

COLEGIO DE POSTGRADUADOS  
POSGRADO EN FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA - ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA



AVANCES DE  
INVESTIGACIÓN  
2024



## **MEMORIAS DE AVANCES DE INVESTIGACIÓN**

POSGRADO EN FITOSANIDAD 2024  
COLEGIO DE POSTGRADUADOS CAMPUS MONTECILLO

### **EDITORES**

NIDIA BÉLGICA PÉREZ DE LA O  
LAURO SOTO ROJAS  
MARCELINO MARTÍNEZ NÚÑEZ  
VÍCTOR MANUEL ZÚÑIGA MAYO  
NOEMI FLORES VIANA

### **DISEÑO DE PORTADA**

JANNET JARALEÑO TENIENTE

MONTECILLO, TEXCOCO, MÉXICO, 4 Y 5 DE JULIO DE 2024

## EJEMPLO DE CITA POR RESUMEN

ACEVEDO-ALCALÁ, A., RODRÍGUEZ-LEYVA, E., LOMELI FLORES, J. R., GUZMÁN-FRANCO, A. W. Y VELÁZQUEZ-GONZÁLEZ, J. C. 2023. PIOJOS HARINOSOS DE HORTALIZAS EN INVERNADERO EN MÉXICO Y ENEMIGOS NATURALES PARA SU COMBATE. EN: S. E. RODRÍGUEZ- RODRÍGUEZ, N. B. PÉREZ-DE LA O, L. SOTO-ROJAS, M. MARTÍNEZ- NÚÑEZ Y V. M. ZÚÑIGA-MAYO (EDS.). MEMORIAS DE AVANCES DE INVESTIGACIÓN, 2024. TEXCOCO, MÉXICO. PP. 10-15.

ES RESPONSABILIDAD DE LOS AUTORES EL USO DE LAS  
ILUSTRACIONES, EL MATERIAL GRÁFICO Y EL CONTENIDO  
CREADO PARA ESTA PUBLICACIÓN.

AVANCES DE INVESTIGACIÓN – POSGRADO EN FITOSANIDAD 2024

## PRESENTACIÓN

Los avances de investigación son un evento que se lleva a cabo de forma anual desde los inicios del Colegio de Postgraduados. Dentro del posgrado de Fitosanidad, es uno de los eventos más importantes, en el cual se expone el progreso de los diferentes trabajos de investigación que los estudiantes han logrado durante sus estudios de posgrado en esta institución. A través de la preparación de un resumen escrito, se busca que los estudiantes adquieran experiencia en presentar de manera clara y concisa los resultados obtenidos durante la realización de sus proyectos de investigación. Además, se considera una excelente oportunidad para que la comunidad científica, tanto dentro como fuera del Colegio de Postgraduados, conozca los proyectos científicos que el Posgrado de Fitosanidad está llevando a cabo actualmente, los cuales están relacionados con la protección vegetal en las áreas de Fitopatología y Entomología-Acarología.

En esta memoria se recopilan 30 resúmenes de diferentes proyectos de investigación, los cuales representan los trabajos realizados por estudiantes que ingresaron entre 2021 y 2023 en los programas de Maestría y Doctorado. Los 30 resúmenes se agrupan en las siguientes áreas: investigación en hortalizas, acarología, investigación en aguacate, estudios taxonómicos, cultivos industriales, cultivos básicos, métodos alternativos de combate, innovación agrícola, investigación en frutillas y ornamentales.

Adicionalmente, se incluyen cinco exposiciones de carteles elaborados por estudiantes de licenciatura que realizaron su tesis dentro del Posgrado. Estos trabajos reflejan el impacto y la vinculación del posgrado con la formación de nuevos profesionistas en el área, brindando a los estudiantes de licenciatura la oportunidad de desarrollar investigación y contribuir al avance del conocimiento en Fitosanidad.

## CONTENIDO

### INVESTIGACIÓN EN HORTALIZAS

DINÁMICA DE LA ASOCIACIÓN ENTRE PLANTAS ARVENSES E INSECTOS, POSIBLES VECTORES DE VIRUS, EN EL CULTIVO DE MELÓN 8

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS EN EL DESARROLLO DEL VARIEGADO DEL CHILE (*Capsicum annuum* L.) Y LA PECA DEL TOMATE INDUCIDA POR (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) 13

PIOJOS HARINOSOS EN HORTALIZAS EN AGRICULTURA PROTEGIDA EN MÉXICO Y SUS ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS 18

BIOLOGÍA DE *Apanteles piceotrichosus* Blanchard (HYMENOPTERA: BRACONIDAE), UN ENEMIGO NATURAL DE LA PALOMILLA DORSO DE DIAMANTE 23

TIEMPO DE DESARROLLO DE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EN BRASICÁCEAS SILVESTRES 28

### ACAROLOGÍA

EFECTO DE LA DENSIDAD DE *Brevipalpus yothersi* y *B. californicus* PARA ADQUIRIR Y TRANSMITIR EL VIRUS CILV-C 35

TAXONOMÍA INTEGRATIVA DEL ÁCARO *Polyphagotarsonemus latus* (ACARI: TARSONEMIDAE) DE DIVERSAS REGIONES BIOGEOGRÁFICAS Y REQUERIMIENTOS TÉRMICOS PARA SU DESARROLLO 41

FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DE ÁCAROS FITÓFAGOS Y DEPREDADORES EN EL CULTIVO DE FRUTILLAS EN MICHOACÁN 50

### INVESTIGACIÓN EN AGUACATE

DESARROLLO DE FRUTOS EN ÁRBOLES DE AGUACATE INFECTADOS CON *Avocado sunblotch viroid* TRATADOS CON INDUCTORES DE RESISTENCIA 59

DIVERSIDAD DE LEPIDÓPTEROS BARRENADORES DE AGUACATE 63

### ESTUDIOS TAXONÓMICOS

LAS AVISPAS AGALLADORAS DEL GÉNERO QUERCUS EN CINCO ZONAS DE ESTUDIO DEL EDO. MÉX. (hymenoptera: cynipidae) 69

ESTUDIO TAXONÓMICO DE LOS BRÚQUIDOS (COLEOPTERA: BRUCHIDAE) DE HONDURAS 74

ESPECIES DEL GÉNERO *Heilipus* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: MOLYTINAE) PRESENTES EN MÉXICO 79

### **CULTIVOS INDUSTRIALES**

DIVERSIDAD DE HONGOS ENDÓFITOS CULTIVABLES EN PLANTAS CULTIVADAS Y SILVESTRES DE VAINILLA (*Vanilla planifolia*), EN RELACIÓN A LA MARCHITEZ CAUSADA POR *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* 89

ANÁLISIS EXPLORATORIO DEL EFECTO DE TEXTURA, pH, COMPACTACIÓN, MATERIA ORGÁNICA Y POBLACIÓN DE HONGOS DEL SUELO EN LA SUPRESIVIDAD DE *Fusarium* spp. EN *Agave tequilana* 96

EFECTO DE LA COMPOSTA SOBRE LA GERMINACIÓN DE *Agave angustifolia* (ASPARAGALES, ASPARAGACEAE). 102

### **CULTIVOS BÁSICOS**

ETIOLOGÍA DE MANCHAS FOLIARES EN ARROZ (*Oryza sativa* L.) CULTIVADO EN LAS PRINCIPALES REGIONES PRODUCTORAS DEL ESTADO DE MORELOS 108

DETECCIÓN Y EVALUACIÓN DE LOS SÍNTOMAS DE MANO DE CHANGO EN DIFERENTE GERMOPLASMA DE MAÍZ 114

ETIOLOGÍA DE LA DECOLORACIÓN DEL GRANO DE ARROZ 120

EFECTO DE LA APLICACIÓN DE *Trichoderma atroviride* Y NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBRE EN EL CONTROL DE *Fusarium graminearum*, CAUSANTE DE LA FUSARIOSIS EN PLANTAS DE TRIGO (*Triticum aestivum*) 126

### **MÉTODOS ALTERNATIVOS DE COMBATE**

ACTIVIDAD INSECTICIDA DE FITOQUÍMICOS CONTRA *Rhyssomatus nigerrimus* 135

EXPRESIÓN TISULAR DE DIEZ GENES DE UNIÓN A OLORES (OBPS) EN TRES ESTADOS DE MADURACIÓN DE ADULTOS DE *Ceratitis capitata* (Wiedemann) 140

ETIOLOGÍA DE ENFERMEDADES E INSECTOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE PITAHAYA (*Hylocereus spp. (Caryophyllales:Cactaceae)*) EN EL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO 145

COMPUESTOS VOLÁTILES DE SIETE VARIEDADES DE *Capsicum annuum* L. 150

INTERACCIÓN ENTRE LA MICROBIOTA EXTERNA DE LARVAS DE *Phyllophaga* Y LA INFECCIÓN POR HONGOS ENTOMOPATOGENOS DE LOS GENEROS *Metarhizium* Y *Beauveria* 156

### INNOVACIÓN AGRÍCOLA

MODELADO DEL NICHU ECOLÓGICO DE *Xylosandrus compactus* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) ESPECIE CUARENTENARIA DE RECIENTE INGRESO A MÉXICO. 161

MONITOREO DE *Bactericera cockerelli* (HEMIPTERA: TRIOZIDAE) EN PAPA, MEDIANTE IMÁGENES TOMADAS POR DRONES. 166

### INVESTIGACIÓN EN FRUTILLAS

DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Botrytis spp.* EN MÉXICO, SENSIBILIDAD A FUNGICIDAS Y RESPUESTA METABÓLICA EN BAYAS DE ARÁNDANO. 172

MUESTREO SECUENCIAL Y DETECCIÓN DE RESISTENCIA VEGETAL DE VARIEDADES DE FRESA (*Fragaria x ananassa*) EN LA PALOMILLA DEL PIMIENTO (*Duponchelia fovealis*). 179

### ORNAMENTALES

HONGOS ENDÓFITOS DE LA PALMA CANARIA (*Phoenix canariensis* H. Wildpret) EN LA CIUDAD DE MEXICO. 187

### EXPOSICIÓN DE CARTELES

ANÁLISIS DE HAPLOTIPOS ND5-ND4 EN *Ceratitis capitata* (MOSCA DEL MEDITERRÁNEO) DE LA ZONA FRONTERIZA DE CHIAPAS 193

CLASIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FILOGENÉTICA DE LA SUPERFAMILIA DEL CITOCROMO P450 (CYP) DE ANASTREPHA LUDENS (DIPTERA:TEPHRITIDAE)	198
EXPRESIÓN TISULAR DE DIEZ GENES DE UNIÓN A OLORES (OBPS) EN TRES ESTADOS DE MADURACIÓN DE ADULTOS DE <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)	203
INHIBICIÓN DE LA OVIPOSICIÓN DE <i>Plutella xylostella</i> (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) MEDIANTE MEZCLAS DE COADYUVANTES Y EXTRACTO DE AJO ( <i>Allium sativum</i> )	208
MORTALIDAD OCASIONADA EN <i>Brevipalpus yothersi</i> POR PRODUCTOS COMERCIALES A BASE DE EXTRACTOS NATURALES	214

# INVESTIGACIÓN EN HORTALIZAS

# DINÁMICA DE LA ASOCIACIÓN ENTRE PLANTAS ARVENSES E INSECTOS, POSIBLES VECTORES DE VIRUS, EN EL CULTIVO DE MELÓN

Cinthia Iraís Rodríguez Díaz\*<sup>1</sup>, María del Pilar Rodríguez Guzmán<sup>1</sup>, Daniel Leobardo Ochoa Martínez<sup>1</sup>,  
Candelario Ortega Acosta<sup>1</sup>, Laura Delia Ortega Arenas<sup>2</sup>.

Posgrado en Fitosanidad, programa de <sup>1</sup>Fitopatología, <sup>2</sup>Entomología. Colegio de Postgraduados Campus Montecillo \*rodriguez.conthia@colpos.mx

## INTRODUCCIÓN

Las arvenses no son sólo organismos que compiten con los cultivos, también presentan importancia ecológica dentro de un agroecosistema, tanto respecto al suelo y su conservación, como en la presencia de insectos polinizadores y enemigos naturales. Por ejemplo, las arvenses evitan la erosión del suelo, reciclan los nutrientes y minerales presentes, regulan las aguas de escorrentía, son fuente de refugio y alimento para polinizadores y enemigos naturales; y también conservan la biodiversidad genética del agroecosistema (Blanco et al. 2007). Dentro de un agroecosistema, el cultivo, los polinizadores, insectos vectores de virus e insectos enemigos naturales de estos últimos están altamente relacionados y especializados a nivel de red ecológica con una estructura de grupos funcionales complementarios (Aguado, et al. 2019). El melón (*Cucumis melo* L.) es un cultivo tropical considerado de alto valor comercial, con centro de origen reportado en Asia central y África, encontrándose su mayor diversidad botánica en India, Irán, Afganistán y China (Waage & Greathead, 1986). Este cultivo interactúa con diversos organismos dentro de un agroecosistema como lo son los virus fitopatógenos, los insectos vectores de virus, insectos benéficos y las arvenses. Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo es conocer la dinámica de la asociación entre plantas arvenses e insectos, posibles vectores de virus y sus densidades poblacionales, en el cultivo de melón.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionó una parcela comercial de melón, en Jojutla, Morelos, durante todo el ciclo del cultivo (febrero a mayo de 2023) únicamente se realizó una remoción manual de las arvenses y una aplicación de insecticida. El cultivo de melón fue de temporal. La toma de muestras se

efectuó en seis fechas del 2023: 10 de marzo, fase vegetativa; (F1); 17 de marzo (F2), fase vegetativa, entrando a floración; 31 de marzo (F3), floración; 14 de abril (F4), amarre y llenado de frutos; 5 de mayo (F5), llenado de frutos y etapa de cosecha; y, 19 de mayo (F6), cosecha.

**Muestreo de plantas arvenses.** El muestreo se realizó en seis sitios exteriores de la parcela, y, doce dentro de la parcela, cada sitio se mantuvo fijo, refiriéndose con una estaca de madera etiquetada. Los sitios interiores se determinaron siguiendo un transecto en forma de “W” (Fig. 1). Se seleccionaron arvenses con síntomas asociados a virus, que estuvieran próximas a alguna planta de melón con síntomas de virosis. Muestreándose hoja y flores, cuando estaban presentes, transportándose en hieleras con geles refrigerantes, y almacenándose a -4° C, en el Laboratorio de Virología del colegio de postgraduados.

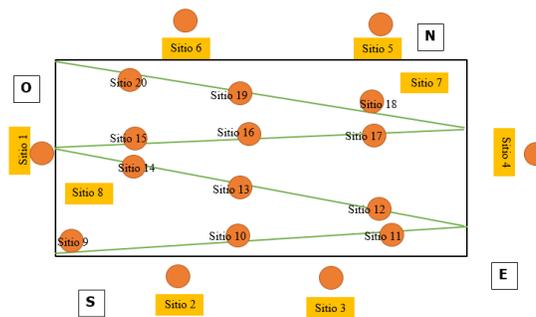


Figura 1. ● Sitios y transecto interno de muestreo. ■ Posición de trampas amarillas pegajosas.

En cada muestreo se colectaron 18 muestras de diferentes especies de arvenses, seis al exterior y doce al interior, de la parcela. El total de plantas arvenses en los seis muestreos fue de 108 muestras, las cuales se mantuvieron bajo condiciones de temperatura de -4 °C hasta su extracción de ARN total usando el Kit de Promega SV Total RNA Isolation System; siguiendo las instrucciones del fabricante. Las 108 extracciones de ARN total, resultantes, se cuantificaron en un espectrofotómetro, NanoDrop™ 2000/2000c (Thermo Fishe Scientific Inc.). Cada muestra le analizó con una prueba de PCR convencional de dos pasos para buscar la presencia del gen 18s como control endógeno para seleccionar a aquellas muestras que cumplían los requisitos para detección molecular de organismos mediante el ARN extraído. La electroforesis se realizó en gel de agarosa al 1%, para visualizar los productos de PCR del gen endógeno 18s.

De las 83 muestras que amplificaron el fragmento esperado, se seleccionaron 18, para realizar pruebas de RT-PCR para virus de los géneros *Potyvirus* (Chen et al 2001), *Begomovirus*

y *Cucumber Mosaic Virus* (CMV). Las 18 extracciones elegidas representan las seis fechas de muestreo.

**Diversidad y densidad poblacional de arvenses.** En cada punto de muestreo indicado arriba (Fig. 1), se arrojó un cuadrante circular de 34 cm de diámetro; las arvenses al interior del área del cuadrante, se contabilizaban y registraban. Este proceso contó con tres repeticiones por sitio de muestreo, en cada una de las seis fechas de muestreo. La diversidad de arvenses se determinó aplicando el índice de Shannon ( $H'$ ).

**Conservación e identificación de plantas arvenses.** Se efectuó un recorrido al interior y exterior de la parcela de melón para seleccionar cinco individuos de cada una de las especies de arvenses identificadas, con el propósito de prensarlas, montarlas en cartulinas para su resguardo en el HERBARIO-HORTORIO CHAPA del Posgrado en Botánica, del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Edo. Méx. (Cuadro 1).

**Fluctuación poblacional de plantas arvenses y de insectos asociados a la transmisión de virus.** En la parcela mencionada, se colocaron ocho trampas amarillas, cuadradas, rectangulares, de 1350 cm<sup>2</sup> con pegamento comercial, para trapeo de insectos; seis ubicadas en los mismos sitios exteriores donde se tomaron las muestras de plantas arvenses y dos trampas colocadas de manera equidistante al interior de la parcela (Fig. 1). Las trampas se cambiaron, en cada una de las seis fechas de muestreo, teniendo al final, un total de 48 trampas amarillas. En cada una de las 48 trampas amarillas, se seleccionaron al azar 10 cuadros de 4 cm<sup>2</sup>, cada uno; mediante microscopio estereoscópico se contaron los individuos de los cuatro principales grupos de insectos vectores de virus (mosca blanca, áfidos, trips y chicharritas). Los datos se promediaron y extrapolaron al área total de la trampa, por fecha de muestreo. Los datos obtenidos en los conteos tanto de plantas arvenses como de insectos se graficaron en relación a las fechas de muestreo (F1, F2, F3, F4, F5, F6).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Diversidad de arvenses.** La sintomatología de virus en arvenses fue muy variada, y en algunos casos, estaba mezclada con síntomas asociados a otros fitopatógenos, en cada sitio de muestreo hubo al menos una arvense con síntomas de virosis. Entre los síntomas observados estuvieron, necrosis, clorosis y mosaicos. Se encontraron 17 especies de arvenses asociadas al

cultivo de melón; las tres especies más frecuentemente encontradas fueron *Cyperus. esculentus*, *Euphorbia ophthalmica* y *Amaranthus hybridus*. El índice de Shannon tuvo un valor de  $H' = 1.92$  indicando que en general se tiene una baja diversidad (Cuadro 1). La identificación taxonómica de los ejemplares sólo se ha realizado de manera preliminar hasta ahora.

Cuadro 1. Especies de arvenses encontradas, su frecuencia y fechas de muestreos en las que fueron encontradas.

N°	Especie	N° de veces encontrada	Fechas de muestreo
1	<i>Cyperus spp</i>	265	1, 2, 3, 4, 5 y 6
2	<i>Euphorbia ophthalmica</i>	188	1, 2, 3, 4, 5 y 6
3	<i>Amaranthus hybridus</i>	83	1, 2, 3, 4, 5 y 6
4	<i>Portulaca oleracea</i>	60	1, 4, 5 y 6
5	<i>Sorghum halepense</i>	34	5 y 6
6	<i>Parthenium bipinnatifidum</i>	33	4, 5 y 6
7	<i>Sisymbrium irio</i>	23	1, 2, 3, 4, 5 y 6
8	<i>Ipomoea purpurea</i>	21	1, 3, 5 y 6
9	<i>Cynodon dactylon</i>	18	4, 5 y 6
10	<i>Galinsoga parviflora</i>	7	3, 4, 5 y 6
11	<i>Bidens odorata</i>	5	4 y 5
12	<i>Ricinus communis</i>	6	1, 4, 5 y 6
13	<i>Euphorbia dentata</i>	3	3, 4 y 6
14	<i>Taraxacum officinarum</i>	2	5
15	<i>Eragrostis tenuifolia</i>	2	4
16	<i>Desmanthus spp</i>	1	5
17	<i>Physalis nicandroides</i>	1	6

**Detección de los géneros *Begomovirus*, *Potyvirus* y CMV.** Tres individuos de plantas arvenses, dos de *E. ophthalmica* y una de *A. hybridus*, presentaron una amplificación esperada de 500bp para *Begomovirus*. Por otra parte, no se presentó amplificación a la altura esperada, en las muestras de ARN de plantas arvenses para CMV 600bp. Es decir, fueron negativas para CMV. Igualmente, no se presentó amplificación de banda a la altura esperada de 750bp para *Potyvirus* en las arvenses seleccionadas. Las muestras con la amplificación esperada para *Begomovirus* se enviarán a secuenciar a Macrogen, Corea; posteriormente se realizará la secuencia consenso mediante el software BioEdit 7.2 y se correrán en la base de datos de BLAST-n para conocer su porcentaje de identidad con los virus reportados en dicha base.

Con respecto a la densidad poblacional de los insectos asociados con la transmisión de virus (Fig. 2), la mosca blanca presentó un total de 21108 individuos totales en los seis muestreos y

un pico poblacional de 7408 individuos en la fecha dos; los trips tuvieron 3062 individuos totales y un pico poblacional en el muestreo cuatro, con 1560 individuos; los áfidos tuvieron un total de 1154 individuos, con 460 individuos en la fecha de muestreo cinco, y; las chicharritas tuvo 273 individuos totales, contando con 67 individuos en la primera fecha de muestreo, que fue el mayor pico poblacional.

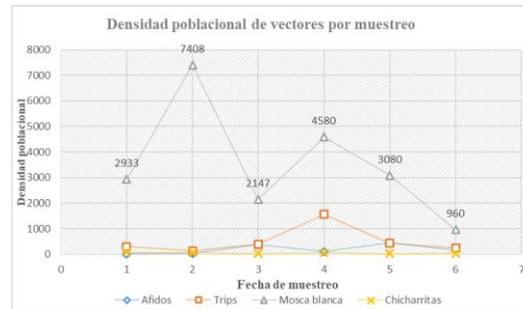


Figura 2. Gráfica de densidad poblacional de grupos de vectores por muestreo

### AGRADECIMIENTOS

Al Postgrado en Fitosanidad-Fitopatología del Colegio de Postgraduados, en especial a todos los académicos que han contribuido en mi formación académica. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el financiamiento en mis estudios de maestría.

### LITERATURA CITADA

Aguado, D., Gutiérrez-Chacón, Catalina., Muñoz, M.C. 2019. Estructura funcional y patrones de especialización en las relaciones planta-polinizador de un agroecosistema en el Valle del Cauca, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 24 (2): 331

<https://doi.org/10.15446/abc.v24n2.73177>

Blanco, Y., Leyva, Á. 2007. Las arvenses en el agroecosistema y sus beneficios agroecológicos como hospederas de enemigos naturales. *Cultivos Tropicales*, vol. 28, núm. 2, pp. 21-28. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba.

Chen, J., Chen, J., Adams, M.J. 2001. A universal PCR primer to detect members of the *Potyviridae* and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. *Arch Virol*.146(4):757-66. doi: 10.1007/s007050170144. PMID: 11402861.

Waage, J., Greathead, D. 1986. *Insect parasitoids*. London: Academic Press, 389 p

## EVALUACIÓN DEL EFECTO DE NANOPARTICULAS METALICAS EN EL DESARROLLO DEL VARIEGADO DEL CHILE (*Capsicum annuum* L.) Y LA PECA DEL TOMATE INDUCIDA POR (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)

Edgar Alejandro **Ruiz-Ramirez**<sup>1</sup>, Victor Manuel **Zuñiga Mayo**<sup>1</sup>, Reyna Isabel **Rojas-Martinez**<sup>1</sup>, Daniel Leobardo **Ochoa-Martínez**<sup>1</sup>, Gilberto **Velázquez-Juárez**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados. Posgrado en Fitosanidad orientación en Fitopatología. Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56264, Estado de México. C. P. (56230).

<sup>2</sup> Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Departamento de Química, Blvd. Marcelino García Barragán #1421, Guadalajara, Jalisco. C. P. (44430)

\*Autor para correspondencia: zunigamayo@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas (NPs) tienen un tamaño menor a 100 nm y muestran una alta relación superficie/volumen, lo que les confiere una alta eficacia para interactuar y penetrar las membranas microbianas (Morones *et al.*, 2005). Las propiedades físicas y químicas de las NPs tienen una variedad de aplicaciones en diferentes áreas como la medicina, la electrónica, la industria mecánica, manufacturera y de materiales. En la agricultura, las NPs son capaces de mejorar la tolerancia de las plantas contra diferentes tipos de estrés abióticos como la sequía o la salinidad (Nawaz *et al.*, 2023; Vishwakarma *et al.*, 2023)

En la última década se han realizado diferentes trabajos en todo el mundo para evaluar el efecto de nanopartículas contra un grupo diverso de patógenos incluidos los virus, hongos y bacterias, obteniendo resultados prometedores. Sin embargo, aún quedan muchas preguntas por dilucidar y aspectos técnicos que abordar, ya que actualmente no hay un consenso sobre el efecto de nanopartículas en diferentes patosistemas.

En especial se ha observado que hay escasos trabajos sobre el efecto de nanopartículas con bacterias no cultivables. La naturaleza no cultivable genera obstáculos para estudiar el efecto de las nanopartículas en estos patógenos, (Naranjo *et al.*, 2020). Para llegar a dilucidar el efecto de las nanopartículas en estos sistemas complejos, es conveniente evaluar otros patosistemas que permitan realizar pruebas *in vitro*, ya que estos ensayos son cruciales para dilucidar el efecto y mecanismo de acción de la nanopartícula de interés. Por lo anterior, el objetivo de este estudio es realizar una evaluación comparativa del efecto de AgNP, ZnONP y SiO<sub>2</sub>NP en dos patosistemas

diferentes: *Candidatus Liberibacter solanacearum* en Chile y *Pseudomonas syringae* pv. tomato en el cultivo de tomate.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en el laboratorio 209 del Programa de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, ubicado en el municipio de Texcoco, Estado de México.

Para las pruebas *in vivo* se emplearon plantas de tomate variedad "Rio Grande", se usó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos y seis repeticiones: el T1 se asignó al testigo el cual consistió en rociar agua destilada estéril en dos ocasiones previas a la inoculación (una por día); el T2, T3, T4 consistió en la aplicación foliar de ZnONP a una concentración de 50, 150 y 250 ppm, respectivamente, igualmente se aplicó dos veces antes de la inoculación.

Las AgNP, se compraron a la empresa Investigación y Desarrollo de Nanomateriales S.A. de C. V., número de producto Ag-ID01. Las ZnONP fueron sintetizadas por el método hidrotermal, en la Universidad de Guadalajara. La cepa de *Pseudomonas syringae* pv. tomato, fue proporcionada por el área de Bacterias Fitopatógenas del Colegio de Posgraduados.

La inoculación consistió en rociar foliarmente 5 mL de una suspensión bacteriana a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC. La bacteria que se usó para realizar la suspensión tenía 24 horas de crecimiento en medio B de King.

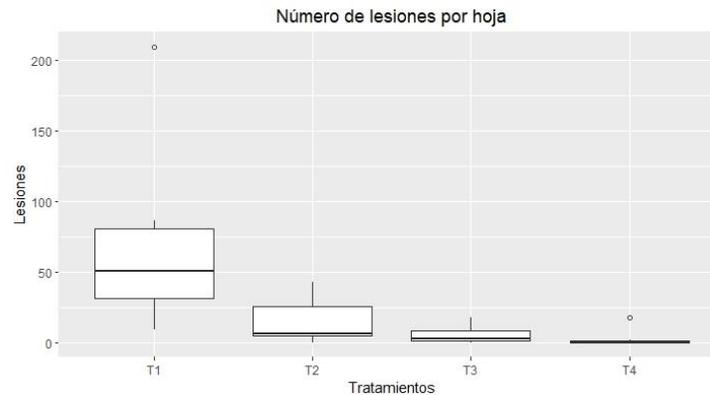
El número de lesiones y el porcentaje de severidad se calculó con el programa ImageJ y el análisis de varianza ANOVA y la prueba de Tukey HSD ( $P \leq 0,05$ ) se realizó usando el software estadístico R versión 4.3.1.

