD treatment caused greater damage on the skin in comparison whit the immersion method, however the percentage of mortality in *G. mellonella* was higher with the conidia treatment (Bb) in distilled water applied by immersion, also the susceptibility of *G. mellonella* can be observed, in comparison with *P. brassicae* according to the treatments applied, these aspects must be considered for the formulation of products using entomopathogenic fungi and diatomaceous earth.

I. INTRODUCCIÓN

La col es una de las hortalizas con mayor relevancia en zonas como el Caribe y América central, así mismo con gran importancia económica por ser una de las crucíferas de mayor consumo (Mujica *et al.*, 2009), tan solo en México se producen hasta 204 mil toneladas al año (SIAP, 2019). Sin embargo, es susceptible al daño por especies de lepidópteros, entre las que destacan larvas de *Pieris brassicae*; esta plaga es capaz de devorar gran cantidad de hoja, perdiendo cantidades importantes de producción (Abbas *et al.*, 2021).

En la última década se ha dado una especial importancia al manejo ecológico del suelo y su nutrición, reconociendo fuertemente a la producción orgánica en países de Latinoamérica, Asia y Europa debido a su contribución al desarrollo sustentable y económico (Gómez & Schwentesius, 2015), junto con la eliminación del uso de productos químicos, conservando la calidad y fertilidad del suelo. Por parte, el uso excesivo de plaguicidas ha dejado un impacto negativo en el ambiente, contribuyendo indirectamente a la eliminación de enemigos naturales de plagas (Del Puerto *et al.*, 2014). Por estas razones en los últimos años se ha puesto especial atención en el uso de microorganismos entomopatógenos, capaces de provocar infección al insecto plaga hasta su muerte (Pacheco Hernández *et al.*, 2019), demostrando tener efectos significativos en el control de un amplio espectro de especies que dañan los cultivos (Bacca & Lagos, 2014).

Las especies de *Beauveria bassiana* son hongos entomopatógenos con gran potencial en el manejo de distintas plagas de insectos, debido a la biosíntesis de diversos compuestos ciclopéptidos, los cuales actúan con virulencia fúngica eficaz (Wang & Wang, 2017). No obstante, estos microorganismos entomopatógenos se ven afectados por diversos factores, tales como temperatura, humedad y radiación solar al aplicarlos en condiciones de campo. Por ello, deben ser formulados de manera que potencialice su eficacia, y para lograrlo se utiliza la retención de estos hongos en matrices inmovilizadoras que protegen las esporas de estos factores ambientales, prolongando su esperanza de vida al aplicarse en campo (Azamar, 2018).

Por otra parte, el uso de aditivos en los productos de control biológico tiene una gran importancia ya que incrementa su eficacia en las formulaciones, uno de estos productos utilizados la tierra de diatomea, que son cristales formados de microfósiles de algas y que causan lesiones sobre el cuerpo de los insectos (Losic & Korunic, 2018), sin embargo, se conoce poco sobre el efecto

combinado de la tierra de diatomea con matrices de *Beauveria bassiana* para el control de diferentes plagas. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de tierra de diatomea en combinación con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* inmovilizado en matrices de alcohol polivinílico, como agente de control biológico de *Pieris brassicae* en cultivos de col.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la eficacia de la tierra de diatomea junto con matrices inmovilizadoras de conidios de *Beauveria bassiana* en el control biológico de *Pieris brassicae* en plantas de col.

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el daño ocasionado por la tierra de diatomea sobre la piel de *Pieris brassicae*.
- Determinar el porcentaje y tiempo de emergencia de conidios de *Beauveria bassiana* contenidos en matrices inmovilizadoras de alcohol polivinílico sobre la cutícula de *Pieris brassicae*.
- Determinar el tiempo y porcentaje de mortalidad de *Pieris brassicae* después de aplicar los conidios de *Beauveria bassiana* encapsulados y los cristales de diatomitas.

III. HIPÓTESIS

La combinación de conidios de *Beauveria bassiana* inmovilizados en matrices alcohol polivinílico y tierra de diatomea logran potencializar la infección a través de la cutícula de larvas de *Pieris brassicae*, en cultivo de col.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Importancia del cultivo de col en México

El origen de la col según Díaz (2019) es variado encontrándose en formas silvestres en zonas litorales como las costas. Es una planta que requiere estaciones húmedas y frías de 15 a 18 °C para mejor desarrollo, sin embargo, es capaz de establecerse tanto en la temporada otoño-invierno como primavera-verano siendo sensibles únicamente a la sequía (Zamora, 2016). En términos generales, la col es una crucífera perteneciente a las hortalizas con gran adaptabilidad, posee un tallo que desarrolla una altura entre 1 y 1.4 m del cual se originan hojas anchas, esta especie registra alrededor de 300 géneros y se caracteriza por que la inflorescencia es consumida antes de llegar a la madurez. En la actualidad es un cultivo de alto consumo mundial, de acuerdo a la FAO (2021) al año se producen aproximadamente 70 millones de toneladas sobre una superficie de 3.8 millones de hectáreas alrededor de 150 países. Tan solo en México de acuerdo con el SIAP en el año de 2019 se obtuvo una producción de 214 mil toneladas con una superficie de más de 6 mil hectáreas sembradas de las cuales el estado con mayor participación fue Puebla con 1700 ha sembradas y 73000 t producidas (CEDRSSA, 2020). Su mercado principal es de exportación y se consume generalmente en fresco o en conservas.

4.2. Importancia de la agricultura orgánica en México y en el mundo.

Según la FAO la agricultura orgánica es un sistema de producción que se preocupa por el estado y salud de los suelos. Se basa en procesos ecológicos y ciclos que se adaptan a condiciones locales del cultivo, más que en la implementación de insumos que provocan efectos adversos al suelo y a la salud humana (NIFA, 2020).

Actualmente, la agricultura orgánica continúa creciendo, tan solo en el año 2019 se colectaron 35.1 millones de ha en 187 países y las tierras destinadas a esta práctica en este año alcanzaron el máximo histórico (Willer, 2021).

En Latinoamérica, la producción orgánica ocupa el tercer lugar con 8.3 millones de ha sembradas, y de acuerdo con datos de SADER, México registra una superficie cultivada que pasó en los últimos 10 años de 86 mil a casi 400 mil hectáreas en las que se cultivan más de 45 productos orgánicos, y donde las hortalizas ocupan cerca de 35,969 ha que representan más del 10% del total de hectáreas con productos orgánicos cultivados (González, 2017).

Las principales entidades con producción agrícola orgánica en el país son: Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Chihuahua y Guerrero. No obstante, debido al poco apoyo a la comercialización por parte de los gobiernos, así como al cambio de hábitos de consumo y una creciente demanda en países del primer mundo, México exporta casi el 90 % de su producción a mercados como Europa, Canadá, Suiza, Estados Unidos y Japón (PROFECO, 2018).

4.3. Plagas importantes de la col

El cultivo de col es atacado por varias plagas, entre las que se encuentran; palomilla dorso de diamante (*lutella xylostella*), el pulgón harinoso de la col (*Brevicoryne brassicae*) y la mariposa de la col (*Pieris brassicae*), ésta última causa intensas defoliaciones al alimentarse del tejido foliar (Webb *et al.*, 2017).

4.3.1. Daños ocasionados por mariposita de la col (*Pieris brassicae*)

La mariposita de la col (*Pieris brassicae*) es un lepidóptero nativo de Europa, y representa una de las plagas más importantes de la familia Brassicae. El macho es de color blanco con una mancha oscura en la esquina superior de sus alas anteriores, mientras que la hembra, además de la mancha posee 2 puntos negros en sus alas anteriores. Los adultos aparecen en primavera y es cuando la hembra deposita los huevos en el envés de las hojas y en tallos, una vez eclosionados surgen las larvas, que en su primer estadio se pueden encontrar en grupos sobre una misma hoja, produciendo gran daño sobre los tejidos de la planta, además de afectar la cosecha de forma indirecta produciendo daño al dejar restos de excrementos sobre la misma (Springolo *et al.*, 2021).

4.3.2. Métodos de control de *Pieris brassicae*

Uno de los mayores factores que limitan la producción de col son las larvas de mariposita que llegan a infestar cultivos enteros. En este sentido, algunos de los métodos más empleados para su control son insecticidas químicos (Askary & Ahmad, 2020), práctica que ha sido utilizada por productores debido a la compatibilidad y eficacia de muchos de ellos, entre los que destacan thiamethoxan y pyriproxyfen (Sajjad *et al.*, 2017). No obstante, estos insecticidas tienen efecto adverso y provocan daños al medio ambiente, resistencia en insectos y toxicidad. Sin embargo, como una alternativa más viable existen organismos entomopatógenos letales de plagas de insectos, seguros para los humanos, fáciles de aplicar y no causan daños colaterales al medio ambiente (Romero *et al.*, 2020).

4.4. Control biológico *Beauveria bassiana*

Una de las mejores propuestas de control biológico en cultivo de la col es con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* que crece de forma natural en suelos de todo el mundo. Su modo de acción empieza cuando el conidio es depositado en la superficie de la cutícula del hospedero (Azamar, 2018). Posteriormente las esporas inician el desarrollo del tubo germinativo, el cual le permite fijarse a la superficie del insecto. Sin embargo, para una germinación efectiva se requiere humedad relativa de 92 % y temperatura entre 23 y 25 °C (Pensamiento & Durán, 2018). Después de que el hongo logra ingresar a través de las partes blandas del insecto, empieza a ramificar sus estructuras colonizando todas las cavidades y se da la producción de toxinas como Beauvericina que ayuda a romper el sistema inmunológico del patógeno, lo que facilita la invasión del hongo a todos los tejidos (Utus, 2017). Todo lo anterior lleva a la muerte del insecto que puede ocurrir de los tres a cinco días, dependiendo de la virulencia del hongo y estadio del insecto (Rivas, 2020). Las esporas de *Beauveria bassiana* son capaces de permanecer en el cultivo por varios ciclos del cultivo y para poder proliferar debe sincronizar su ciclo de vida con las etapas del insecto huésped. Actualmente se ha estudiado el efecto de los conidios de este hongo en plagas de la familia *Pieris*, como reportan Ding & Lai, (2018) obtuvieron una infección de más del 83 % en ensayos utilizando siete cepas de *Beauveria bassiana*, corroborando de esta manera su capacidad de virulencia debido a la proliferación de micelio y toxinas producidas dentro de la larva.

4.5. Importancia de los formulados

La formulación de productos insecticidas es un proceso que atrapa alguna sustancia de interés, comúnmente llamado ingrediente activo, dentro de otra sustancia de material inerte como lo son algunas sales, adherentes, aditivos, dispersantes, surfactantes, entre otros, las cuales incrementan las propiedades deseables de la formulación y facilitan su aplicación en campo (Huerta, 2018).

Los agentes dispersantes son tensioactivos imprescindibles en formulaciones agrícolas, utilizados con el fin de conseguir las características y aspecto idóneos para el propósito que se le desea dar (Nieto, 2017). El modo de acción de los surfactantes consiste en reducir la tensión superficial de las gotas de aspersión, lo que permite extenderse mayormente sobre las hojas, disminuyendo la cantidad de rebote de las gotas al ser aplicadas. Por otro lado, los adherentes, como su nombre indica ayuda en la adherencia de las gotas sobre la planta bajo condiciones con viento, lluvia o por acción mecánica (Cáceres, 2017).

