


## DISTRIBUCIÓN NATURAL DEL HONGO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUIL. EN SUELOS AGRÍCOLAS Y NO CULTIVADOS DE LA CIÉNEGA EN MICHOACÁN

Christian Octavio González-Villaseñor, Ricardo Alvarado-Chávez e  Isaac Zepeda-Jazo.  
Genómica Alimentaria

Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo (UCEM), Avenida Universidad 3000,  
Fraccionamiento Lomas de la Universidad Sahuayo, Michoacán. CP 59103, México.

 Correo: z\_isaac@hotmail.com

---

**RESUMEN.** En México se sabe poco sobre la presencia y distribución de posibles agentes de control biológico. Por lo anterior, se realizó el presente trabajo para aislar, identificar y conservar hongos entomopatógenos en suelos agrícolas y no cultivados de la región de La Ciénega en Michoacán. Se realizaron 73 colectas de suelo en sitios georreferenciados. Se realizó el aislamiento e identificación de los hongos presentes, mediante microcultivos, estudios morfológicos, y se relacionó la presencia de los más virulentos con el uso de suelo. Se procedió al resguardo de algunos de ellos en el CNRCB y su preservación en el Laboratorio de Biología Celular de la UCEM con la técnica de criopreservación. Encontramos la presencia de hongos *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin en el 18 % de los sitios; estudios de crecimiento radial determinaron a las cepas No. 57 y 62 como las más virulentas.

**Palabras Clave.** *Beauveria* sp., suelos agrícolas y no cultivados, Ciénega, Michoacán.

### Natural distribution of entomopathogenic fungi *beauveria bassiana* (bals.) vuil. in agricultural and non-cultivated soils in la ciénega of Michoacán

**ABSTRACT.** In Mexico, little is known about the occurrence and distribution of potential biological control agents. Therefore, the present work was made to isolate, identify and preserve entomopathogenic fungi in cultivated and uncultivated soils of the region La Ciénega of Michoacán. Seventy three samples from georeferenced sites were performed. Fungi isolation was made from dead larvae and morphological studies was performed from micro cultures to identification, and the presence of more virulent strains was correlated with the use of soil, as well as, we proceeded to storage some of them in the CNRCB and the preservation of all in the Laboratory of Cell Biology in UCEM with the technique of cryopreservation. We found in 18% of the sites of sampling the presence of fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin; radial growth studies determined 57 and 62 strains as the most virulent isolates.

**Key words:** *Beauveria* sp., agricultural and non-cultivated soils, Ciénega, Michoacán.

---

## INTRODUCCIÓN

De las más de 750 especies de hongos entomopatógenos conocidas, los pertenecientes al género *Beauveria* son de los más estudiados a nivel mundial para su uso como controladores de poblaciones de insectos plaga, esto debido a su probada eficacia y fácil reproducción (FAO, 2003, Téllez-Jurado *et al.*, 2009). Éstas se han probado en una gran variedad de insectos plaga y bajo diferentes condiciones; así mismo, numerosos estudios se han realizado sobre los mecanismos de acción de estos agentes sobre una gran variedad de insectos hospederos (Motta-Delgado y Murcia-Ordoñez, 2011), sin embargo, una de las principales limitantes en los programas de control biológico es la adaptabilidad del agente microbiano en el agroecosistema a

tratar, lo cual implica el establecimiento del hongo y la regulación de las poblaciones del insecto plaga para mantenerlo debajo de su umbral económico.

En la agricultura, tradicionalmente los acercamientos al uso de hongos entomopatógenos para el control biológico de plagas se han realizado mediante la aplicación de conidios de hongos al sistema de cultivo (control biológico clásico), usando la estrategia de inundación o inoculación (Eilenberg *et al.*, 2001). Por lo tanto, estas técnicas no contemplan el uso de reservorios de hongos nativos que ya se encuentran presentes en el sistema de cultivo o en los ecosistemas no perturbados cercanos a él.

Al igual que con otros organismos benéficos, la conservación de cepas de hongos entomopatógenos en colecciones de referencia deben ser prioritarios, ya que algunos de estos genotipos posiblemente endémicos pudieran perderse debido a cambios ambientales locales o por conversión de tierras a cultivo. En México, se conoce poco sobre la presencia y abundancia de hongos entomopatógenos en suelos no cultivados y agrícolas.

Por lo anterior, se realizó el presente trabajo con los objetivos de aislar, identificar y conservar hongos entomopatógenos provenientes de suelos agrícolas y no cultivados de la región de La Ciénega en Michoacán para contar con aislados nativos adaptados a las condiciones edafoclimáticas locales e incrementar el éxito en futuros programas de control biológico con estos microorganismos. Así mismo, se busca generar un banco de germoplasma para futuras investigaciones.