### Ensayos de inhibición *in vitro*

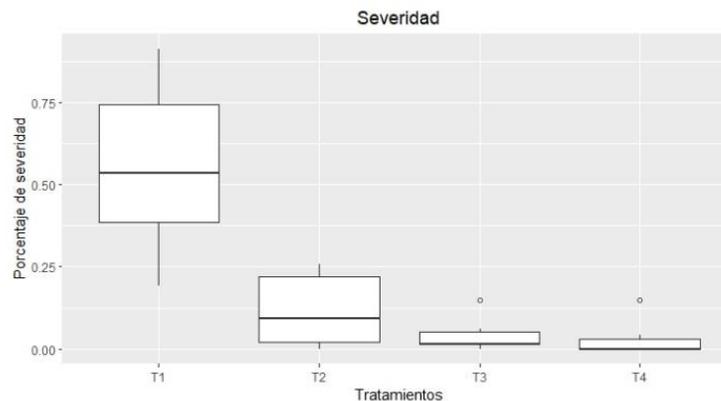
Para explorar las propiedades antibacterianas de ZnONP y AgNP, se utilizó la técnica de difusión en disco de agar. Se empleó una concentración de 500 ppm para cada nanopartícula, se utilizó estreptomicina a una concentración de 0.6 g/L y agua destilada estéril como control positivo y negativo, respectivamente. El procedimiento fue el siguiente: en condiciones estériles, se vertió 250  $\mu$ L de suspensión bacteriana a una concentración ( $1 \times 10^8$  UFC) en una caja Petri con medio B de King y se homogenizó con perlas de cristal. Posteriormente se colocaron cuatro discos de papel filtro, uno por cada tratamiento. Después de incubar a 30 °C durante 24 h, la actividad antimicrobiana se determinó midiendo la zona de inhibición.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

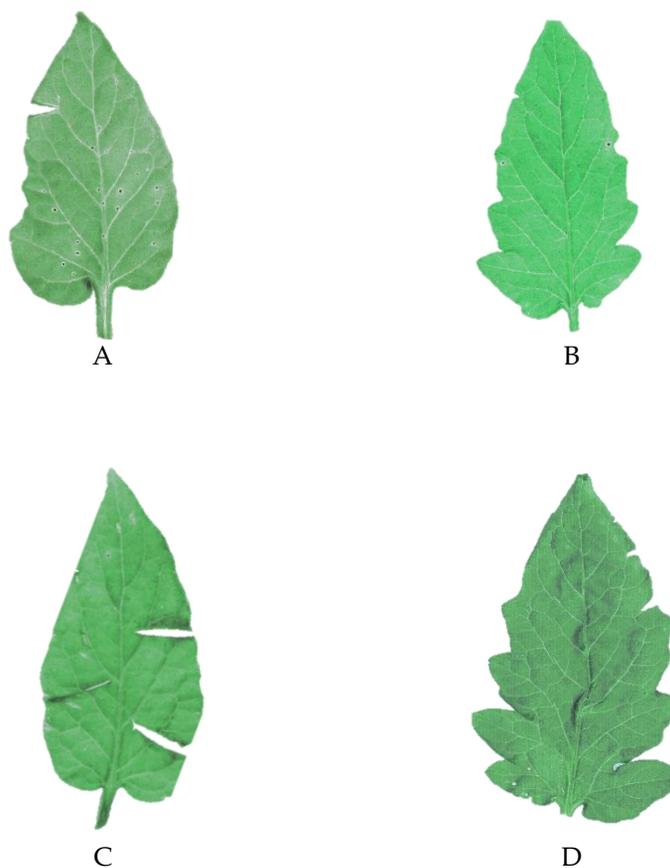
A los seis días después de la inoculación iniciaron los síntomas, las hojas exhibieron lesiones pequeñas de color marrón oscuro a negro rodeadas de halos cloróticos, los cuales corresponden con los síntomas reportados en la literatura (Valenzuela *et al.*, 2022). Sin embargo, el número de lesiones por hoja y el porcentaje de severidad fue estadísticamente diferente entre los tratamientos, y en especial entre el testigo y los tratamientos donde se aplicaron nanopartículas, donde el testigo presentó el mayor número de lesiones y el mayor porcentaje de severidad, caso opuesto, el tratamiento donde se aplicó 250 ppm de ZnONP presentó un menor número de lesiones y menor porcentaje de severidad. Resultados similares encontraron en un estudio donde se aplicaron nanopartículas de ZnO 24 horas antes de la inoculación con TMV (Tobacco Mosaic Virus) en plantas de jitomate (Elsharkawy *et al.*, 2020).



**Figura 1.** Efecto de ZnONP en el número de lesiones. Testigo (T1); ZnONP, 50 ppm (T2); ZnONP, 150 ppm (T3) y ZnONP 250 ppm (T4).



**Figura 2.** Efecto de ZnONP en el porcentaje de severidad. Testigo (T1); ZnONP, 50 ppm (T2); ZnONP, 150 ppm (T3) y ZnONP 250 ppm (T4)



**Figura 3.** Efecto de ZnONP contra *Pseudomonas syringae* pv. tomato. Testigo (A); ZnONP, 50 ppm (B); ZnONP, 150 ppm (C) y ZnONP 250 ppm (D).

En los ensayos *in vitro* se identificó un efecto antagonista de las ZnONP y AgNP contra *Pseudomonas syringae* pv. tomato, se observó un halo de inhibición en la periferia del disco, el diámetro del halo era menor que el control positivo donde se aplicó estreptomicina. Con respecto a este resultado hay diferentes estudios que reportan que las ZnNP tienen propiedad bactericida (Parveen & Siddiqui, 2021) al igual que las AgNP contra *Ralstonia solanacearum* (Chen, 2016).

Los resultados indican que *Pseudomonas syringae* pv. tomato es sensible a las nanopartículas de AgNP y ZnONP a una concentración de 500 ppm. Además, la aplicación foliar de ZnONP redujo el número de lesiones ocasionados por esta bacteria en tomate. Es necesario realizar los experimentos faltantes para poder dilucidar las preguntas planteadas al inicio de la investigación.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al CONAHCYT y al Colegio de Postgraduados por la financiación de la presente investigación

## LITERATURA CITADA

Chen, J., Li, S., Luo, J., Wang, R., & Ding, W. (2016). Enhancement of the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles against Phytopathogenic Bacterium *Ralstonia solanacearum* by Stabilization. *Journal of Nanomaterials*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7135852>

Elsharkawy, M., Derbalah, A., Hamza, A., & El-Shaer, A. (2020). Zinc oxide nanostructures as a control strategy of bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas syringae* in Egypt. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 19049–19057. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3806-0>

Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346–2353. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059>

Naranjo, E., Merfa, V. M., Santra, S., Ozcan, A., Johnson, E., Cobine, A. P., & De La Fuente, L. (2020). *crossm* Activity against *Liberibacter crescens* in Batch Cultures and in. 86(16), 1–18.

Nawaz, A., Rehman, H. ur, Usman, M., Wakeel, A., Shahid, M. S., Alam, S., Sanaullah, M., Atiq, M., & Farooq, M. (2023). Nanobiotechnology in crop stress management: an overview of novel applications. In *Discover Nano* (Vol. 18, Issue 1). Springer US. <https://doi.org/10.1186/s11671-023-03845-1>

Parveen, A., & Siddiqui, Z. A. (2021). Zinc oxide nanoparticles affect growth, photosynthetic pigments, proline content and bacterial and fungal diseases of tomato. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 54(17–18), 1519–1538. <https://doi.org/10.1080/03235408.2021.1917952>

Valenzuela, M., Fuentes, B., Alfaro, J. F., Galvez, E., Salinas, A., Besoain, X., & Seeger, M. (2022). First Report of Bacterial Speck Caused by *Pseudomonas syringae* pv. tomato Race 1 Affecting Tomato in Different Regions of Chile. *Plant Disease*, 106(7), 1979. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-21-2436-PDN>

Vishwakarma, V., Ogunkunle, C. O., Rufai, A. B., Okunlola, G. O., Olatunji, O. A., & Jimoh, M. A. (2023). Nanoengineered particles for sustainable crop production: potentials and challenges. *3 Biotech*, 13(5), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03588-x>

## PIOJOS HARINOSOS EN HORTALIZAS EN AGRICULTURA PROTEGIDA EN MÉXICO Y SUS ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS

Adriana Acevedo-Alcalá\* <sup>1</sup>, Esteban Rodríguez-Leyva <sup>1</sup>, J. Refugio Lomeli Flores <sup>1</sup>, Ariel W. Guzmán-Franco <sup>1</sup>, Julio C. Velázquez-González <sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Posgrado en Fitosanidad, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56264 Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Koppert México, Circuito El Marqués norte 82, parque industrial El Marqués, 76246 El Marqués, Querétaro, México.

\*Autor de correspondencia: [acevedo.adri.alcala@gmail.com](mailto:acevedo.adri.alcala@gmail.com)

### INTRODUCCIÓN

Los piojos harinosos (Hemiptera: Pseudococcidae) son plaga de cultivos hortícolas, frutales y forestales en el mundo (SFE, 2015). Estos insectos causan daños directos e indirectos, los primeros al alimentarse de la savia y excretar mielecilla; además, pueden inyectar toxinas o transmitir virus (SFE, 2015). Los daños indirectos se relacionan con su presencia en el fruto botánico o comercial, lo que ocasiona el rechazo de su comercialización (Palma-Jiménez *et al.*, 2019). En la última década se ha reportado un incremento en la incidencia y daño por piojo harinosos en hortalizas (Gastelum *et al.*, 2016). Específicamente en España, y algunos otros países de Europa, se ha registrado a *Planococcus citri*, *Phenacoccus madeirensis*, *Phenacoccus solani* y *Pseudococcus comstocki* atacando cultivos de pimiento, berenjena, sandía, pepino, melón y tomate (Moreno, 2012; Navarro *et al.*, 2014). En México solo está reportado *Phenacoccus* spp. en chile pimiento en malla sombra en Sinaloa (Gastelum *et al.*, 2014), *P. madeirensis* en pimiento en invernadero en Texcoco, Estado de México y *P. solenopsis* en algodónero en Mexicali, Baja California (Lomeli-Flores *et al.*, 2021). Una de las principales tácticas para el control de piojos harinoso es el control biológico clásico y por aumento, y se han utilizado diversos enemigos naturales (Beltra *et al.*, 2013). Para el control del piojo harinoso de la papaya en Estados Unidos se liberó a *Acerophagus papayae*, *Pseudleptomastix mexicana* y *Anagyrus loecki* (Myrick *et al.*, 2014), mientras que, para el control de piojos harinosos en Chile, Estados Unidos, Pakistán e India se ha utilizado a *Cryptolaemus montrouzieri* (Rojas, 2005; Gunawardana y Hemachandra, 2020). Este depredador en conjunto con *Anagyrus kamali* se utilizó para el control de *Maconellicoccus hirsutus* en México (García-Valente *et al.*, 2009). Ante un aparente incremento de piojos harinosos en vegetales en agricultura protegida en México (Gastelum *et al.*, 2016), la falta del conocimiento de la fauna nativa (enemigos naturales) y de las restricciones, en cumplimiento a medidas fitosanitarias internacionales, de desplazar los enemigos naturales que se utilizan en otros países (Vasseur *et al.*,

2018), El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de piojos harinosos que están atacando hortalizas en agricultura protegida en México y sus enemigos naturales asociados.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

**Muestras.** Se realizaron muestreos dirigidos en diferentes áreas hortícolas de México, y en muchas ocasiones se tuvo la colaboración de empresas productoras de hortalizas. Se recolectó material de pimiento, pepino, jitomate, chile guajillo y chile hueco cultivados bajo malla sombra e invernadero. Las hembras adultas se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 ml con alcohol al 70 %. Además, en un recipiente de 200 ml con ventilación se recolectaron ninfas de diferentes tamaños y adultas de piojos harinosos que se encontraron en brotes de la planta, y se esperó la emergencia de los enemigos naturales asociados; a cada muestra se le colocó una etiqueta de identificación con los datos de recolecta.

**Identificación de piojos harinosos y enemigos naturales.** Todas las muestras se trasladaron al laboratorio de control biológico del Colegio de Postgraduados. Las hembras adultas en alcohol se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 ml con KOH al 10% y se calentaron a 80° C durante 10 minutos (AccuBlock, Labnet, Edison, NJ). Se utilizó la técnica de Kosztarab para el procesamiento y montaje de hembras adultas (Lomeli-Flores *et al.*, 2021). Las muestras de material vivo se colocaron en recipientes con ventilación a 25 ± 2 °C, 75 ± 5% HR y 12:12 h L: O, y se esperó la emergencia de enemigos naturales. Los piojos harinosos se identificaron utilizando las claves de Williams y Granara de Willink (1992). Para la preservación de los parasitoides se utilizó la técnica de Lomeli-Flores *et al.* (2021), para realizar la identificación utilizando claves dicotómicas de acuerdo con la familia taxonómica. Las especies de piojos harinosos y parasitoides asociados fueron corroboradas por el Dr. Héctor González Hernández y el Dr. J. Refugio Lomeli Flores, especialistas de esos grupos, respectivamente.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se recolectaron cuatro especies de piojos harinosos en cultivos hortícolas cultivados en malla sombra o invernaderos de 13 sitios en siete entidades federativas (Cuadro 1). Sólo se recuperaron enemigos naturales de Texcoco, Estado de México; Vallejos y Santa Teresa, San Luis Potosí; Chulavista, Sinaloa; Jala, Nayarit y El Rosal, Michoacán (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Piojos harinosos recolectados de hortalizas cultivadas en malla sombra o invernadero, hospederos, y enemigos naturales asociados.

Piojos harinosos	Lugar de recolecta	Hospedero	Enemigos naturales
			<i>Acerophagus angelicus</i> <i>Aenasius arizonensis</i>

<i>Phenacoccus solani</i>	Chulavista, Culiacán, Sinaloa	Pimiento	<i>Dicarnosis ripariensis</i> <i>Cheiloneurus</i> sp. <i>Ectromatopsis americana</i>
	El Rosal, Michoacán	Pimiento	
	Texcoco, Estado de México	Pepino	
	Aquixtla, Puebla	Jitomate	
	Jala, Nayarit	Pimiento	
	La piedad, Michoacán	Pimiento	
	El Rosal, Penjamo, Guanajuato	Pimiento	
	El Rosal, Unidad Sabora 1, Penjamo, Guanajuato	Pimiento	
<i>Phenacoccus solenopsis</i>	Etzatlán, Jalisco	Pimiento	
	Texcoco, Estado de México	Jitomate	<i>Anagyrus paralia</i> , <i>Chartocerus</i> sp., y otras
	La Libertad, Cd. Victoria, Tamaulipas	Jitomate	
	Vallejos, San Luis Potosí	Tomate	Cecidomyiidae
	Aguaruto, Culiacán, Sinaloa	Tomate	
	Santa Teresa, San Luis, Potosí	Tomate	<i>Aenasius arizonensis</i>
	Piedra colorada, San Luis Potosí	Chile guajillo	
	Revalin, San Luis Potosí	Chile hueco	
	Costa Rica, Culiacán, Sinaloa	Pimiento	
	El Dorado, Guasave, Sinaloa	Pimiento	
	Jala, Nayarit	Pimiento	
	Culiacán, Sinaloa	Pimiento	
	El Rosal, Pénjamo, Guanajuato	Pimiento	
	Aguaruto, Culiacán, Sinaloa	Jitomate	
<i>Ferrisia virgata</i>	Jala, Nayarit	Pimiento	-
<i>Phenacoccus madeirensis</i>	Texcoco, Estado de México	Pimiento	<i>Dicarnosis ripariensis</i> <i>Anagyrus tristis</i> <i>Allotropia</i> sp.
	Texcoco, Estado de México	Jitomate	<i>Dicarnosis ripariensis</i> y otras
	El Rosal, Unidad sabora 1, Pénjamo, Guanajuato	Pimiento	
	Querétaro, Querétaro	Pimiento	
	Juventino rosas, Guanajuato	Pimiento mini bell	
	El Rosal, Unidad sabora 2, Pénjamo, Guanajuato	Pimiento mini bell	

Las cuatro especies de piojos harinosos reportadas en esta investigación en hortalizas ya se han reportado en otros países, principalmente en frutales y ornamentales (Moreno, 2012). En

México no se tenían registradas en estas hortalizas en agricultura protegida, ni tampoco sobre éstas en campo abierto. Por ejemplo: *P. solani* está reportada sobre chile y jitomate (Beltra y Soto, 2011; Chatzidimitriou *et al.*, 2016), pero no se tenía registrada sobre pepino, mientras que *F. virgata* está reportada en frutales y algunas hortalizas, como papa y tomate (Da Silva-Torres *et al.*, 2013) pero no se había encontrado en chile pimiento. *P. solenopsis* y *P. madeirensis* ya están reportadas sobre chile y jitomate (Spodek *et al.*, 2018; Lomeli-Flores *et al.*, 2021; Williams, D.J., & Granara de Willink), como se encontró en esta investigación.

Las dos especies de parasitoides identificados asociados a *P. solenopsis* ya se han reportado anteriormente (Noyes, 2024); no obstante, las tres y cinco especies de parasitoides asociados a *P. madeirensis* y *P. solani*, respectivamente, no están reportadas para estas dos especies de piojos harinosos, excepto *D. ripariensis* que ya se tiene registrada como parasitoide de *P. madeirensis* (Lomeli-Flores *et al.*, 2021).

En este trabajo se registraron cuatro especies de piojos. Además, se registraron siete géneros de parasitoides asociados a *P. solani*, *P. solenopsis* y *P. madeirensis*. Se desconoce como llegaron a México, y que tan rápido se adaptaron al ambiente. Estos resultados indican la necesidad de realizar más exploración en diferentes áreas de México para la identificación de piojos harinosos por cultivo y sus enemigos naturales asociados.

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias, Tecnologías e Innovación (CONAHACYT), México, por la asignación de una beca de doctorado a la primera autora. A los técnicos de Koppert México, a los técnicos de los Comités Estatales de Sanidad Vegetal, a los técnicos de DIVEMEX y compañeros que participaron en el envío de material biológico de sus cultivos y entidades respectivas.

### LITERATURA CITADA

- Beltra A, Tena A, Soto A. 2013. Fortuitous biological control of the invasive mealybug *Phenacoccus peruvianus* in Southern Europe. *BioControl*, 58: 309-317. Doi: 10.1007/s10526-012-9488-5.
- Beltra A, Soto A. 2011. New records of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) from Spain. *Phytoparasitica*, 39: 385-387.
- Chatzidimitriou E, Simonato M, Watson GW, Martínez-Sañudo I, Tanaka, Zhao J, Pellizzari G. 2016. Are *Phenacoccus solani* Ferris and *P. defectus* Ferris (Hemiptera: Pseudococcidae) distinct species. *Zootaxa*, 4093(4): 539-551.
- Da Silva-Torres CSA, de Oliveira MD, Torres JB. 2013. Host selection and establishment of striped mealybug, *Ferrisia virgata*, on cotton cultivars. *Phytoparasitica* 41: 31-40.

- García-Valente F, Ortega-Arenas LD, González-Hernández H, Villanueva-Jiménez JA, López-Collado J, González-Hernández A, Arredondo-Bernal HC. 2009. Parasitismo natural e inducido de *Anagyrus kamali* sobre la cochinilla rosada en brotes de teca, en Bahía de Banderas, Nayarit. *Agrociencia*, 43: 729-738.
- Gastélum LR, Godoy ATP, López MM, Yáñez JMG. 2014. Plagas potenciales de hortalizas y cítricos. En: *Tópicos Selectos de agronomía*. Universidad Autónoma de Sinaloa: 167-188.
- Gastelum LR, Godoy AT. 2016. Piojo harinoso, plaga severa en sistemas de producción orgánicos. *Agro excelencia*, 7-9.
- Gunawardana DUM, Hemachandra KS. 2020. Mass rearing of mealybug predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) on two mealybug species, *Planococcus minor* and *Pseudococcus viburni*. *Tropical Agricultura Research*, 31: 31-41.
- Lomeli-Flores JR, Lima-Espindola J, González-Hernández H, Rodríguez-Leyva E, Velázquez-González JC. 2021. New Host Record and Distribution of *Dicarnosis ripariensis* Kerrich1 in Mexico. *Southwest. Entomol.* 46: 191-196. <https://doi.org/10.3958/059.046.0118>.
- Moreno Salmerón J. 2012. Prospección e identificación de cochinillas algodonosas (Hemiptera: Pseudococcidae) y búsqueda de parasitoides asociados en cultivos hortícolas protegidos del poniente almeriense.
- Myrick S, Norton GW, Selvaraj KN, Natarajan K, Muniappan R. 2014. Economic impact of classical biological control of papaya mealybug in India. *Crop Protection*, 56: 82-86.
- Navarro V, Téllez MM, Martín E. 2014. Plagas emergentes y de nueva aparición en cultivos hortícolas protegidos. *Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera*, 18.
- Palma-Jiménez M, Blanco-Meneses M, Guillén-Sánchez C. 2019. Las cochinillas harinosas (Hemiptera: Pseudococcidae) y su impacto en el cultivo de Musáceas. *Agronomía Mesoamericana*, 30: 281-298.
- Rojas S. 2005. Control biológico de plagas en Chile historia y avances. *Colección Libros INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias*, 12: 1-115.
- Sagarra LA, Vincent C, Stewart RK. 2001. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Bull. Entomol. Res.* 91: 363-367. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.12.003>.
- Guía técnica para el monitoreo de *Pseudococcus elisae* y *Diaspis boisduilli* en Musa AAA. Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, CRC
- SFE (Servicio Fitosanitario del Estado). 2015. Guía técnica para el monitoreo de *Pseudococcus elisae* y *Diaspis boisduilli* en Musa AAA. Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, CRC.
- Spodek M, Ben-Dov Y, Mondaca L, Protasov A, Erel E, Mendel Z. 2018. The cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) in Israel: pest status, host plants and natural enemies. *Phytoparasitica*, 46: 45-55.
- Vasseur L, Goettel S., Labbé R. 2018. Use of biological control against arthropod pests in Canadian greenhouse crop production. *Journal of Biosafety*, 27: 1-15.
- Williams DJ, Granara de Willink. 1992. Mealybugs of central and South América. *CAB International*, 38

## BIOLOGÍA DE *Apanteles piceotrichosus* Blanchard (HYMENOPTERA: BRACONIDAE), UN ENEMIGO NATURAL DE LA PALOMILLA DORSO DE DIAMANTE

\*Susana Eva Rodríguez-Rodríguez<sup>1</sup>, Esteban Rodríguez-Leyva<sup>1</sup>, Jorge Manuel Valdez-Carrasco<sup>2</sup>, J. Refugio Lomeli-Flores<sup>1</sup>, Héctor González-Hernández<sup>1</sup>, Julio Bernal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Posgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología, Montecillo, CP 56264 Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Texas A&M University, Department of Entomology, 412 Minnie Bell Heep Bldg., TAMU MS 2475, College Station, TX 77843, USA.

\*Autor de correspondencia: [serr\\_biol@hotmail.com](mailto:serr_biol@hotmail.com)

### INTRODUCCIÓN

*Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), o palomilla dorso de diamante (PDD), es una plaga de distribución cosmopolita y se considera la principal plaga de importancia económica en brasicáceas (Talekar y Shelton, 1993; Zalucki *et al.*, 2012). Para su combate se recomienda el Manejo Integrado de Plagas (MIP) (Talekar y Shelton, 1993), donde es indispensable considerar la contribución que realizan los enemigos naturales (Talekar y Shelton, 1993; Bommarco *et al.*, 2011). Hay más de 135 especies de parasitoides que atacan a *P. xylostella* (Delvare, 2004). Entre éstos destacan las especies de los géneros: *Diadegma*, *Cotesia* y *Microplitis* (Lim, 1986; Xu *et al.*, 2001). En estudios realizados en brócoli en el estado de Guanajuato, principal productor de crucíferas en México, el parasitoide que más se ha recuperado es *Diadegma insulare* (Cid *et al.*, 2023). Sin embargo, en recolectas del 2019 al 2023 en varias localidades, se detectó otro parasitoide (*Apanteles* sp.) (Lomeli-Flores y Bernal, 2022), el cual parasita larvas pequeñas de la plaga y presenta un ciclo de vida corto, alrededor de 15 d. Considerando que este parasitoide puede estar realizando un papel importante en la regulación de la plaga, se planteó en un trabajo previo identificar la especie y conocer su distribución en las principales zonas productoras de brócoli. La especie es *Apanteles piceotrichosus* Blanchard, con registros de distribución en Argentina (Blanchard, 1947), Chile (Muriel y Grez, 2003) y Brasil (Ferronato y Becker, 1984) por lo que para México representa el primer registro con distribución en Guanajuato, Puebla y Estado de México. Una vez conocida su identidad, el objetivo de este trabajo fue describir los aspectos de su biología y comportamiento en condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODO

**Cría del parasitoide.** La cría del parasitoide se estableció con material recolectado en brócoli en Dolores Hidalgo, Guanajuato, México. Como huésped se utilizaron larvas de 2<sup>do</sup> y 3<sup>er</sup> ínstar de *P. xylostella*. Las larvas de *P. xylostella* se obtuvieron de una colonia establecida en plantas de brócoli confinadas en jaulas de metal cubiertas con tela de organza (60 x 30 x 30 cm). Para la alimentación de los adultos de *P. xylostella* y del parasitoide se utilizaba agua y miel cada tercer día. Los insectos de ambas especies se mantuvieron en una cámara bioclimática a  $25 \pm 2$  °C, 70% HR y 12:12 h L:O.

**Descripción morfológica de las etapas inmaduras.** La arena experimental consistió en una caja de plástico transparente (5.5 cm  $\Theta$ , 2.5 cm de altura) donde se colocaron 10 larvas de 2<sup>do</sup> ínstar de *P. xylostella*, cinco gotas de miel y una torunda de algodón humedecida con agua. Una vez preparada la arena se liberó una hembra del parasitoide, de 2 a 5 d de edad, con experiencia de oviposición. Al detectar que una larva era parasitada, con la ayuda de un pincel del #0, se retiró e individualizó cada una de las larvas en una caja de plástico (3 cm  $\Theta$ , 1.5 cm de altura) junto con una hoja de brócoli para su alimentación. Se realizaron 10 repeticiones. Para observar los diferentes estados de desarrollo se realizaron disecciones con pinzas entomológicas #5 en un microscopio estereoscópico triocular (Velab® VE-S5) a las 12, 18, 24 y 30 h, posterior a estos periodos cada 24 h hasta obtener pupas. Para retirar los restos de la larva huésped, cada una de las muestras se limpió con una solución de cloruro de sodio al 0.9% (PiSA®). El material biológico se fijó con glutaraldehído durante 24 h y posteriormente se almacenó en alcohol al 70%. La descripción del huevo, larvas y pupa se realizó a partir de fotografías que se tomaron con una cámara digital Cannon EOS 5D adaptada a un microscopio Carl Zeiss discovery UV20, y consultando la literatura de Clausen (1940) y Stehr (1987).

**Tiempo de desarrollo, supervivencia y proporción sexual.** Para obtener larvas parasitadas se siguió la metodología del experimento anterior. Para determinar el periodo de incubación en huevo se disectaron larvas a las 18, 24 y 30 h y para conocer la duración en larva y para pupa solo se realizaron observaciones cada 24 h. Para el periodo de incubación se consideró desde el momento de oviposición hasta obtener la larva de 1<sup>er</sup> ínstar; para el periodo en larva se consideró el tiempo desde que se detectó la larva de 1<sup>er</sup> ínstar hasta que la larva madura salió de su huésped para formar un capullo; mientras que el de pupa fue desde la formación del capullo hasta la emergencia de los adultos. Se realizaron 22 repeticiones, una hembra del parasitoide se consideró como una

repetición, a la cual se le proporcionaron 10 larvas de *P. xylostella* por repetición. Para la supervivencia se obtuvieron los porcentajes de cuantos huevos eclosionaron, cuantas larvas lograron pupar, la emergencia de adultos y se registró la proporción sexual.