Las ventajas de utilizar productos formulados a base de hongos entomopatógenos, es que proveen de un microambiente óptimo para el microorganismo durante su periodo de almacenamiento, manteniendo su metabolismo bajo. Las formulaciones que sobresale en el mercado es la formulación seca o polvo, esta utiliza un vehículo de origen vegetal o mineral que favorece la distribución de conidios al momento en que se aplique en campo, evitando la humedad manteniendo a las cepas latentes y viables hasta su aplicación (González-Cadena, 2020). Su impacto es tal, que de estos microorganismos se han creado múltiples productos comerciales ([Cuadro 1](#)), los cuales han probado ser efectivos como bioinsecticidas.

Cuadro 1. Productos a base de hongos entomopatógenos utilizados para el control biológico

Producto	Hongo Entomopatógeno	País
Botanigard®	<i>B. bassiana</i>	Chile
Pae-SIN®	<i>P. fumosoroseus</i>	México
Bea-SIN®	<i>B. bassiana</i>	México
Metaquino®	<i>M. anisopliae</i>	Brasil
Mycar®	<i>H. thompsoni</i>	USA
Mycotal®	<i>V. lecanii</i>	Holanda
	<i>B. bassiana</i>	
Micobiol® HE	<i>M. anisopliae</i>	Colombia
	<i>L. lecanii</i>	
	<i>H. thompsonii</i>	
Vertisol®	<i>Verticillium spp.</i>	Colombia
Couch®	<i>L. giganteum</i>	USA

(Motta-Delgado & Murcia-Ordoñez, 2011)

4.6. Usos de la tierra de diatomitas como potenciador del hongo *Beauveria bassiana*

La tierra de diatomea es un mineral que se extrae de rocas sedimentadas silíceas que se forman por la acumulación de fósiles de diatomeas, algas unicelulares presentes en prácticamente todos los hábitats. Su uso se deriva de su actividad insecticida, ya que causa efecto sobre la movilidad y mortalidad en la mayoría de las especies de insectos plaga (Ganime *et al.*, 2020). Estos fósiles de alga se adhieren al cuerpo del insecto, provocando cortes sobre la cutícula hasta su eventual muerte por deshidratación.

Las partículas de esta tierra, así como su concentración son los parámetros más críticos que definen el desempeño como insecticida, es por ello, que se han realizado estudios de su eficacia en combinación con bacterias y hongos para potenciar al ingrediente activo. Como menciona Wakil *et al.*, (2021) en un estudio, donde combinaron tierra de diatomea con el hongo *Beauveria bassiana* y lograron potenciar su efectividad al inmovilizar al insecto y provocar daños sobre la cutícula, facilitando la entrada de los conidios fungosos y finalmente causando su muerte.

4.7. Inmovilización de conidios en alcohol polivinílico como potenciador del ingrediente activo

Uno de los principales problemas que enfrentan los productos formulados a base de hongos entomopatógenos es mantener la viabilidad del ingrediente activo y garantizar la infección de los insectos plagas, es por eso que la encapsulación, es uno de los métodos más empleados para el manejo de microorganismos, y ha existido desde hace más de 70 años (Carrera, 2017). Su objetivo principal es crear una matriz que proteja la integridad del conidio ante diversas condiciones ambientales. Para la encapsulación de conidios se tiene conocimiento de diversos materiales naturales como son cascaras de frutos, y algunos biopolímeros que involucran la gelificación como quitosano, agar, almidón, celulosa, pectinas, alginato y alcohol polivinílico (Przyklenk *et al.*, 2017), este último es un biopolímero que se encuentra en las algas y que más se utiliza en la inmovilización de microorganismos, ya que comprende la retención de células metabólicamente activas dentro de una matriz polimérica, así mismo Chicaiza-Arguero & López-Vélez (2020) mencionan las ventajas como la separación simple de productos en el medio, menor inhibición por sustrato, y mayor rentabilidad. Por otra parte, Azamar (2018) encontró mayor viabilidad y conservación de conidios de *Beauveria bassiana* reteniéndolos en matrices hechas de biopolímeros con alcohol polivinílico, conservando sus actividades enzimáticas y pudiendo almacenarse a temperatura ambiente.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización

El presente trabajo de investigación se realizó en la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla que se localiza a una altitud de 1617 m.s.n.m., 19°52'35" Latitud Norte y 97°22'02" Longitud Oeste, cuenta con una temperatura promedio anual de 15°C y una humedad relativa de 80% (INEGI, 2010).

5.2. Obtención de cepa *Beauveria bassiana*, larva de *Pieris brassicae* y tierra de diatomea

5.2.1. Obtención de *Beauveria bassiana*

Los aislados de *Beauveria bassiana* con número de acceso OM839761 fueron obtenidos de la colección de laboratorio de biología molecular de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias. Estos se descongelaron y se tomó una alícuota de 100 µL la cual fue colocada en medio líquido Agar Dextrosa Sabouraud para después meterse a una incubadora marca Shel Lab a 32 °C ± 2 por cinco días o hasta que se observó crecimiento de micelio. Posteriormente, se colectó el conidio con ayuda de una espátula y se formaron los tratamientos.

5.2.2. Obtención de larvas

Se utilizaron 90 larvas de *Galleria mellonella* de último instar, las cuales fueron obtenidas del Tecnológico Superior de Zacapoaxtla y 90 larvas de *Pieris brassicae* de último instar, las cuales se recolectaron de un cultivo de col ubicado en la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias, el cual fue infestado naturalmente y se llevaron a laboratorio de usos múltiples de la Facultad.

5.2.3. Obtención de tierra de diatomea

Esta fue adquirida con calidad grado alimenticio de origen orgánico micronizada, marcas: GOSA®, Echinocactus® y Lombriz MX® las se obtuvieron de diferentes casas comerciales.

5.3. Evaluación de daño sobre la cutícula de tres marcas de tierra de diatomea

Para la evaluación de la efectividad de los tres diferentes tipos de tierra se determinó el número de formas que presentaron cada una de ellas, con la finalidad de observar si la forma de los caparazones de las algas está relacionada con el daño sobre la cutícula y a su vez también determinar cuál de estas tuvo mayor efectividad. Para esto se prepararon tres soluciones de 600 mL de cada una de las marcas a las concentraciones de $0.01 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0.002 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0.001 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ en vasos de precipitado, de las cuales tomó una alícuota de $10 \text{ }\mu\text{L}$ y se colocó sobre una cámara de Neubauer y sobre ella un cubreobjetos, y con ayuda de un microscopio compuesto marca Leyca se cuantificó el porcentaje de las formas de los caparazones de algas presentes.

Posteriormente en cada una de las concentraciones se introdujeron 10 larvas de *Galleria mellonella* de último instar y fueron agitadas de manera manual durante 10 segundos dentro de la solución ([Vargas-Flores, 2003](#)).

Después de la inoculación las larvas se colocaron sobre trozos de Sanitas estériles húmedos y éstas a su vez en cajas Petri de 140x20 mm de capacidad. Después de haber transcurrido 48 horas de inoculación de las larvas, se realizó un corte de piel de 5 mm^2 de la parte dorsal y se sometió a un tratamiento de aclaramiento con la finalidad observar en el microscopio y determinar el porcentaje de daño sobre la cutícula.

5.4. Establecimiento del experimento

Una vez seleccionada la marca con mayor efectividad en daño, se procedió al establecimiento del experimento, el cual constó de dos apartados, uno utilizando *Galleria mellonella* y el otro utilizando *Pieris brassicae*.

5.4.1. Experimento con *Galleria mellonella*

Para el establecimiento de este experimento, fueron preparados los tratamientos ([Cuadro 2](#)) de la siguiente manera:

Tratamiento uno: En un matraz de 1000 mL se esterilizaron 600 mL de agua destilada en una autoclave a 120 °C por 15 minutos. Posteriormente se dejó enfriar, y de una caja Petri con crecimiento de *B. bassiana*. de 5 días de incubación, se colectaron esporas de conidios y se adicionaron al matraz hasta alcanzar una concentración de 1×10^6 conidios por mL, y el matríz se etiquetó con los datos correspondientes.

Tratamiento dos: En un matraz de 1000 mL se esterilizaron 600 mL de agua destilada y se adicionaron 6 gr de tierra de diatomea marca GOSA con la cual se obtuvo una concentración de 0.01 gr/mL^{-1} y se agitó con ayuda de un vortex de la marca Hermann hasta obtener una mezcla homogénea.

Tratamiento tres: Se pesaron 120 gr de alcohol polivinílico marca GOLDEN BELL y a  n  dieron en 600 mL de agua destilada estéril contenida en un matraz de 1 L de capacidad, posteriormente la solución fue calentada al punto de ebullición para permitir que el alcohol se disolviera, posterior a esto se esterilizó en una autoclave a 15 kpa y 121   C durante 15 minutos. Una vez reposada la solución, se adicionaron conidios de *Beauveria bassiana* de una caja Petri de 5 días de incubación hasta obtener una concentración de 1×10^6 conidios por mL de acuerdo con la metodología descrita por Barranco Florido *et al.*, (2009).

Tratamiento cuatro: Consistió en la combinación del tratamiento uno más el tratamiento dos, con los cuales se formuló una solución de 600 mL 1:1 contenida en un matraz de 1L de capacidad la cual se rotuló.

Tratamiento cinco: Se estableció una combinación del tratamiento dos más el tratamiento tres, con los cuales se formuló una solución de 600 mL 1:1 contenida en un matraz de 1L de capacidad y posteriormente se etiquetó.

Tratamiento seis: Este tratamiento sirvió como testigo y para su formación se utilizaron 600 mL de agua destilada estéril contenida en un matraz de 1L de capacidad.

Cuadro 2. Establecimiento de tratamientos y unidades experimentales

Tratamiento	Formulación
1	<i>Beauveria bassiana</i> (Bb) 1×10^6 UFC • mL ⁻¹
2	Tierra de diatomita (D) 1 mg • mL ⁻¹
3	<i>Beauveria bassiana</i> inmovilizada (BbI) 6%
4	<i>Beauveria bassiana</i> 1×10^6 UFC • mL ⁻¹ + Tierra de diatomita 1 mg • mL ⁻¹ (Bb+D)
5	<i>Beauveria bassiana</i> inmovilizada 6% + tierra de diatomita (BbI+D) 1 mg • mL ⁻¹
6	Agua destilada estéril (Testigo)

mL = mililitro, UFC = Unidades formadoras de colonia, mg = miligramo.

Una vez formados los tratamientos se colocaron por separado en un aspersor marca TRUPER de 3L de capacidad y fueron inoculadas por aspersión diez larvas de *Galleria mellonella* de último instar las cuales previamente habían sido colocadas sobre trozos de Sanitas estériles húmedos y éstas a su vez en cajas Petri de vidrio con capacidad de 140x20 mm. Adicionalmente se inoculadas cinco larvas de las mismas características por inmersión, de manera similar a como se realizó en la evaluación de daño sobre la cutícula de tres marcas de tierra de diatomea.

Después de 24 horas de la inoculación se determinó el porcentaje de mortalidad, y sobre la cutícula de *Galleria mellonella* el tiempo, y porcentaje de emergencia de conidios de *Beauveria bassiana*.

5.5. Experimento con *Pieris Brassicae*

De la misma forma que se prepararon los tratamientos para el experimento con *Galleria mellonella* se prepararon para este experimento con *Pieris brassicae*. Los tratamientos fueron aplicados con ayuda de una mochila de aspersión TRUPER© con capacidad de 3 L una presión constante de 38 PSI.