## **MATERIALES Y MÉTODO**

**Toma de Muestras.** De septiembre de 2014 a febrero de 2015 se tomaron 73 muestras de suelos agrícolas y no cultivados en la zona de influencia primaria de la Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo (Tabla. 1), que corresponde a 10 municipios colindantes con el lago de Chapala en el estado de Michoacán (Plan de Desarrollo Institucional, 2010). Las muestras de suelo fueron colectadas en una superficie de aproximadamente 10 m<sup>2</sup>, se marcaron tres puntos en los cuales se retiraron los primeros 10 cm de la capa superficial y se colectó una muestra de los siguientes 15 cm de suelo (aproximadamente 1kg en total por las tres sub muestras) transportándolas al laboratorio de Biología Celular de la Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo (UCEM), dentro de hieleras con la finalidad de evitar temperaturas altas. Posteriormente, las muestras fueron homogenizadas y pasadas por un tamiz de tamaño de malla No. 8 para obtener tres sub muestras de aproximadamente 30gr en cajas Petri de plástico estériles de 9cm de diámetro.

**Extracción de Hongos entomopatógenos.** Para la extracción de los hongos se usó la técnica del insecto trampa (Zimmermann, 1986), para lo cual, se agregaron cinco larvas de “gusano de la cera” *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) a cada submuestra previamente humedecida con agua destilada estéril. Se incubaron a 25 °C y se revisaron diariamente para extraer las larvas muertas, transfiriéndolas individualmente a cámaras húmedas.

**Aislamiento de los hongos.** En larvas con síntomas de infección, el aislamiento y purificación de los hongos se realizó por transferencia directa de conidios y/o micelio a tubos de ensayo con medio de cultivo nutritivo a base de agar dextrosa sabouraud (ADS-DIBICO®) y cloranfenicol 0.5 gr/L como antibiótico.

**Reinoculación sobre larvas de *Galleria*.** Transcurridos 28 días después del aislamiento, de las cepas de hongos que presentaron características del género *Beauveria* spp. se preparó una dilución de esporas extraídas de los tubos de ensayo utilizando Tween 80 al 0.05% y se aplicó

100µl de la dilución sobre papel filtro puesto en cajas de Petri de 5cm de diámetro, después se colocaron tres larvas de *Galleria mellonella* en cada caja y el proceso se repitió para cada cepa aislada, las cajas se sellaron utilizando parafilm y se dejaron los insectos en reposo para observar durante una semana los cambios, los insectos que murieron entre las 24 y 48 h fueron seleccionados para un segundo aislamiento.

Segundo aislamiento. En campana de flujo laminar, se extrajo el micelio y los conidios para ser sembrados en cajas de Petri que contenían medio ADS sin el antibiótico y se dejó en incubación a 25°C en total oscuridad durante 16 días. También se preparó medio ADS al 25% en cajas de Petri donde se sembró el hongo para inducir la esporulación rápida.

Identificación de Hongos Entomopatógenos. La identificación se realizó con base en la coloración y crecimiento de los hongos sobre los insectos y se corroboró en microcultivos y observaciones en microscopio de contraste de fases (Leica DM 500) y uno invertido (Nikon Eclipse TS100), siguiendo las claves de Barnett y Hunter (1972).

Microcultivo. Para la caracterización microscópica se siguió la metodología de Steifert (2000); en cajas Petri de cristal, se colocó papel filtro y se humedeció con 200µl de agua destilada estéril y sobre el papel filtro se puso un portaobjetos previamente esterilizado, se cortaron cuadros de ~1cm de medio ADS preparado y se posicionó sobre la mitad del portaobjetos, se le colocó un cubreobjetos también estéril sobre el medio y se agregaron 2µl de la dilución de esporas a cada lado del medio dejándose durante una semana para observar el crecimiento del hongo.

Crecimiento radial. Se cortaron cuadros de 0.25cm<sup>2</sup> de medio de cultivo que contenía micelio y conidios, luego se colocó el trozo de forma invertida en una nueva caja con medio ADS, de manera que el hongo tocara la superficie del cultivo nutritivo y se midió su crecimiento con regla vernier cada 24 h durante cinco días.