**Longevidad.** La arena experimental consistió en una caja de plástico transparente (3 cm  $\Theta$ , 1.5 cm de altura). Para las hembras se determinaron tres tratamientos :1) hembra realizando oviposición con acceso a agua y miel; 2) hembra sin experiencia de oviposición con agua y miel y 3) hembra sin experiencia de oviposición con agua (12 repeticiones cada uno). Para los machos se determinaron dos tratamientos: 1) con agua y miel y 2) solo con agua (12 repeticiones cada uno).

**Fecundidad.** La arena experimental consistió en una caja de plástico transparente (10 cm  $\Theta$ , 4.5 cm de altura) con cinco gotas de miel y una torunda de algodón humedecida con agua. Se liberó una hembra recién emergida con dos machos; diariamente se colocaron 20 larvas de 2<sup>do</sup> ínstar de *P. xylostella* hasta la muerte de la hembra. Se realizaron disecciones cada 24 h para contabilizar el número de huevos por larva y se realizaron 12 repeticiones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Apanteles piceotrichosus* es un endoparásitoide que pasa por las etapas de huevo, cinco ínstares larvales, prepupa y pupa. El huevo es de tipo himenopteriforme, translucido y alargado y presenta un pedicelo corto. La larva de 1<sup>er</sup> ínstar es de tipo mandibulada. La larva de 2<sup>do</sup> ínstar es de tipo caudada. La larva de 3<sup>er</sup> y 4<sup>o</sup> ínstar se caracterizan por presentar una vesícula anal lo que les da el nombre de tipo vesiculadas, que en este caso se trata de la evaginación del proctodeo (Poinar y Thomas, 1984) y la larva de 5<sup>o</sup> ínstar es de tipo himenopteriforme. En algunos estudios la diferenciación de los ínstares larvales se realiza de acuerdo con la longitud y el tamaño de cápsula cefálica (Pezzini *et al.*, 2017); sin embargo, en este trabajo se buscaron además del tamaño, estructuras morfológicas que permitieran diferenciarlos. Una vez que la larva del 5<sup>o</sup> ínstar sale de su huésped, forma un capullo de seda para transformarse en prepupa, donde se observa una constricción en la parte media del cuerpo y es de color amarillo, después se transforma en pupa, la cual es de tipo exarata. El tiempo de desarrollo para cada etapa fue el siguiente: huevo de  $0.89 \pm 0.00$  d; larva de  $7.06 \pm 0.01$  d y pupa de  $5.95 \pm 0.01$  d. El tiempo de desarrollo de huevo a adulto fue de  $13.89 \pm 0.01$  d. En otras especies como *Apanteles machaeralis* se reporta un tiempo de desarrollo de 12.63 d a  $29.25 \pm 1.82^\circ\text{C}$  (Clement y David, 1990). La supervivencia de huevo a larva fue del 100%; de larva a pupa del 82%; y de pupa a adulto del 69% con una proporción sexual de

0.54 H/M, para *Apanteles subandinus* (Canedo *et al.*, 2016) se menciona que la proporción de sexos se ve afectada por la temperatura, con un predominio de machos a temperaturas inferiores a 15°C (1:6.6 H/M). En temperatura entre 20°C a 30°C, la proporción de sexos fue de casi 1:1. La longevidad de las hembras fue diferente dependiendo de su actividad biológica y disposición de carbohidratos. Las hembras con agua y miel y ovipositando vivieron  $9.08 \pm 0.14$  d; las hembras sin huésped, pero con disponibilidad de agua y miel vivieron  $16.08 \pm 0.19$  d, y las hembras sólo con agua (sin miel) vivieron  $3.08 \pm 0.08$  d. Abbas (1989) determinó que las hembras con miel sobreviven en promedio 15.9 d y 11.6 d a 25°C y 30°C respectivamente. Finalmente, la fecundidad de *A. piceotrichosus* fue de  $165 \pm 0.12$  huevos, con un mínimo de 54 y un máximo 337. Para *A. subandinus* (Blanchard, 1947) la fecundidad máxima fue de 145 huevos, menor al reportado en este trabajo, pero las condiciones de temperatura fueron ligeramente distintas, de 26 a 30 °C (Canedo *et al.*, 2016).

#### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) en México, por la beca otorgada al primer autor (número de CVU 662879). De manera especial a los técnicos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, y a todos los productores de brócoli que amablemente han contribuido para poder realizar recolectas en sus campos de cultivo.

#### LITERATURA CITADA

- Abbas MST. 1989. Studies on *Apanteles litae* var. *operculellae*, a Parasite of the Diamond-back Moth, *Plutella xylostella* in Egypt. *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin. Zoologisches Museum und Institut für Spezielle Zoologie (Berlin)* 65(1): 157-160.
- Blanchard EE. 1947. Descripciones y anotaciones de microgastrinos argentinos (Hymenoptera). *Arthropoda* 1(1): 6-22.
- Bommarco R, Miranda F, Bylund H, Björkman C. 2011. Insecticides Suppress Natural Enemies and Increase Pest Damage in Cabbage. *Journal of Economic Entomology* 104(3): 782-791. DOI: 10.1603/EC10444.
- Canedo V, Carhuapoma P, Dávila W, Kroschel J. 2016. *Apanteles subandinus* (Blanchard 1947). In: Kroschel J, Mujica N, Carhuapoma P, Sporleder M (eds.). *Pest distribution and risk atlas for Africa. Potential global and regional distribution and abundance of agricultural and horticultural pests and associated biocontrol agents under current and future climates*. Lima (Peru). International Potato Center (CIP). ISBN 978-92-9060-476-1. DOI 10.4160/9789290604761-17. pp. 220-231.
- Clausen CP. 1940. *Entomophagous Insects*. McGraw-Hill Book Company, New York and London 688 p.

- Cid-Aguilar SM, Lomelí-Flores JR, Rodríguez-Leyva E, Tamayo-Mejía F. 2023. Uso de fructosa y plantas con flores para fomentar el control biológico de *Plutella xylostella*. Revista Fitotecnia Mexicana 46: 21-31. DOI: <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.1.21>.
- Delvare G. 2004. The taxonomic status and role of Hymenoptera in biological control of DBM, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). In Improving biocontrol of *Plutella xylostella*. Proceedings of the International Symposium. Ed. by Kirk A. A. & Bordat D., Montpellier, France, CIRAD 17-49.
- Ferronato EM, Becker M. 1984. Abundância e complexo de parasitoides de *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em Brassica oleracea L. var. acephala DC. Anais da Sociedade Entomologica do Brasil 13(2): 261-278.
- Lim GS. 1986. Biological control of diamondback moth. In Talekar NS and Griggs TD (ed.) Diamondback Moth Management: Proceedings of the First International Workshop. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan, 159-171.
- Lomeli-Flores JR, Bernal J. 2022. Nuevas alternativas de control de la palomilla dorso de diamante. Informe técnico. Colegio de Postgraduados y Secretaría de Desarrollo Agroalimentario y Rural del Estado de Guanajuato, Convenio DS/SDCA/DGA/DSV/08/2021.
- Muriel SB, Grez AA. 2003. Abundancia y parasitismo de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) en parches de Brassica oleracea con diferente forma y vegetación circundante. Actualidades Biológicas 25(79): 1-8.
- Stehr FG. 1987. Immature Insects, Volumen 1. Kendall/Hunt Publishing Company, ISBN 0-8403-3702-7. 754 p.
- Talekar NS, Shelton AM. 1993. Biology, ecology, and management of diamondback moth. Annual Review of Entomology 38: 275-301. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001423>.
- Peter C, David BV. 1990. Biology of *Apanteles machaeralis* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae) a parasite of *Diaphania indica* (Saunders) (Lepidoptera: Pyralidae). Proceedings: Animal Sciences 99: 353-362.
- Pezzini C, Jahnke SM, Köhler A. 2017. Morphological characterization of immature stages of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera, Braconidae) ectoparasitoid of *Epehestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). Journal of Hymenoptera Research 60: 157-171.
- Poinar GO, Thomas GM. 1984. Immature stages of insect endoparasites. In: Laboratory guide to insect pathogens and parasites. Springer, Boston, MA. 281-325. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8544-8\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8544-8_8).
- Xu J, Shelton AM, Cheng X. 2001. Comparison of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) and *Microplitis plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) as biocontrol agents of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): field parasitism, insecticide susceptibility, and host searching. Journal of Economic Entomology 94: 14-20. DOI: 10.1603/0022-0493-94.1.14.
- Zalucki MP, Shabbir A, Silva R, Adamson D, Shu-Sheng L, Furlong MJ. 2012. Estimating the Economic Cost of One of the World's Major Insect Pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): Just how long is a piece of string?. Journal of Economic Entomology 105(4): 1115-1129. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/EC12107>.

## TIEMPO DE DESARROLLO DE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EN BRASICÁCEAS SILVESTRES

Daniel Ramírez-Cerón<sup>1</sup>, J. Refugio Lomeli-Flores<sup>1\*</sup>, Esteban Rodríguez-Leyva<sup>1</sup>, Lauro Soto-Rojas<sup>1</sup> y Fernando Tamayo-Mejía<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Posgrado en Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5 Montecillo, CP. 56264 Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Secretaría de Desarrollo Agropecuario de Guanajuato, Av. Irrigación S/N, Colonia Monte Camargo, CP. 38010 Celaya, Guanajuato, México.

\*Autor para correspondencia: [jrlomelif@hotmail.com](mailto:jrlomelif@hotmail.com)

### INTRODUCCIÓN

*Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) es la principal plaga de brassicáceas en el mundo, su manejo se basa en el uso de insecticidas, sin embargo, su uso excesivo ha propiciado la disminución de la fauna benéfica y al desarrollo de resistencia a insecticidas. Este insecto tiene un rango de hospederas restringidas a la familia brassicaceae (Rojas y Vibrans, 2004; Bustamante-García, 2021). Muchas de ellas de importancia agrícola, condimento u ornamentales. No obstante, existen algunas que son silvestres las cuales son abundantes en caminos y entre cultivos, algunas interfiriendo afectando el rendimiento de algunos cultivos. Estas plantas se caracterizan por contener glucosinolatos (Badenes-Pérez *et al.*, 2020), los cuales son utilizados para defensa de la planta, sin embargo, *P. xylostella* se ha adaptado de manera exitosa, incluso utiliza estos compuestos para ubicar los cultivos. En el Bajío Guanajuatense como parte del Manejo Integrado de Plagas (MIP) se ha propuesto un periodo libre del cultivo de brassicáceas (=veda) para disminuir sus poblaciones. No obstante, en algunas zonas productoras de brócoli hay brassicáceas silvestres que pudieran ser reservorios de este insecto; algunas brassicáceas silvestres no permiten la supervivencia de las larvas de este insecto (Badenes-Pérez y Shelton, 2006; Keerthi y Suroshe, 2023). Por ejemplo, en la rúcula amarilla, *Barbarea vulgaris*, la cual se ha utilizado como cultivo trampa, las larvas no se desarrollan, y tiene mayor preferencia a la oviposición que el cultivo principal (Badenes-Pérez *et al.*, 2004). En México se tienen pocos estudios sobre plantas hospederas de este insecto y es importante conocer las brassicáceas que estén en la región para determinar si este insecto se puede ver afectado en su desarrollo, fecundidad, tamaño y calidad de los huevos (Niu *et al.*, 2013). Es por ello que el objetivo de este estudio fue la búsqueda de brassicáceas silvestres asociadas a cultivos de brócoli y determinar su tiempo de desarrollo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Recolección del material biológico.** Se realizaron recorridos en el estado de Guanajuato para recolectar brasicáceas silvestres en caminos y dentro de los cultivos en los municipios Dolores Hidalgo (21°09'22"N 100°55'57"O), San Luis de la Paz (21°08'33"N 100°29'46"O), y Salamanca (40° 57' 53.885"N 5° 39' 46.891"O), se colectaron frutos en frascos de plástico, luego este material se trasladó al laboratorio del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Los frutos se colocaron en una cámara bioclimática a temperatura de  $25\text{ °C} \pm 2\text{ 10\%}$  para su secado, una vez secado el material con la ayuda de un tamiz metálico se separaron las semillas de las impurezas. Estas semillas se sembraron en macetas de plástico (10 cm de diámetro y 15 cm de altura) en invernadero, 25 días después se trasplantaron plantulas de brócoli (*Brassica oleracea* Var. *italica*); todas las plantas se mantuvieron con sustrato de arena de tezontle y peat moss (Growing Mix®), en una proporción de 2:1 (V: V). Para la fertilización se empleó una solución nutritiva completa (Ultrasol® 1g/L) mediante un sistema de riego por goteo automatizado.

**Cría de insectos.** La cría de *P. xylostella* se estableció en el Colegio de Postgraduados en jaulas de madera (130 cm x 130 cm x 130 cm) cubiertas con tela de organza con plantas de brócol y frascos con una mecha con agua miel 3:1.

**Realización de los bioensayos.** Para la oviposición se utilizó la misma arena experimental descrita en el inciso anterior. Se capturaron 30 parejas de adultos de *P. xylostella* con experiencia para oviposición y se introdujeron en la jaula junto con los discos de brócoli. Los adultos se alimentaron con agua miel 3:1. Posteriormente la jaula se trasladó a la cámara bioclimática ( $25 \pm 2\text{ °C}$ ,  $60 \pm 10\%$  HR y 12:12 L:O) con insectos durante 5 horas, luego se retiraron, tres días después se obtuvieron las larvas recién emergidas. Se colocaron dos larvas en cada una de las plantas = tratamientos (*Brassica rapa*, *Eruca vesicaria*, *Rapistrum rugosum*, *Sinapis arvensis*, *Lobularia maritima*, *Sisymbrium irio*, y el testigo *Brassica oleracea* Var. *Italica*), se realizándose 5 réplicas por tratamiento, las cuales se trasladaron a la cámara bioclimática. Cada tratamiento se le adaptó un plato de unicel en la base del tallo de la planta y un plástico cilíndrico cubriendo la parte aérea, para evitar la pérdida de larvas en el sustrato.

**Evaluación de los bioensayos.** Para determinar el tiempo de desarrollo de larva a pupa y pupa a adulto y la longevidad del adulto primero, las larvas fueron alimentadas con las plantas silvestres,

se revisaron las plantas cada 24 h para contabilizar las larvas y el registro de la mortalidad si hubiese. Las larvas que llegaron a pupa se colocaron individualmente en cajas de Petri hasta la emergencia del adulto. Los adultos emergidos de *P. xylostella* se individualizaron y se determinó su longevidad hasta la muerte del último individuo, se les suministró agua diariamente a través de una torunda de algodón saturada con agua y se alimentó con gotas muy finas de miel (CARLOTA®). Todos los resultados se analizaron con el software estadístico R V.4.0, para la prueba de tiempo de desarrollo (larva-pupa, pupa-adulto y longevidad), se hizo un análisis de varianza (ANOVA) y para la comparación de medias se usó la diferencia mínima significativa LSD ( $p \leq 0.05$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tiempo de desarrollo de larva-pupa, existieron diferencias estadísticamente significativas ( $F_{6,63}=5.987$ ,  $p=0.000053$ ) (cuadro 1) donde *E. vesicaria* registró un tiempo de desarrollo más prolongado respecto a todas las demás. Por otro lado, en el tiempo de desarrollo de pupa-adulto existieron diferencias estadísticamente significativas ( $F_{2,27}=5.987$ ,  $P=0.000053$ ) donde *S. arvensis* y *L. maritima* redujeron el tiempo en su desarrollo esto quiere decir que llegaron al estado adulto más rápido incluso que el testigo. Para la longevidad también existieron diferencias estadísticamente significativas ( $F_{6,63}=10.81$ ,  $P=0.0000000308$ ); la longevidad disminuyó en tres brasicáceas *B. rapa*, *E. vesicaria* y *R. rugosum*, para el caso de *L. maritima*, *S. irio* y brócoli produjeron adultos más longevos. Estos resultados nos permiten obtener información sobre algunos parámetros asociados *P. xylostella*, así como nuevos registros de hospederos alternos.

Tratamiento	Tiempo de desarrollo de <i>P. xylostella</i>		
	Larva-Pupa <sup>1</sup>	Pupa-Adulto <sup>2</sup>	Longevidad <sup>3</sup>
	Número de días (media ± EE)*		
<i>Brassica rapa</i>	8.0 ± 0.2 bc	5.5 ± 0.2 bc	7.0 ± 0.4 b
<i>Eruca vesicaria</i>	11.0 ± 0.6 a	5.2 ± 0.3 c	6.6 ± 0.69 b
<i>Rapistrum rugosum</i>	7.7 ± 0.2 c	5.7 ± 0.2 abc	8.7 ± 0.3 b
<i>Sinapis arvensis</i>	8.4 ± 0.3 bc	4.3 ± 0.1d	27.1 ± 7.1 a
<i>Lobularia maritima</i>	9.2 ± 0.8 b	4.5 ± 0.1d	25.4 ± 4.8 a
<i>Sisymbrium irio</i>	7.7 ± 0.3 c	6 ± 0.2 ab	29.7 ± 1.3 a
<i>Brassica oleracea</i>	8.5 ± 0.5 bc	6.3 ± 0.2 a	29.3 ± 1.1 a

\*Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre si.

<sup>1</sup> $F_{6,63}=5.987$ ,  $p=0.000053$ ; <sup>2</sup> $F_{2,27}=5.987$ ,  $P=0.000053$ ; <sup>3</sup> $F_{6,63}=10.81$ ,  $P=0.0000000308$

De acuerdo a los resultados obtenidos, el tiempo de desarrollo tuvo una variación entre brasicáceas silvestres y cultivadas, lo que demuestra que es posible que las larvas de *P. xylostella* puede alimentarse y terminar su desarrollo en todas las especies estudiadas; sin embargo, se observaron diferencias en cuanto a su tiempo de desarrollo, esto se puede deber a la calidad del hospedero, ya que es un determinante clave en cuanto a el desarrollo, fecundidad, tamaño y calidad de los huevos (Niu et al., 2013). Marchioro y Foerster (2014) registraron un desarrollo más prolongado y mayor longevidad cuando *P. xylostella* se alimentaba de plantas silvestres en comparación con variedades comerciales, este desarrollo en insectos puede variar por los factores nutricionales y fagoestimulantes que cada planta le aporta (Syed y Abro, 2003), ya que muchas de las hospedantes tienen un contenido nutricional, compuestos químicos secundarios y morfología que pueden afectar el desarrollo, crecimiento, fecundidad y supervivencia de los fitófagos (Mirmohammadi et al., 2009).

En la base de datos del CABI existen reportes de hospederos alternos principales y secundarios, sin embargo, en muchos de ellos no existen información clara sobre el tiempo de desarrollo de este insecto en diferentes brasicáceas silvestres y cultivadas (CABI, 2024). Por eso es importante realizar estos estudios para obtener información que nos ayude a determinar cuáles pueden ser hospederos alternos. Estos resultados del tiempo de desarrollo de *P. xylostella* sobre plantas silvestres nos proporcionan información importante, no obstante, debemos tener en cuenta que aun que se desarrollaron exitosamente debemos evaluar más parámetros antes de sacar conclusiones definitivas sobre la idoneidad del huésped.

### AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados y al CONAHCyT por la beca otorgada al primer autor para realizar sus estudios de doctorado. Al CESAVEG por su apoyo para el acercamiento a los productores y técnicos que amablemente nos permitieron hacer evaluaciones en sus parcelas de brócoli.

### LITERATURA CITADA

- CABI, (2024). Invasive Species Compendium. Datasheet report for *Plutella xylostella* (diamondback moth) Taxonomic Tree. Recuperado de <https://www.cabi.org/isc/>.
- Marchioro, M., & Foerster, L. A. (2014). Preference–performance linkage in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, and implications for its management. *Journal of Insect Science*, 14(1), 85.

- T. S. Syed and G. H. Abro, 2003. Effect of Brassica Vegetable Hosts on Biology and Life Table Parameters of *Plutella xylostella* under Laboratory Conditions. Pakistan Journal of Biological Sciences, 6: 1891-1896.
- Mirmohammadi, S., Allahyari, H., Nematollahi, M. R., & Saboori, A. (2009). Effect of host plant on biology and life table parameters of *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae). Annals of the Entomological Society of America, 102(3), 450-455.
- Vibrans, H. 2006. Malezas de México. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico>.
- Bustamante-García Rubí (2021) *Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Primera edición, Ciudad de México, México. Pp 102.
- Badenes-Pérez, F. R., Gershenzon, J., & Heckel, D. G. (2020). Plant glucosinolate content increases susceptibility to diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) regardless of its diet. Journal of Pest Science, 93(1), 491-506.
- Badenes-Perez, F. R., & Shelton, A. M. (2006). Pest management and other agricultural practices among farmers growing cruciferous vegetables in the Central and Western highlands of Kenya and the Western Himalayas of India. International journal of pest management, 52(4), 303-315.
- Badenes-Perez, F. R., Shelton, A. M., & Nault, B. A. (2004). Evaluating trap crops for diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of economic entomology, 97(4), 1365-1372.
- Keerthi, M. C., & Suroshe, S. S. (2023). Effect of host plants on the fitness and demographic parameters of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) using age-stage, two-sex life tables. Journal of Plant Diseases and Protection, 1-12.
- Niu, Y. Q., Li, X. W., Li, P., & Liu, T. X. (2013). Effects of different cruciferous crops on the fitness of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Crop protection, 54, 100-105.

# ACAROLOGÍA

## EFFECTO DE LA DENSIDAD DE *Brevipalpus yothersi* y *B. californicus* PARA ADQUIRIR Y TRANSMITIR EL VIRUS CiLV-C

Rene Gómez-Mercado<sup>1\*</sup>, Ma. Teresa Santillán-Galicia<sup>1</sup>, Ariel W. Guzmán-Franco<sup>1</sup>, Laura Delia Ortega-Arenas<sup>1</sup>, Marcelino Martínez-Nuñez<sup>1</sup> y Antonio Hernández-López<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León UNAM, Blv. UNAM #2011, Predio El Saucillo y, Comunidad de los Tepetates, El Potrero, 37684 León, Guanajuato, México.\*Autor para correspondencia: [gomez.rene@colpos.mx](mailto:gomez.rene@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

La leprosis de los cítricos es una enfermedad no sistémica de tipo viral y por su replicación en la célula, se clasifica en citoplasmática y nuclear. Los ácaros del género *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) están asociados con la transmisión del virus que causa la leprosis de los cítricos, enfermedad de interés cuarentenario para México, que representa una amenaza para la producción y comercialización de cítricos, particularmente naranja y limón (Rodríguez-Ramírez *et al.*, 2019).

Las especies *B. californicus* y *B. yothersi* se han registrado con mayor frecuencia en México en los estados productores de cítricos (Sánchez-Velázquez *et al.*, 2015; Salinas-Vargas *et al.*, 2016; Beltran-Beltran *et al.*, 2020; García y Cortés, 2020). Sin embargo, se considera a *B. yothersi* como el principal vector del virus de la leprosis de los cítricos tipo citoplasmático (CiLV-C), así como el más abundante en huertos de limón y naranja (Beltran-Beltran *et al.*, 2020). En comparación con *B. californicus*, que se encuentra en menor abundancia en México (Beltran-Beltran *et al.*, 2020) y es vector del virus que causa la leprosis tipo nuclear (OFV-citrus) (García-Escamilla *et al.*, 2018). Pocos estudios se han realizado para conocer la capacidad de *B. californicus* de adquirir y transmitir al virus tipo citoplasmático. Por lo que los objetivos de este trabajo fueron: a) determinar el efecto del número de ácaros en la eficiencia de adquisición y transmisión del virus, b) evaluar la relación entre el número de ácaros vectores y el área afectada por la leprosis, y c) señalar si existe una relación entre la concentración de CiLV-C en el vector cuando diferente número de ácaros son expuestos al inóculo del virus.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Colonias de ácaros *Brevipalpus*.** Se utilizó una colonia de *B. yothersi* establecida en 2015 con adultos recolectados de naranjos en el estado de Sinaloa, México. *B. californicus* fue establecida

de ácaros de árboles de naranja proveniente de Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Ambas especies fueron identificadas morfológicamente de acuerdo con Beard *et al.* (2015) y molecularmente de acuerdo con Salinas-Vargas *et al.* (2016). Las especies fueron mantenidas y multiplicadas en frutos de naranja dispuestos sobre una charola de plástico transparente de 13 x 12 x 8 cm a  $25 \pm 3$  °C,  $60 \pm 10$  % de HR y régimen de luz/oscuridad de 12/12 h, de acuerdo con Salinas-Vargas *et al.* (2016).

**Diagnóstico de CiLV-C mediante RT-PCR.** Para determinar la presencia del virus de la leprosis tanto en frutos sintomáticos como asintomáticos, se utilizaron 10 mg de material vegetal por cada muestra para extracción de ARN. La extracción se realizó con el kit Quick-RNA™ Plant Miniprep (Zymo Research, Irvine, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. La obtención del cADN complementario se realizó con el Kit RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) de acuerdo con Gomez-Mercado *et al.* (2019). Para determinar la presencia del virus de la leprosis en ácaros, se realizaron extracciones individuales con el kit ZR Tissue & Insect RNA MicroPrep (Zymo Research, Irvine, CA) siguiendo las instrucciones del fabricante. La obtención del cADN complementario se realizó con el Kit Sensiscript (QIAGEN, Hilden, Germany) de acuerdo con Rodríguez-Ramírez *et al.*, (2019). La presencia de CiLV-C en tejido vegetal y en ácaros, se confirmó mediante PCR convencional usando el cADN obtenido, y utilizando los oligonucleótidos desarrollados por Locali *et al.* (2003). La reacción de PCR se realizó en un volumen de reacción de 25 µL de acuerdo con Gomez-Mercado *et al.*, (2019). Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1.5 % en buffer TAE 1X, teñidos con bromuro de etidio (10 mg mL<sup>-1</sup>) y fotografiados con un fotodocumentador.

### **Efecto del número de ácaros en la eficiencia de adquisición y transmisión de CiLV-C**

**Arenas experimentales.** Los frutos con síntomas de leprosis fueron obtenidos del estado de Tabasco. Los frutos testigo se tomaron de árboles de naranja de traspatio ubicados en Lomas de San Esteban, Texcoco, Estado de México. Los frutos (arenas) fueron preparados según lo descrito por Salinas-Vargas *et al.* (2016), a los cuales se les colocó una mezcla de harina, yeso y arena (proporción 1:1:1) en 2.5 cm de diámetro, sobre el área infectada por el virus o la parte superior del fruto en el testigo. Los frutos fueron conservados de manera independiente en cajas de plástico

transparente de (5" x 5" x 3") bajo condiciones controladas de temperatura ( $25 \pm 3$  °C), humedad relativa ( $60 \pm 10$  %) y régimen de luz/oscuridad de 12:12.

**Adquisición del virus.** Hembras adultas se mantuvieron en ayuno por cuatro horas en grupos de 50 individuos y en cajas Petri de 60 mm de diámetro. Con ayuda de un pincel fino (20/0), los ácaros fueron colocados en las arenas con y sin virus para que se alimentaran durante siete días (Ferreira *et al.*, 2020). Para *B. yothersi* se evaluaron tres densidades de ácaros, 5, 10 y 15 hembras y con *B. californicus* se evaluó sólo 15 hembras más el testigo (ácaros alimentados de frutos asintomáticos). Después del periodo de alimentación, las hembras de cada tratamiento se colocaron de manera individual en tubos plásticos de 0.2 mL debidamente etiquetados. En ambas especies, cada tratamiento tuvo tres repeticiones, y todo el experimento se repitió en tres ocasiones diferentes. La presencia del virus en cada uno de los ácaros, se confirmó mediante RT-PCR.

**Transmisión del virus.** Para este experimento, se siguió el procedimiento anteriormente mencionado para la adquisición del virus, pero después del período de alimentación, los ácaros fueron transferidos a una hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris*) var. Jamapa de siete días después de la emergencia para medir la eficiencia de transmisión del virus. Para lograr esto, en cada hoja de frijol seleccionada, se delimitó el peciolo con resina sintética para confinar los ácaros y en medio de esta se colocó una línea (3 cm de largo y 1 cm de ancho) de una mezcla a partes iguales de arena, harina y yeso, que sirvió como sitio de refugio y oviposición (Rodríguez-Ramírez *et al.*, 2019). Con *B. yothersi* se evaluaron tres tratamientos: (5, 10 y 15 hembras) y con *B. californicus* se evaluó sólo una densidad (15 hembras) más los testigos para cada especie. Las plantas de frijol infestadas se incubaron bajo en condiciones controladas de temperatura ( $27 \pm 3$  °C),  $60 \pm 10$  % de HR y régimen de luz/oscuridad de 12/12 h. Siete días posteriores a la infestación, se corroboró la presencia de síntomas en las hojas de frijol, y las hembras de cada tratamiento y testigo se retiraron con ayuda de un pincel fino (20/0) y se colocaron de manera individual en tubos para PCR de 0.2 mL, debidamente etiquetados, para corroborar la presencia del virus con los métodos anteriormente descritos.