Se estableció un cultivo de col sobre un terreno de 405 m² dentro de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias. Posteriormente se esperó el ataque natural de larvas *Pieris brassicae* en el cultivo y su posterior recolección. Una vez recolectadas alrededor de 90 larvas se prosiguió a la preparación y posterior aplicación de tratamientos, preparados de la misma manera que en la fase de laboratorio y a partir de las 48 horas se estuvo determinando el tiempo y porcentaje de larvas muertas, el tiempo y porcentaje de conidios emergidos sobre la piel de la larva y el porcentaje de daño provocado sobre esta última.

5.6. Variables a evaluar

5.6.1. Porcentaje de mortalidad de larvas

Los valores de mortalidad de las larvas fueron ajustados por la fórmula de [Abbott, \(1925\)](#) con la finalidad de cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, posteriormente los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA).

$$\begin{aligned} & \text{Mortalidad corregida(\%)} \\ &= \frac{\%mortalidad\ del\ tratamiento - \%mortalidad\ del\ control}{100 - \%mortalidad\ del\ control} \times 100 \end{aligned}$$

5.6.2. Porcentaje de emergencia de conidios

La evaluación de la emergencia de conidios se realizó dentro de los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agrícolas Pecuarias, siguiendo la metodología de Berlanga Padilla & Hernández Velázquez, (2002). Par la cual, en cinco puntos de una caja Petri (100 x 15 mm) con agar SDA, se marcó un círculo, y sobre este se colocaron 2 µL de una suspensión de 1 x 10⁷ conidios/mL, posteriormente se colocaron cubreobjetos y cada hora, con ayuda de un microscopio compuesto Leyca, en cada punto se observó y registró la cantidad total de conidios, y el número de conidios germinados durante las siguientes 24 horas. De este modo, se obtuvo el valor promedio de los cinco puntos marcados, el cual representa la tasa de emergencia (porcentaje/hora). Se consideró como conidio emergente aquel que presentó una longitud del tubo germinativo al menos del tamaño del conidio.

El porcentaje de conidios germinados se calculó mediante la ecuación:

$$\% \text{ germinación} = \frac{\text{Número conidios germinados}}{\text{Número total de conidios}} \times 100$$

5.6.3. Tiempo de emergencia de conidios

De acuerdo con la metodología de porcentaje de emergencia de conidios se obtuvo el número de conidios germinados/hora registrando ambos datos a la par.

5.7. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.0 para Windows, así mismo se comprobó que los datos siguieran una distribución normal. En la evaluación de marcas de tierra de diatomea se utilizó un diseño factorial para conocer el efecto producido por las tres marcas de tierra, simultáneamente con tres concentraciones de cada una de ellas y se eligió la mejor marca comercial de tierra de diatomea con una prueba de comparación de medias Tukey con un $\alpha=0.05$.

En la primera evaluación con *Galleria mellonella* se determinó si existió variabilidad entre los tratamientos sobre el daño cuticular y mortalidad de larvas con una prueba de comparación de medias Tukey con un $\alpha= 0.05$, así mismos se determinó si existió relación con una prueba correlación de Pearson entre los resultados de daño sobre la cutícula del insecto y mortalidad de larvas con el porcentaje de formas encontrados en cada una de los tratamientos.

Para la segunda evaluación con *Pieris brassicae* se determinó si existió varianza significativa del porcentaje de larvas muertas y se determinó el tratamiento con el mejor efecto con una prueba de comparación de medias Tukey con un $\alpha= 0.05$.

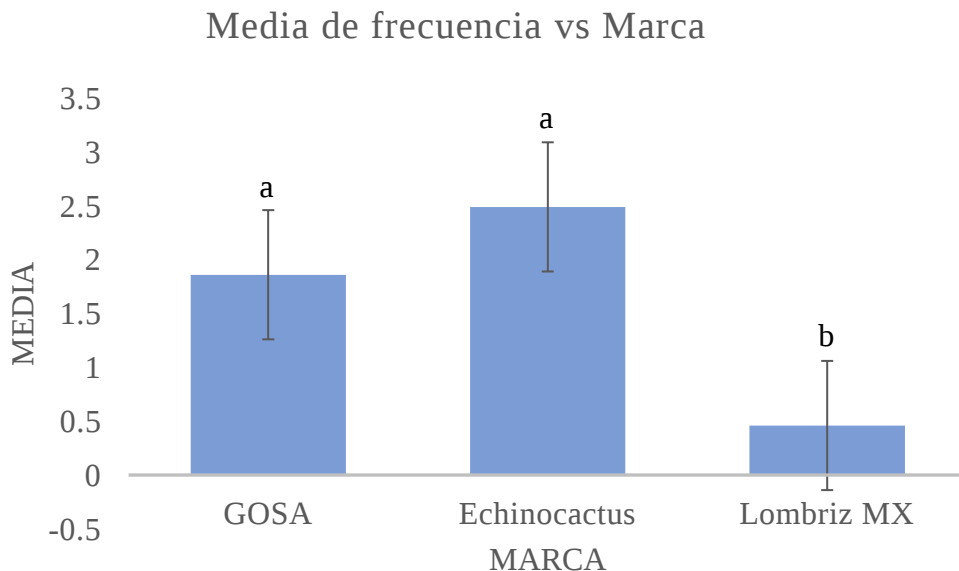
VI. RESULTADOS

6.1. Daño ocasionado por tres marcas de tierra de diatomea sobre la cutícula de *Gallería mellonella*.

6.1.1. Cantidad de formas de caparazón de algas presentes con respecto a la marca de tierra de diatomea.

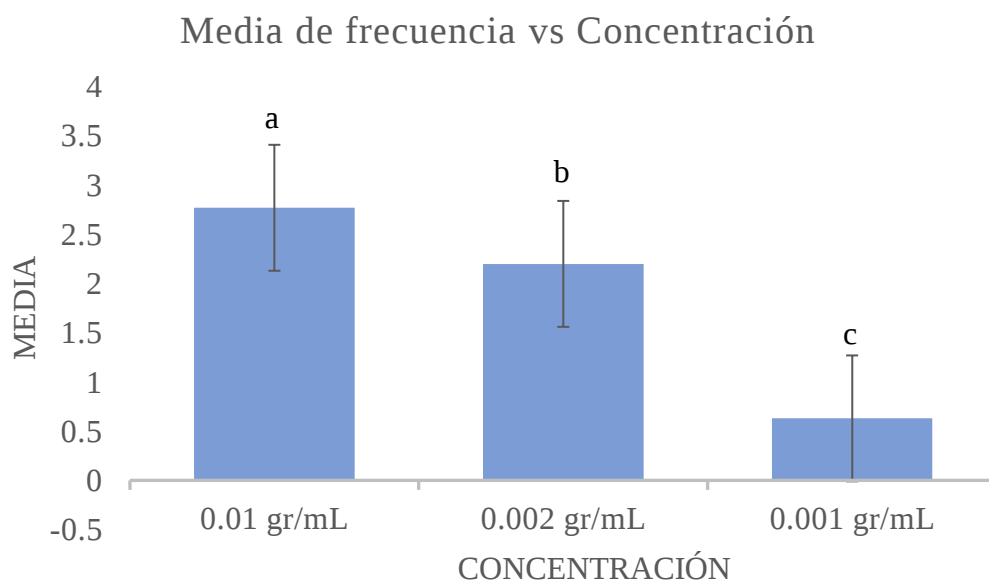
Los resultados del análisis estadístico no indicaron diferencias significativas entre las marcas y concentraciones de caparazones de tierra de diatomea. Sin embargo, la marca de tierra que tuvo una media más alta de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) en cuanto a cantidad de formas de caparazones de algas fue la marca Echinocactus a la concentración 0.01 g/mL, seguida de la marca Gosa a la concentración 0.01 g/mL, mientras la marca con menor presencia de caparazones de alga fue marca lombriz a concentración 0.001 g/mL ([Figura 1](#)).

En este mismo sentido se encontró que la concentración con la media más alta de formas de caparazones de algas para todas las marcas fue la concentración 0.01 g/mL, mientras que la media más baja la tuvo la concentración 0.001 g/mL ([Figura 2](#)). Este resultado es normal, ya que al subir la concentración de partículas se incrementa la cantidad de formas de caparazones dependiendo de la marca.



Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$);
Coeficiente de variación (CV) = 53.4

Figura 1. Media de frecuencia de cantidad de formas de caparazones de algas de acuerdo a marca de tierra de diatomea.



Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$);
 Coeficiente de variación (CV) = 27.4

Figura 3. Media de frecuencia de cantidad de formas de caparazones de algas de acuerdo con la concentración de tierra de diatomea.

De acuerdo con [Arnaud et al., \(2005\)](#) encontraron resultados similares al aplicar distintas formulaciones de tierra de diatomea a distintas concentraciones, corroborando que a mayor concentración, mayor es el daño provocado en el insecto.

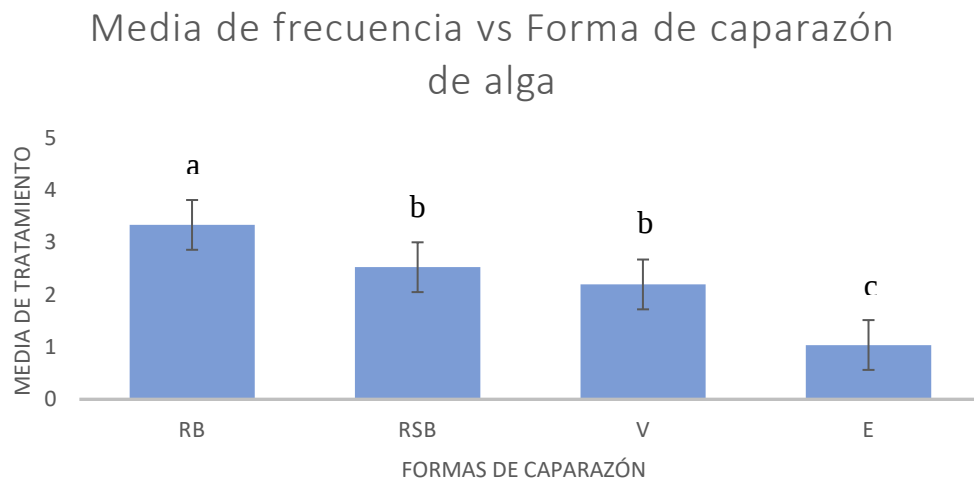
6.1.2. Descripción las formas de caparazón presentes en las tres marcas de tierra de diatomea.

Se encontraron 5 formas de caparazones de tierra de diatomea en total, las cuales fueron variadas entre ellas, la marca Gosa presentó dos formas de caparazones. La primera de forma fue radial con borde liso (RB) y la segunda de forma radial sin borde (RSB) ([Figuras 3a y 3b](#)). La marca Echinocactus que presento dos formas de caparazones una en forma de varilla (V) y otra en forma de elipse (E) ([Figuras 3c y 3d](#)).



Figura 5. Formas de caparazones de algas presentes en tres marcas de tierra de diatomea. (A) Forma radial con borde liso RB. (B) Forma radial sin borde RSB. (C) Forma de varilla V. (D y E) Forma de elipse E.

Por otro lado, el análisis estadístico del número de formas de caparazón encontradas indicó diferencias significativas entre estas ($P \leq 0.05$), la media de frecuencia más alta fue la forma Radial con Bordo (RB), seguida de la forma Radial sin Bordo (RSB), ésta última siendo diferente a su vez de la forma Elipse (E) cuya media fue la menor ([Figura 4](#)).



Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$);
Coeficiente de variación (CV) = 14.5

Figura 6. Media de frecuencia de acuerdo a las formas de caparazones encontradas, medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

De acuerdo con [Colín et al., \(2013\)](#) los patrones de los caparazones son específicos y se encuentran determinados genéticamente, de esta manera podremos tener una amplia variedad de formas en la tierra de diatomea y dependiendo de esta se tendrá mayor o menor efectividad. Así mismo, [Nattrass et al., \(2015\)](#) mencionan que la variabilidad de formas de caparazones presentes en la tierra de diatomea también depende del lugar de donde fueron extraídas.

6.1.3. Relación entre el porcentaje de manchas sobre la cutícula de *Galleria mellonella* y la cantidad de formas presentes de acuerdo con la marca de tierra de diatomea

Se observó bajo microscopio óptico a 40X presencia de manchas como signo de daño provocado por los caparazones de las tres marcas de tierra, encontrando en mayor cantidad debajo del abdomen de las larvas, su tonalidad fue mayormente café oscuro y de distintos tamaños ([Figura 5](#))

La marca GOSA a concentración 0.01 fue la que obtuvo un mayor porcentaje de manchas sobre la cutícula de la larva de *Galleria mellonella* (100%), seguida de la marca Echinocactus a la misma concentración con un 77%, mientras que la que obtuvo menor porcentaje de daño fue la marca LombrizMX a una concentración de 0.001 g/ml con 44% ([Tabla 3](#)). Así mismo los niveles de daño encontrados podrían estar relacionados al tamaño y pureza del producto de tierra de diatomea, lo cual es sustentado por [Alves et al., \(2017\)](#), ya que se observó que mientras mayor fue la calidad y pureza mayor fue su efectividad. Sin embargo, el tamaño y pureza de partícula por sí mismos no son suficientes para explicar la diferencia en eficacia de las formulaciones de tierra de diatomea.

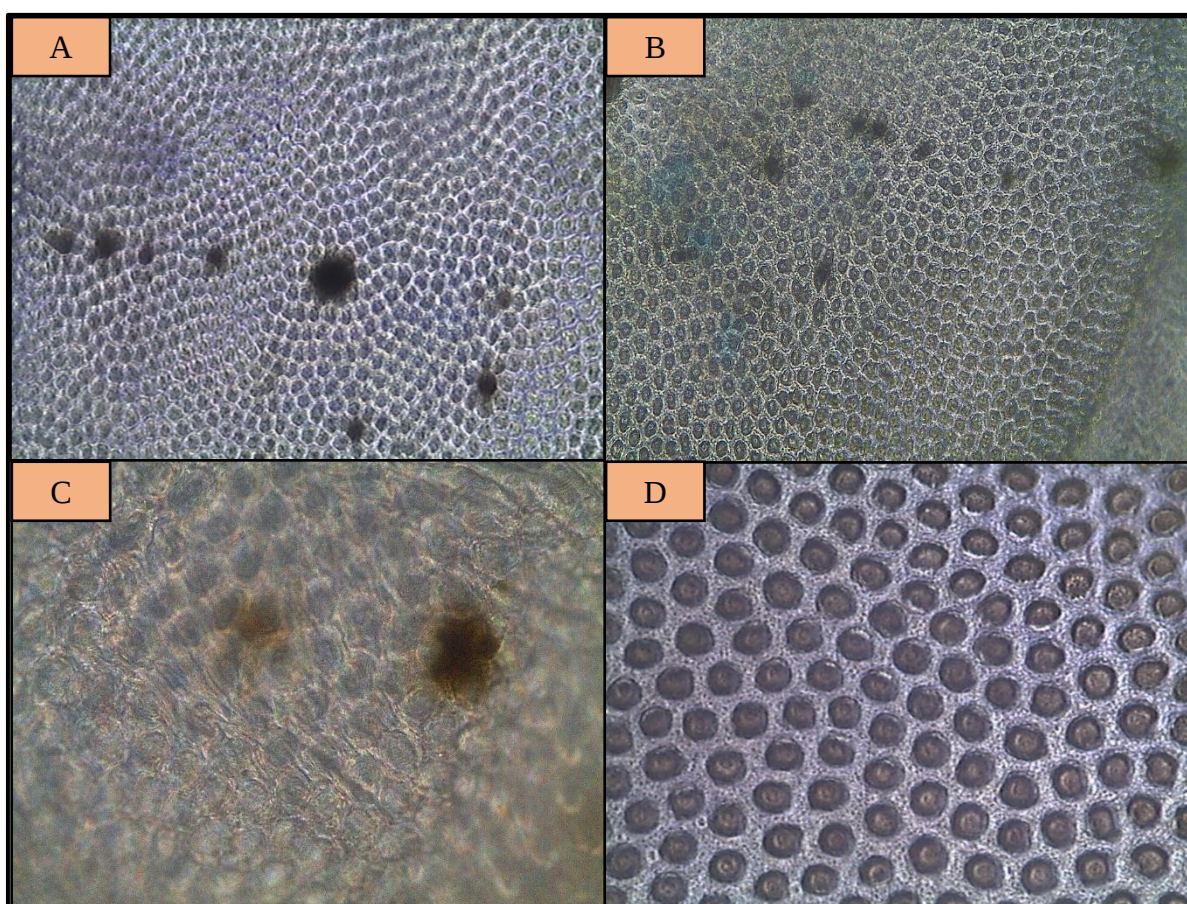


Figura 7. Manchas presentes sobre cortes de cutícula de *Galleria mellonella*. (A) Daño provocado por los caparazones de algas encontrados en la marca GOSA sobre la cutícula del abdomen. (B) Daño provocado por los caparazones de algas encontrados en la marca Echinocactus sobre la cutícula del abdomen. (C) Daño provocado por los caparazones de algas encontrados en la marca LombrizMX sobre la cutícula de la parte dorsal (D) Piel de testigo.

Cuadro 3. Porcentaje larvas que presentaron manchas sobre la cutícula a las 120 hrs.

Marca	Concentraciones (g·mL ⁻¹)		
comercial	0.01	0.002	0.001
GOSA©	100%	77%	66%
Echinocactus©	77%	75%	55%
Lombriz MX©	50%	55%	44%

De acuerdo con el análisis de correlación entre el número de manchas observadas por campo de microscopio y el número de formas de caparazón por cada tratamiento, se obtuvo una correlación positiva de 0.768, mientras que el coeficiente de determinación fue igual a $R^2 = 0.59$ ([Figura 6](#)), lo que indica una correlación débil entre las variables, lo cual puede observarse en la línea de tendencia.

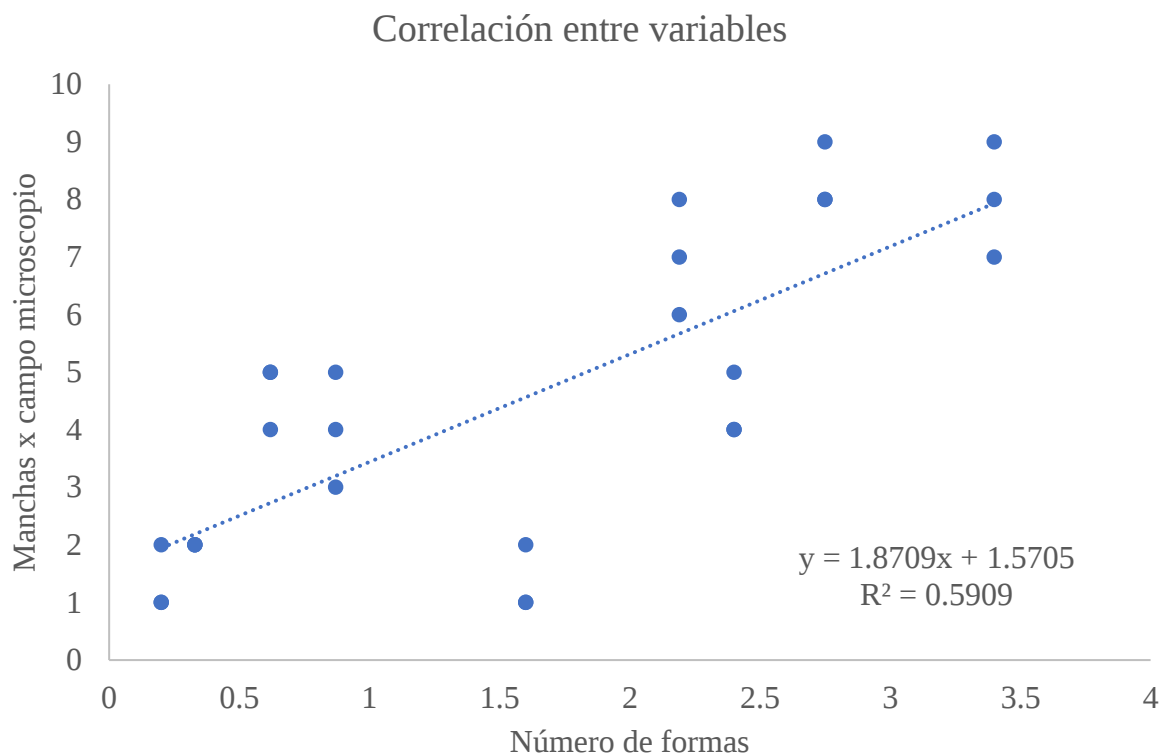


Figura 9. Correlación entre el número de formas de caparazones de algas presentes en tres marcas de tierra de diatomea y el porcentaje de manchas presentes sobre la cutícula de *Galleria mellonella*.

A diferencia de [Zeni et al., \(2021\)](#) quienes encontraron que los caparazones con formas agudas causan mayor daño sobre la piel de insectos, en este estudio el mayor daño sobre la cutícula de *Galleria mellonella* se obtuvo con la tierra con mayor cantidad de caparazones de formas radiales, esto puede deberse al tipo de contacto que se establece entre la superficie de los caparazones radiales y la piel del insecto, así como mencionan entre más uniforme es el relieve de las partículas de tierra mayor será la adherencia a la cutícula del insecto. Al respecto ([Korunic, 1998](#)); ([Korunic, 2013](#)) menciona que además de la forma, la uniformidad y el pH intervienen de igual manera en la eficacia del producto y esta última varía desde las 300 a las 1000 ppm aumentando mientras aumenta la concentración, y depende del tipo de insecto que se esté controlando.

6.2. Porcentaje y tiempo de emergencia de conidios de *Beauveria bassiana* como resultado de los tratamientos sobre la cutícula de *Galleria mellonella*.

Debido a la poca visibilidad de conidios adheridos a la piel de *Galleria mellonella* no se pudo calcular el porcentaje de germinación, sin embargo, se pudieron observar que algunas larvas presentaron emergencia de conidios de *Beauveria bassiana* ([Figura 7a y 7b](#)). De este modo se pudo confirmar que existió infección a través de la piel de la larva, debido a que se presentó micelio a partir de las 48h de inoculación ([Figura 7c y 7d](#)).