Crioconservación. Con un sacabocados se extrajo del medio ADS al 25% que contenía conidios y se almacenaron en tubos Eppendorf junto con 1ml de glicerol al 10% (cuatro repeticiones) después se colocaron en ultra congelación a -72°C (SENASICA, 2013).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 73 muestras evaluadas (Tabla 1), se obtuvieron 80 aislados de diferentes hongos fitopatógenos pertenecientes a los géneros *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. y *Chaetopsis* sp., (Fig. 1) y entomopatógenos, de los cuales se obtuvieron 15 aislados que por sus características morfológicas (Fig. 2) se determinó, pertenecen al género y especie *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Fig.1, se tomaron el número de muestras positivas para el porcentaje).

Tabla 1. Sitios de muestreo y frecuencia de recuperación de hongos en suelos agrícolas (izquierda) y no cultivados (derecha) de la Región Ciénega de Michoacán.

Muestra	Localidad	Suelos cultivados	Hongos	Frecuencia
2	Jiquilpan	Agave azul con maíz	* <i>Chaetopsis</i> spp.	1/3
3	Jiquilpan	Maíz	Negativo	0/3
5	Jiquilpan	Sorgo	<i>Fusarium</i> spp. <i>Beauveria</i> spp.	1/3 1/3
11	Venustiano Carranza	Frijol	Negativo	0/3
12	Venustiano Carranza	Alfalfa	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
13	Venustiano Carranza	Rábano	<i>Beauveria</i> spp.	1/3
14	Venustiano Carranza	Cebolla	<i>Beauveria</i> spp. <i>Fusarium</i> spp.	1/3 2/3
15	Venustiano Carranza	Cebolla	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
21	Sahuayo	Maíz	<i>Beauveria</i> spp. <i>Fusarium</i> spp.	1/3 2/3
22	Sahuayo	Rábano	Negativo	0/3
24	Cojumatlan	Ejote	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
26	Cojumatlan	Cebolla	<i>Fusarium</i> spp.	2/3
35	Marcos Castellanos	Maíz	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
36	Pajacuarán	Maíz	<i>Botrytis</i> spp.	1/3
37	Pajacuarán	Huerta de aguacate	<i>Botrytis</i> spp.	1/3
39	Pajacuarán	Garbanzo	Negativo	0/3
40	Pajacuarán	Trigo	Negativo	0/3
41	Pajacuarán	Garbanzo y maíz	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
42	Pajacuarán	Cebolla morada	<i>Beauveria</i> spp.	1/3
43	Villamar	Cártamo	Negativo	0/3
48	Villamar	Garbanzo	<i>Penicillium</i> spp.	1/3
49	Villamar	Trigo	Negativo	0/3
50	Villamar	Maíz y garbanzo	<i>Fusarium</i> spp.	2/3
54	Cotija	Caña de azúcar	Negativo	0/3
60	Chavinda	Sorgo	<i>Botrytis</i> spp.	1/3
63	Chavinda	Fresa	<i>Beauveria</i> spp.	3/3
64	Chavinda	Tomate manzano	Negativo	0/3
68	Santiago T.	Nopales y encinos	Negativo	0/3
72	Santiago T.	Chicharo	Negativo	0/3
73	Santiago T.	Maíz	<i>Fusarium</i> spp.	1/3

Tabla 2 (Continuación). Sitios de muestreo y frecuencia de recuperación de hongos en suelos agrícolas (izquierda) y no cultivados (derecha) de la Región Ciénega de Michoacán