El análisis de resultados se realizó en GenStat V. 8 mediante regresión logística para la eficiencia de adquisición y transmisión.

### **Evaluación de la relación entre el número de ácaros vectores y el área afectada por la leprosis**

Las hojas con o sin síntomas de cada tratamiento y testigo del experimento anterior fueron digitalizadas y procesadas en GIMP v2.10.32 para eliminación de fondo y cuantificación del área total (AT) y área dañada (AD). El porcentaje de severidad (sev %) por hoja se obtuvo aplicando la fórmula:  $sev \% = 100 * [AD / AT]$ . Posteriormente, las hojas de todos los tratamientos incluyendo el testigo, fueron cortadas en piezas pequeñas y se colocaron por separado en tubos para PCR de 2 mL (debidamente etiquetados) y se almacenaron a -20 °C. Finalmente, se corroboró la presencia o ausencia de CiLV-C mediante RT-PCR en ácaros y material vegetal. Los datos se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA).

### **Relación entre la concentración de CiLV-C en el vector cuando diferente número de ácaros son expuestos al inóculo del virus**

Para conocer la concentración del virus en *B. yothersi* mediante qPCR, se diseñaron oligonucleotidos para un amplicón de 96 pares de bases y una sonda (TaqMan) para hibridar específicamente con la proteína MP del virus. Para la cuantificación del virus, se generó una curva estándar para usarla como referencia. Esta se generó a partir de una muestra de concentración conocida (100 ng/ $\mu$ L), la cual fue diluida serialmente y analizada al mismo tiempo que las muestras experimentales. Las reacciones fueron realizadas en un equipo de PCR en tiempo real CFX96 (BioRad Laboratories Inc.) El umbral del ciclo de detección (valor de Ct), el umbral de detección, el coeficiente de determinación, así como los valores de concentración del virus fueron calculados por el programa Bio-Rad CFX Manager 3.1. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) en GenStat V. 8.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se secuenciaron muestras de cada especie de ácaro de las colonias utilizadas para los experimentos, y el análisis de consenso mostró alrededor del 98-99% de identidad con las secuencias *B. yothersi* (KF954984.1) y *B. californicus* (KX100321.1) disponibles en el GenBank.

**Efecto del número de ácaros en la eficiencia de adquisición y transmisión de CiLV-C.** El análisis RT-PCR confirmó la presencia del fragmento CiLV-C específico en las extracciones de ácaros *B. yothersi* en los tres tratamientos (5, 10 y 15), mientras que en *B. californicus* los resultados fueron negativos en todos los ácaros (n= 43). Con *B. yothersi* no se observaron diferencias

estadísticas en la eficiencia de adquisición ( $p=0.329$ ) con las tres densidades de ácaros: 5 (47%), 10 (29%) y 15 (22%).

El análisis RT-PCR confirmó la presencia del fragmento CiLV-C específico en muestras de frijol común infestadas con *B. yothersi* en los tres tratamientos (5, 10 y 15) y negativas para *B. californicus*. *B. yothersi* es capaz de adquirir e inocular el virus CiLV-C en plantas de frijol, confirmando los datos obtenidos previamente por Ferreira *et al.* (2020); sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticas en la eficiencia de transmisión ( $p= 0.795$ ) en las poblaciones de 5 (42%), 10 (52%) y 15 (42%). Para *B. californicus* los resultados fueron negativos en todos los ácaros ( $n= 50$ ), lo cual confirma con lo reportado por García-Escamilla *et al.*, (2018) quienes mencionan que *B. californicus* no tiene la capacidad para adquirir y transmitir CiLVC.

#### **Evaluación de la relación entre el número de ácaros vectores y el área afectada por la leprosis**

Respecto a los daños del virus en las hojas de frijol var. Jamapa en los tratamientos de transmisión con *B. yothersi*, se observaron manchas necróticas en las hojas, cerca de las venas, donde se produjo la alimentación de los ácaros, lo que coincide con Ferreira *et al.* (2020). Mientras que las hojas infestadas con *B. californicus* no mostraron síntomas, bajo las condiciones de este experimento. Finalmente, en el análisis de severidad en hojas de frijol común infestadas con *B. yothersi*, no se observaron diferencias estadísticas en el porcentaje de daño ( $p= 0.912$ ), en los tratamientos de 5 (1.34 %), 10 (1.46 %) y 15 (1.59%) ácaros.

#### **Relación entre la concentración de CiLV-C en el vector cuando diferente número de ácaros son expuestos al inóculo del virus.**

La concentración del virus en *B. yothersi* mediante qPCR mostro diferencias estadísticas ( $p= 0.0156$ ) entre los tratamientos de 5 ( $7.70 \times 10^{-3}$  ng por ácaro), 10 ( $4.24 \times 10^{-3}$  ng por ácaro) y 15 ( $4.01 \times 10^{-3}$  ng por ácaro) ácaros, siendo el tratamiento con cinco ácaros donde se observó mayor concentración del virus. Respecto a la cantidad del virus en tejido vegetal, no se observaron diferencias estadísticas ( $p= 0.307$ ) entre los tratamientos de 5 (0.12 ng/ $\mu$ l), 10 (0.11 ng/ $\mu$ l) y 15 (0.10 ng/ $\mu$ l).

En conclusión, los resultados obtenidos mostraron que *B. californicus* no tiene la capacidad de adquirir y transmitir al virus de la leprosis de los cítricos de tipo citoplasmático. Por otro lado, *B. yothersi* no presentó diferencias estadísticas en la eficiencia de adquisición y transmisión en las

poblaciones de 5, 10 y 15 ácaros; sin embargo, en el tratamiento con cinco ácaros se observó una mayor concentración del virus.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT por la beca otorgada al primer autor para la realización de sus estudios de Doctorado. Al Colegio de Postgraduados por las facilidades proporcionadas para la realización de la investigación. Al Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Tabasco por el apoyo en la obtención de los frutos con leprosis.

### LITERATURA CITADA

- Ávalos-Cerdas JM, Otero-Colina G, Ochoa-Martínez DL, Villegas-Monter A and Suárez-Espinosa J. 2023. Characterization of an aberrant population of *Brevipalpus californicus* and its role as a vector of citrus leprosis viruses. *Acarologia* 63: 45-68. [10.24349/w46z-zaw9](https://doi.org/10.24349/w46z-zaw9)
- Beltran-Beltran AK, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, Teliz-Ortiz D, Gutiérrez-Espinoza MA, Romero-Rosales F, Robles-García PL. 2020. Incidence of *Citrus leprosis virus C* and *Orchid fleck dichorhavirus* Citrus Strain in Mites of the Genus *Brevipalpus* in Mexico. *Journal Economic Entomology* 113 (3):1576-1581. [10.1093/jee/toaa007](https://doi.org/10.1093/jee/toaa007)
- Beard JJ, Ochoa R, Braswell WE, and Bauchan GR. 2015. *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) species complex (Acari: Tenuipalpidae)—a closer look. *Zootaxa*. 3944: 1–67.
- Ferreira LM, Nunes MA, Sinico TE, Soares AJ and Novelli MV. 2020. *Brevipalpus* species vectoring citrus leprosis virus (Cilevirus and Dichorhavirus). *Journal of Economic Entomology* 20 (20): 1-7. [10.1093/jee/toaa070](https://doi.org/10.1093/jee/toaa070)
- García-Escamilla P, Duran-Trujillo Y, Otero-Colina G, Valdovinos-Ponce G, Santillán-Galicia M T, Ortiz-García CF, ... & Sánchez-Soto S. 2018. Transmission of viruses associated with cytoplasmic and nuclear leprosis symptoms by *Brevipalpus yothersi* and *B. californicus*. *Tropical Plant Pathology* 43: 69-77.
- García LE and Cortez ME. 2020. The flat citrus mite and its association with the severity of greasy leaf spot damage in Persian lime in Sinaloa, Mexico. *Southwestern Entomologist* 45 (1): 329-332. [10.3958/059.045.0139](https://doi.org/10.3958/059.045.0139)
- Locali EC, Freitas-Astua J, De Souza AA, Takita MA, Astua-Monge G, Antonioli R, Kitajima EW and Machado MA. 2003. Development of a molecular tool for the diagnosis of leprosis, a major threat to citrus production in the Americas. *Plant Disease* 87: 1317-1321. [10.1094/PDIS.2003.87.11.1317](https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.11.1317)
- Salinas-Vargas D, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, Hernández-López A, Ortega-Arenas LD and Mora-Aguilera G. 2016. Analysis of Genetic Variation in *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae) populations from four species of citrus host plants. *Plos One* 11 (10): 1-11. [10.1371/journal.pone.0164552](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164552)

- Rodríguez-Ramírez R, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, Ortega-Arenas LD, Teliz-Ortiz D, Sánchez-Soto S and Robles-García PL. 2019. Transmission of Citrus leprosis virus C by the Mite, *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae), on Four Species of Citrus. Journal of Economic Entomology. 112 (6): 2569-2576. [10.1093/jee/toz201](https://doi.org/10.1093/jee/toz201)
- Sánchez-Velázquez EJ, Santillán-Galicia MT, Novelli VM, Nunes MA, Mora-Aguilera G and Valdez-Carrasco JM. 2015. Diversity and genetic variation among *Brevipalpus* populations from Brazil and Mexico. Plos One 10: 1-16. [10.1371/journal.pone.0133861](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133861)

# TAXONOMÍA INTEGRATIVA DEL ÁCARO *Polyphagotarsonemus latus* (ACARI: TARSONEMIDAE) DE DIVERSAS REGIONES BIOGEOGRÁFICAS Y REQUERIMIENTOS TÉRMICOS PARA SU DESARROLLO

Vivian Ovando-Garay<sup>1</sup>, Jesús Romero Nápoles<sup>1</sup>, Marcelino Martínez Núñez, Javier Suarez Espinoza<sup>2</sup>, Gabriel Otero-Colina<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Posgrado de Fitosanidad, Entomología y Acarología, Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo

<sup>2</sup> Posgrado en Socioeconomía Estadística e Informática, Colegio de Posgraduado, Campus Motecillo

[Ovando\\_2811@hotmail.com](mailto:Ovando_2811@hotmail.com)

## INTRODUCCIÓN

*Polyphagotarsonemus latus* Banks, también conocido como ácaro del chile, ácaro plateado de los cítricos, ácaro blanco y ácaro amarillo del té, es una plaga fitófaga de gran importancia económica a nivel mundial y pertenece a la familia Tarsonemidae. Esta especie herbívora se alimenta de una amplia variedad de hospedantes, incluyendo más de 60 familias botánicas (Gerson, 1992). Afecta partes de las plantas en crecimiento activo como hojas, flores, frutos y brotes. Este ácaro daña los cultivos perforando la pared celular y extrayendo el contenido intracelular, lo que resulta en bronceado de hojas y frutos, deformación de flores y formación de múltiples yemas foliares (Childers, 1994). El ciclo de vida del *P. latus* es muy corto y está altamente influenciado por la humedad relativa y la temperatura (Karl, 1965; Hugon, 1983), siendo esta última un factor abiótico que afecta profundamente su desarrollo (Aponte y McMurtry, 1997). Diversas investigaciones han confirmado que la temperatura es crucial en las tasas de desarrollo de artrópodos (Shi y Ge, 2010). A pesar de los programas de control desarrollados contra *P. latus*, su eficacia se ve obstaculizada por el limitado conocimiento sobre la biología básica de esta críptica plaga, especialmente en lo que respecta a sus requerimientos térmicos. Tradicionalmente, la relación entre temperatura y tasa de desarrollo se ha estudiado utilizando un modelo lineal basado en cultivos específicos (Li *et al.* 1985; Ferreira *et al.* 2006).

La variabilidad en los síntomas que este ácaro causa, su amplia gama de hospedantes y distribución geográfica prácticamente cosmopolita podrían indicar la existencia de un complejo de especies dentro de *P. latus* (Lindquist, 1986). Por lo tanto, este

trabajo propone identificar genéticamente al ácaro *P. latus* a partir de poblaciones obtenidas de hospedantes cultivados en diferentes regiones biogeográficas: México, EE. UU., India y Costa Rica, utilizando marcadores moleculares mitocondriales y ribosomales como la citocromo oxidasa I (COI), ARNr 16S, 28S, 16S y el espaciador transcrito interno (ITS2). Además, se compararán las relaciones evolutivas mediante análisis filogenético para cada marcador y se reforzará con un análisis cladístico y biométrico de los caracteres morfológicos de los ejemplares de cada región. También se evaluarán los requerimientos térmicos para el desarrollo del ácaro *P. latus* criado sobre diferentes cultivos agrícolas (chile pimienta, frijol y zarzamora) en condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODO

### **CAPÍTULO 1. Análisis morfológico y genético del ácaro *Polyphagotarsonemus latus* Bank (Acari: Tarsonemidae) de diversas regiones biogeográficas**

#### **Material biológico**

Los ácaros se recolectaron de cinco regiones: México, EE. UU, Costa Rica e India, con la ayuda de investigadores locales que enviaron las muestras. Se recolectaron hojas jóvenes de diversos cultivos. Utilizando un estereoscopio y pinzas entomológicas, se seleccionaron ácaros adultos de ambos sexos, se preservaron en alcohol al 70% para procesamiento. La identificación se realizó siguiendo las claves de Lindquist ,1986 y Walter *et al.* (2009), y fueron verificada por el Dr. Gabriel Otero-Colina.

#### **Análisis biométrico**

Se seleccionaron 25 hembras y 25 machos de cada región de estudio, se aclararon en ácido láctico durante un día y se montaron en preparaciones permanentes con medio de Hoyer. Cada muestra se etiquetó siguiendo la metodología de Krantz & Walter (2009). Mediante un microscopio de contraste de fase marca Carl Zeiss adaptado a un ocular con retícula, previamente calibrado a  $\mu\text{m}$ , se midieron los caracteres morfológicos descritos por de Coss (1999). Los datos obtenidos se analizarán estadísticamente, verificando primero la normalidad y homogeneidad de varianzas. Se aplicará un ANOVA unidireccional, seguido de pruebas multivariadas: un análisis de componentes principales (PCA) y un análisis de variables canónicas (CVA) para determinar patrones de variación e identificar características distintivas entre poblaciones.

Para visualizar la similitud entre las poblaciones, se construirá un dendrograma con las medidas biométricas, conforme a Sneath & Sokal (1973). Todos los análisis estadísticos se realizarán utilizando el software R project (versión 4.0.3).

#### **Extracción de ADN genómico**

Se extrajo ADN total de los ácaros de cada región, empleando el kit QIAamp DNA Micro Kit (Cat. No. 54304), siguiendo las instrucciones del fabricante. Para evaluar la integridad del ADN de *P. latus* (concentración y pureza), se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Las bandas concentradas de ADN se visualizarán bajo luz UV en el fotodocumentador (ECS Imaging System UVP HEPA PCR, Workstation Germany).

#### **Amplificación de la región ITS2, COI, 16S, 18S Y 28S ARNr mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR).**

Los oligonucleótidos que se usaron para la identificación de los ácaros son: Para el COI se usaron DNF y DNR (Navajas *et al.* 1996), mediante las condiciones de PCR: desnaturalización inicial a 95 °C por 4 min, un ciclado de 35 repeticiones con una desnaturalización a 92 °C por 1 m, una alineación a 55°C por 1 m, y una extensión a 72 °C por 1 min (Ávalos cerdas, 2019). Para ITS se emplearon ITS4 e ITS5 (White *et al.* 1990) Bajo las condiciones de PCR: desnaturalización inicial a 94 °C por 2 m, un ciclado de 35 repeticiones con una desnaturalización a 94 °C por 30 s, una alineación a 56 °C por 30 s, y una extensión a 72 °C por 50 s (Wong *et al.*, 2011). Para ARNr 28 S se utilizaron D23F y D6R. con las siguientes las condiciones: desnaturalización inicial a 95 °C por 3 m, un ciclado de 35 repeticiones con una desnaturalización a 95 °C por 45 s, una alineación a 50 °C por 1m 30 s, y una extensión a 72 °C por 1 m 10 s. (Ávalos Cerdas 2019). En el caso de 18 S (Dabert, *et al.* 2010) y para 16S aun está por determinarse qué oligonucleótidos y condiciones de termociclador usar. La mezcla de reacción consistió en 12.5 µL de 2X Go Tag® G2 Green Master Mix, 2.5 µL iniciador sentido (10 µM), 2.5 µL iniciador antisentido (10 µM) y 2.5 µL MG agua. El volumen de la mezcla fue de 20 µL, a la cual se le adicionaron 5 µL de ADN molde (volumen final de 25 µL). La reacción de amplificación se realizó en termociclador Thermo Scientific Type 5020 (modelo ITCA0096).

#### **Análisis bioinformático**

Los amplicones serán analizados mediante la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; [www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)) para buscar homologías de

secuencias de nucleótidos en la base de datos de GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) (Johnson *et al.*, 2008). El alineamiento de cada marcador se realizará con ClustalX ([www.clustal.org](http://www.clustal.org)) (Thompson *et al.*, 1997). Se generará una matriz de distancias genéticas no corregidas usando el software MEGA7 (versión 7.0, Molecular Evolutionary Genetics Analysis; <https://www.megasoftware.net/>).

Se construirá un árbol filogenético con el método de máxima verosimilitud con el mismo software. Se calcularán índices de diversidad haplotípica, número de sitios polimórficos, divergencia entre haplotipos y diversidad nucleotídica utilizando los estimadores  $\theta_W$  y  $\pi$  con el programa DNAsp5. Las secuencias resultantes del proyecto serán depositadas en GenBank.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ácaros recolectados de distintos hospedantes y localidades fueron identificados como *P. latus* a través de los criterios establecidos por Lindquist (1986) y Walter *et al.* (2009). Su identificación taxonómica fue verificada por el Dr. Gabriel Otero-Colina del Colegio de Postgraduados en Montecillo, México. Los sitios de colecta en México fueron en Ziracuaretiro, Los Reyes y Maravatío del estado de Michoacán, Quesería del estado de Colima, en estas localidades los ácaros fueron obtenidos de cultivos de zarzamoras (*Rubus ulmifolius*). Para el caso del estado de Sinaloa y de otras partes del mundo como EE. UU, Costa Rica e India fueron recolectados del cultivo de chile pimiento (*Capsicum annuum*). Los ácaros mexicanos se trasladaron al laboratorio para establecer crías, fundamentalmente para la estandarización de la extracción de ADN y la amplificación de marcadores genéticos. En la actualidad se cuenta con seis pies de cría que se mantienen en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en condiciones controladas.

Se realizó un análisis cualitativo mediante microscopio electrónico de barrido como apoyo para su identificación. Se observó dimorfismo sexual entre hembra y machos, tal como lo describe Karl (1995). La garra empodial del tarso I en hembras y la garra en forma de botón en machos son características distintivas del género *Polyphagotarsonemus*, según lo describe Schaarschmidt (1959).

Para el análisis biométrico de *P. latus* se realizaron 450 preparaciones (hembras y machos) de todas las poblaciones, los caracteres morfológicos que se midieron se encuentran en el Cuadro 1. Actualmente se dispone de datos crudos de seis poblaciones. En el Cuadro 2 se muestran los promedios de hembras de cada población y observamos que Ziracuaretiro Michoacán tiene una longitud de 191.9  $\mu\text{m}$ , en comparación con la India, donde son un poco más grandes (200  $\mu\text{m}$  aprox.). Según Karl (1965), los ácaros de Alemania miden 184.9  $\mu\text{m}$  en laboratorio, mientras que Ramos *et al.* (1988) indican que los ácaros de laboratorio son típicamente más pequeños que los silvestres, como los de Cuba (246  $\mu\text{m}$ ). En el caso de los machos (Cuadro 3), los de Quesería Colima tienen una longitud menor, 145.7  $\mu\text{m}$ , comparados con Maravatío Michoacán y la India (163  $\mu\text{m}$ , aprox). Karl también menciona que los especímenes de Alemania miden 141.4  $\mu\text{m}$  y Ochoa (1991) determina que ácaros de Costa Rica tiene una longitud de 184.05  $\mu\text{m}$ , mientras que los especímenes de Cuba son más grandes (276  $\mu\text{m}$ ). En ambos cuadros se visualizan otros parámetros morfológicos con algunas variaciones.

**Cuadro 1.** Parámetros morfológica de hembras y machos

P. latus	
Hembras	Machos
1) Longitud total	1) Longitud total
2) Longitud del idiosoma	2) Longitud del idiosoma s/ papila genital
3) Longitud del gnatosoma	3) Longitud del idiosoma c/ papila genital
4) Distancia entre las coxa I	4) Longitud del gnatosoma
5) Distancia entre las coxas II	5) Ancho del idiosoma
6) Distancia entre las coxas III	6) Distancia entre las coxas III
7) Longitud del trocánter III	7) Distancia entre las coxas IV
8) Distancia entre las coxas IV	8) Distancia entre las coxas I
9) Longitud de los pseudoestigmas	9) Distancia entre las coxas II
10) Ancho de los pseudoestigmas	10) Longitud del trocánter IV
11) Longitud del trocánter IV	11) Longitud de la femurgenia IV
12) Longitud de la femurgenia IV	12) Longitud del tibiotarso IV
13) Longitud del tibiotarso IV	13) Ancho del gnatosoma
14) Longitud seda v <sup>o</sup> tibiotarso IV	
15) Longitud seda tc <sup>o</sup> tibiotarso IV	
16) Longitud de la femurgenia III	
17) Longitud de uña de la pata 1	
18) Ancho del idiosoma	
19) Ancho del gnatosoma	

**Cuadro 2.** Promedios de los parámetros de las diferentes poblaciones. Unidades expresadas en  $\mu\text{m}$ .

Clave	Parámetros	MICHOCÁN				COLIMA		India
		Ziracuaretiro	R. SUPREMY, LOS REYES	MARAVATIO	CALERA	QUESERIA		
V1	Longitud total	191.9	195.3	198.8	203.9	190.8	200.8	
V2	Longitud del idiosoma	163.9	176.7	172.2	178.8	166.4	176.3	
V3	Ancho del idiosoma	116.2	112.7	126.1	117.3	108.5	100.4	
V4	Longitud del gnatosoma	25.6	26	27.5	25	24.9	24.5	
V5	Ancho de gnatosoma	26.4	25.9	30.2	24.8	25.4	24.2	
V6	Distancia entre las coxas I	22.3	23.6	24.7	23.7	23.6	22.8	
V7	Distancia entre las coxas II	38.2	37.9	38.8	38.1	37.4	37.3	
V8	Distancia entre las coxas III	59.7	61.7	60.8	61.6	60.3	57.7	
V9	Longitud del trocánter III	28.2	28.3	26	29.3	27.9	28.1	
V10	Longitud del femurgenia III	46.8	46.5	47.2	48.3	46.3	44.7	
V11	Distancia entre las coxas IV	48	48.4	40.5	47.9	48.7	46.9	
V12	Longitud del trocánter IV	12.3	16.2	12.1	12.2	12.4	15.6	
V13	Longitud del femurgenia IV	30.6	27.4	29.7	31.4	27.2	26	
V14	Longitud del tibiotarso IV	18.9	19.7	19.3	19.7	19.5	19.6	
V15	Longitud seda v <sup>o</sup> tibiotarso IV	24.6	24.1	24.2	25	23.6	24.1	
V16	Longitud seda tc <sup>o</sup> tibiotarso IV	60	56.9	57.3	63.4	60.4	58.1	
V17	Longitud de la uña de la pata I	5.8	5.7	5.7	5.9	5.9	6	

nucleotídica tiene mayor porcentaje de T y A (40.5 y 29.2 % respectivamente). En los

En el estudio molecular se han amplificado los marcadores citocromo oxidasa I (DNF y DNR) y rRNA 28S (D23F y D6R) de las 10 poblaciones de estudio. Los amplicones del primer par de oligonucleótidos se enviaron a secuenciación; sin embargo, sólo se obtuvieron cuatro secuencias de buena calidad de las muestras colectadas en Ziracuaretiro, Rancho suprem Var. Yunuem y Var. Erandi y EE. UU. Se hizo una búsqueda de homología en Blast y se obtuvo un 98-100% de similitud con secuencias de ácaros provenientes de Guanajuato. La longitud promedio de los amplicones es de 327 pb aprox. En la composición

Cuadro 3. Promedios de los parámetros de las diferentes poblaciones. Unidades expresadas en µm.

CLAVE	PARAMETROS	MICHOCÁN				COLIMA		INDIA
		ZIRACUARETIRO	R. SUPREMY, LOS REYES	MARAVATIO	CALERA	QUESERIA	INDIA	
V1	Longitud total	157.3	152	163.8	164.3	145.7	163.1	
V2	Longitud del idiosoma c/ papila	130.8	127.6	129.7	139.7	121.7	138.9	
V3	Longitud del idiosoma s/papila	84.1	84.6	93.8	87.2	80.3	99.5	
V4	Ancho del idiosoma	80.4	77.9	80.4	80.9	71.5	71.6	
V5	Longitud del gnatosoma	25.1	24.5	25.2	24.5	24.5	24.7	
V6	Ancho del gnatosoma	25.6	24.8	25.5	25.5	24.5	24.5	
V7	Distancia entre coxa I	24.4	23.1	24.1	23.2	22.9	22.2	
V8	Distancia entre coxa II	45.1	44.3	46.8	43.3	43.6	41.4	
V9	Distancia entre coxa III	67.4	67.3	70.4	66.3	61.2	63.9	
V10	Distancia entre coxas IV	61.8	57.1	61.6	60.3	54.7	57.2	
V11	Longitud del trocanter IV	19.9	19.4	19.7	19.6	10.4	17.7	
V12	Longitud del femurgenua IV	31.1	28.8	28.2	31.1	28.5	28.6	
V13	Longitud del tibiotarso IV	27	25.1	27.5	28.5	24.9	24.6	

alineamientos múltiples se puede visualizar que comprende de 379 caracteres excluyendo los gaps, dentro de las cuales hay 282 caracteres conservados y 92 variables; de los caracteres variables hay 92 singletons y cero sitios parsimónicos.

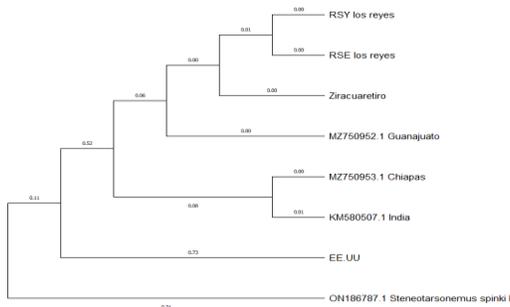
Se

realizó una matriz de distancias genéticas por pares de las poblaciones estudiadas y reportadas en el GenBank (Cuadro 4) (Chiapas, Guanajuato e India), se usó a *Steneotarsonemus spinki* Smiley, 1967 como grupo externo. Se puede observar que las poblaciones de Ziracuaretiro, las variedades de Rancho Suprem de los Reyes Michoacán y Guanajuato están menos distantes en comparación a las Chiapas, la India y EE.UU

Cuadro 4. Distancias genéticas por pares

	Ziracuaretiro	RSY_los_reyes	RSE_los_reyes	MZ750952.1_Guanajuato	MZ750953.1_Chiapas	KM580507.1_India	EE.UU
Ziracuaretiro							
RSY_los_reyes	0.0080880517						
RSE_los_reyes	0.0080663047	0.0000000000					
MZ750952.1_Guanajuato	0.0000000000	0.0080880517	0.0080663047				
MZ750953.1_Chiapas	0.1739364898	0.1857226063	0.1851080813	0.1653302890			
KM580507.1_India	0.1981751521	0.1989054330	0.1981751521	0.1774585753	0.0098698871		
EE.UU	1.6990306925	1.6990306925	1.6990306925	1.6990306925	1.8631440770	1.8631440770	
ON186787.1_Steneotarsonemus_spinki_l	0.9805384764	0.9633969467	0.9633969467	1.0009783518	1.1071975929	1.1286473677	1.2331874603

Posteriormente se realizó un árbol filogenético con las secuencias de los cuatro poblaciones y las reportadas en el Gen Bank. El árbol muestra una separación entre las poblaciones de Ziracuaretiro, Rancho Suprem y Guanajuato de las poblaciones de Chiapas e India. EE. UU se aleja de todas las poblaciones antes mencionadas. Todos los datos apuntan que posiblemente *Polyphagotarsonemus latus* puede tratarse de especies diferentes; sin embargo, se necesita robustecer el trabajo con los datos completos y análisis adecuados. En un segundo capítulo se evaluará los requerimientos térmicos para el desarrollo del ácaro *P. latus* criado sobre diferentes cultivos agrícolas en condiciones de laboratorio.