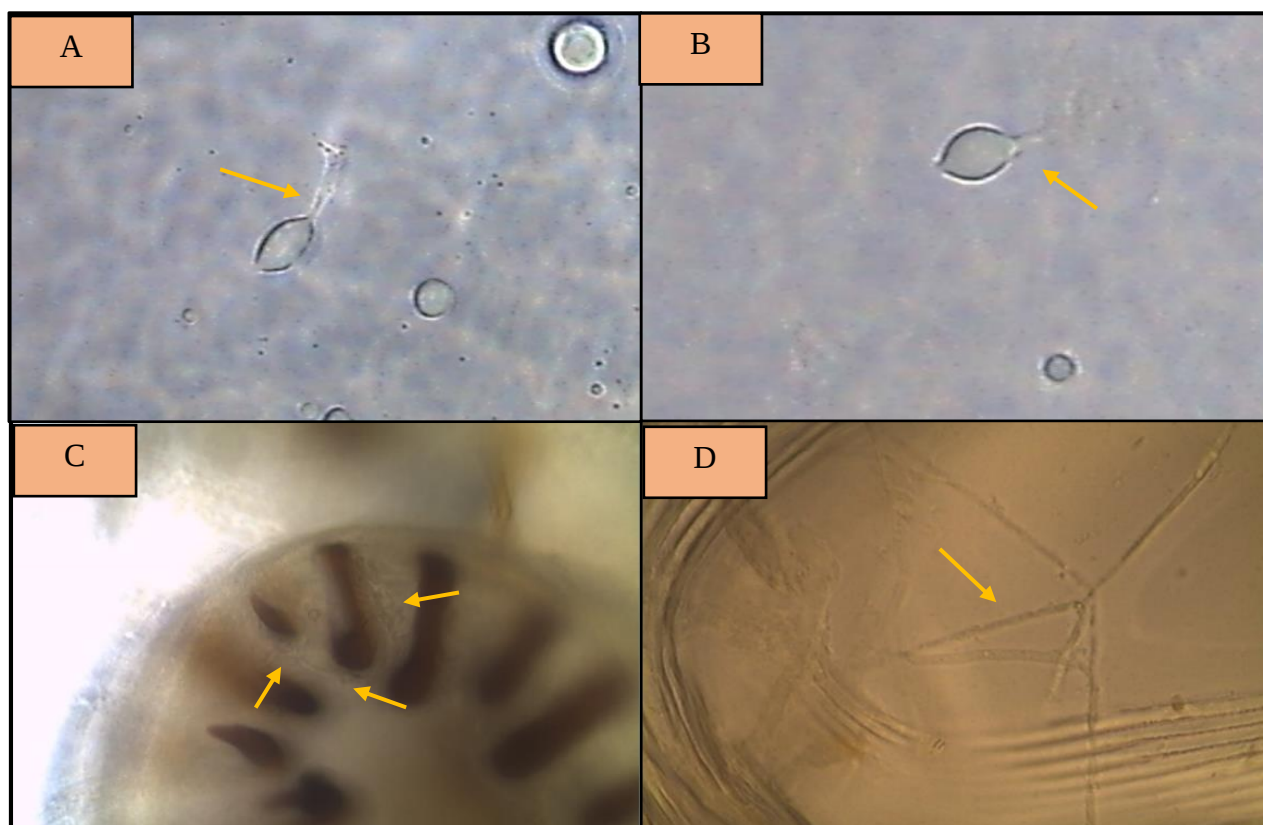
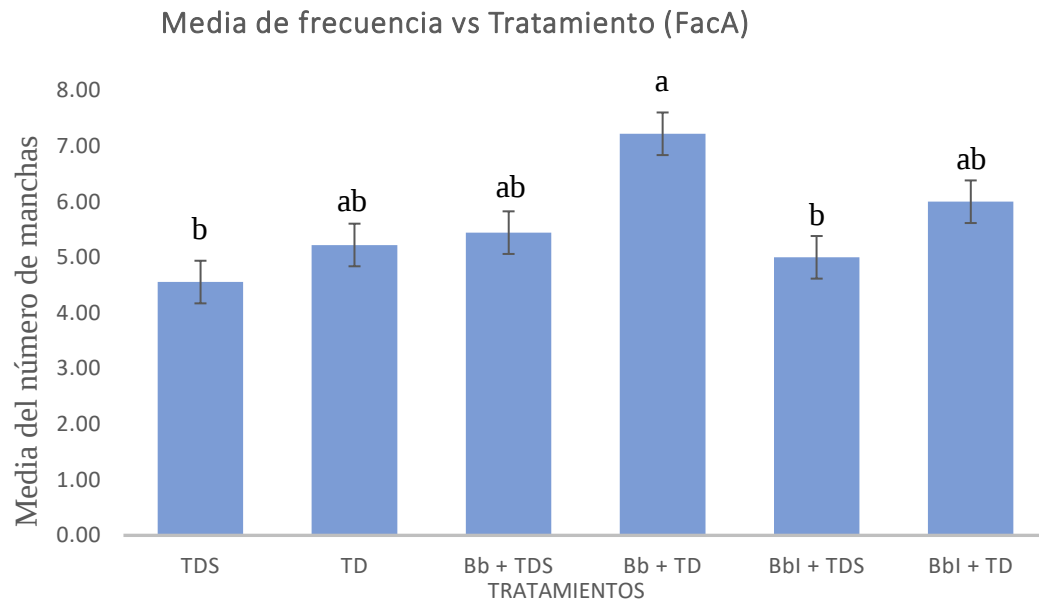


Figura 11. Presencia de *Beauveria bassiana* sobre la piel de *Galleria mellonella*. (A y B) Conidios emergidos sobre la piel de *Galleria mellonella* a las 48h. (C) Presencia de micelio en la base de las propatas de *Galleria mellonella*. (D) Micelio de *Beauveria bassiana* después de 72h de inoculación.

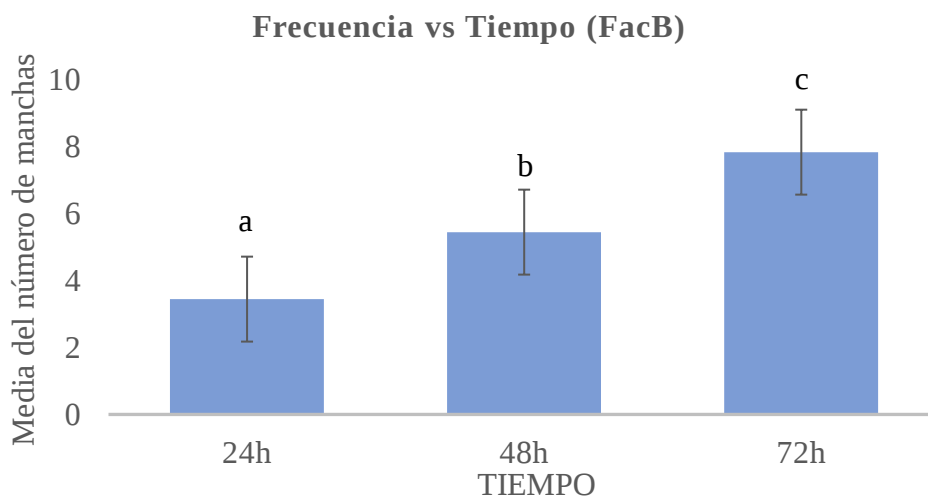
No obstante, a pesar que no se logró calcular el porcentaje de emergencia de conidios, se observó el número de manchas provocadas por los tratamientos formulados, encontrando diferencia estadística significativa entre tratamientos (FacA) con respecto al número de manchas presentes ($P \leq 0.01$) ([Figura 8](#)) y de acuerdo con la comparación de medias Tukey, el mejor tratamiento fue *Beauveria bassiana* + Tierra de diatomea aplicado por aspersión (Bb+TD), seguido del tratamiento de la combinación de *Beauveria bassiana* inmovilizada en alcohol polivinílico y tierra de diatomea, de acuerdo con [Wakil et al., \(2021\)](#) el efecto positivo de la combinación de tierra de diatomea y *Beauveria bassiana* ha sido comprobado, sin embargo, en este estudio se observó un menor efecto de la formulación de tierra de diatomea y *Beauveria bassiana* inmovilizada en alcohol polivinílico, lo cual tiene que ver con la inmovilización no solo de la espora, sino también de las partículas de tierra de diatomea que no realizan la función abrasiva al evitar el contacto de su superficie con la de la cutícula del insecto, como lo afirma [Liauw et al., \(2020\)](#) que las características químicas y fisicoquímicas de la superficie del alcohol polivinílico influyen la unión de los conidios a esta. Así mismo estos mismos autores afirman que los encapsulados en seco han dado buenos resultados en cuanto a la adhesión y retención de los conidios sobre la superficie, estas formulaciones también ayudarían a la acción abrasiva de las partículas de tierra de diatomea sin quedar atrapadas como en las formulaciones líquidas. Por otra parte, de acuerdo con [Zeni et al., \(2021\)](#) indican que la interacción entre la superficie de aplicación influye en la eficacia, ya que al quedarse las partículas sobre la superficie hay mayor contacto con esta y los insectos recogen más fácilmente estas partículas, mientras que, si la formulación es aplicada por inmersión, la larva no tiene suficiente tiempo y superficie para que las partículas se adhieran a la cutícula. En este sentido el mejor tratamiento fue *Beauveria bassiana* + Tierra de diatomea aplicada por aspersión, en la cual las partículas además de entrar en contacto con el insecto entran en contacto con la superficie de la caja Petri donde se colocaron, a diferencia de la aplicación por inmersión donde las partículas sólo adhieren sobre la superficie del insecto.



Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$);
Coeficiente de variación (CV) = 26.9

Figura 12. Media de frecuencia de número de manchas provocadas por daño con respecto al tratamiento.

A sí mismo se encontró diferencia estadística significativa entre el tiempo (FacB) con respecto al número de manchas presentes ($P \leq 0.0001$) y de acuerdo con la comparación de medias Tukey, la hora en que se presentó mayor número de manchas fue a las 72h ([Figura 9](#)).



Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$);
Coeficiente de variación (CV) = 22.96

Figura 14. Media de frecuencia del número de manchas provocadas por daño con respecto al tiempo.

6.3. Tiempo y porcentaje de mortalidad de *Galleria mellonella* y *Pieris brassicae* después de aplicar los conidios de *Beauveria bassiana* encapsulados y los cristales de diatomitas.

Cuadro 4. Porcentaje de mortalidad por efecto de los tratamientos en larvas de *Galleria mellonella* y *Pieris brassicae*

Tratamiento	<i>Galleria mellonella</i>		<i>Pieris brassicae</i>
	Sumergido	Asperjado	Asperjado
T1 (Bb)	80.0%	70.1%	34.1%
T2 (TD)	10.0%	40.0%	25.0%
T3 (BbI)	0.0%	50.1%	42.1%
T4 (Bb + TD)	40.0%	20.0%	17.0%
T5 (BbI + TD)	40.0%	60.1%	42.1%

De acuerdo con los resultados de porcentaje de mortalidad de larvas el tratamiento más efectivo fue el formulado como solución de conidios en agua destilada (T1) mediante la aplicación de inmersión a diferencia del testigo, mientras que el tratamiento de *Beauveria bassiana* inmovilizada en matrices de alcohol polivinílico junto con la tierra de diatomea (T5) alcanzó únicamente el 40% mediante la misma aplicación, sin embargo, al cambiar el método de aplicación este último tratamiento incrementó la mortalidad de larvas hasta un 60% (Cuadro 4). Hasta el momento la efectividad de aislados de *Beauveria bassiana* ya ha sido documentada por [Ozdemir et al., \(2020\)](#), así mismo [Nazzaro et al., \(2012\)](#) señalan las ventajas del alcohol polivinílico usado como recubrimiento de diferentes materiales, por ejemplo conidios de hongos, en las cuales se ha tenido éxito prolongando la vida útil de estos ([Wenzel et al., 2017](#)), sin embargo [Zeni et al., \(2021\)](#) indican que las formulaciones líquidas con la tierra de diatomea resultan ser menos efectivas que las formulaciones en polvo. Así mismo se pudo observar la comparación entre la mortalidad de las dos diferentes especies de larvas, en donde el tratamiento más efectivo en *Pieris b.* fue la formulación de conidios de *Baeuveria b.* inmovilizados junto con tierra de diatomea (T5) con un 40%, mientras que el mismo tratamiento probado en *Galleria m.* obtuvo hasta un 20% más de mortalidad. Por otro lado el tratamiento menos efectivo en ambas especies fue la formulación de conidios de *Beauveria b.* y tierra de diatomea (T4) ([Figura 10](#)).