Muestra	Localidad	Suelos no cultivados	Hongos	Frecuencia
1	Sahuayo	Pastizal	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
4	Jiquilpan	Pastoreo de ganado	<i>Beauveria</i> spp.	1/3
6	Jiquilpan	Bosque	Negativo	0/3
7	Jiquilpan	Potrero	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
8	Jiquilpan	Paso de ganado	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
9	Jiquilpan	Paso de ganado	Negativo	0/3
10	Jiquilpan	Pastizal	Negativo	0/3
16	Venustiano Carranza	Suelo no cultivado	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
17	Venustiano Carranza	Nopal, mezquite y huizache.	<i>Fusarium</i> spp.	3/3
18	Venustiano Carranza	Pastizal	Negativo	0/3
19	Venustiano Carranza	Cerril	Negativo	0/3
20	Sahuayo	Pastizal	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
23	Cojumatlan	Margen de laguna	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
25	Cojumatlan	Bordo de laguna	<i>Fusarium</i> spp.	2/3
27	Cojumatlan	Zona urbana	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
28	Marcos Castellanos	Pastoreo de ganado	* <i>Cladosporium</i> spp.	1/3
29	Marcos Castellanos	Lindero de río	<i>Fusarium</i> spp.	2/3
30	Marcos Castellanos	Pastoreo de ganado	<i>Fusarium</i> spp.	2/3
31	Marcos Castellanos	Pastoreo y brecha	* <i>Chaetopsis</i> spp. No identificado	2/3 1/3
32	Marcos Castellanos	Brecha	* <i>Chaetopsis</i> spp. No identificado	1/3 1/3
33	Marcos Castellanos	Sendero	No identificado	2/3
34	Marcos Castellanos	Pastoreo de ganado	<i>Fusarium</i> spp.	2/3
38	Pajacuarán	Pinos y eucalipto	<i>Fusarium</i> spp.	1/3
44	Villamar	Brecha	<i>Beauveria</i> spp. <i>Fusarium</i> spp.	1/3 1/3
45	Villamar	Brecha	Negativo	0/3
46	Villamar	Cerril	<i>Botrytis</i> spp. <i>Fusarium</i> spp.	1/3 1/3
47	Villamar	Zona geotérmica	Negativo	0/3
51	Cotija	Pastoreo	Negativo	0/3
52	Cotija	Potrero	Negativo	0/3
53	Cotija	Zona urbana	<i>Fusarium</i> spp.	2/3
55	Cotija	Bordo de laguna y pastoreo	* <i>Chaetopsis</i> spp.	1/3
56	Cotija	Pastoreo	<i>Beauveria</i> spp.	1/3
57	Villamar	Bordo de laguna	<i>Beauveria</i> spp.	1/3
58	Villamar	Cerril	<i>Botrytis</i> spp.	3/3
59	Chavinda	Suelo no cultivado predominan ocales	<i>Fusarium</i> spp.	2/3
61	Chavinda	Suelo no cultivado predominan nopales	Negativo	0/3
62	Chavinda	Suelo no cultivado, predomina palo bobo y nopal silvestre	<i>Beauveria</i> spp.	1/3
65	Santiago T.	Suelo no cultivado, predominan las jaras	Negativo	0/3
66	Santiago T.	Suelo no cultivado, bordo de presa	Negativo	0/3
67	Santiago T.	Suelo no cultivado predominan la capitaneja y encinos	<i>Botrytis</i> spp.	2/3
69	Santiago T.	Suelo no cultivado, bordo de carretera	<i>Fusarium</i> spp.	3/3
70	Santiago T.	Suelo no cultivado predomina huizache	Negativo	0/3
71	Santiago T.	Suelo no cultivado, bordo de presa	Negativo	0/3

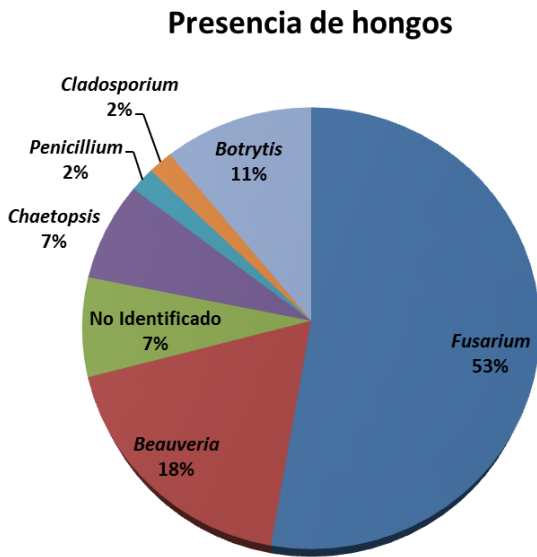


Figura 1. Porcentaje de recuperación de hongos en suelos de la región Ciénega de Michoacán.

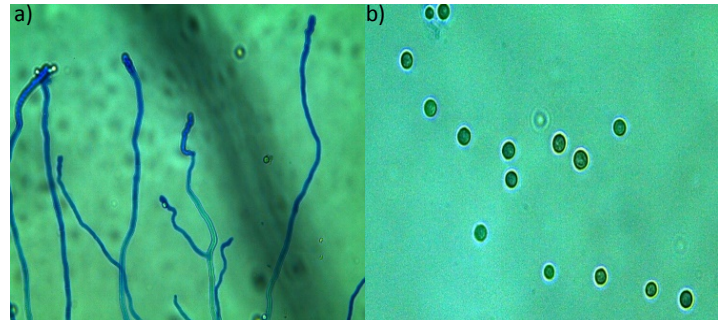


Figura 2. Características morfológicas de cepas de *Beauveria* sp. a) Crecimiento en zigzag e hifas, b) esporas. Magnificación: 40 X