**Figura 1.** Árbol filogenético de poblaciones de *Polyphagotarsonemus latus* procedentes de diferentes países y localidades en México. El árbol se construyó con base en secuencias de fragmentos mitocondriales de COI, con máxima verosimilitud y basado en un modelo general reversible en el tiempo.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONACHyT por la beca otorgada para la realización de este proyecto de Doctorado. Al Colegio de Postgraduados por proporcionar los materiales necesarios para llevar a cabo la investigación.

### LITERATURA CITADA

- Gerson U. 1992. Biology and control of the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks)(Acari: Tarsonemidae). *Experimental & Applied Acarology*, 13(3), 163-178.
- Childers C.C. 1994. "Biological control of phytophagous mites on Florida citrus utilizing predatory arthropods." 255-288.
- Karl E. 1965. Untersuchungen zur morphologie und Ókologie von Tarsonemiden Gartnerischer Klturpflanzen. II. Hemitarsonemus latus (Banks), Tarsonemusconfusus Ewing, T. talpae Schaaschmidt, T. setifer Ewing, T. smithi Ewing und Tarsonemoides belemnitoides Weis-Fogh. *Biologisches Zentralblatt*, 84: 331-357
- Hugon, R. 1983. Moyens de lutte contre l'acarose des agrumes causée par *Polyphagotarsonemus latus* (Banks.). *Neufchateau*, 38 (9): 635-646.
- Aponte O. & McMurtry J.A. 1997. Biology, life table and mating behavior of *Oligonychus perseae* (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Acarology*, 23(3): 199-207.
- Ferreira R.C.F, de Oliveira JV, Haji F.N.P. & Gondim M.G. Jr. 2006. Biología, exigências térmicas e tabela de vida de fertilidade do ácaro-branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) em videira (*Vitis vinifera* L.) cv. Itália. *Neotropical Entomology*, 35:126–132.

- Shi P. & Ge F. 2010. A comparison of different thermal performance functions describing temperature-dependent development rates. *Journal of Thermal Biology*, 35(5): 225-231.
- Lin M.Y. 2013. Temperature-dependent life history of *Oligonychus mangiferus* (Acari: Tetranychidae) on *Mangifera indica*. *Experimental and Applied Acarology*, 61, 403-413.
- Lindquist E.E. 1986. The world genera of Tarsonemidae (Acari: Heterostigmata): a morphological, phylogenetic, and systematic revision, with a reclassification of family-group taxa in the Heterostigmata. *The Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 118: (136), 1-517.
- Walter D.E, Linquist E.E., Smith I.M., Cook D.R. & Krantz G.W. 2009, "Order Trombidiformes in: A manual of acarology", *Third Edition, Texas Tech University Press, Lubbock, Texas*, pp 807.
- De Coss M.E., Marroquín-Agreda & Javier- Aguilar. 2018. "Preference of *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) to the hosts: *Carica papaya* L., *Phaseolus acutifolius* Asa Gray and *Melanthera aspera* (Jacq) Small", *Agroproductividad*, 11 (12): 9-13.
- Schlee D. 1975. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. San Francisco: Freeman, pp 1973. 573.
- Navajas M, Lagnel J, Fauve G & De Moraes G. 1999. "Sequence variation of ribosomal internal transcribed spacers (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites", *Experimental and Applied Acarology*, vol. 23, no. 11, pp 851–85.
- Ayala-Ortega J.J, Mora-Constantino J.A., Rodríguez-Ponce A. & Vargas-Sandoval M. 2018. "Primer registro de *Polyphagotarsonemus latus* y *Panonychus citri* en limón (*Citrus limon* L.) en el estado de Michoacán", *Entomología Mexicana*, ( 5): 83-87.

Wong SF, Chong AL, Mak JW, Tan J, Ling SJ. & T M Ho. 2011. “Molecular identification on of house dust mites and storage mites”, *Experimental and Applied Acarology*, 22(2), pp 123–133.

Ramos M, Alvarez CD, de Ceballos EDC & de Ávila C. 1987. “Ciclo biológico de *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae) en frutos de lima Persa”, *Revista de Protección Vegetal*, 2(3): 269- 271.

## FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DE ÁCAROS FITÓFAGOS Y DEPREDADORES EN EL CULTIVO DE FRUTILLAS EN MICHOACÁN

José de Jesús Ayala-Ortega<sup>1\*</sup>, Armando Equihua-Martínez<sup>1</sup>, Edith Guadalupe Estrada-Venegas<sup>1</sup>, Jesús Romero-Nápoles<sup>1</sup>, Héctor González-Hernández<sup>1</sup>, Margarita Vargas-Sandoval<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Posgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología, Carretera México-Texcoco km. 36.5, Montecillo, 56264, Texcoco, Estado de México.

<sup>2</sup>Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Biología, Laboratorio de Entomología "Biol. Sócrates Cisneros Paz", Edificio B-4, 2do piso, Ciudad Universitaria, 58060, Morelia, Michoacán, México.

\*Autor de correspondencia: [ayala.josedejesus@colpos.mx](mailto:ayala.josedejesus@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

México es líder en producción de frutillas a nivel mundial y en el año 2022 se posicionó como el principal país productor de zarzamora (*Rubus* spp.) en el mundo, el segundo en frambuesa (*Rubus idaeus*) y el sexto en arándano (*Vaccinium corymbosum*) (FAO, 2024). Los altos índices de producción que se alcanzan en el país se deben a la aportación que realiza el estado de Michoacán quien, a su vez, es el máximo productor de frutillas con una aportación de 601,416 t que representaron el 57.5% del total de la producción en el mismo año (SIAP, 2024).

Existe una gran diversidad de especies de ácaros asociados a frutillas en el mundo. En arándano se han registrado 17 especies, en frambuesa 47 y en zarzamora 137 especies. De las cuales algunas de ellas son de importancia económica. Entre las especies de mayor importancia asociadas al cultivo de arándano se encuentra *Acalitus vaccinii* (Keifer), *Oligonychus ilicis* (McGregor) y *Brevipalpus yothersi* Baker (Craemer, 2018; Liburd *et al.*, 2020). Por su parte en el cultivo de zarzamora podemos encontrar a *Acalitus essigi* (Hassan) y *A. orthomera* (Keifer) además de *Tetranychus urticae* Koch (Ayala-Ortega, 2019a; Pye y De Lillo, 2010; Smith *et al.*, 2010; Trinidad *et al.*, 2018; Vargas-Madriz *et al.*, 2019). Mientras que en el cultivo de frambuesa además de *T. urticae* se encuentra *Phyllocoptes gracilis* (Nalepa) (Dong *et al.*, 2016; Parikka, *et al.*, 2016).

Sin embargo, aunque se sabe de la alta riqueza de especies con la que cuenta el cultivo de frutillas son pocos los estudios que existen sobre el análisis de su fluctuación poblacional, los cuales podrían permitir conocer el comportamiento de las especies a lo largo del tiempo y las diferencias entre las diferentes variedades de frutillas, y así, poder establecer estrategias de manejo para las mismas. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue analizar la fluctuación poblacional de ácaros en diferentes variedades de arándano, frambuesa y zarzamora en el estado de Michoacán.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Trabajo de campo.** Las recolectas de material vegetal se realizaron de enero a diciembre de 2022 en ocho huertos comerciales de frutillas en Michoacán y con manejo convencional. Tres de arándano de las variedades Biloxi, Pop y Beauty ubicados en Tocuambo; dos de frambuesa variedad Adelita y Evita en Los Reyes; y tres de zarzamora Amelali, Tupy y Yunuen en Ario de Rosales. En cada uno de los huertos se seleccionaron

18 plantas al azar. En el caso del cultivo de arándano, se cortó una rama de 10 cm, procurando que estuvieran presentes todos los órganos vegetativos de la planta (hojas jóvenes y maduras, flores y frutos), mientras que en zarzamora y frambuesa se cortó una hoja compuesta de la parte superior y una de la inferior, así como flores y frutos cuando estos estaban presentes.

**Trabajo de laboratorio.** Se seleccionaron 10 hojas, o folíolos, al azar y se revisaron con un microscopio estereoscópico Stemi DV4 ZEISS®. Los ácaros presentes se contabilizaron y se montaron en preparaciones permanentes en laminillas con Hoyer como medio de montaje. Para la identificación de los ácaros se utilizó un microscopio compuesto Axiostar Plus ZEISS® y las claves taxonómicas de Denmark y Evans (2011) para Phytoseiidae; Beard *et al.* (2015) para Tenuipalpidae; y NAPPO (2014) y Beard (2018) para Tetranychidae. Finalmente, con los ácaros contabilizados se calculó la media aritmética, además, se realizaron análisis de varianza para las poblaciones de las especies de mayor importancia, así como una prueba de comparación de medias de Tuckey al 5% con el fin de conocer si existía diferencias estadísticas entre las variedades.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

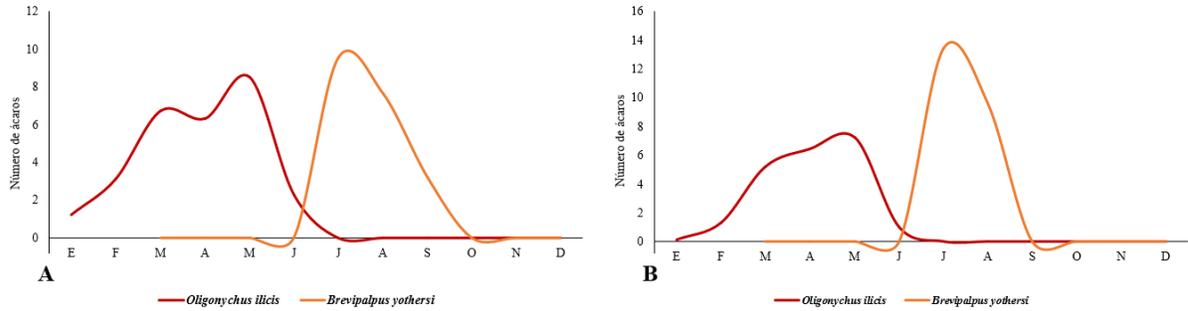
### Arándano

En el cultivo de arándano se identificaron dos especies de ácaros fitófagos, *Oligonychus ilicis* y *Brevipalpus yothersi*, los cuales estuvieron presentes en las tres variedades muestreadas. Mientras que, en depredadores solo se identificó a la especie *Amblydromalus limonicus*, quien solo estuvo presente en la variedad Beauty.

*Oligonychus ilicis* siempre se recolectó en el haz de las hojas cerca de las nervaduras centrales. Fue la especie más abundante en todas las variedades de arándano; sin embargo, se observaron sus mayores poblaciones en Pop y Beauty en donde presentó un promedio de 8.5 y 7.2 ácaros por hoja (aph) respectivamente. Mientras que en Biloxi su presencia fue casi nula, a excepción de dos muestreos donde sí estuvo presente, pero con promedios de 0.2 aph.

*Brevipalpus yothersi* se presentó tanto en el haz como en el envés de las hojas, y sus mayores poblaciones se presentaron en Pop y Beauty con 13.4 y 9.5 ácaros en promedio, respectivamente. Pero a diferencia de *O. ilicis*, *B. yothersi* sí estuvo presente en mayores poblaciones en la variedad Biloxi con 4.3 aph.

En cuanto a su fluctuación poblacional *O. ilicis* presentó las mayores poblaciones en los meses de marzo, abril y mayo, los cuales coinciden con el periodo de máximas temperaturas y menos humedad relativa. Mientras que *B. yothersi* fue mucho más abundante en los meses de julio, agosto y septiembre en los cuales la precipitación es mayor y la humedad relativa es más alta. Cabe destacar que durante el estudio nunca se encontró a ambas especies compartiendo espacio (Figura 1A y B). Este comportamiento difiere al reportado en otros estudios de fluctuación poblacional de ácaros en frutillas en donde se observa la presencia tanto de ácaros de la familia Tetranychidae como de Tenuipalpidae en el mismo periodo (Vargas-Madriz *et al.*, 2019).



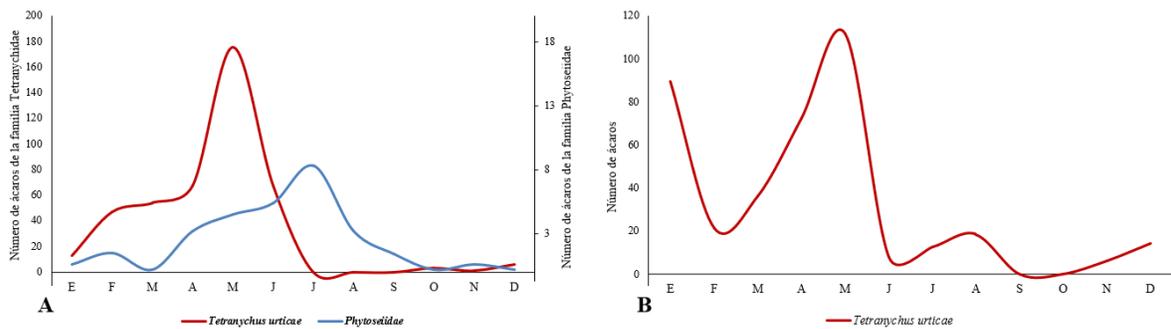
**Figura 1.** Fluctuación poblacional de ácaros en el cultivo de arándano en Tocumbo, Michoacán. **A.** Variedad Pop. **B.** Variedad Beauty.

**Frambuesa**

En frambuesa se identificaron a los ácaros fitófagos *T. urticae* y *B. yothersi*; sin embargo, la única especie que presentó poblaciones de importancia económica para el cultivo fue *T. urticae*. Por otro lado, se observaron a los depredadores a *Neoseiulus californicus* (McGregor), *Euseius hibisci* (Chant) y *Euseius* sp.

*Tetranychus urticae* presentó un comportamiento muy similar entre las dos variedades evaluadas. En ambos casos las mayores poblaciones se encontraron entre los 175.3 y 11.7 ácaros por foliolo. Aunque la variedad Adelita presentó poblaciones ligeramente superiores en los meses de marzo, abril y mayo, mientras que Evita lo hizo en los meses de enero y febrero, pero sin diferencias significativas.

A diferencia de lo registrado en los otros cultivos de frutillas, en frambuesa las poblaciones de depredadores fueron constantes y se recolectó una mayor cantidad de ejemplares, la mayoría correspondientes a *N. californicus*. Además, fue el único cultivo en el que se observó una relación de denso-dependencia entre los depredadores y *T. urticae* (Figura 2A).



**Figura 2.** Fluctuación poblacional de ácaros en el cultivo de frambuesa en Ario de Rosales, Michoacán. **A.** Variedad Adelita. **B.** Variedad Evita.

**Zarzamora**

En el cultivo de zarzamora las especies fitófagas identificadas fueron *T. urticae*, *B. yothersi*, *Diptacus rubuscolum* Trinidad, Duarte y Naviamy *A. orthomera*. Mientras que los depredadores encontrados fueron *Euseius* sp., *Amblydromalus limonicus* (Garman y McGregor) y *Neoseiulus californicus* (McGregor).

*Tetranychus urticae* fue la especie más abundante en zarzamora y se presentó en las tres variedades muestreadas. En la variedad Amelali se presentaron poblaciones de hasta 253 ácaros por foliolo (apf) y fue estadísticamente superior a Tupy (176 apf) y Yunuen (24 apf). Los meses en los que se presentaron las mayores poblaciones fueron febrero, marzo, abril y mayo, los cuales coincidieron con el periodo de cosecha en donde ya no se realizan aplicaciones de acaricidas. Cabe destacar que en la variedad Amelali las poblaciones altas se observaron desde enero, mientras que en Yunuen se presentaron hasta abril.

Por otro lado, se observó que la variedad Yunuen no presentó poblaciones mayores a los 24 apf; Lopez y Libur (2020) mencionan que las poblaciones de ácaros ocasionan un daño en el cultivo de zarzamora cuando las poblaciones se desarrollan por encima de los 27 ácaros/foliolo, lo que significa que esta variedad no es susceptible a la presencia de *T. urticae*. Sin embargo, Tupy y Amelali presentaron 253 y 77 apf, respectivamente, por encima del umbral antes mencionado. Esto se puede obedecer a que la variedad Yunuen cuenta con una capa cerosa misma que la podría hacer menos susceptible al ataque de ácaros.

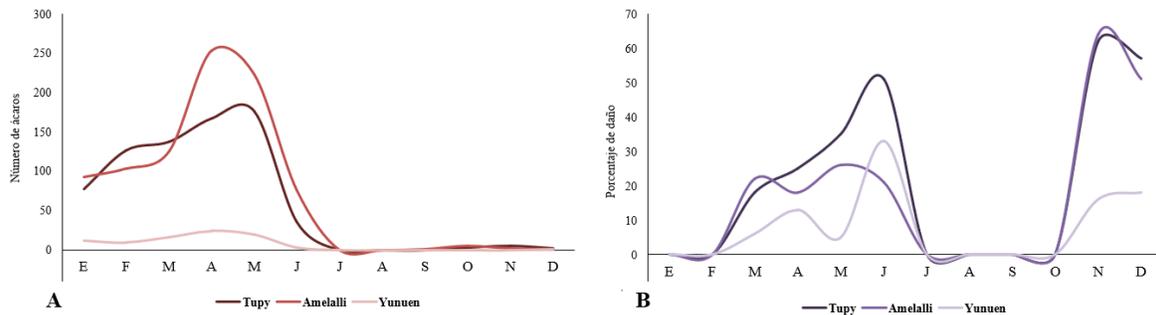
Además, las mayores poblaciones de *T. urticae* se presentaron en los meses de marzo, abril y mayo en los cuales se registran temperaturas altas y humedad relativa baja, lo cual favorece su proliferación como se ha constatado en otras investigaciones (Marchetti y Juarez-Ferla, 2011). Y una vez comenzada la precipitación pluvial, sus poblaciones se limitaron debido al alza en la humedad relativa y al efecto mecánico que ejerce la precipitación sobre las poblaciones (Nienstaedt y Marcano 2009).

*Brevipalpus yothersi* se presentó con poblaciones muy bajas, entre 0.5 y 0.2 ácaros por foliolo. Tuvo mayor frecuencia en la variedad Tupy, pero no hubo diferencias estadísticas con las variedades Amelali y Yunuen. Sus mayores poblaciones se presentaron en los meses de julio previo al término del ciclo del cultivo y su posterior poda. Es importante mencionar que, aunque estuvo presente en todas las variedades de zarzamora nunca se observaron daños que se asociaran a dicha especie, tal y como sucede en el cultivo de arándano (Lopez y Liburd, 2020). Por lo que es importante seguir monitoreando a dicha especie con el fin de saber su rol en este agroecosistema.

*Diptacus rubuscolum* se presentó con mayor frecuencia en las variedades Tupy y Amelali con 225 y 179 ácaros por foliolo respectivamente y fue estadísticamente diferente a las poblaciones presentadas en la variedad Yunuen. Es importante mencionar que no se observaron daños por este ácaro aún y cuando sus poblaciones fueron altas, esto se debe a que no son de importancia para la agricultura (Ayala-Ortega *et al.*, 2019b).

*Acalitus orthomera* solo estuvo presente en los meses de enero, febrero, septiembre y octubre, en los cuales estaba la etapa fenológica de diferenciación y fructificación. Por lo que su presencia no estuvo determinada por las condiciones ambientales del sitio, sino que

obedece a la etapa fenológica en la cual se encuentre la planta ya que para que haya presencia de esta especie se requiere la presencia de brotes vegetativos y florales, así como frutos. A esta especie se le asocia con los daños conocidos como “redberry”, los cuales consisten en una maduración no uniforme de la polidrupa, en donde solo la mitad del fruto se madura y el resto queda verde. Durante la investigación se observó que el mayor porcentaje de daño estuvo presente en las variedades Tupy y Amelali, mientras que Yunuen fue menos susceptible a presencia de dicho problema (Figura 3B).



**Figura 3.** Fluctuación poblacional de ácaros en tres variedades de zarzamora en Ario de Rosales, Michoacán. **A.** Fluctuación poblacional de *T. urticae*. **B.** Porcentaje de daño “redberry” observado.

Como conclusiones se tiene que las variedades de arándano Pop y Beauty fueron las más susceptibles al ataque de *O. ilicis*. La variedad de zarzamora Yunuen presentó menor susceptibilidad a la presencia de *T. urticae* y en ningún momento sus poblaciones superaron los umbrales económicos. La variedad Tupy presentó mayor frecuencia de presencia de redberry, mientras que Yunuen fue la menos susceptible. Los depredadores fueron los ácaros menos frecuentes y su presencia se vio limitada en el cultivo de arándano debido al manejo intensivo que se lleva en el sitio. *Brevipalpus yothersi* fue la única especie que se presentó en todos los cultivos y variedades muestreadas, además que presentó tendencia a presentarse en el segundo semestre del año. *Tetranychus urticae* fue la segunda especie con mayor presencia ya que se presentó en todas las variedades de frambuesa y zarzamora, y alcanzó las mayores poblaciones en los meses de mayor temperatura y menos humedad relativa. *Acalitus orthomera* se presentó solo en los periodos en los cuales había diferenciación de brotes y frutos indistintamente de las condiciones ambientales que se tuvieran en dicho momento.

### AGRADECIMIENTOS

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada al primer autor en sus estudios de Doctorado en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

### LITERATURA CONSULTADA

Ayala-Ortega JJ, Acuña-Soto J, Martínez-Castillo AM, Lara-Chávez, MBN, Vargas-Sandoval M. 2019a. Primer registro de *Acalitus orthomera* (Keifer) (Acari: Eriophyidae) asociado al cultivo de la zarzamora (*Rubus fruticosus* var. tupy) en Ziracuaretiro, Michoacán, México. *Acta Zoologica Mexicana*, 35: 1–4. <https://doi.org/10.21829/azm.2019.3501223>

- Ayala-Ortega JJ, Martínez-Castillo AM, Pineda-Guillermo S, Figueroa-De La Rosa JI, Acuña-Soto J, Ramos-Lima M, Vargas-Sandoval M. 2019b. Mites associated with blackberry (*Rubus* spp. cv. *Tupy*) in two areas of Michoacán, México. *Revista Colombiana de Entomología*, 45(2): 1-10. <https://doi.org/10.25100/socolen.v45i2.8480>
- Beard J. 2018. Spider mites of Australia (including key exotic southeast Asian pest species). [https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/spider\\_mites\\_australia/](https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/spider_mites_australia/) (Recuperado: mayo, 2022).
- Beard JJ, Ochoa R, Braswell WE, Bauchan GR. 2015. *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) species complex (Acari: Tenuipalpidae) a closer look. *Zootaxa*, 3944(1): 1-67. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3944.1.1>
- Craemer C. 2018. First record, current status, symptoms, infested cultivars and potential impact of the blueberry bud mite, *Acalitus vaccinii* (Keifer) (prostigmata: Eriophyidae) in South Africa. *Acarologia* 58 (3): 735-754. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20184267>
- Denmark HA, Evans GA. 2011. Phytoseiidae of North America and Hawaii (Acari: Mesostigmata). Indira Publishing House, Michigan, USA. 451 p.
- Dong L, Lemmetty A, Latvala S, Samuilova O, Valkonen JPT. 2016. Occurrence and genetic diversity of *Raspberry leaf blotch virus* (RLBV) infecting cultivated and wild *Rubus* species in Finland. *Annals of Applied Biology*, 168(1): 122–132. <https://doi.org/10.1111/aab.12247>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2024. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics División. [http://faostat3.fao.org/home/index\\_es.html?locale=es](http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es) (Recuperado: mayo 2024).
- Lopez L, Liburd O. E. 2020. Injury to Southern Highbush Blueberries by Southern Red Mites and Management Using Various Miticides. *Insects*, 11(233): 1-10.
- Liburd O, Lopez L, Phillips D. 2020. Mite Pests of Southern Highbush Blueberry in Florida. EDIS: 1-4. <https://doi.org/10.32473/EDIS-IN1284-2020>
- Marchetti MM, Juarez-Ferla N. 2011. Diversidade e flutuação populacional de ácaros (Acari) em amora-preta (*Rubus fruticosus*, Rosaceae) no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia Serie Zoologia*, 101 (1-2): 43-48.
- NAPPO. 2014. Protocolos de diagnóstico de la NAPPO PD 03: Identificación morfológica de las arañas rojas (Tetranychidae) que afectan a las frutas importadas. Secretaría de la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas. Ontario, Canadá. 36 pp
- Nienstaedt B, Marcano R. 2009. Fluctuación poblacional y distribución vertical del ácaro *Schizotetranychus hindustanicus* (Hirst, 1924), sobre especies de *Citrus*. *Entomotropicalia* 24(2): 57-63. Lopez L.; Liburd O. E. 2020. Injury to Southern Highbush Blueberries by Southern Red Mites and Management Using Various Miticides. *Insects*, 11(233): 1-10.

- Parikka P, Tuovinen T, Lemmetty A. 2016. Challenges for plant protection of berry crops in northern Europe. ISHS Acta Horticulturae 1117. DOI:10.17660/ActaHortic.2016.1117.17
- Pye DRL, De Lillo E. 2010. A review of the eriophyoid mites (Acari: Eriophyoidea) on *Rubus* spp. in Britain, with a new species (Diptilomiopidae) and two new records. Zootaxa, 2677: 15–26.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2024. Cierre de la producción agrícola, Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Recuperado: mayo 2024).
- Smith L, De Lillo E, Amrine Jr. JW. 2010. Effectiveness of eriophyid mites for biological control of weedy plants and challenges for future research. Experimental and Applied Acarology, 51(1-3):115-49. DOI:10.1007/s10493-009-9299-2
- Trinidad CTO, Duarte ME, Da Silva CU, Navia D. 2018. Eriophyoid mites associated with the blackberry in Brazil-a new species in the genus *Diptacus* Keifer 1951 (Diptilomiopidae) and first report and supplementary description of *Acalitus orthomerus* (Keifer, 1951) (Eriophyidae). Systematic and Applied Acarology, 23: 1199-1216. <https://doi.org/10.11158/saa.23.6.15>
- Vargas-Madriz H, Acuña-Soto J, Talavera A, Grifaldo-Alcantara P, Lázaro-Dzul M, Azuara-Domínguez A, Rodríguez-Bautista G, Jiménez-Camberos C, Martínez-Martínez R, Flores-Contreras E. 2019. Algunos ácaros fitófagos asociados al cultivo de la zarzamora en Zapotitlán de Vadillo, Jalisco. Boletín de la sociedad mexicana de entomología (nueva serie), 5(3): 67-72. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Bol\\_67-72\\_2019.pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Bol_67-72_2019.pdf)

# INVESTIGACIÓN EN AGUACATE

## DESARROLLO DE FRUTOS EN ÁRBOLES DE AGUACATE INFECTADOS CON *Avocado sunblotch viroid* TRATADOS CON INDUCTORES DE RESISTENCIA

Adelaida Stephany Hernández Valencia<sup>1</sup>, Daniel Leobardo Ochoa Martínez<sup>1\*</sup>, Reyna Isabel Rojas Martínez<sup>1</sup>,  
Sergio Aranda Ocampo<sup>1</sup> y Luis Mario Tapia Vargas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Postgrado en Fitosanidad-Fitopatología. Colegio de Postgraduados Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, CP 56264, Montecillo, Texcoco, Estado de México., <sup>2</sup>Campo Experimental Uruapan-INIFAP. Av. Latinoamericana 1101, Uruapan, Michoacán 60150. México. Tel. (452) 5237392. Fax: (452) 524-4095.