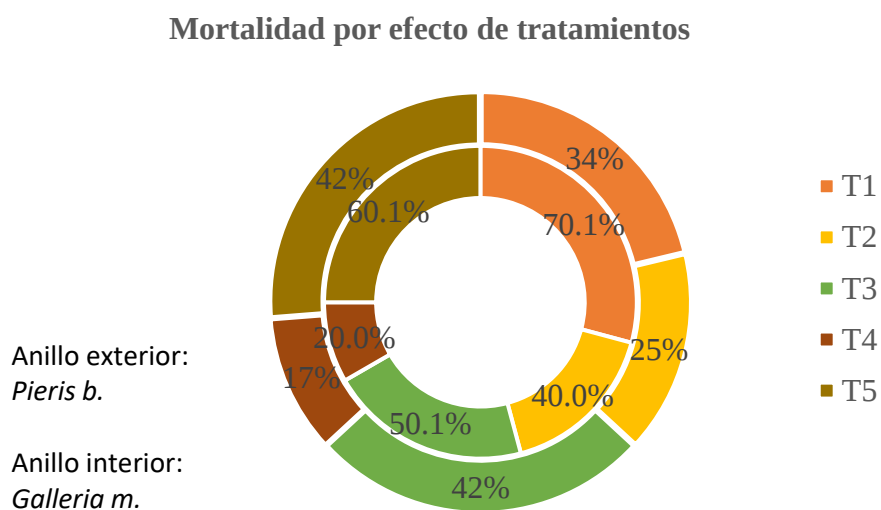


Figura 15. Porcentaje de mortalidad en ambas especies de larvas a las 120h de la inoculación de tratamientos.

De acuerdo con [Dhawan & Joshi, \(2017\)](#) la máxima mortalidad en larvas de *Pieris brassicae* obtenida después de diez días de la inoculación fue de 86.6% a una concentración de 1×10^9 conidios/mL, mientras que cuando se inoculó 1×10^7 conidios/mL se obtuvo una mortalidad de 30%, es decir se disminuyó más de la mitad en mortalidad. En este estudio se obtuvo mejor resultado utilizando una concentración de 1×10^6 , en donde la máxima mortalidad fue de 34% después de 6 días ([Figura 11b y 11c](#)), 4% más considerando que la concentración fue menor. Así mismo se presentó micosis producto de la esporulación de *Beauveria bassiana* a través de la cutícula después de los 6 días de la inoculación ([figura 11a y 11b](#)).

Así mismo mayor porcentaje de mortalidad (70%) se obtuvo con larvas de *Galleria mellonella*, de acuerdo con [Gençer & Bayramoğlu, \(2022\)](#) se han obtenido un máximo de 96.54% de mortalidad después de diez días de la inoculación con una concentración de 1×10^9 , así mismo sus resultados obtenidos en mortalidad a la concentración de 1×10^6 fueron de 60%, 10% menos que los obtenidos en este estudio ([Figura 11](#)).

En este estudio se pudo observar la diferencia en mortalidad en *Pieris brassicae* y *Galleria mellonella* haciendo énfasis en la susceptibilidad de esta última. De acuerdo con [Vertyporokh et al., \(2020\)](#) la susceptibilidad de *Galleria mellonella* se ve expresada al presentar melanización sobre la cutícula como se observó en este estudio, donde la mayor melanización se presentó en el abdomen y patas de las larvas ([figura 12](#)), así mismo se observó emergencia de micelio blanco producto de la esporulación de *Beauveria bassiana* después de 72h de la inoculación ([Figura 12a](#))

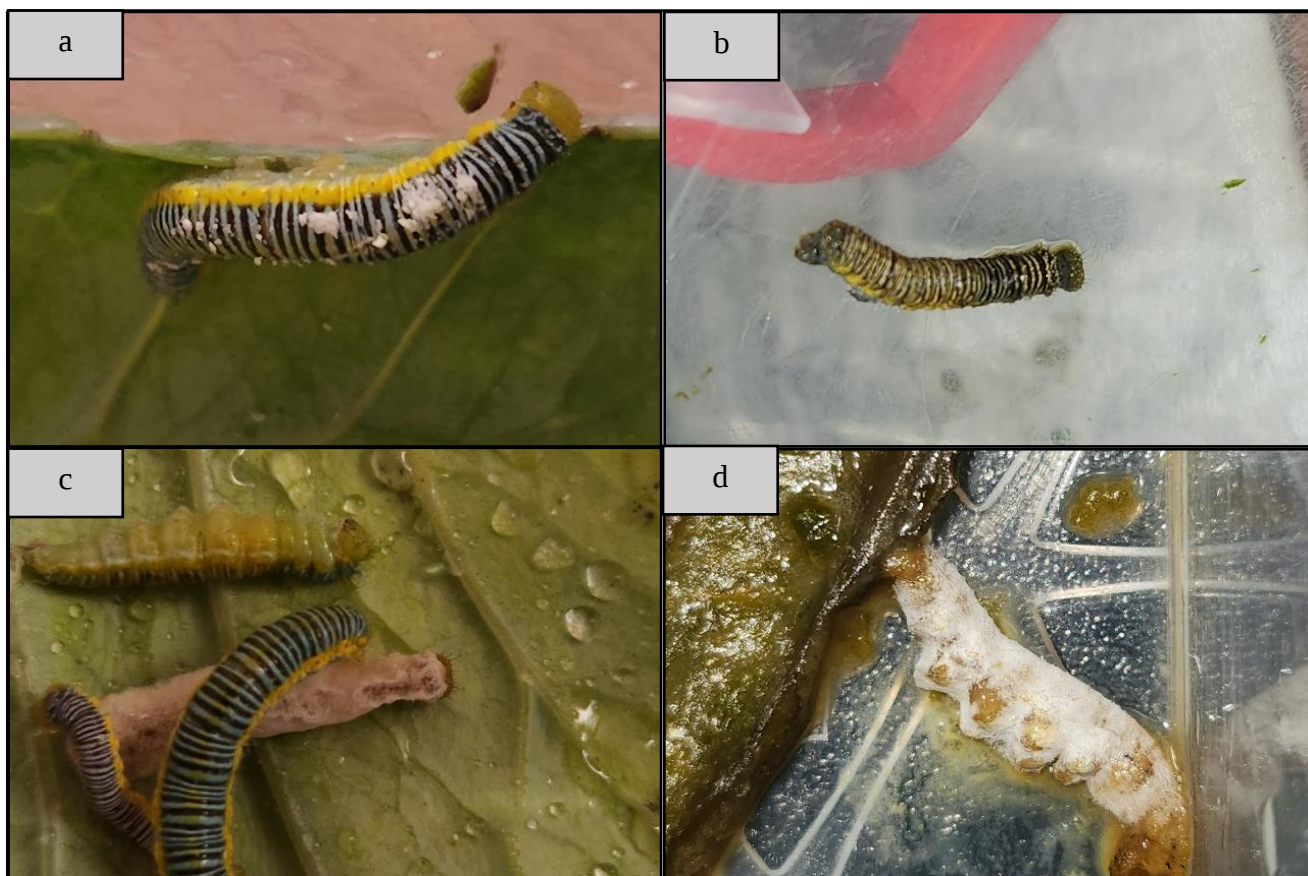


Figura 16. Mortalidad en larvas de *Pieris brassicae* tras inoculación de tratamientos. (A y D) presencia de micosis por el hongo *Beauveria bassiana*. (B y C) Iniciado el proceso de descomposición de larva muerta.

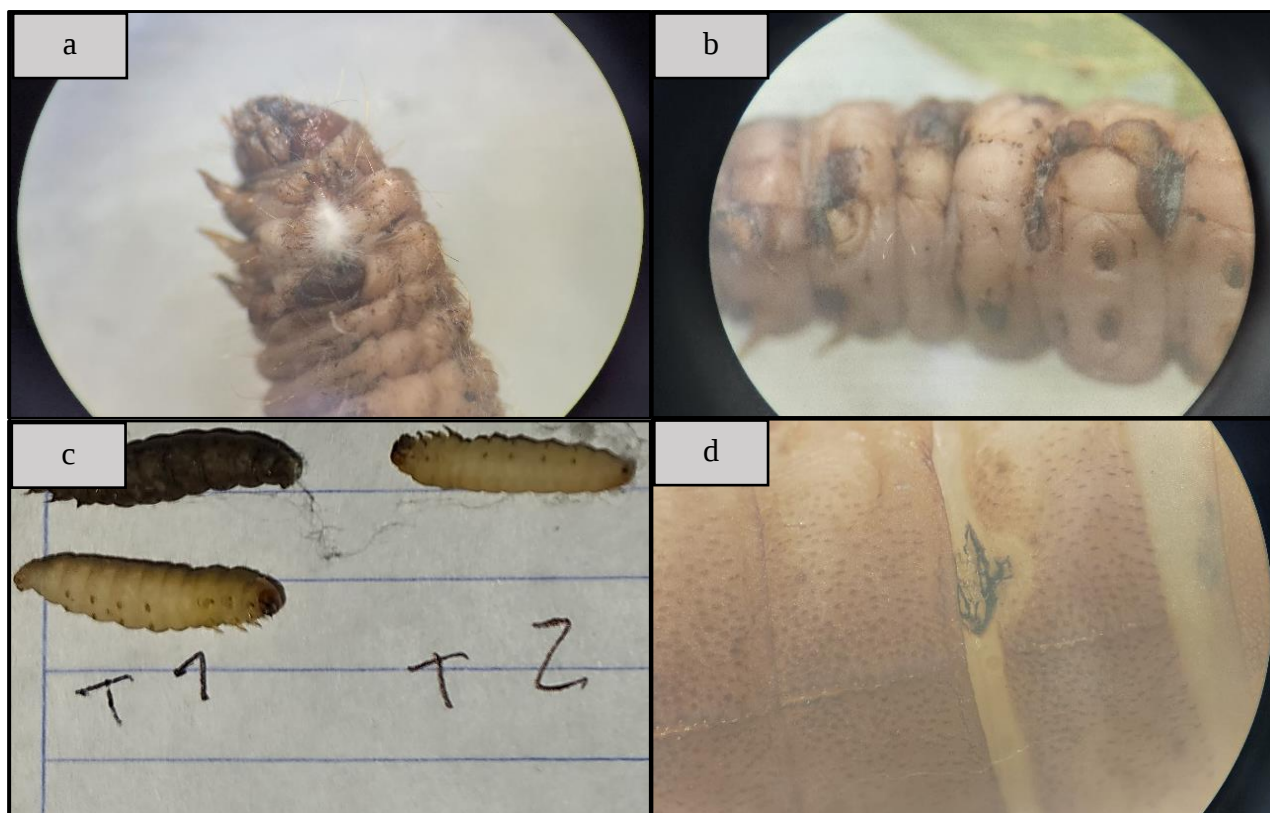


Figura 17. Mortalidad en larvas de *Galleria mellonella* tras inoculación de tratamientos. (A y B) presencia de micosis a través de la cutícula por el hongo *Beauveria bassiana*. (C) Iniciado el proceso de descomposición de larva muerta. (D) Herida sobre la cutícula de la parte ventral, dando inicio al proceso de micosis.

