

---

# METODOLOGÍA PARA OBTENER EL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* DE TIERRAS DE CULTIVO Y USARLO EN LA ELABORACIÓN DE BIOPESTICIDAS ORGÁNICOS

## METHODOLOGY TO OBTAIN THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana* FROM FARMLAND AND USE IT IN THE PRODUCTION OF ORGANIC BIOPESTICIDES

Tapia Rojas Y.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México Campus San Martín Texmelucan Instituto Tecnológico Superior de San Martín Texmelucan. Camino a Barranca de Pesos S/N, San Lucas Atoyatenco, San Martín Texmelucan, Puebla. C.P. 74120. Tel. 248 111 11 32, 248 111 11 33, remarcación corta 3295 y 3296.

Correo de electrónico: [veraldatapia@yahoo.com.mx](mailto:veraldatapia@yahoo.com.mx)

**Enviado:** 14/10/2020

**Aceptado:** 15/01/2021

### RESUMEN

El control biológico es el control de plagas y enfermedades usando enemigos naturales y/o microorganismos (nematodos, hongos, bacterias, virus); en el presente artículo se expone la metodología para el cultivo *in vitro* del hongo *Beauveria bassiana* hongo entomopatógeno que se utiliza para control biológico el cual es la materia prima para la elaboración de biopesticidas orgánicos capaces de eliminar plagas insectiles, el hongo entomopatógeno *Beauveria*

*bassiana* es extraído de suelos de cultivo de la región, el cual se podría emplear para erradicar la extensión y crecimiento de chapulín frijolero y del picudo negro del maguey pulquero en la región de san Martín Texmelucan.

**Palabras clave:** control biológico, biopesticida orgánico, hongo entomopatógeno, *Beauveria bassiana*.

### ABSTRACT

Biological control is the control of pests and diseases using natural enemies and / or

microorganisms (nematodes, fungi, bacteria, viruses); in this article we discussed about the characterization of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, which have been used as the active agents for biological control. It is used as the raw material for the production of organic biopesticides against a variety of agricultural pests, the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is extracted from cultivated soils of the region, which will be used to eradicate the extension and growth of bean grasshoppers and the black weevil of the maguey pulquero in the region of San Martin Texmelucan.

**Keywords:** biological control, organic biopesticide, entomopathogenic fungus, *Beuveria bassiana*.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente en la agricultura se hace hincapié en el uso de productos más amigables con el ambiente y la salud humana. En ese sentido, los microorganismos entomopatógenos constituyen una herramienta importante para el manejo integrado de plaga. Tal es el caso de los hongos entomopatógenos que poseen gran potencial como agentes

controladores de poblaciones de artrópodos. Entre los géneros más importante están: *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*. También, se han evaluado productos biodegradables, extractos vegetales, aceites esenciales y aspersión de silicio orgánico e inorgánico mezclados con jabones biodegradables, entre otros; sin embargo, en todos estos métodos el éxito dependerá del estadio de desarrollo en que se encuentra el insecto. Otra alternativa promisorio de manejo ha sido el empleo de enemigos naturales, como agentes de control biológico. En particular, lo que se busca es contribuir en el sector agropecuario; con el uso de una alternativa más para el control de plagas en las plantaciones de frijol y maguey específicamente en control de chapulín frijolero y picudo negro del maguey pulquero, que se verá reflejada en una reducción en el gasto económico que se destina para el control de estas plagas, ya que se tienen que utilizar pesticidas químicos los cuales además de erradicar completamente a la plaga y romper el equilibrio ecológico tienen un gran impacto ambiental en suelo, agua y aire.

## MATERIALES Y MÉTODOS

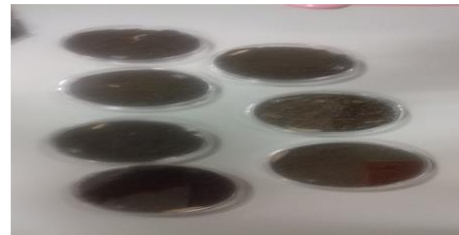
La investigación se llevó a cabo bajo condiciones controladas en el laboratorio de química del ITSSMT. La cepa de *Beauveria bassiana* fue extraída, crecida y aislada de muestras de suelo de la comunidad de San Lucas Atoyatenco, San Cristobal Tepatlaxco y San Baltazar Temaxcalac juntas auxiliares del municipio de San Martín Texmelucan.

#### ***Crecimiento de Galleria mellonella***

Las larvas de *G. mellonella* empleadas en este estudio se obtuvieron en una colonia de laboratorio que se mantiene en la escuela de biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). La crianza se realizó a partir de pupas, las cuales se mantuvieron en recipientes de vidrio de forma cilíndrica (12 cm de diámetro, 16 cm de alto), recubiertos en su interior con papel filtro para facilitar la ovoposición de las hembras que emergían. Los huevos recolectados fueron depositados en placas de Petri e incubados en oscuridad a una temperatura de  $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3$  y  $75 \pm 5\%$  de humedad relativa. Cuando hubo crecimiento larvario, larvas se depositaron en cajas Petri con suelo para que las larvas sirvieran como vectores para recolectar los hongos de las muestras de suelo.