\*Autor de correspondencia: [ldaniel@colpos.mx](mailto:ldaniel@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

Michoacán es el líder en producción y exportación a nivel mundial de aguacate, con 1, 775, 289 de toneladas anuales enviadas a más de 34 países (SADER, 2023). El aguacate es afectado por el viroide *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd), agente causal de la enfermedad denominada “mancha de sol”. El ASBVd es el fitopatógeno más pequeño que se conoce, pertenece a la familia *Avsunvoroidae* y esta constituido por una molécula circular de RNA monocatenario (Viralzone, 2023). Este viroide se replica y acumula en los cloroplastos, tiene un 62 % de nucleótidos A (adenina) + U (uracilo), presenta una estructura en forma de bastón y no se encuentra protegido por alguna cápside ni por proteínas del hospedante (Joubert *et al.*, 2024). El ASBVd puede establecerse en cualquier zona que se cultive aguacate y se ha reportado en Australia, Ghana, Guatemala, Israel, México, Perú, Sudáfrica, Estados Unidos (California y Florida), Venezuela, Isla de Creta y España (EFSA, 2023). En árboles infectados se observan lesiones cloróticas en fruto, hojas y/o tallos, aunque en algunos casos pueden permanecer sin clorosis por largos periodos de tiempo con un crecimiento distorsionado y reducción del rendimiento (Joubert *et al.*, 2024). Debido a que la infección del viroide es permanente, esto representa una pérdida económica importante para el productor por los años de manejo de los árboles y la disminución de la calidad del fruto. Una de las estrategias para reducir los efectos negativos producidos por la enfermedad, es el uso de inductores de resistencia sistémica. En México se han encontrado huertos de aguacate con una incidencia del 4.5 al 16 % de árboles con síntomas de la mancha de sol, así como un número indeterminado de árboles asintomáticos, por lo que la erradicación no es viable (Beltrán, 2008). Dentro de las alternativas de manejo de la enfermedad se propone el uso de inductores y elicitors.

Un inductor es cualquier sustancia o microorganismo aplicado a una planta con el objetivo de mejorar la eficiencia nutricional y tolerancia al estrés (Du Jardin, 2015). Por otra parte, los elicitores son compuestos capaces de estimular los mecanismos de defensa de las plantas. Los elementos nutricionales como el Ca y Si, se clasifican como elicitores abióticos químicos con compuestos inorgánicos, donde se encuentran las sales o iones (Zehra *et al.*, 2021). El objetivo de esta investigación fue conocer si la aplicación de un inductor de resistencia sistémica junto con la nutrición foliar mejora el desarrollo del fruto, número de frutos y contenido de clorofila en árboles de aguacate infectados con el ASBVd.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó de agosto de 2023 a marzo de 2024 en una huerta de aguacate cultivar 'Hass' injertados sobre criollos mexicanos de 12 años, ubicada en el Municipio de Tancítaro, Michoacán. Se seleccionaron 16 árboles con los síntomas característicos de la mancha de sol y ocho árboles asintomáticos. Para determinar la presencia del viroide en los árboles seleccionados, de cada uno de ellos se recolectó una hoja de cada punto cardinal para obtener una muestra compuesta por árbol. Las hojas fueron trasladadas en bolsas celofán al laboratorio donde se mantuvieron en refrigeración hasta su procesamiento.

Se obtuvo ARN total con CTAB 2% NaCl 5 M, pH 5.2. La concentración y calidad del RNA extraído se cuantificó en un Nanodrop®. Para la detección del viroide se realizó RT-PCR, se diseñaron nuevos primers específicos para ASBVd, F (TCTGTTCCGACTTTCCGACT) y R (CCTGGTTTCGTCAAACAAG) con una amplificación esperada de 249 pb. El producto de la amplificación se verificó en un gel de agarosa al 1.5 % teñido con bromuro de etidio en un fotodocumentador (Quantum®) y se envió a secuenciar por el método de Sanger (Macrogen Inc. Corea).

Por otra parte, a ocho de los 16 árboles de aguacate con síntomas típicos de la mancha de sol se les aplicó mensualmente Virablock 3G 50® como bioestimulante; además de K boron Ca® (VB+NF) (Cuadro 1). Los ocho árboles con síntomas restantes fueron los testigos positivos (TP, sin aplicación de los productos antes indicados) y como testigos negativos (TN, no infectados por el viroide) se tuvieron ocho árboles sin síntomas y sin aplicación de productos. En todos los casos cada 30 días se evaluó a) longitud y diámetro de fruto de aguacate con un vernier digital Insize® modelo 1108-150 (cuatro frutos por árbol); b) contenido de clorofila en ocho hojas por árbol con el

equipo atLEAF® cuyas lecturas se convirtieron a unidades SPAD y contenido total de clorofila en mg/cm<sup>2</sup>; c) número de frutos con ayuda de un contador manual Pretul® modelo CON-10M. Los datos obtenidos se analizaron como un bifactorial (Fecha y tratamiento), se obtuvieron las pruebas de separación de medias de Tukey, los datos se analizaron en el paquete estadístico SAS Versión 9.0. 4.

**Cuadro 1.** Productos inductores y dosis utilizada para la aplicación foliar de árboles de aguacate infectados por la mancha de sol.

Nombre comercial	Ingredientes activos	Dosis vía foliar / 25 L de agua
Virablock 3G 50®	Terpenoides, alcaloides, polifenoles, ácidos carboxílicos, antioxidantes, salicilato de potasio, taninos, citocininas, auxinas, tiosulfato de calcio y aminoácidos esenciales.	25 mL
K. boron Ca®	Potasio, calcio, azufre, cobre, boro, extractos vegetales.	50 mL

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

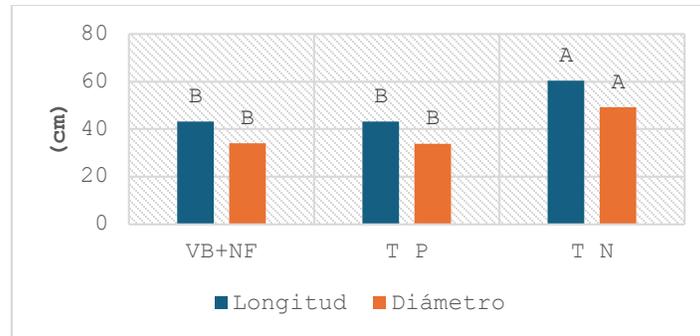
### Detección del *Avocado sunblotch viroid*

Los fragmentos amplificados por RT-PCR con los iniciadores específicos para el ASBVd correspondieron al tamaño esperado de 249 pb, los cuales tuvieron una similitud del 97 % con la secuencia reportada por Beltrán en 2013 con un asilamiento es este viroide detectado en Uruapan, Michoacán (No. de acceso KF562705.1). Se obtuvo la amplificación para todos los árboles de los tratamientos VB+NF y TP, así como de tres árboles del TN, a los cuales se les consideró como asintomáticos (TP).

### Diametro y longitud de fruto

No se encontraron diferencias estadísticas en el diámetro y longitud de frutos de árboles de los tratamientos TP y VB+NF. El diámetro y la longitud de los frutos de árboles del tratamiento TN fueron 30.74 % y 28.43 % mayores, respectivamente, que los del tratamiento VB+NF y TP (Figura 1). De acuerdo con las etapas fenológicas en aguacate Hass realizadas por Ávila *et al.*, (2005), los frutos del TN se encuentran en la etapa fenológica 4-5 con un diámetro (5-7 cm verde claro) y una longitud de fruto (4-6.6 cm). Mientras que los tratamientos VB+NF y TP se encuentran en una

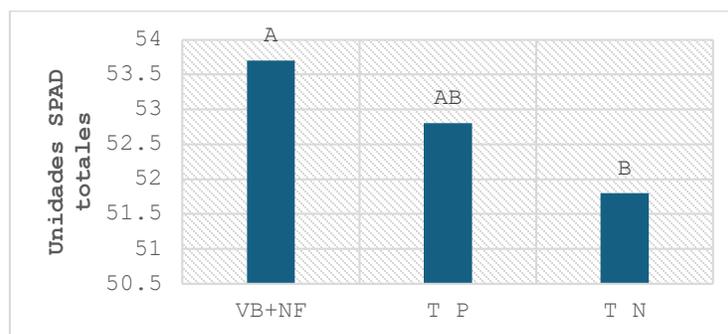
etapa 3-4 con diámetro (3-4.9 cm) y longitud de (2.4-3.9 cm), por lo que podemos apreciar una visible reducción del tamaño del fruto con síntomas del viroide, sin efecto de los inductores, hasta esta evaluación del experimento.



**Figura 1.** Valores promedio de las variables longitud y diámetro de fruto de aguacate en los tratamientos VB+NF (Virablock + nutrición foliar), TP (Testigo positivo) y TN (Testigo negativo). Letras iguales no indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, 0.05).

### Unidades SPAD

No se observaron diferencias estadísticas en el contenido de clorofila en unidades SPAD entre los tratamientos evaluados (Figura 2). Schoroeder (1935), señala que este viroide puede provocar disminución sobre el contenido de cloroplastos en las células, lo que trae como consecuencia la reducción en el contenido de clorofila; sin embargo, hasta esta parte de evaluación del experimento no hay diferencia en esta variable.



**Figura 2.** Contenido total de clorofila en unidades SPAD en los tratamientos VB+NF (Virablock + nutrición foliar), TP (Testigo positivo) y TN (Testigo negativo). Letras iguales no indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, 0.05).

### AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT por la beca asignada. Al Productor Antonio Rodríguez, dueño del huerto por su apoyo para realizar el experimento, al personal de INIFAP-Campo experimental Uruapan.

### LITERATURA CITADA

- Ávila Q G D, Téliz O D., Vaquera H H, González H H, & Johansen-NR. (2005). Progreso temporal del daño por trips (Insecta: Thysanoptera) en aguacate (*Persea americana* Mill.). *Agrociencia*, 39(4), 441-447.
- Beltrán P H .2008. El viroide de la mancha de sol de aguacate en Michoacán: etiología y distribución local. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. 68 p.
- Du Jardín P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticulturae*, 196, 3-14.
- EFSA Panel on Plant Health (PLH), Bragard, C., Baptista, P., Chatzivassiliou, E., Di Serio, F., Gonthier, P., ... & Reignault, P. L. 2023. Pest categorisation of the *Avocado sunblotch viroid*. *EFSA Journal*, 21(7), e08116.
- Joubert M, Van den Berg N, Theron J, Swart V. 2024. Global transcriptomic analysis in avocado nursery trees reveals differential gene expression during asymptomatic infection by avocado sunblotch viroid (ASBVd). *Virus Research*, 339, 199263.
- SADER (Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural), 2023. Cierra envío de aguacate michoacano con 140 mil toneladas para Super Bowl. <https://sader.michoacan.gob.mx/cierra-envio-de-aguacate-michoacano-con-140-mil-toneladas-para-super-bowl/> . (Recuperado: diciembre, 2023).
- Schoroeder C, A. 1935. Effects of Sunblotch on the anatomy of the avocado stem. California Avocado Association Yearbook 20:125-129.
- Viralzone.2023. Avsunviroidae (taxid:185752). <https://viralzone.expasy.org/6917>. (Recuperado: abril, 2024).
- Zehra A, Raytekar N A., Meena M, & Swapnil P. (2021). Efficiency of microbial bio-agents as elicitors in plant defense mechanism under biotic stress: A review. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100054.

## DIVERSIDAD DE LEPIDÓPTEROS BARRENADORES DE AGUACATE

Nicolás Alberto Sanhuesa-Peñaranda<sup>1\*</sup>, Héctor González Hernández<sup>1</sup>, Jorge Manuel Valdez-Carrasco<sup>1</sup>, Ariel W. Guzmán Franco<sup>1</sup>, Álvaro Castañeda Vildózola<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Posgrado en Fitosanidad. Texcoco, Estado de México, México, C. P. 56264. <sup>2</sup>Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Toluca, Estado de México, México. C. P. 50200. \*Autor de correspondencia: nicolassanhuezapenaranda@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

México es el principal productor y exportador de aguacate (*Persea americana* Mill.) en el mundo, y Michoacán es el estado que aporta la mayor parte de la producción total nacional, con el 70%. Los principales destinos de la producción del aguacate de México son: Estados Unidos, Canadá y Japón (SIAP, 2023), quienes imponen barreras fitosanitarias debido a la presencia de plagas y enfermedades (Luna *et al.*, 2017).

Una de las plagas más importantes de este cultivo es la palomilla barrenadora de la semilla del aguacate *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Depressariidae) (Cervantes Peredo, 1999; Luna *et al.*, 2017). Esta palomilla es considerada una plaga cuarentenaria por muchos países. Esta especie está restringida a hospederos de la familia Lauraceae, donde el aguacate o palto es el cultivo de mayor importancia económica (Cervantes Peredo, 1999; SENASICA-DGSV, 2016).

*Stenoma catenifer* se distribuye desde México hasta Argentina. El estatus fitosanitario de esta plaga en México es de distribución restringida y bajo control oficial (NIMF, 2006; SENASICA-DGSV, 2016). El principal daño es ocasionado por las larvas, las cuales se alimentan principalmente de la semilla del fruto de aguacate; sin embargo, se han reportado daños en ramas y pedúnculos (Wolfenbarger & Colburn, 1979), aunque en México sólo se ha observado el comportamiento de alimentarse de semillas del aguacate (Palacios-Torres *et al.*, 2011; Velázquez-Martínez *et al.*, 2022). Debido a la variación de este comportamiento, se desconoce si se trata de *S. catenifer* o de otras especies de lepidópteros barrenadores asociadas al aguacate.

Las especies del orden Lepidoptera que barrenan o dañan estructuras del aguacate lo realizan en su etapa larval. Por lo que la detección oportuna de estas plagas, durante esta etapa, es relevante. Por esto, mapas setales y secuencias moleculares son fundamentales para su correcta identificación, lo que permitirá determinar las técnicas adecuadas para el manejo en un programa fitosanitario (Hernández-Ortiz *et al.*, 2020). Por lo tanto, los objetivos de este estudio fue comparar poblaciones de *S. catenifer* provenientes de frutos y de ramas; así como estudiar la diversidad de lepidópteros barrenadores asociados a este cultivo, con base a características morfológicas y análisis molecular.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los individuos fueron recolectados a partir de frutos dañados de aguacate *P. americana* cv. Hass, *P. americana* cv. Fuerte, frutos caídos de *P. schiedeana*, ramas de *Nectandra hihua* (Ruiz & Pav.) Rohwer (Lauraceae) y adultos de trampas con feromona sexual sintética de localidades de México y Guatemala. Todas las muestras se colocaron en tubos tipo Eppendorf (2 ml) con etanol al 96° y se transportaron al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Las larvas y adultos fueron identificados con base a características morfológicas (Cervantes Peredo, 1999; Adamski, 2002; Brown & Adamski, 2003). También, se capturaron imágenes mediante una cámara digital Canon ® EOS 5D, montada en un microscopio (Zeiss SteREO Discovery V20), las cuales se editaron y compilaron con Zerene Stacker 1.04, GIMP 2.10.34 e ImageJ1.53t.

Para la extracción del ADN se utilizó el kit Quick-DNA™ Tissue/Insect Microprep Kit (Zymo Research, Irvine, CA, E.S.A.), siguiendo las indicaciones del fabricante. En una cámara de flujo laminar (VECO, S.A. DE C.V., Jiutepec, Morelos, México), se llevó a cabo la disección de la larva, donde se separó la cápsula cefálica y tórax del resto del cuerpo, mientras que del adulto sólo se utilizó el tórax. Este material fue liofilizado (LABCONCO, Frezone 4.5, Kansas, MO, U.S.A.) durante 48 h.

Mediante PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa) punto final se amplificó un fragmento del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa Subunidad I (*COI*). Los reactivos utilizados fueron los propuestos por Folmer *et al.*, (1994); además de los cebadores de ADN Forward (LCO1490) y Reverse (HCO2198) (ADN ARTIFICIAL S. de R.L. de C.V., Irapuato, Guanajuato, México).

Las reacciones se llevaron a cabo en el termociclador T100 (Laboratorios BIORAD Inc., Hercules, CA). Las condiciones de amplificación fueron las indicadas por Hebert *et al.*, (2003). Los productos de PCR obtenidos se visualizaron por electroforesis en gel de agarosa al 1%. Por último, la imagen del gel se digitalizó en un Transilluminator UV (Vilber Lourmat, France). Los productos de PCR se enviaron a Macrogen Inc. (Seúl, Corea del Sur) para ser.

Las secuencias obtenidas se limpiaron y ensamblaron con el programa BioEdit versión 7.1.9.0 (Hall, 1999). Las secuencias consenso de cada muestra se compararon con la base de datos Barcode of Life Data System (BOLD SYSTEMS) (<https://www.boldsystems.org/>). Las secuencias

consenso y las secuencias disponibles en BOLD fueron analizadas con el programa MEGA 7.0.26 mediante el método Maximum Likelihood (ML), aplicando el modelo de Kimura 2 y el método Bootstrap con 5000 repeticiones para reconstruir relaciones filogenéticas (Kumar *et al.*, 2001).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pináculos de las larvas y características de la genitalia masculina de *S. catenifer*, fueron identificados en individuos recolectados de frutos de *P. americana* cv. Hass de Colima, Jalisco y en Guatemala y en frutos caídos de *P. schiedeana* de Puebla. Mientras que, en ramas, *S. catenifer* fue identificada en *N. hihua* de Jalisco y *P. americana* cv. Hass de Guatemala.

Con la identificación molecular, las secuencias obtenidas de individuos en frutos de aguacate, al ser comparadas con la base de datos de BOLD, arrojaron un porcentaje de similitud del 96.18 % al 100 % para los individuos de Colima (n= 11); del 99.54 %, al 100 % para los individuos de Puebla (n = 7), del 92.24 % al 98.22 % para los individuos de Jalisco (n = 4) y del 97.78 % al 99.69 %, para los individuos de Guatemala (n = 6), con la secuencia de *S. catenifer* (Registro en BOLD: GBMNA44738-19).

Por otro lado, las secuencias de los individuos obtenidos de ramas (Jalisco n = 3), al ser comparadas con la base de datos de BOLD, arrojaron un porcentaje de similitud del 97.75 % al 97.77 % con la secuencia de *S. catenifer* (Registro en BOLD: GBMNA44738-19). No fue posible utilizar la secuencia de los individuos provenientes de Guatemala, debido a que no presentaron la calidad requerida para el análisis. Este comportamiento alimenticio de *S. catenifer* en ramas de aguacate o de otras especies de Lauraceae no se había reportado con evidencia.

Para el análisis molecular de las secuencias COI los individuos de *S. catenifer* colectados en frutos y ramas, se realizó un análisis filogenético con secuencias de *S. sexmaculata*, *S. exarata*, *S. catenifer* y a *Agonopterix heracliana* (Depressariidae) como grupo externo. El resultado indicó que las secuencias de *S. catenifer*, se dividen en tres grupos con una variabilidad genética del 92 % al 100 %. A pesar de la variabilidad, la distancia intraespecífica dentro del grupo compuesto por las poblaciones de *S. catenifer* fue de 1.9 %. Por lo que, aunque existe variabilidad genética dentro del grupo, no se evidencia distancia genética significativa entre las poblaciones de *S. catenifer* provenientes de ramas y frutos (Hebert *et al.*, 2003).

*Cryptasasma perseana* fue identificada de larvas de en frutos caídos de *P. schiedeana* (Puebla). Con la identificación molecular, las secuencias de los individuos provenientes de Puebla

(n = 3), al ser comparada con la base de datos de BOLD, arrojaron un porcentaje de similitud del 98.3 % hasta el 99.48 % con la secuencia de *C. perseana* (Registro en BOLD: BCISP181-11).

*Anopinella* n. sp., y *Holcocera* n. sp., se identificaron morfológicamente de larvas y adultos, las cuales fueron recolectadas en Jalisco, México en tumores de ramas de *N. hihua*. Ambas especies al ser comparadas con la base de datos de BOLD, no mostraron similitud con otras especies de los géneros respectivos. Ambas especies están proceso de descripción como nuevas especies.

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (Conahcyt) por la beca concedida que me permitió realizar los estudios de maestría. Al Colegio de Postgraduados por el financiamiento parcial de la presente investigación. A Jorge Luis López Madrueño de la Junta Local de Sanidad Vegetal de Zapotlán el Grande en Jalisco, por el envío del material vegetal de *Nectanda*. A José Martínez Ortega por proporcionar material colectado de chinin en Puebla.

### LITERATURA CITADA

- Adamski D. 2002. "Holocerini of Costa Rica (Lepidoptera: Gelechioidea: Coleophoridae: Blastobasinae)." *Memoirs of the Entomological Society of Washington* 24: 1–147.
- Brown JW, Adamski D. 2003. Systematic revision of *Anopinella* Powell (Lepidoptera: Tortricidae: Euliini) and phylogenetic analysis of the Apolychrosis group of genera. *Zootaxa*, 200: 1-94. DOI:10.5281/zenodo.156909.
- Cervantes Peredo LC. 1999. The stenomatine moth, *Stenoma catenifer* Walsingham: a pre-dispersal seed predator of Greenheart (*Chlorocardium rodiei* (Schomb.) Rohwer, Richter & van der Werff) in Guyana. *Journal of Natural History* 33(4): 531-542. DOI: <https://doi.org/10.1080/002229399300236>.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Varijenhoek KR. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 294-9.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* 41(41): 95-98.
- Hebert PD, Ratnasingham S, De Waard JR. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl\_1), S96-S99. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>.

- Hernández-Ortiz V, Hernández-López M, Steck GJ. 2020. Morfología y taxonomía de Tephritidae: Especies de importancia económica y cuarentenaria en América. Moscas de la fruta: fundamentos y procedimientos para su manejo. SyG Editores Mexico, 71-116.
- Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB, Nei M. 2001. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, 17(12): 1244-1245. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.12.1244>.
- Luna, A, López-Martínez V, Jiménez-García D, Jones RW, Castañeda-Vildózola Á, Ruiz-Montiel C. 2017. Actual and potential distribution of five regulated avocado pests across Mexico, using the maximum entropy algorithm. *Florida Entomologist* 100(1): 92-100. DOI: <https://doi.org/10.1653/024.100.0114>.
- NIMF No. 08. 2006. Determinación de la situación de una plaga en un área (1998). Edición 2005. Secretaría de la Convención Internacional de Protección fitosanitaria. FAO-IPPC.
- Palacios-Torres RE, Ramírez del Ángel M, Uribe González E, Granados Escamilla DF, Romero Castañeda JE, Valdez Carrasco JM. 2011. Avocado seed moth, *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) in Queretaro, México. *Acta zoológica mexicana* 27(2): 501-504. DOI: <http://dx.doi.org/10.21829/azm.2011.272769>.
- SENASICA-DGSV. 2016. Palomilla barrenadora del aguacate (*Stenoma catenifer* Walsingham). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria- Dirección General de Sanidad Vegetal- Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria- Grupo Especialista Fitosanitario. Ficha Técnica. Tecámac, México 16 p. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/155686/Ficha\\_Tecnica\\_stenoma\\_catenifer\\_EPF\\_2016\\_\\_1\\_.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/155686/Ficha_Tecnica_stenoma_catenifer_EPF_2016__1_.pdf) (Recuperado: diciembre 2023).
- SIAP. 2023. Panorama Agroalimentario 2023. Sistema de información Agroalimentación y Pesquera (SIAP). Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SADER). <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/panorama-agroalimentario-258035>. (Recuperado: enero 2023).
- Velázquez-Martínez G. del C, González-Hernández H, Equihua-Martínez A, Lomeli-Flores JR, Rojas JC, Lopez-Collado J. 2022. Population dynamics of *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Depressariidae) on Hass avocado orchards in México. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 25(1): 101866. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2021.101866>.
- Wolfenbarger, DO, Colburn B. 1979. The *Stenoma catenifer*, a serious avocado pest. In Proceedings of the Florida State Horticultural Society 92: 275.

# ESTUDIOS TAXONÓMICOS

## LAS AVISPAS AGALLADORAS DEL GÉNERO *QUERCUS* EN CINCO ZONAS DE ESTUDIO DEL ESTADO DE MÉXICO (Hymenoptera: Cynipidae)

Rosa D. García-Martiñón\*, Amando Equihua-Martínez\*, Edith G. Estrada-Venegas\*, Martínez-Núñez M\*, Alejandro Pérez-Panduro\* Juli Pujade-Villar\*\*

\* Fitosanidad. Colegio de Postgraduados campus Montecillos. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, C.P. 56230, Texcoco, Edo. de México. rosa.garcia@colpos.mx, equihuaa@colpos.mx, estradae@colpos.mx, aperez@colpos.mx, martinez.marcelino@colpos.mx; \*\*Juli Pujade-Villar. Universidad de Barcelona, Facultad de Biología. jpujade@ub.edu

### INTRODUCCIÓN

La familia Cynipidae (Hymenoptera: Cynipoidea), se caracteriza por su capacidad de inducir agallas en diferentes hospedantes, 10 tribus (Ronquist et al., 2015) después que Hearn et al. (2023) estableciera los Diplolepidini como una familia independiente y Lobato-Vila et al. (2022) establecieran un nuevo género de inquilinos: Aulacideini, Aylacini y Phanacidini (producen agallas en plantas herbáceas), Eschatocerini (en *Prosopis* spp. and *Acacia* spp.), Pediastpidini (en *Acer*), Qwaqwaiini (en *Scolopia* spp.) y Cynipini (en Fagaceas mayoritariamente del género *Quercus*), los Synergini han perdido la capacidad de inducir agallas y viven como fitófagos inquilinos en las agallas de Cynipini (Pujade- Villar 2001); los Diastrophini (son inductores de agallas en agallas de *Rubus* spp. y *Potentilla* spp., raramente en *Smilax*, o bien son inquilinos en agallas de *Rubus* spp. y *Rosa* spp; los Paraulacini (son inquilinos o parasitoides de agallas de Pteromalidae en *Nothofagus*); y los Rhoophilini (que son inquilinos en agallas del género de polillas *Scyrotis*). A nivel mundial se estiman 500 especies de encinos, en México se estiman entre 135 y 250 especies (Romero Rangel, 2015), donde más de la mitad son endémicas, de los subgéneros *Quercus* (*Cerris* y *Quercus*), el país solo está representado por este último, con sus 4 secciones: sección *Quercus* (encinos blancos), sección *Virentes*, sección *Protobalanus* y sección *Lobatae* (encinos rojos) (Denk et al. (2017).

Martinez-Romero et al. (2022), menciona los reportes de Cinípidos en las secciones anteriores contabilizando 67, 2, 3 y 26 especies respectivamente. Por lo mencionado, hasta 2021 se habían descrito aproximadamente 205 especies en *Quercus* mientras que en Europa se han descrito unas 100 especies (Melika, 2006; WCSP, 2020), en 10 especies de *Quercus*. Se estima que la diversidad en México podría llegar a las 1000 especies, por lo que hay un gran trabajo por realizar aún. Los objetivos son: 1) Identificar la diversidad de encinos y agallas de la zona; 2) Describir especies nuevas de avispas agalladoras (Hymenoptera, Cynipidae) colectadas, 3) Explorar la posibilidad de cerrar ciclos alternantes de cinípidos colectados mediante estudios moleculares, 4) Identificar parasitoides, emergidos de agallas colectadas.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Selección de sitios de muestreo

Las colectas de morfotipos de agallas inducidas por las avispas agalladoras (Hymenoptera, Cynipidae), se está realizando de forma sistemática con duración de un año, en 5 sitios de muestreo de tres municipios del Estado de México (San Felipe del Progreso, Jocotitlán y Timilpan), con presencia de encinos del género *Quercus*. Se han realizado 9 de los 12 muestreos mensuales, (octubre 2013-junio 2024), en los 5 sitios de estudio: 1) Parque ecológico El Ocotal, 2) San Pedro el Alto, 3) San Juan Coajomulco, 4) Tunal- Salto, y 5) Plateros-arenales. Los tres últimos sitios se retomaron para continuar colectaron agallas donde no se obtuvieron emergencias de adultos en estudios realizados durante la maestría y los primeros dos sitios se agregaron para enriquecer el estudio.

### Método de muestreo

En campo se realiza una búsqueda exhaustiva de morfotipos de agallas en hojas, ramas, amentos y tallos en arboles de encino, en diferentes fases de desarrollo, de preferencia deben ser maduras. Una vez seleccionada la agalla se coloca en bolsas tipo ziploc para el transporte, con los datos de colecta en una etiqueta (localidad, fecha, hospedero, coordenadas, altitud). También se toman fotografías “in situ” con cámara digital, en el laboratorio son colocadas en cámaras de emergencia (frascos transparentes con tapa y malla), por morfotipo y hospedero, y son etiquetados por colores de acuerdo al sitio para facilitar la ubicación entre las muestras.