No obstante, a pesar que el tratamiento de *Beauveria bassiana* inmovilizada en alcohol polivinílico con tierra de diatomea (T5) obtuvo un porcentaje de mortalidad máximo de 42% en *Pieris brassicae* y 60% en *Galleria mellonella*, no superaron la expectativa de efectividad en el estudio, como ya se mencionó en el apartado 6.2 los factores que afectad la efectividad de emergencia de conidios y efectividad de caparazones de tierra de diatomea fueron determinantes en el resultado de mortalidad obtenida en este estudio para este tratamiento.

VII. CONCLUSIÓN

La cantidad y forma de los caparazones de tierra de diatomea fueron determinantes con respecto a al daño provocado sobre la cutícula de *G. mellonella*, lo que sugiere la utilización de productos a base de tierra de diatomea con alto grado de pureza, la cual asegurará su eficacia como producto de control biológico de larvas.

Como recomendación para observar el tiempo y emergencia de conidios de *Beauveria bassiana* sobre la piel de *Galleria mellonella* se sugiere la utilización de un microscopio electrónico de barrido para la obtención de buenos resultados. Así mismo el daño provocado por conidios y las partículas de tierra de diatomea se pueden observar con mayor presencia en el abdomen y patas de la larva, los cuales se pueden contabilizar al no obtener resultados de emergencia de conidios.

La aplicación de la suspensión de conidios de *Beauveria bassiana* es mejor que la aplicación del formulado en forma líquida de conidios inmovilizados en alcohol polivinílico y tierra de diatomea, debido que al inmovilizar el conidio también se inmoviliza las partículas de tierra de diatomea, a diferencia de las formulaciones en polvo que permiten la acción abrasiva de los caparazones de tierra de diatomea sobre la cutícula del abdomen de larvas de *Pieris brassicae* y *Galleria mellonella*. Se recomienda la utilización de al menos dos especies de insectos para observar de mejor manera el efecto de formulados biológicos, ya que se podrán obtener resultados más confiables.

A pesar del menor efecto del formulado en líquido de conidios de *Beauveria bassiana* en alcohol polivinílico y tierra de diatomea cuando se aplicó por inmersión, se recomienda la aplicación por aspersión, ya que en esta se logró una mayor efectividad.

Se sugiere el desarrollo de investigaciones en formulados el polvo para observar el efecto sinérgico de tierra de diatomea junto con conidios de *Beauveria bassiana* inmovilizados en matrices de alcohol polivinílico.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, W., Javed, N., Haq, I. U., & Ahmed, S. (2021). Pathogenicity of ENTOMOPATHOGENIC nematodes against cabbage butterfly (*PIERIS BRASSICAE*) LINNAEUS (LEPIDOPTERA: PIERIDAE) in laboratory conditions. *International Journal of Tropical Insect Science*, 41(1), 525-531. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00236-2>
- Abbott, W. S. (1925). A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Alves, L. F., Martins, C., Nardelli, M., & Alves, V. (2017). In vitro assay and morphological characterization of a new product based on diatomaceous earth for lesser mealworm control in poultry houses. *Arquivos Do Instituto Biológico*, 84. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000782015>
- Arnaud, L., Tran Thi Lan, H., Brostaux, Y., & Haubruge, E. (2005). Efficacy of diatomaceous earth formulations admixed with grain against populations of *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research*, 41(2), 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2003.09.004>
- Askary, T., & Ahmad, M. (2020). Efficacy of entomopathogenic nematodes against the cabbage butterfly (*Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) infesting cabbage under field conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30, 39. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00243-y>
- Azamar Jiménez, I. J. (2018). Encapsulación de *Beauveria bassiana* en biomateriales a base de polímeros. [UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN]. https://www.unpa.edu.mx/tesis_Tux/tesis_digitales/maestria_biotechnologia/MB33-_AZAMAR_JIMENEZ_IVONNE_JANETH.pdf

- Bacca, T., & Lagos B., T. C. (2014). EFECTO DE *Beauveria bassiana* y DEL ENTOMONEMATODO *Steinernema* sp. SOBRE LARVAS DE *Galleria mellonella*. Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural, 18(1), 247-258.http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-30682014000100018&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Barranco Florido, E., Bustamante Camilo, P., Mayorga-Reyes, L., González Cervantes, R., Martínez Cruz, P., & Azaola, A. (2009). B-n-acetylglucosaminidase production by *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii* ATCC 26854 by solid-state fermentation utilizing shrimp shell. *Interciencia*, 34(5), 356-360.http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0378-18442009000500011&lng=es&nrm=iso&tlng=en
- Barrios Díaz, B., Alatorre Rosas, R., & Bautista Martínez, N. (2004). Identificación y fluctuación poblacional de plagas de col (*brassica oleracea* var. *Capitata*) y sus enemigos naturales en Acatzingo, Puebla. *Agrociencia*, 38(2), 239-248.<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30238211>
- Berlanga Padilla, A. M., & Hernández Velázquez, V. H. (2002). Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de *Metarhizium anisopliae*, *M. a. Var. Acridum* y *Beauveria bassiana* en *Schistocerca piceifrons piceifrons*.
<https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6115>
- Cáceres Moreno, K. K. (2017). Evaluación de dos formulaciones de fertilización química en forma edáfica en dos épocas de aplicación, con tres dosis de fertilización foliar, en el cultivo de cebolla colorada (*Allium cepa*. Var. Burguesa).
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/7651>
- Carrera, L. A. (2017). *Encapsulación de Trichoderma asperellum en partículas biopoliméricas con quitosanos de diferentes pesos moleculares para el control biológico de Moniliophthora roreri*. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/6805>

- Cai, C.-X., Xu, J., Deng, N.-F., Dong, X.-W., Tang, H., Liang, Y., Fan, X.-W., & Li, Y.-Z. (2016). A novel approach of utilization of the fungal conidia biomass to remove heavy metals from the aqueous solution through immobilization. *Scientific Reports*, 6, 36546. <https://doi.org/10.1038/srep36546>
- CEDRSSA. (2020, abril 21). *Análisis de la producción y consumo de hortalizas*. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. http://www.cedrssa.gob.mx/post_n-annolisis_-n-_de_la__-n-produccinin_-n-_y__-n-consumo_-n-_de__-n-hortalizas_-n.htm
- Colín, M., Heredia, A., & Dos Santos, C. (2013). SÍLICE DE LAS ALGAS DIATOMEAS (CLASE Bacillariophyceae) COMO MATERIAL COMPLEJO Y SU IMPORTANCIA NANOTECNOLÓGICA. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida*, 17(1), 5-15. <https://www.redalyc.org/pdf/4760/476047401001.pdf>
- Castillo, S. L., Alvarado, J. M., Macías E, R.-B. P., & Candelas-Cadillo Ma.G, G. C. T. (2017). DISEÑO DE MICROCÁPSULAS DE ALGINATO CON MATRIZ PREBIÓTICA DE ALOE VERA PARA LA ENCAPSULACIÓN DE *Lactobacillus plantarum*. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2, 531-536. <https://docplayer.es/57357486-Diseno-de-microcapsulas-de-alginato-con-matriz-prebiotica-de-aloe-vera-para-la-encapsulacion-de-lactobacillus-plantarum.html>
- Chicaiza Arguero, P. A., & López Vélez, A. M. (2020). Inmovilización microbiana en alginato de calcio para la producción de vinagre a partir del mucílago de cacao CCN-51 [Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/50329>

- Cıncıvız, Ganime, Mutlu, Çetin, Poljoprivreda i Sumarstvo, & Titograd. (2020). EFFECTIVENESS OF SOME NATIVE DIATOMACEOUS EARTH AGAINST MAIZE WEEVIL, SITOPHILUS ZEAMAI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), UNDER CONTROLLED CONDITIONS. The Journal «Agriculture and Forestry», 66(4), 151-162.
<https://www.proquest.com/openview/7988847870f9e995a5ecf9e5fa550ec5/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1446337>
- Consultoría en Desarrollo Urbano y Ecología. (2021). ORDENAMIENTO TERRITORIAL DE TEZIUTLÁN, PUEBLA (N.o 1; pp. 22-50). Gobierno municipal.
<https://teziutlan.gob.mx/Archivos/ContenidoNavegacion-22173.pdf>
- del Puerto, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1561-30032014000300010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Dhawan, M., & Joshi, N. (2017). Enzymatic comparison and mortality of *Beauveria bassiana* against cabbage caterpillar *Pieris brassicae* LINN. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(3), 522-529. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.08.004>
- Díaz Romero, H. (2019). Evaluación de la adaptabilidad de tres variedades de cultivo de col (*Brassica* sp.), en el distrito de Lamas [UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO]. <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3448>
- Ding, J., & Lai, Y. (2018). Identification of highly pathogenic *Beauveria bassiana* strain against *Pieris rapae* larvae. *Entomological Research*, 48(5), 339-347.
<https://doi.org/10.1111/1748-5967.12295>
- Fahey, J. W. (2015). Brassica: Characteristics and Properties. *Encyclopedia of Food and Health*, 469-477. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00083-0>

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). Cabbage [Org]. FAO.
<http://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/cabbage/en/>
- Ganime, C., Mutlu, Çetin, Poljoprivreda i Sumarstvo, & Titograd. (2020). EFFECTIVENESS OF SOME NATIVE DIATOMACEOUS EARTH AGAINST MAIZE WEEVIL, SITOPHILUS ZEAMAI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), UNDER CONTROLLED CONDITIONS. *The Journal «Agriculture and Forestry»*, 66(4), 151-162. <https://doi.org/10.17707/AgricultForest>
- Garibay, S. V. (2003). La investigación en la agricultura orgánica y su importancia. iii Encuentro costarricense de agricultores experimentadores e investigadores en producción orgánica, Alajuela, Costa Rica. <https://orgprints.org/id/eprint/2683/>
- Gençer, D., & Bayramoğlu, Z. (2022). Characterization and pathogenicity of Beauveria bassiana strains isolated from *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) in Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1), Art. 1.
<https://doi.org/10.1186/s41938-022-00599-3>
- González, M. (2017, julio 27). La Agricultura Orgánica en México. *Mexicampo*.
<https://www.mexicampo.com.mx/la-agricultura-organica-en-mexico-2/>
- González-Cadena, T. E. (2020). *Identificación molecular, encapsulación y patogenicidad de Metarhizium anisopliae sobre Scyphophorus acupunctatus* [Instituto Politécnico Nacional]. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/27899>
- González-Santarosa, M. G., Salazar-Torres, J. C., Jaimes-Albíter, F., Ramírez-Alarcón, S., & González-Santarosa, R. (2010). Eficacia de Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin en el control de Lygus lineolaris (Palisot de Beauvois) en fresa. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 16(3), 189-

193.http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1027-152X2010000300007&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Helga Willer. (2021). The World of Organic Agriculture. FAO. <http://www.fao.org/family-farming/detail/es/c/1378841/>