**FIGURA 1.** Larvas de *Galleria mellonella*



**FIGURA 2.** Larvas en muestra de suelo

#### ***Condiciones de crecimiento del hongo***

El hongo se creció en medio sólido PDA, (Papa dextrosa agar). Es un medio muy usado para sembrado, crecimiento y aislamiento de hongos entomopatógenos cuando se aíslan hongos a partir de insectos colectados del suelo e insectos vectores, es recomendable acidificar el medio con ácido láctico al 25%. Se agregan 3 ó 4 gotas sobre el agar solidificado de la placa con el objeto de evitar el desarrollo de bacterias, se incubó durante 20 días a una temperatura de  $20^{\circ}\text{C}$ . El crecimiento en la placa de Petri de los

diferentes cultivos monospóricos, presentó una consistencia viscosa de color blanco, forma irregular y filamentosa, elevación plana y ligeramente abultada en los centros de los radios, con un margen ligeramente lobulado



**FIGURA 3** Crecimiento del hongo en medio sólido PDA

Crecido el hongo en el laboratorio se procedió a aislarlo, el aislamiento del hongo se hizo en agar saboraud y el hongo obtenido tiene las siguientes características. De apariencia polvosa Micelios juveniles de color blanco, micelios maduros beige/rosado. Los conidióforos presentan conidios: Hialinos, Globosos, Ovais 2-3 micras de diámetro.



**FIGURA 4.** Hongo *Beauveria bassiana* aislado en agar saboraud micelios maduros color beige rosado

### *Preparación de las matrices sólidas*

Debido a la necesidad de aumentar la producción del hongo de cada una de las muestras, se prepararon matrices sólidas. Estas utilizan los granos de arroz como medio de cultivo en bolsas plásticas. Para la preparación en bolsa, se pesaron 200 g de arroz precocido, se colocó en una bolsa plástica de polipropileno resistente a la temperatura, y adicionaron 200 mL de agua destilada. Para ser esterilizadas durante 20 minutos en autoclave. A partir de los cultivos monospóricos en placa Petri con PDA, crecidos durante 15- 22 días a 20 °C y de buena esporulación, en la cámara de flujo laminar se raspó con un bisturí estéril en aproximadamente media placa. Se realizó una pequeña abertura en las bolsas con arroz y se inocularon. Los inóculos se colocaron en el cuarto de crecimiento a 25 °C y en oscuridad durante 20 días.



**FIGURA 5.** Inoculación del arroz con el hongo *Beauveria bassiana*

### ***Producción de conidios en sustrato sólido***

Los conteos de conidios se hicieron tomando muestras de las botellas serológicas. Para ello, se adicionaron 20 mL de Tween 80 al 0.05 %, se agitaron 10 min y se contaron conidios en cámara de Neubauer. La suspensión de biomasa (conidios y micelio) restante se vertió en tubos Falcon de 50 mL para centrifugar. La producción de conidios se reporta en g de sustrato seco inicial (g/ss).

### **Evaluación de la producción de conidios**

A cada cepa se le agregaron 10 mL de solución Tween 80 al 0.1 % (v/v) y con ayuda de un asa se realizó un raspado superficial en cada una de las placas con crecimiento abundante para desprender los conidios aéreos y obtener una solución concentrada. Después se realizaron diluciones para determinar la producción

de conidios mL<sup>-1</sup> en una cámara de Neubauer.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se obtuvo un hongo de una consistencia viscosa de color blanco, forma irregular y filamentosa, elevación plana y ligeramente abultada en los centros de los radios, con un margen ligeramente lobulado en el hongo cultivado en el laboratorio. Para la producción de conidios en granos de arroz (*Oryza sativa* L.) en el recuento directo de conidias se presentó entre 108 y 109 conidios g<sup>-1</sup> y se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los aislados de *Beauveria bassiana*. El valor mínimo de  $5.80 \times 10^9$  conidios g<sup>-1</sup>, se registró para para 1 gramo de arroz inoculado con *Beauveria bassiana*. Aunque la cosecha del hongo seco como producto final es cosechado en bolsas, pesado a 800 g y sellado. El rendimiento de esporas por kilo está en función a la especie producida, pudiendo llegar a obtenerse concentraciones de  $4 \times 10^{13}$  (*B. bassiana*).

## **CONCLUSIONES**

Debido a las características del proyecto el impacto es directamente aplicado al sector

primario o agrícola este proyecto se encuentra en fase primaria en la cual se obtuvo el hongo entomopatógeno en el laboratorio el siguiente paso es identificar su capacidad insecticida mediante el número de conidios por volumen contenidos en una determinada suspensión, para posteriormente elaborar biopesticidas orgánicos. El método es replicable en cada región y dependiendo la plaga que se quiera controlar el hongo se debe aislar de muestras de tierra de cada región. El trabajo que se tiene contemplado a futuro es lograr la máxima concentración del hongo en sustrato seco hasta un  $4 \times 10^{14}$  por kilogramo para elaborar un biopesticida que pueda biocontrolar la araña roja de la rosa (*Tetranychus urticae*)

### AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico Superior de San Martín Texmelucan por el apoyo brindado para la elaboración de este trabajo de investigación para estudiantes y académicos.

### REFERENCIAS

Arévalo Chávez, C. (2019). Viabilidad del control alternativo de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith), en el cultivo de maíz amarillo duro (*Zea mays* L.) variedad INIA 622 en la EEA el Porvenir.

Faria, M., Hotchkiss, J.H., Hajek, A.E., Wraight. Debilitation in conidia of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and implication with respect to viability determinations and mycopesticide quality assessments. *J. Invertebr. Pathol.* 105, 74–83., S.P., 2010.

Rojas Florian, R. M. (2019). Evaluación de subproductos de *Oryza sativa* como sustratos naturales en la producción y viabilidad in vitro de conidias de *Paecilomyces lilacinus*.

Tapia-Rojas Yeralda & Calixto-Simon Sabina Matilde. Método de obtención de hongos entomopatógenos para producción de biopesticidas orgánicos que no posean persistencia nociva en hábitats naturales. *Revista de Tecnologías en Procesos Industriales.* 2019 ISSN 2523-6822 ECORFAN® Todos los derechos reservados