### Preparación de ejemplares para identificación taxonómica

Para la identificación de encinos del género *Quercus* se tomó una muestra de cada ejemplar, la cual fue prensada, secada y montada con su respectiva etiqueta para ser identificada, por la Dra. Silvia Romero Rangel, especialista de *Quercus*, de la FEST IZTACALA de la Universidad Autónoma de México.

En el laboratorio los morfotipos de agallas, se revisan semanalmente para obtener adultos (inductores, inquilinos o parasitoides), se colocan en frascos ependorf con alcohol al 90%, etiquetados. Algunos ejemplares han sido montados en seco en pequeños rectangulitos sobre alfileres entomológicos para su identificación.

La identificación taxonómica de adultos agalladores se realiza mediante claves de identificación con la ayuda del especialista de Cinípidos agalladores del género *Quercus* el Dr. Juli Pujade Villar de la Universidad de Barcelona.

### RESULTADOS PRELIMINARES

Actualmente se han realizado 9 muestreos incluyendo el mes de junio 2024, de un total de 12 previstos; sin embargo, se han tomado los datos obtenidos hasta mayo, los sitios con más muestras de agallas colectadas se enlistan en forma descendente, Sitio 1) El Ocotal (156 muestras), 3) Tunal-salto (138 muestras), 2) San Juan Coajomulco (125 muestras), 4) Plateros- arenales (92 muestras) y por último el sitio 5 con menos muestras colectadas (83). Las emergencias de cinípidos, inquilinos y parasitoides, en el Cuadro 1, son por muestra y no por número de adultos obtenidos.

Los meses de mayor emergencia en las muestras son diciembre, enero y febrero, mientras que los meses con menor emergencia son octubre, noviembre, marzo, abril y mayo. Los morfotipos de agallas varían de acuerdo al sitio de estudio, el tiempo de colecta y el ciclo biológico del *Quercus*. En total se han colectado en 31 especies de los cinco sitios de colecta.

Se describieron dos especies y un género nuevo de Cynipidae para México; *Andricus mazahua* n. sp., en *Quercus crassipes* Humb. & Bonpl., (sección Lobatae) y *Reticulodermis* Pujade-Villar, Cuesta-Porta & Melika n. gen. y nueva especie, *R. lithogalla* García-Mantiñón y Pujade-Villar n. sp., también en *Quercus crassipes* Humb. & Bonpl.

**Cuadro 1.** Muestras colectadas y emergencias por sitios de muestreo.

Sitios de muestreo	Muestras totales	Muestras Emergencias de cynípidos	Muestras Emergencias de inquilinos y parasitoides	Morfotipos de agallas	Especies de encino
1.- El ocotal	156	50	76	18	*
2.- San Juan Coajomulco	125	30	41	15	5
3.- Tunal- Salto	138	32	52	16	7
4.- Plateros - arenales	92	17	41	14	7
5.- San Pedro el Alto	83	27	37	7	*
Total	594	156	247	70	31

\*Encinos en proceso de determinar

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por otorgar la beca para mis estudios de Doctorado en el Programa de Fitosanidad. Al Parque Ecológico El Ocotal por las facilidades otorgadas para la Investigación.

## LITERATURA CITADA.

- Denk T, Grimm GW, Manos PS, Deng M, Hipp AL, 2017. Oaks physiological Ecology. Exploring the functional diversity of Genus Quercus L. (pp. 13-38). Tree Physiology, Vol 7. New York: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-69099-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-69099-5_2)
- Hearn J, Gobbo E, Nieves-Aldrey JL, Branca A, Nicholls JA, Koutsoyoulos G, Lartillot N, Stone GN, Ronquist F. (2023) Phylogenomic analysis of protein-coding genes resolves complex gall wasp relationships. Systematic Entomology 49(1): 1–28. <https://doi.org/10.1111/syen.12611>
- Lobato- Villa I, Bae J, Roca-Cusachs M, Kang M, Jung S, Melika G, Péncdes Z, Pujade-Villar J, 2022. Global phylogeny of the inquiline gall wasp tribe Synergini (Hymenoptera: Cynipoidea: Cynipidae): first insights and establishment of a new cynipid tribe, Zoological Journal of the Linnean Society, Vol. 195, Pp. 1338–1354, <https://doi.org/10.1093/zoolinnea/zlab085>
- Martinez-Romero A, Cuesta-Porta V, Equihua-Martínez A, Estrada-Venegas ED, Barrera-Ruiz UM, Cibrián-Tovar D, Pujade-Villar J, 2022. Aportación al conocimiento de las especies de Cynipini (Hymenoptera: Cynipidae) en los estados mexicanos. Revista mexicana de biodiversidad. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2022.93.3998>
- Melika, G. 2018. Gall wasps of Ukraine. Cynipidae. Vestnik Zoologii, Supplement. Науковий вісник Ужгородського університету Серія Біологія, Випуск 44 (201): 39–54 DOI: 10.24144/1998-6475.2018.44.39-54
- Trejo-Téllez LI, García-Jiménez A, Escobar-Sepúlveda HF, Ramírez-Olvera SM, Bello-Bello JJ, Gómez- Merino FC. 2020. Silicon induces hormetic dose-response effects on growth and concentrations of chlorophylls, amino acids and sugars in pepper plants during the early developmental stage. PeerJ 8: e9224. <https://doi.org/10.7717/peerj.9224>
- Pujade-Villar J, Bellido D, Segú G, Melika G 2001. Current state of knowledge of heterogony in Cynipidae (Hymenoptera, Cynipoidea). Sess Entomol ICHN-SCL 11(1999): 87-107. <https://publicacions.iec.cat/repository/pdf/00000001/00000083.pdf> (Recuperado: junio 2024)
- Romero-Rangel S, Rojas-Zenteno EC, Rubio-Licon LE, 2015. Encinos de México (Quercus, Fagaceae) 100 especies. Iztacala, Estado de México: Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN: 978-607-02-6650-8
- Ronquist F, Nieves-Aldrey JL, Buffington ML, Liu Z, Liljeblad J, Nylander JA. 2015. Phylogeny, evolution and classification of gall wasps: the plot thickens. PLOS ONE 10(5):e0123301. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123301>

WCSP, (2024). Wordl checklist of selected plant families. Facilitado por The Royal Botanic Gardens, Kew. (Recuperado de junio, 2024) de:  
[http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Quercus  
&PT RefFk=8000000](http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Quercus&PT RefFk=8000000)

## ESTUDIO TAXONÓMICO DE LOS BRÚQUIDOS (COLEOPTERA: BRUCHIDAE) DE HONDURAS

Mauricio Enrique-Lagos<sup>1\*</sup>, Jesús Romero-Nápoles<sup>1</sup>, Héctor González-Hernández<sup>1</sup>, Alejandro Pérez-Panduro<sup>1</sup>, Dulce Azucena Hernández-Zetina<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Posgrado Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230, Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Unidad Integral de Diagnóstico, Servicio y Constatación, Carretera Federal México-Pachuca Km. 37.7, Tecámac, Estado de México, C.P. 55740, México. \*Autor para correspondencia: [mauricioelagos@yahoo.com](mailto:mauricioelagos@yahoo.com)

### INTRODUCCIÓN

Los brúquidos (Coleoptera: Bruchidae) son especies fitófagas, cosmopolitas. Esta familia cuenta con 1627 especies descritas, distribuidas en seis subfamilias y 62 géneros, de los cuales 42 géneros se encuentran en América (Romero-Gómez *et al.* 2014). Los adultos presentan hábitos variables y sus estados inmaduros dependen totalmente de semillas para completar su desarrollo y tienen como sus hospederos preferenciales a especies de la familia Fabaceae (Kingsolver, 2002; Johnson & Romero, 2004).

Según Kingsolver (2002), la mayor diversidad de brúquidos se encuentra en el sur de Norteamérica y Centroamérica. En México, se registra el mayor número de especies de brúquidos descritas con 376 (Romero & Johnson, 2004; Godínez-Cortés *et al.* 2017). En la región centroamericana se cuenta con registros de brúquidos para Nicaragua con 79 especies (Maes & Kingsolver, 1991), Honduras 148 especies (Turnbow *et al.* 2003) y Costa Rica con 173 (Romero *et al.* 2017). Estas variaciones en el número de especies entre países están relacionadas con la intensidad de colecta por parte de los especialistas y en el número de trabajos realizados de cada país para conocer la fauna de estos insectos.

El reporte más reciente de brúquidos para Honduras fue un listado preliminar elaborado por Turnbow *et al.* (2003). Este trabajo permitirá realizar una descripción detallada de cada especie encontrada en Honduras, que incluya su planta hospedera, imágenes de las formas adultas y de la genitalia del macho; así como, desarrollar una base de datos y se elaborará una clave taxonómica para géneros y especies.

### MATERIALES Y MÉTODO

De diciembre 2022 a mayo 2023, se realizaron muestreos en diferentes sitios de Honduras, aplicando la metodología descrita por Schultze-Kraft (1979). En cada sitio de muestreo se realizó colecta indirecta, tomando vainas secas de plantas asociadas a brúquidos, las cuales fueron conservadas en bolsas de papel kraft. Cada bolsa contenía

información relacionada con la fecha de colecta, localidad, número de muestra, datos de georreferencia que se obtuvo con un equipo GPS Garmin Etrex 22x. Cada planta hospedera fue fotografiada y cuando ésta contaba con hojas y flores, se colectaban y colocaban en una prensa botánica para su posterior identificación.

Las muestras se conservaron a temperatura ambiente entre los 19 a 24°C en Siguatepeque, Comayagua, Honduras, con revisiones semanales del material durante dos meses en espera de la emergencia de los brúquidos adultos, los cuales eran conservados en frascos con alcohol 70%. Después de los 2 meses, el material vegetal fue desechado. La identificación botánica de los hospederos se realizó con apoyo de personal técnico de la Universidad Nacional de Ciencias Forestales (UNACIFOR). En la identificación taxonómica de los brúquidos se realizó en los laboratorios del Posgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología del COLPOS-Montecillo, México.

Para las identificaciones de las especies se usaron claves de los géneros: *Amblycerus* (Romero *et al.* 1996), *Algarobius* (Kingsolver, 1986), *Acanthoscelides* (Johnson, 1983, 1990), *Ctenocolum* (Kingsolver y Whitehead, 1974), *Caryedes* (Kingsolver y Whitehead, 1974), *Caryedon* (Mukerji *et al.* 1957), *Merobruchus* (Kingsolver, 1988), *Megaserus* (Teran y Kingsolver, 1977), *Mimosestes* (Kingsolver y Johnson, 1978), *Pygiopachymerus* (Kingsolver, 1970b), *Sennius* (Johnson y Kingsolver, 1973), *Stator* (Johnson y Kingsolver, 1976), *Specularius* (Bridwell, 1938), *Zabrotes* (Romero & Johnson, 2000). Para la preparaciones e interpretación de la genitalia de los machos se realizó según Kingsolver (1970a); así como de Romero y Johnson (1999).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 269 muestras con brúquidos colectadas, en 17 de los 18 departamentos de Honduras, se identificaron 46 especies de brúquidos, distribuidas en 14 géneros y tres subfamilias. Las especies identificadas corresponden a la subfamilia Bruchinae con un 89%, 9% Amblycerinae y 2% Pachymerinae. **Subfamilia Bruchinae:** *Acanthoscelides clitellarius* (Fahraeus, 1839); *A. cordifer* (Sharp, 1885); *A. difficilis* (Sharp, 1885); *A. griseolus* (Fall, 1910); *A. guazumae* Johnson & Kingsolver, 1971; *A. macrophthalmus* (Schaeffer, 1907); *A. mankinsi* Johnson, 1983; *A. mexicanus* (Sharp, 1885); *A. obrienorum* Johnson, 1970; *A. quadridentatus* (Schaeffer, 1907); *A. suaveolus* (Sharp, 1885); *Algarobius nicoya* Kingsolver, 1986; *Caryedes helvinus* (Motschulsky, 1874); *Ctenocolum colburni* Kingsolver & Whitehead, 1974; *C. podagricus* (Fabricius, 1801); *C. tuberculatum* (Motschulsky, 1874); *Megacerus flabelliger* (Fahraeus, 1839); *M. impiger* (Horn, 1873); *Merobruchus boucheri* Kingsolver,

1980; *M. columbinus* (Sharp, 1885); *M. insolitus* (Sharp, 1885); *M. paquetae* Kingsolver, 1980; *M. placidus* (Horn, 1873); *M. porphyreus* Kingsolver, 1988\*; *M. solitarius* (Sharp, 1885)\*; *M. sonorensis* Kingsolver, 1980; *Mimosestes anomalus* Kingsolver & Johnson, 1978; *M. humeralis* (Gyllenhal, 1833); *M. janzeni* Kingsolver & Johnson, 1978; *M. mimosae* (Fabricius, 1781); *M. nubigens* (Motschulsky, 1874); *Pygiopachymerus lineola* (Chevrolat, 1871); *Sennius auricomus* Johnson & Kingsolver, 1973\*; *S. fallax* (Boheman, 1839); *S. lebasi* (Fahraeus, 1839); *S. muricatus* (Sharp, 1885); *S. rufomaculatus* (Motschulsky, 1874); *Specularius impressithorax* (Pic, 1932); *Stator championi* (Sharp, 1885); *S. limbatus* (Horn, 1873); *S. pruininus* (Horn, 1873). **Subfamilia Amblycerinae:** *Amblycerus cistelinus* (Gyllenhal, 1833); *A. épsilon* Kingsolver, 1980\*; *Zabrotes interstitialis* (Chevrolat, 1871); *Z. subfasciatus* (Boheman, 1833). **Subfamilia Pachymerinae:** *Caryedon gonagra* (Fabricius, 1798)\*. Los géneros con mayor abundancia fueron: *Acanthoscelides* con 24%, *Merobruchus* 17%, *Sennius* y *Mimosestes* ambos con 11%.

Las plantas hospederas de brúquidos corresponden a Fabaceae (93%), Malvaceae (4.5%), Bixaceae (3.7%) y Anacardiaceae 1%. Lo anterior es congruente con Kingsolver, (2002) y Romero *et al.* (2014), quienes mencionan que especies de Fabaceae son consideradas como hospederos preferenciales de los brúquidos. La mayoría de las especies de brúchidos identificadas coinciden con Turnbow *et al.* (2003). Además, como lo menciona Romero *et al.* 2014, los brúquidos pueden tener más de una planta hospedera, por ejemplo, que *Acanthoscelides quadridentatus*, *A. macrophthalmus* se encuentran en *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit y en *Mimosa* (las especies con asterisco son nuevos registros para Honduras).

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONACyT), por la beca de estudio otorgada. Al Colegio Postgraduados Campus Montecillo, por permitirme realizar estudios de doctorado en el programa de Fitosanidad. A mí Consejo particular, por guiarme en el desarrollo de esta investigación.

### LITERATURA CITADA

- Bridwell JC. 1938. *Specularius erythrinae*, a new bruchid affecting seeds of *Erythrina* (Coleoptera). Jour. Wash. Acad Sci., 28(2): 69-76.
- Godínez-Cortés S, Romero NJ, Castellanos I. 2017. Bruchidae del estado de Hidalgo. In: Aurelio Ramírez-Bautista Arturo Sánchez-González Gerardo Sánchez-Rojas Consuelo Cuevas-Cardona (Eds.). Biodiversidad del estado de Hidalgo, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo-CONACYT. Tomo II, pp. 299-316.

- Hetz M, Johnson CD. 1988. Hymenopterous parasites of some bruchid beetles of North and Central America. *Journal Stored Products*, 24: 131-143.
- Johnson CD. 1983. Ecosystematics of *Acanthoscelides* (Coleoptera: Bruchidae) of Southern Mexico and Central America. *Miscellaneous publications of the Entomological Society of America*, 56: 1-370.
- Johnson CD. 1990. Systematics of the seed beetle genus *Acanthoscelides* (Bruchidae) of Northern South America. *Transactions of the Amer. Entomolog. Soc.*, 116: 297-618.
- Johnson CD, Kingsolver JM. 1973. A revision of the genus *Sennius* of North and Central America (Coleoptera: Bruchidae). *USDA Technical Bulletin*, 1462: 1-135.
- Johnson CD, Kingsolver JM. 1976. Systematics of *Stator* of North and Central America. (Coleoptera: Bruchidae). *USDA Technical Bulletin*, 1537: 1-101.
- Johnson CD, Romero NJ. 2004. A review of evolution of oviposition guilds in the Bruchidae (Coleoptera). *Revista Brasileira de Entomologia*, 48(3): 401-408.
- Kingsolver JM, Johnson CD. 1978. Systematics of the genus *Mimosestes* (Coleoptera: Bruchidae) *USDA Technical Bulletin*, 1590: 1-106.
- Kingsolver JM, Whitehead DR. 1974. Biosystematics of Central American species of *Ctenocolum*, a new genus of seed beetles (Coleoptera: Bruchidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 87: 283-312.
- Kingsolver JM, Whitehead DR. 1974. Classification and comparative biology of the seed beetle genus *Caryedes* Hummel (Coleoptera: Bruchidae). *Transactions of the American Entomological Society*, 100: 341-436.
- Kingsolver JM. 1970a. A study of male genitalia in Bruchidae (Coleoptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 72: 370-386.
- Kingsolver JM. 1970b. Synopsis of the genus *Pygiopachymerus* Pic, with notes on its relationships to other genera. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 72(1): 37-42.
- Kingsolver JM. 1988. Biosystematics of the genus *Merobruchus* of continental North America and the West Indies (Coleoptera: Bruchidae). *USDA Technical Bulletin*, 1744: 1- 63.
- Kingsolver JM. 2002. Bruchidae Latreille 1802. In Arnett R. H. Thomas M. C. Skelley, P. E. & Frank, J. H. 2002. *American Beetles Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea*. Vol 2. Boca Ratón, Florida, Estados Unidos: CRC Press. 602-608.
- Kingsolver, JM. 1986. A taxonomic study of the genus *Algarobius* (Coleoptera:Bruchidae). *Entomography* 4:109-136.

- Mukerji S, Ramdas, MG, Chatterjee SN. 1957. The taxonomic position of *Caryedon fuscus* (Goeze), *C. gonagra* (Fabricius) & *C. longidus* (Gyl) (Coleoptera:Bruchidae) based on a study of the genitalia. Proc. R. Entomol. Soc. London, 26:103-106.
- Maes JM, Kingsolver JM. 1991. Catálogo de los Bruchidae (Coleoptera) de Nicaragua. Revista Nicaraguense de Entomología, 16: 21-34.
- Romero-Gómez G, Romero NJ, Burgos ASJ, Carrillo SL, Bravo MH, Ramírez AS. 2014. Brúquidos (Coleoptera: Bruchidae) del estado de Morelos, México. Acta Zoológica Mexicana (n.s.), 30(1): 1-17.
- Romero NJ, Johnson CD, Kingsolver JM. 1996. Revision of the Genus *Amblycerus* of the United States and Mexico (Coleoptera: Bruchidae: Amblycerinae). USDA Technical Bulletin, 1845: 1-166.
- Romero NJ, Johnson CD. 1999. *Zabrotes sylvestris*, a new species from the United States and Mexico related to *Z. subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae: Amblycerinae). The Coleopterist Bulletin, 53(1): 87-98.
- Romero NJ, Johnson CD. 2000. Revision of the genus *Zabrotes* Horn of Mexico (Coleoptera: Bruchidae: Amblycerinae). Transactions of the Amer. Entomol. Soc., 126(2): 221-274.
- Romero NJ, Johnson CD. 2004. Checklist of the Bruchidae (Coleoptera) of Mexico. The Coleopterists Bulletin 58(4):613-635.
- Romero-Nápoles J, Niño SM, Flores KYM. 2014. Bruchidae (Insecta: Coleoptera) de Tamaulipas, México. Pp. 133-140. En: Correa S., A., J. V. Horta V., J. García J. & L. Barrientos L. (Eds). Biodiversidad Tamaulipeca, 2 (2). 133-140.
- Romero NJ, Kingsolver, JM, Yus, R. 2017. Checklist of the Bruchidae (Coleoptera: Chrysomeloidea) of Costa Rica. Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.), 60: 153-166.
- Schultze-Kraft R. 1979. Preparation for collection trip. In: Mott, G.O. (Ed.). Handbook for the collection, preservation and characterization of tropical forage germplasm resources. Cali, Colombia. CIAT. 5-8.
- Terán AL, Kingsolver JM. 1977. Revisión del género *Megacerus* (Coleoptera: Bruchidae). Opera Lilloana 25:1- 287.
- Turnbow RH, Cave RD, Kingsolver JM. 2003. An Annotated Checklist of the Bruchidae of Honduras. *Ceiba*, 44(2): 269-278.

## ESPECIES DEL GÉNERO *Heilipus* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: MOLYTINAE) PRESENTES EN MÉXICO

Valentina Díaz-Grisales<sup>1\*</sup>, Jesús Romero-Nápoles<sup>1</sup>, Héctor González-Hernández<sup>1</sup>, Néstor Bautista-Martínez<sup>1</sup>, Álvaro Castañeda-Vildózola<sup>2</sup>, Jennifer C. Girón-Duque<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Posgrado en Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México. \*Autor para correspondencia: diaz.valentina@colpos.mx

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus “El Cerrillo”, El Cerrillo Piedras Blancas, 50200 Toluca, Estado de México, México.

<sup>3</sup> Natural Science Research Laboratory, Museum of Texas Tech University, Lubbock, Texas, EEUU.

### INTRODUCCIÓN

El género *Heilipus* Germar, 1824 (Coleoptera: Curculionidae: Molytinae: Molytini: Hylobiina) es un linaje tropical poco estudiado. Cuenta con 90 especies descritas, distribuidas desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina (Anzaldo y Díaz-Grisales, 2022). El género ha sido reconocido principalmente porque algunas de sus especies causan daños a las semillas y troncos del aguacate (*Persea americana* Mill.: Lauraceae) (Castañeda-Vildózola *et al.*, 2013). Su mayor diversidad se encuentra en América del Sur, donde se presentan 58 especies (Wibmer y O’Brien, 1986; Vanin y Gaiger, 2005; Rheinheimer, 2012, 2017; Vanin y Bená, 2015; Díaz-Grisales *et al.*, 2021; Sanz-Veiga *et al.*, 2024).

En Norte y Centro América se reportan 39 especies, de las cuales 13 ocurren en México (O’Brien y Wibmer, 1982). De estas 13 especies, se conocen ilustraciones y algunos datos de distribución geográfica gracias al monumental trabajo del entomólogo británico George C. Champion en la obra *Biologia Centrali-Americana* (Champion, 1902). Hasta el momento, los estudios sobre *Heilipus* realizados en México se han centrado en las especies que causan daños de importancia económica en cultivos de aguacate: *H. albopictus* (Champion), barrenador de troncos, y *H. lauri* Boheman, barrenador de la semilla (Castañeda-Vildózola *et al.*, 2013).

Recientemente se conocieron datos de plantas hospedantes utilizadas por *H. albomaculatus* (Champion), *H. draco* (Fabricius) y *H. guttiger* (Champion) en el estado de Veracruz (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2022). Más allá de esta información, la distribución geográfica y aspectos biológicos de las ocho especies restantes reportadas para el país permanecen prácticamente desconocidos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es contribuir al conocimiento de las especies de *Heilipus* con presencia en México, concretamente su distribución geográfica,

aspectos biológicos y fotografías de especies que hasta ahora sólo se conocían de ilustraciones originales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Revisión de material en colecciones.** Se revisaron 157 especímenes del género *Heilipus* recolectados en México y depositados en las siguientes colecciones científicas:

**CEAM** – Colección de Insectos del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México.

**CEBAJ-INIFAP** – Colección Nacional de Insectos, INIFAP, Centro de Investigación Regional Centro, Campo Experimental Bajío, Celaya, Guanajuato, México.

**CNIN** – Colección Nacional de Insectos - Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

**CNRF-DGSV** – Colección de Entomología y Acarología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Dirección General de Sanidad Vegetal, SENASICA, Tecámac, Estado de México, México.

**IEXA** – Colección Entomológica del Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Veracruz, México.

**MZFC** – Museo de Zoología Alfonso L. Herrera - Sección Coleoptera, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

**USNM** – Smithsonian National Museum of Natural History, Department of Entomology, Washington, D.C., Estados Unidos.

**Determinación taxonómica.** La identificación del material se llevó a cabo por comparación con descripciones e ilustraciones originales, así como con fotografías de ejemplares tipo.

**Distribución geográfica y plantas hospedantes.** Se determinaron con base en los datos de colecta del material examinado y la revisión de literatura. Los nombres botánicos utilizados corresponden al nombre aceptado en la página web World Flora Online (WFO, 2024) al momento del acceso. Sólo se consideraron plantas hospedantes aquellas que permiten el desarrollo de estados inmaduros de las especies de *Heilipus*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los datos de colecta del material examinado y la revisión de literatura, en México se presentan las siguientes especies del género *Heilipus*:

***Heilipus ahrensii* Boheman, 1843-80.** Esta especie sólo se conoce de México (O'Brien y Wibmer, 1982) y hasta el momento únicamente para el estado de Oaxaca (Champion, 1902). No se le conocen plantas hospedantes.

***Heilipus albomaculatus* (Champion, 1902-16).** Se distribuye en Belice, Guatemala y México (Champion, 1902; O'Brien y Wibmer, 1982; Morrone, 1999). En México, se ha encontrado en el estado de Veracruz asociado con semillas de *Damburneya ambigens* y *Damburneya gentlei* (Lauraceae) (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2022).

***Heilipus albopictus* (Champion, 1902-9).** Esta especie sólo se ha reportado en México (O'Brien y Wibmer, 1982), concretamente en los estados de Hidalgo (Morrone, 2003), Morelos (Champion, 1902; López-Martínez *et al.*, 2015), Nayarit (Soto-Hernández *et al.*, 2013) y Oaxaca (IEXA, 1 espécimen). *Heilipus albopictus* es conocido por barrenar troncos de *Persea americana* var. *drymifolia*, así como de los cultivares Hass y Fuerte (Castañeda-Vildózola *et al.*, 2010).

***Heilipus albovenosus* (Champion, 1902-10).** Sólo se conoce de México (O'Brien y Wibmer, 1982; Morrone, 1999). Hasta el momento, únicamente se ha reportado en los estados de Veracruz (CNIN, 9 especímenes; MZFC, 1 espécimen; USNM, 1 espécimen) y Tamaulipas (USNM, 4 especímenes). Los datos de colecta de un espécimen de *H. albovenosus* depositado en la colección del USNM indican que esta especie puede depredar semillas de *Damburneya coriacea* (Lauraceae).

***Heilipus cruciatus* Chevrolat, 1833-27 [= *Heilipus schoenherri* Boheman 1836-160].** Sólo se conoce de México (O'Brien y Wibmer, 1982), donde se ha registrado en los estados de Hidalgo (CNRF, 1 espécimen; MZFC, 1 espécimen), Oaxaca (MZFC, 1 espécimen) y Veracruz (Champion, 1902). No se le conocen plantas hospedantes.

***Heilipus draco* (Fabricius, 1801-461) [= *Heilipus rectirostris* (Champion, 1902-12)].** Se distribuye en México, Guatemala, El Salvador, Panamá, Cuba (O'Brien y Wibmer, 1982), Costa Rica (Janzen, 1987), Colombia (Díaz-Grisales *et al.*, 2021), Venezuela, Trinidad y Tobago (USNM, 10 especímenes), Guyana, Brasil, Perú, Bolivia y Paraguay (Wibmer y O'Brien, 1986). En México, sólo se ha registrado en el estado de Veracruz (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2022). *Heilipus draco* ha sido reportado como depredador de semillas de 11 especies diferentes de la familia Lauraceae: *Aiouea montana*, *Beilschmiedia towarensis*, *Cinnamomum verum*, *Mespilodaphne veraguensis*, *Nectandra angustifolia*, *N. cissiflora*, *N. lineata*, *Ocotea cernua*, *O. oblonga*, *O. porosa*, *O. puberula* (Janzen, 1987; Gripenberg *et al.*, 2019; Downey *et al.*, 2020;

Pessotto *et al.*, 2021; Sanz-Veiga *et al.*, 2024). En México, Rodríguez-Sánchez *et al.* (2022) obtuvieron adultos de *H. draco* a partir de semillas de *Damburneya salicifolia*, otra especie de la familia Lauraceae.