Huerta, J. (2018). *Desarrollo de geles mucílago de nopal – alginato de sodio conteniendo aceite de ajonjolí mediante gelación iónica* [Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/104755>

INAFED. (2020). Puebla—Teziutlán [..Gob]. Enciclopedia de Los Municipios y Delegaciones de México. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21174a.html>

INEGI. (2010). *Compendio de información geográfica municipal 2010 Teziutlán* (p. 10). https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/21/21174.pdf

Kavallieratos, N. G., Michail, E. J., Boukouvala, M. C., Nika, E. P., & Skourti, A. (2019). Efficacy of pirimiphos-methyl, deltamethrin, spinosad and silicoSec against adults and larvae of *Tenebrio molitor* L. on wheat, barley and maize. *Journal of Stored Products Research*, 83, 161-167. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.06.012>

Korunic, Z. (1998). Review Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Products Research*, 34(2), 87-97. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(97\)00039-8](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(97)00039-8)

Korunic, Z. (2013). Diatomaceous Earths—Natural Insecticides. *Pesticidi i fitomedicina*, 28(2), 77-95. <https://doi.org/10.2298/PIF1302077K>

- Liau, C. M., Slate, A. J., Butler, J. A., Wilson-Nieuwenhuis, J. S. T., Deisenroth, T., Preuss, A., Verran, J., & Whitehead, K. A. (2020). The Effect of Surface Hydrophobicity on the Attachment of Fungal Conidia to Substrates of Polyvinyl Acetate and Polyvinyl Alcohol. *Journal of Polymers and the Environment*, 28(5), 1450-1464.
<https://doi.org/10.1007/s10924-020-01693-z>
- Losic, D., & Korunic, Z. (2018). CHAPTER 10: Diatomaceous Earth, A Natural Insecticide for Stored Grain Protection: Recent Progress and Perspectives. En *RSC Nanoscience and Nanotechnology* (pp. 219-247). <https://doi.org/10.1039/9781788010160-00219>
- Mata Villegas, T. (2009). Evaluación de matrices de esporulación y formulación de un micoinsecticida a base de esporas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* [Thesis]. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/3492?show=full>
- Motta-Delgado, P. A., & Murcia-Ordoñez, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 6(2), 77-90.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=92819767006>
- Mujica, Y., Martínez, M. de los A., Alemán, J., & Ravelo, J. (2009). FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DE PLAGAS DE LA COL (*Brassica oleracea*) Y OTROS ENEMIGOS NATURALES EN DOS AGROECOSISTEMAS. *Cultivos Tropicales*, 30(4), 00-00.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362009000400010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Muñoz, M., & Adriana, G. (2007). Eficiencia de BAZAM® (*Beauveria bassiana*) y METAZAM® (*Metarhizium anisopliae*) en el control de garrapatas (*Boophilus microplus*) en ganado lechero de Zamorano, Honduras [Escuela Agrícola Panamericana Zamorano].
<http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/1045152>

National Institute of Food and Agriculture. (2020). Organic Agriculture.

<https://nifa.usda.gov/topic/organic-agriculture>

Natrass, C., Horwell, C., Damby, D., Kermanizadeh, A., Brown, D., & Stone, V. (2015). The global variability of diatomaceous earth toxicity: A physicochemical and in vitro investigation. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 10, 23.

<https://doi.org/10.1186/s12995-015-0064-7>

Nazzaro, F., Orlando, P., Fratianni, F., & Coppola, R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 182-186.

<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.10.001>

Nieto, J. (2017). AGENTE DISPERSANTE Y SU UTILIZACIÓN PARA LA FORMULACIÓN DE COMPOSICIONES AGRÍCOLAS (OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Patent N.º 2 635 077).

<https://patentimages.storage.googleapis.com/86/2d/a7/5c8cceda588161/ES2635077A1.pdf>

NIFA. (2020). *Organic Agriculture*. National Institute of Food and Agriculture.

<https://nifa.usda.gov/topic/organic-agriculture>

Ozdemir, I. O., Tuncer, C., Erper, I., & Kushiyeve, R. (2020). Efficacy of the entomopathogenic fungi; *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), Art. 1.

<https://doi.org/10.1186/s41938-020-00219-y>

Pacheco Hernández, M. de L., Reséndiz Martínez, J. F., Arriola Padilla, V. J., Pacheco

Hernández, M. de L., Reséndiz Martínez, J. F., & Arriola Padilla, V. J. (2019).

Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y

forestal de México: Una revisión. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56), 4-32. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>

Pensamiento Monterroso, D., & Durán Moreno, J. (2018). Evaluación de la efectividad de tres agentes entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Heterorhabditis bacteriophora* como controladores biológicos de la garrapata *Boophilus microplus* en ganado lechero [Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6354/1/CPA-2018-T073.pdf>

PROFECO. (2018, enero). *Alimentos orgánicos*. [Gob.mx]. Procuraduría Federal del Consumidor. <http://www.gob.mx/profeco/documentos/alimentos-organicos?state=published>

Przyklenk, M., Vemmer, M., Hanitzsch, M., & Patel, A. (2017). A bioencapsulation and drying method increases shelf life and efficacy of *Metarhizium brunneum* conidia. *Journal of Microencapsulation*, 34(5), 498-512. <https://doi.org/10.1080/02652048.2017.1354941>

Rindermann, R., & Tovar, L. (2015). Organic Agriculture in Mexico and its Contributions to Sustainable Development. https://www.researchgate.net/publication/288503743_Organic_Agriculture_in_Mexico_and_its_Contributions_to_Sustainable_Development

Rivas, V. M. (2020). EFECTO DEL CONTROL BIOLOGICO DEL HONGO *Beauveria bassiana* SOBRE EL INSECTO *Planococcus citri*, EN CONDICION IN VITRO - REGIÓN LAMBAYEQUE, 2020. *Universidad de Lambayeque*. <https://repositorio.udl.edu.pe/jspui/handle/UDL/419>

Romero, O., Amaro-Leal, L. J., Rivera, A., Parraguirre-Lezama, C., Sánchez-Morales, P., & Villa-Ruano, N. (2020). Formulations of *Beauveria bassiana* MABb1 and mesoporous materials for the biological control of *Sphenarium purpurascens* in maize crops from

Puebla, Mexico. *Journal of Asia-Pacific entomology*, 23(3), 653-659.

<https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.05.005>

Ruiz-Sánchez, E., Chan-Cupul, W., Pérez Gutiérrez, A., Cristóbal-Alejo, J., Uch-Vázquez, B., Tun-Suárez, J. M., & Munguía-Rosales, R. (2011). Crecimiento, esporulación y germinación in vitro de cinco cepas de *Metarhizium* y su virulencia en huevos y ninfas de *Bemisia tabaci*. *Revista mexicana de micología*, 33, 9-

15.http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0187-31802011000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Sajjad, A., Ullah, M., Arshad, M., Iftikhar, Y., Saqib, M., & Afzal, M. (2017). Effect of botanicals and synthetic insecticides on *Pieris brassicae* (L., 1758) (Lepidoptera: Pieridae). *Turkish Journal of Entomology*, 41, 275-284.

<https://doi.org/10.16970/entoted.308941>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2019, agosto). Siete datos sobre la col que tal vez no conocías. [gob.mx. http://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/cinco-datos-sobre-la-col-que-tal-vez-no-conocias?idiom=es](http://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/cinco-datos-sobre-la-col-que-tal-vez-no-conocias?idiom=es)

SIAP. (2019). *Reporte Col (repollo)* [SIACON]. SADER.

<https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>

Springolo, A., Rigato, E., & Fusco, G. (2021). Larval growth and allometry in the cabbage butterfly *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae). *Acta Zoologica*, 102(1), 77-87.

<https://doi.org/10.1111/azo.12317>

Téllez-Jurado, A., Cruz Ramírez, M. G., Mercado Flores, Y., Asaff Torres, A., & Arana-Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología*, 30, 73-

80.http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0187-31802009000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Utus Huamani, E. A. (2017). Empleo de beauveria y metarhizium anisopliae en el control de premnotypes spp en siembras de papa variedad Huayro (solanum x chaucha) en San Juan de Ampurhuay Acoria Huancavelica [UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAMELICA]. <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/1646>
- Vargas-Flores, M. E. (2003). *Caracterización de tres cepas de Beauveria brongniartii (Saccardo) Petch y su virulencia en phthorimaea (Zeller) y Symmetrischema tangolias (Gyen)* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/1419/Vargas_fm.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Vertyporokh, L., Hulas-Stasiak, M., & Wojda, I. (2020). Host–pathogen interaction after infection of *Galleria mellonella* with the filamentous fungus *Beauveria bassiana*. *Insect Science*, 27(5), 1079-1089. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12706>
- Wakil, W., Schmitt, T., & Kavallieratos, N. (2021). Persistence and efficacy of enhanced diatomaceous earth, imidacloprid, and *Beauveria bassiana* against three coleopteran and one psocid stored-grain insects. *Environmental Science and Pollution Research*, 28. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12304-8>
- Wang, C., & Wang, S. (2017). Insect Pathogenic Fungi: Genomics, Molecular Interactions, and Genetic Improvements. *Annual Review of Entomology*, 62(1), 73-90. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035509>
- Webb, S. E., Niño, A., & Smith, H. A. (2017). Manejo de Insectos en Crucíferas (Cultivos de Coles) (Brócoli, Repollo, Coliflor, Col, Col Rizada, Mostaza, Rábano, Nabos). Departamento de Entomología y Nematología, 20.<https://docplayer.es/48428105-Manejo-de-insectos-en-cruciferas-cultivos-de-coles-brocoli-repollo-coliflor-col-col-rizada-mostaza-rabano-nabos-1.html>

- Wenzel, I. M. W., Batista, A., Giordano, I. B., Denadae, B. E., Fernandes, J. B., & Forim, M. R. (2017). Compatibility of polymers to fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and their formulated products stability. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 39(4), 457-464. <https://www.redalyc.org/journal/3030/303055078006/movil/>
- Zamora, E. (2016). EL CULTIVO DEL REPOLLO. Universidad de Sonora.
<https://dagus.unison.mx/Zamora/COL%20O%20REPOLLO-DAG-HORT-011.pdf>
- Zeni, V., Baliota, G. V., Benelli, G., Canale, A., & Athanassiou, C. G. (2021). Diatomaceous Earth for Arthropod Pest Control: Back to the Future. *Molecules*, 26(24).
<https://doi.org/10.3390/molecules26247487>



BUAP

“HUP, 50 años de enseñanza y salud”

Oficio No. FCAyP/603/2022

C. Fernando Zárate Rivas

**Egresado del Posgrado de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E**

Con base en el dictamen emitido por la Dra. Carmela Hernández Domínguez (**Directora de Tesis**), Dr. Delfino Reyes López (**Asesor**) y M.C. Fabiel Vázquez Cruz (**Asesor**), en su calidad de Consejo Particular, se autoriza la impresión de la tesis titulada:

**“CONTROL BIOLÓGICO DE *Pieris brassicae* EN COL MEDIANTE DIATOMITA Y
MATRICES DE *Beauveria bassiana*”**

Correspondiente a la Maestría en Recursos Fitogenéticos Potenciales para la Agricultura.

Sin otro particular por el momento, me despido reiterando a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

San Juan Acateno Teziutlán, Pue., a 16 de noviembre de 2022.

Dr. Armando Ibáñez Martínez

Director de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias



c.c.p.- Archivo y Minutario
DR. AIM/gra.