De las muestras positivas para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. se evaluó el crecimiento radial de 10 cepas que corresponden a 10 sitios de colecta diferentes, cabe señalar que los dos aislados más virulentos corresponden a sitios de colecta con suelos no cultivados, esto debido probablemente a la alta cantidad de plaguicidas en particular fungicidas que son aplicados en las zonas de cultivo, ya que se ha reportado la alta susceptibilidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. a estos productos (Castellanos-González *et al.*, 2011) y a la alta competencia por antagonismo en ecosistemas no perturbados, lo que los hace posiblemente más patógenos; sin embargo, no encontramos ninguna correlación entre la presencia de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. con respecto a la altura sobre el nivel del mar, pH, humedad del suelo y temperatura de suelo en los sitios de muestreo.

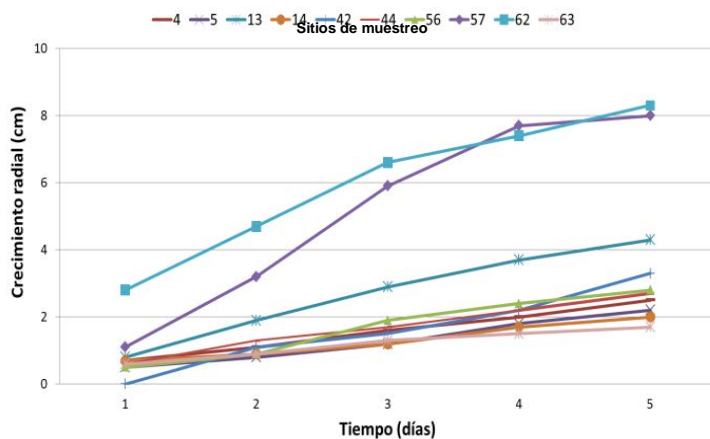


Figura 3. Crecimiento radial de 10 cepas de hongos entomopatógenos del género *Beauveria*. Izquierda. Tasa de crecimiento radial; Derecha. Cultivo de hongo para medición de crecimiento radial.

Debido a que se usaron las claves de Barnett y Hunter (1972), no se descarta la posibilidad de que existan otros hongos presentes en los sitios que se evaluaron. La presencia del género *Fusarium* se atribuye a que como métodos de aislamiento usamos la técnica de cebado con *Galleria mellonella* y algunos de estos hongos pueden comportarse como saprófitos.

Con el presente estudio la UCEM ya dispone de aislados de hongos entomopatógenos para futuros estudios, así como con un banco de germoplasma de hongos entomopatógenos y fitopatógenos para ser usados en diversos proyectos institucionales.

### AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Roberto Montesino del Departamento de Conservación de Hongos Entomopatógenos del CNRCB para la capacitación en la identificación y técnicas de resguardo de hongos entomopatógenos. Proyecto PROMEP/103.5/13/6816. Proyecto Infraestructura CONACyT No. 204910.

### LITERATURA CITADA

- Barnett, H. L. y Hunter, B. B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Minnesota: Burgess Publishing Company.
- Castellanos-González, L., Muiño-García, B. L., Lorenzo-Nicao, M. E., Rodríguez-Fernández, A. y Gómez-Albernal, M. 2011. Efecto *in vitro* de siete fungicidas químicos sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. Fitosanidad, 15(1): 31-38.
- Eilenberg, J., Hajek, A. y Lomer, C. 2001. Suggest ions for unifying the terminology in biological control. Biocontrol, 46: 387-400.
- FAO. Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América Latina. Roma: Dirección de producción y sanidad animal de la FAO, 2003. p. 33-35.
- Motta-Delgado, P. A. y Murcia-Ordoñez, B. 2011. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. Revista Ambiente & Água, 6(2): 77-90.
- Plan de Desarrollo Institucional 2010-2022. Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, 2010. Editorial: Pelicanus, pp 27.
- Steifert, K. 2000. Fuskey. Agriculture and AgriFood Canada. (<http://res.agr.ca/brd/fusarium>).
- SENASICA. 2013. Crio conservación de hongos entomopatógenos. En: Informe Técnico. ([www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento=27912&IdUrl=71673&down=true](http://www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento=27912&IdUrl=71673&down=true)).
- Téllez-Jurado, A., Cruz, R. M. G., Flores, M. Y., Asaff, T. A. y Arana-Cuenca, A. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. Revista mexicana de micología, 30: 73-80.
- Zimmermann, G. 1986. The “Galleria” bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. Journal of Applied Entomology, 102: 213-215.