***Heilipus elegans* Guérin, 1844-148.** Esta especie se ha reportado en México, Guatemala, Costa Rica, Panamá (O'Brien y Wibmer, 1982), Colombia y Ecuador (Wibmer y O'Brien, 1986). La distribución en Jamaica citada por O'Brien y Wibmer (1982) corresponde a una identificación errónea de *H. mirus* (Pascoe). A pesar de que O'Brien y Wibmer (1982) listan esta especie para México, no se conoce en qué estados puede ocurrir, pues no se encontraron especímenes recolectados en México en las colecciones visitadas. Aunque *H. elegans* es conocido por barrenar troncos de aguacate en Colombia, en México no se le conocen plantas hospedantes.

***Heilipus fenestratus* (Champion, 1902-10).** Se distribuye en Guatemala (Champion, 1902) y México (O'Brien y Wibmer, 1982). Su distribución en México incluye los estados de Chiapas (MZFC, 1 espécimen) y Veracruz (USNM, 10 especímenes). No se le conocen plantas hospedantes.

***Heilipus furcatus* (Champion, 1902-13).** Esta especie sólo se conoce de México (O'Brien y Wibmer, 1982) y hasta el momento únicamente para el estado de Veracruz (Champion, 1902). No se conocen datos de distribución adicionales, pues la descripción original está basada en un único espécimen procedente de Veracruz y no se encontraron ejemplares en ninguna de las colecciones revisadas. No se le conocen plantas hospedantes.

***Heilipus guttiger* (Champion, 1902-20).** Se distribuye en México, Guatemala (O'Brien y Wibmer, 1982), Costa Rica (USNM, 2 especímenes) y Panamá (O'Brien y Wibmer, 1982). En México, *H. guttiger* se ha reportado en el estado de Veracruz en asociación con semillas de *Damburneya salicifolia* y *Nectandra turbacensis* (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2022). En Costa Rica, las semillas de *Damburneya salicina* también permiten el desarrollo larvario de esta especie de *Heilipus* (USNM, 1 espécimen).

***Heilipus hieroglyphicus* (Champion, 1902-11).** Se ha reportado en Guatemala y México (O'Brien y Wibmer, 1982). A pesar de que O'Brien y Wibmer (1982) listan esta especie para México, no se conocen datos de distribución en el país, pues no se encontraron ejemplares en ninguna de las colecciones revisadas y la descripción original está basada en un único espécimen recolectado en Guatemala por Champion (1902). No se le conocen plantas hospedantes.

***Heilipus lauri* Boheman, 1845-443.** Hasta el momento, se ha reportado en México (O'Brien y Wibmer, 1982) y Colombia (Morrone, 1999). Su distribución en México incluye los estados de Chiapas, Guerrero, Hidalgo, México, Morelos, Oaxaca, Puebla y Veracruz (Castañeda-Vildózola *et al.*, 2013; Vázquez *et al.*, 2017). En México, *H. lauri* se ha encontrado en semillas de aguacates criollos mexicanos (*P. americana* var. *drymifolia*) (Castañeda-Vildózola *et al.*, 2017), pahuas (*P. americana* var. *americana*) (Palacios-Torres *et al.*, 2016) y cultivares comerciales como Choquette, Colín V-33, Fuerte y Hass (Salgado y Bautista, 1993; Medina-Quiroz *et al.*, 2010). Adicionalmente, Castañeda-Vildózola *et al.* (2009) obtuvieron adultos de *H. lauri* a partir de semillas de *Persea schiedeana* Nees provenientes del municipio de Huatusco, Veracruz.

***Heilipus limbatus* (Champion, 1902-11).** Se distribuye en México, Honduras (O'Brien y Wibmer, 1982), Costa Rica (USNM, 1 espécimen) y Panamá (O'Brien y Wibmer, 1982). A pesar de que O'Brien y Wibmer (1982) listan esta especie para México, no se conocen datos de distribución en el país, pues no se encontraron especímenes recolectados en México en ninguna de las colecciones revisadas y la descripción original está basada en un único ejemplar procedente de Panamá (Champion, 1902). No se le conocen plantas hospedantes.

El género *Heilipus* cuenta con 90 especies descritas, de las cuales 13 ocurren en México. Estas 13 especies se distribuyen en los estados de Chiapas, Guerrero, Hidalgo, México, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas y Veracruz. En cuanto a aspectos biológicos, hasta el momento se conocen los hábitos y plantas hospedantes de siete de estas 13 especies, las cuales están asociadas con semillas y troncos de plantas de la familia Lauraceae.

Una estrecha asociación ecológica entre el género *Heilipus* y esta familia botánica ha sido previamente documentada (Díaz-Grisales *et al.*, 2021). Los datos de colecta del material examinado y los reportes de literatura, indican que en México la mayor riqueza de *Heilipus* se encuentra en los estados del sur del país, una región también conocida por presentar la mayor diversidad de la familia Lauraceae, particularmente en los estados de Chiapas (77 especies), Oaxaca (68 especies) y Veracruz (55 especies) (Lorea-Hernández, 2002).

Con ocho de 13 especies, Veracruz es el estado con el mayor número de especies de *Heilipus* registradas, seguido por Oaxaca e Hidalgo, cada uno con tres especies. Esta mayor diversidad en Veracruz es consecuente con el hecho de que este es uno de los estados más ricos en términos de Lauraceae en México. Sin embargo, llama la atención que estados como Chiapas

y Oaxaca, que son comparativamente más ricos en Lauraceae, resultarían bajos en diversidad de *Heilipus*. Es posible que la revisión de material adicional en colecciones entomológicas del sur del país resulte en un mayor número de especies de *Heilipus* para estos dos estados.

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías de México -CONAHACYT- por la beca otorgada para la realización de estudios de posgrado de la primera autora. A los integrantes del consejo particular por sus aportes para el desarrollo de esta investigación. A The Coleopterists Society por el apoyo económico para revisar material tipo del género *Heilipus* depositado en el Museo Británico de Historia Natural, Londres, Reino Unido. A The Smithsonian Institution por la beca otorgada a la primera autora para examinar el material de *Heilipus* depositado en el Museo Nacional de Historia Natural, Washington D.C., Estados Unidos.

### LITERATURA CITADA

- Anzaldo SS, Díaz-Grisales V. 2022. *Heilipus squamosus* (LeConte, 1824): clarification of the correct name for the “avocado tree girdler” with updates on its biology and distribution (Coleoptera, Curculionidae, Molytinae, Hylobiini). Biodiversity Data Journal 10: 1–11 e85499.
- Castañeda-Vildózola A, Del Ángel-Coronel OA, Cruz Castillo JG, Valdez-Carrasco J. 2009. *Persea schiedeana* (Lauraceae), nuevo hospedero de *Heilipus lauri* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) en Veracruz, México. Neotropical Entomology 38 (6): 871–872. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2009000600024>
- Castañeda-Vildózola A, Franco-Mora O, Equihua-Martínez A, Valdez-Carrasco J. 2010. New records of *Heilipus albopictus* Champion (Coleoptera: Curculionidae) infesting avocado trees in Mexico. Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle 11 (2): 11–14. <https://hdl.handle.net/10893/4076>
- Castañeda-Vildózola A, Equihua-Martínez A, Peña JE. 2013. Avocado weevils of the genus *Heilipus*. In Peña JE. (ed.), Potential Invasive Pests of Agricultural Crops. CAB International: London, UK, pp: 35–47.
- Castañeda-Vildózola A, Palacios-Torres RE, Sánchez-Pale JR, Franco-Mora O, Valdez-Carrasco J, Equihua-Martínez A. 2017. Sympatry of two species of *Heilipus* Germar, 1824 (Coleoptera:

- Curculionidae) infesting avocado (*Persea americana* Mill.) in central Mexico. The Coleopterists Bulletin 71 (2): 361–363. <https://doi.org/10.1649/0010-065X-71.2.361>
- Champion GC. 1902. Biología Centrali-Americana, Insecta, Coleoptera, Rhynchophora, Curculionidae, Curculioninae (part), Vol. IV, part 4. London, UK. 144 p. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/14609#page/21/mode/1up>
- Díaz-Grisales V, Equihua-Martínez A, Romero-Nápoles J, Valdez-Carrasco J, Vallejo-Espinosa LF. 2021. Nuevos registros de especies y un hospedero vegetal del género *Heilipus* Germar (Curculionidae: Molytinae: Hylobiini) para Colombia. Acta Zoológica Mexicana (nueva serie) 37: 1–12. <https://doi.org/10.21829/azm.2021.3712334>
- Downey H, Lewis OT, Bonsall MB, Ward A, Gripenberg S. 2020. Assessing the potential for indirect interactions between tropical tree species via shared insect seed predators. Biotropica 52 (3): 509–520. <https://doi.org/10.1111/btp.12759>
- Gripenberg S, Basset Y, Lewis OT, Terry JCD, Wright SJ, Simón I, Fernández DC, Cedeño-Sánchez M, Rivera M, Barrios H, Brown JW, Calderón O, Cognato AI, Kim J, Miller SE, Morse GE, Pinzón-Navarro S, Quicke DLJ, Robbins RK, Salmien JP, Vesterinen E. 2019. A highly resolved food web for insect seed predators in a species-rich tropical forest. Ecology letters 22 (10): 1638–1649. <https://doi.org/10.1111/ele.13359>
- Janzen DH. 1987. Insect diversity of a Costa Rican dry forest: why keep it, and how? Biological Journal of the Linnean Society 30 (4): 343–356. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1987.tb00307.x>
- López-Martínez, V., Toledo-Hernández, V. H., & Corona-López, A. M. 2015. *Heilipus albopictus* (Champion) (Coleoptera: Curculionidae) en San Andrés de la Cal, Morelos: cerca de la zona aguacatera. Acta Agrícola y Pecuaria 3 (1): 107–108. <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/1342>
- Lorea-Hernández FG. 2002. La familia Lauraceae en el sur de México: diversidad, distribución y estado de conservación. Boletín de la Sociedad Botánica de México 71: 59–70.
- Medina-Quiroz F, López-Martínez V, Alia-Tejacal I, García-Ramírez MJ, Guillén-Sánchez D, Andrade-Rodríguez M, Villegas-Torres OG, Acosta-Durán CM. 2010. Barrenador grande del hueso del aguacate (*Heilipus lauri* Boheman) en Tepoztlán, Morelos. Investigación Agropecuaria 7 (1): 67–75.

- Morrone JJ. 1999. Lista de las especies mexicanas de Molytinae (Coleoptera: Curculionidae). *Dugesiana* 6 (2): 51–67. <https://doi.org/10.32870/dugesiana.v6i2.3911>
- Morrone JJ. 2003. *Heilipus albopictus* (Champion, 1902) Coleoptera: Curculionidae: Molytinae: Molytini. *Dugesiana* 10 (1): 35–36.
- O'Brien CW, Wibmer GJ. 1982. Annotated checklist of the weevils (Curculionidae sensu lato) of North America, Central America, and the West Indies (Coleoptera: Curculionidae), *Memoirs of the American Entomological Institute* 34. The American Entomological Institute: Tallahassee, FL, USA. 382 p.
- Palacios-Torres RE, Castañeda-Vildózola A, Sánchez-Pale JR, Franco-Mora O, Vargas-Rojas L. 2016. Interaction of two avocado fruit insects in the same agroecological area in Mexico. *Pan-Pacific Entomologist* 92 (2): 100–103. <https://doi.org/10.3956/2016-92.2.100>
- Pessotto MDF, Corrêa E, Carpenedo S, Machado M, Schoeninger K, Santos IAH, Alves M, Boscardin J. 2021. Occurrence of *Heilipus draco* (Coleoptera: Curculionidae) in seeds of *Ocotea puberula* (Lauraceae) and its influence on germination. *Revista Brasileira de Entomologia* 65 (2): 1–7. <https://doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2021-0008>
- Rheinheimer J. 2012. Nouveaux Hylobiini et un nouveau *Pterocolus* de Guyane (Coleoptera, Curculionidae). In Touroult J. (ed.), *Contribution à l'étude des coléoptères de Guyane*, Tome VI – Supplément au Bulletin de liaison d'ACOREP-France "Le Coléoptériste". ACOREP: Paris, Francia, pp: 27–32.
- Rheinheimer J. 2017. Neue Arten der Tribus Hylobiini und Cryptorhynchini aus Französisch Guayana. *Koleopterologische Rundschau* 87: 297–324. [https://www.zobodat.at/pdf/KOR\\_87\\_2017\\_0297-0324.pdf](https://www.zobodat.at/pdf/KOR_87_2017_0297-0324.pdf)
- Rodríguez-Sánchez E, Giraldo-Kalil LJ, Núñez-Farfán J. 2022. Diversity of insects associated with the fruits of four tree species of Lauraceae from Los Tuxtlas region, Mexico: an annotated and illustrated taxonomic list. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 93: e934178. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2022.93.4178>
- Salgado ML, Bautista N. 1993. El barrenador grande del hueso del aguacate (*Heilipus lauri* Boheman) en Ixtapan de la Sal, México. In Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S.C. (ed.), *Memoria 1993*. Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S.C.: Coatepec Harinas, Estado de México, México, pp: 225–229.

- Sanz-Veiga P, Leivas FWT, Díaz-Grisales V, Anzaldo S, Rosado-Neto GH, Lampert S, Maggio DH, Corrêa AS, Savaris M. 2024. Sympatric species of *Heilipus* Germar (Coleoptera: Curculionidae: Hylobiini) on fruits of Lauraceae: a new species from Brazil and redescription of *Heilipus draco* (Fabricius, 1801). *Zootaxa* 5463 (1): 063–083. <https://mapress.com/zt/article/view/zootaxa.5463.1.4>
- Soto-Hernández M, García-Martínez O, Carbajal-Cazola C. 2013. Fauna de Curculionidae (Coleoptera) en huertas de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) en Xalisco, Nayarit. *Dugesiana* 20(2): 93–98. <https://doi.org/10.32870/dugesiana.v20i2.4847>
- Vanin SA, Gaiger F. 2005. A new spermophagous species of *Heilipus* Germar from the Amazonian Region (Coleoptera, Curculionidae, Molytinae). *Revista Brasileira de Entomologia* 49 (2): 240–244. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262005000200007>
- Vanin SA, Bená DC. 2015. A new species of *Heilipus* Germar (Coleoptera: Curculionidae: Molytinae) associated with commercial species of Annonaceae in Brazil, and comments on other species of the genus causing damage to avocado trees in Brazil. *Zootaxa* 3905 (4): 541–556. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3905.4.7>
- Vázquez MA, Cruz-López L, Chamé-Vázquez ER. 2017. First report of *Heilipus lauri* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) in Unión Juárez, Chiapas, Mexico. *The Coleopterists Bulletin* 71 (4): 704–706. <https://doi.org/10.1649/0010-065X-71.4.704>
- Wibmer GJ, O'Brien CW. 1986. Annotated checklist of the weevils (Curculionidae sensu lato) of South America (Coleoptera: Curculionoidea), *Memoirs of the American Entomological Institute* 39. The American Entomological Institute: Tallahassee, FL, USA. 563 p.
- World Flora Online WFO. 2024. An online flora of all known plants. <https://www.worldfloraonline.org/> (Recuperado: junio 2024)

# CULTIVOS INDUSTRIALES

## DIVERSIDAD DE HONGOS ENDÓFITOS CULTIVABLES EN PLANTAS CULTIVADAS Y SILVESTRES DE VAINILLA (*Vanilla planifolia*), EN RELACIÓN A LA MARCHITEZ CAUSADA POR *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*

Héctor González-Reyes<sup>1</sup>, María del Pilar Rodríguez-Guzmán<sup>1\*</sup>, Ignacio Cid del Prado-Vera<sup>1</sup>, José Antonio Mora-Aguilera<sup>1</sup> y Frédérique Reverchon<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fitopatología, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, km 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo México, CP 56230, México.

<sup>2</sup>Red de Diversidad Biológica del Occidente Mexicano. Instituto de Ecología, A.C. Centro Regional del Bajío - Pátzcuaro, Michoacán.

\*autor de correspondencia: [gonzalez.hector@colpos.mx](mailto:gonzalez.hector@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

La vainilla pertenece a la familia Orchideaceae con más de 110 especies, 15 se han ubicado en México (Soto y Dressler, 2010). De manera comercial se produce *Vanilla planifolia* para la obtención de extracto natural y otros productos (Azofeifa-Bolaños *et al.*, 2014). Los principales factores bióticos que afectan el crecimiento, desarrollo de las plantas y la producción, son las enfermedades causadas por microorganismos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae*, que causa la pudrición de raíces y tallos o enfermedad conocida como marchitez (Kouyyappurath, 2016). Esta enfermedad se encuentra presente durante todo el ciclo del cultivo, sin embargo, los mayores daños los presenta durante la etapa de desarrollo de frutos, con una severidad del sistema radical de hasta un 65.1%, favorecida por las condiciones de humedad; se considera que es una enfermedad endémica con ciclos epidémicos (González *et al.*, 2020). Además de los fitopatógenos, las plantas de vainilla están conformadas por un microbioma que incluye hongos endófitos (Khoiratty *et al.*, 2015), los cuales son un grupo de hongos que viven dentro del tejido de las plantas durante todo o cierto periodo de su ciclo de vida y no causan síntomas visibles de daño (Gupta *et al.*, 2020). Se ha reportado que varias especies de endófitos pueden desempeñar funciones como producción de metabolitos, mejoramiento la aptitud física y adaptación de las plantas; resistencia y tolerancia a enfermedades y factores abióticos como el caso de las micorrizas (Khoiratty *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2009). Por tal razón, el objetivo de esta investigación es conocer la diversidad de hongos endófitos presentes en las raíces de las plantas y de hongos en la rizósfera, en relación a su riqueza y abundancia y con la fenología de plantas de vainilla cultivadas y silvestres y con la dinámica de la enfermedad marchitez de la vainilla, así como seleccionar y evaluar por la función que realizan, algunos de estos

microorganismos endófitos como posible alternativa para el manejo integrado del cultivo y la reducción del daño causado por la marchitez.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de estudio y muestreo.** Se seleccionó una plantación comercial de vainilla (*Vanilla planifolia*), bajo un sistema de manejo en casa sombra, en Papantla, Veracruz, en la ubicación 20°21'28" N, 97°11'03" W. También se seleccionó una población de vainilla silvestre (*Vanilla* sp) en Pluma Hidalgo, Oaxaca (15° 56' 59.9" N, 96° 21' 35.9" W). En cada sistema se seleccionaron y marcaron 30 plantas de las cuales se tomaron muestras de raíces (asintomáticas y sintomáticas) y suelo de rizósfera, durante el periodo enero 2023 a mayo de 2024. Se consideraron las variables climatológicas.

**Aislamiento de hongos endófitos de raíces y hongos totales de la rizósfera.** En cada uno de los muestreos, se colectaron raíces con suelo rizosférico y se transportaron al laboratorio de Ecología y Epidemiología de Patosistemas de la Raíz, del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, para su procesado inmediato. Se desinfectaron y cortaron fragmentos de raíces (Gamboa y Otero, 2016 con modificaciones) y se sembraron 10 trocitos por muestra en los medios de cultivo: Papa-Dextrosa-Agar (BD BIOXON®), Extracto de Malta (Difco™) y medio Kerr. Los hongos del suelo de rizósfera se cuantificaron mediante la técnica de dilución en placa, distribuyendo una alícuota de 100 µL  $1 \times 10^{-3}$  en PDA en medio Kerr. Las cajas se incubaron en condiciones de oscuridad a 25 °C durante tres a 12 días, transcurrido ese tiempo se hizo el conteo de colonias (UFC), aislamiento y purificación por crecimiento monoconidial o monohifal (González *et al.*, 2020).

**Función: Solubilización de fosfatos.** Para las pruebas *in vitro*, se seleccionaron 20 morfotipos de hongos endófitos de cada población de vainilla con base en su frecuencia de aislamiento. Se colocaron discos de medio PDA con crecimiento micelial de cada hongo, en cajas con el medio específico de Pikovskaya. Se incubaron a 25 °C durante tres a siete días, después se observó la presencia de halos claros alrededor de cada disco con los aislamientos inoculados, y se midió su diámetro (mm) (Turbat *et al.*, 2020).

**Función: Producción de sideróforos.** La detección de sideróforos se llevó a cabo mediante la metodología propuesta por Schwyn y Nieland (1987). Los endófitos se cultivaron previamente en PDA durante siete días. Después se pasaron tres discos (~0.5 cm) con crecimiento del hongo a

placas con medio Agar Blue Chrome Azurol (CAS). Las placas se incubaron a 25 °C durante siete días. La producción de sideróforos se determinó por el cambio de color azul a amarillo o naranja, se midió el diámetro del halo formado alrededor de las colonias (Turbat *et al.*, 2020).

**Evaluación de la enfermedad.** Se cuantificó la densidad de inóculo (propágulos  $\cdot g^{-1}$  suelo de *Fusarium spp*) en suelo de rizósfera de raíces sintomáticas, mediante dilución en placa sembrando 100  $\mu L$   $1 \times 10^{-3}$  en medio de cultivo Kerr. La incidencia se evaluó sembrando trocitos de raíces sintomáticas previamente desinfestadas, en medio de cultivo semiselectivo Kerr. Las cajas se incubaron a 27 °C durante tres a siete días y posteriormente se cuantificaron las colonias.

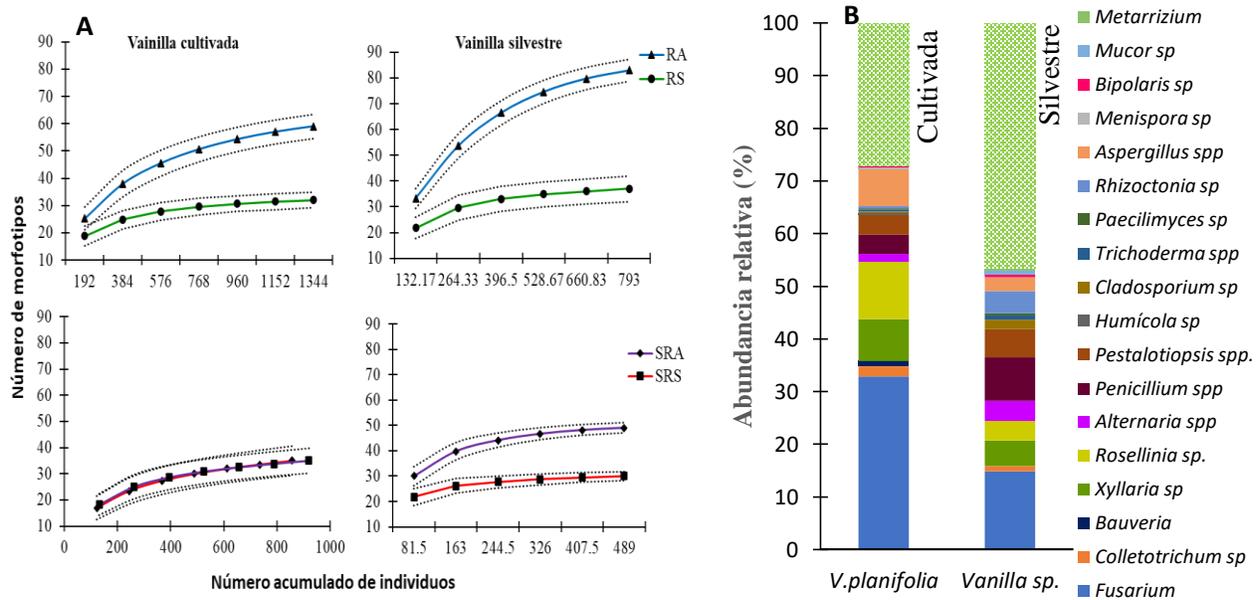
**Análisis de diversidad.** Se utilizó el software StimatS 9.1v para analizar la riqueza (*S*) general en cada uno de los nichos de aislamiento, se elaboraron curvas de rarefacción individuales para comparar la riqueza usando intervalos de confianza al 95%. Las diferencias estadísticamente significativas se determinaron mediante intervalos de confianza no superpuestos (Chaves y Bicca, 2016). La diversidad fúngica endófito y rizosférico, se analizó mediante el índice de diversidad de Shannon (*H'*) en las diferentes etapas evaluadas (Han *et al.*, 2021).

**Análisis estadístico.** Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) completamente al azar y la prueba de separación de medias de Tukey, para determinar diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la evaluación de hongos solubilizadores de fosfatos y productores de sideróforos. El progreso de la densidad de inóculo e incidencia se ajustaron a modelos de crecimiento, la severidad de la enfermedad se estimó con el área bajo la curva y se determinaron diferencias significativas mediante la prueba de *t-Student*, utilizando el software SAS® 9v.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Riqueza y abundancia relativa.** Se han aislado 151 morfotipos de hongos endófitos en total, de raíces asintomáticas. En vainilla silvestre la mayor riqueza de hongos endófitos se observó en raíces asintomáticas ( $S=88$ ) comparada con la riqueza de hongos totales aislados de raíces sintomáticas. En el caso de vainilla cultivada (*Vanilla planifolia*), la riqueza de hongos endófitos fue mayor ( $S=63$ ) en raíces asintomáticas, comparada con raíces sintomáticas ( $S=37$ ). En suelo de rizósfera, la mayor riqueza se observó en raíces asintomáticas en ambas poblaciones de vainilla, siendo significativamente diferentes (Fig. 1A). Los hongos más abundantes en ambas poblaciones de vainilla correspondieron a los órdenes Hypocreales y Xylariales, con 20.2% y 18.1% en vainilla silvestre y con 32.9% y 22.7% en vainilla cultivada respectivamente. Se han

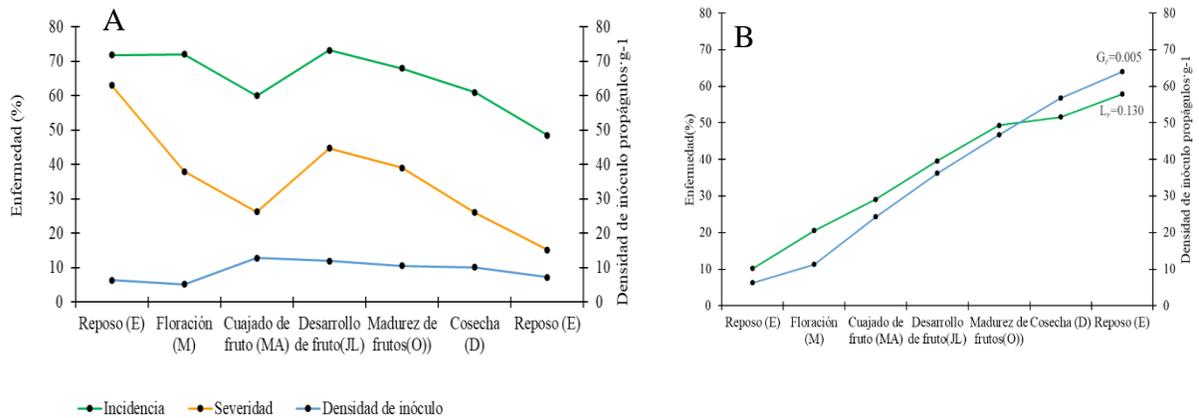
identificado 18 géneros comunes en ambas poblaciones de plantas, donde la mayor abundancia relativa está representada por *Fusarium* spp (Fig. 1B).



**Figura 1. Riqueza y abundancia relativa de hongos endófitos y hongos del suelo de rizósfera en dos poblaciones de vainilla.** A) Curvas de rarefacción basadas en el número de morfotipos de hongos aislados (las líneas discontinuas indican intervalos de confianza al 95%), RA=raíces asintomáticas, RS=raíces sintomáticas, SRA=rizósfera de RA, SRS= rizósfera de RS; B) Abundancia relativa de 18 géneros identificados morfológicamente en cada una de las poblaciones de vainilla.

**Dinámica de la diversidad de endófitos y de la enfermedad.** Con base en el índice de Diversidad de Shannon, se encontró que la población de endófitos en vainilla silvestre es la más diversa ( $H'=3.9$ ) en comparación con vainilla cultivada ( $H'=3.2$ ) (Cuadro1). Los índices más altos se encontraron durante el periodo julio-octubre para ambas especies, y en caso de vainilla cultivada corresponde a las etapas fenológicas de desarrollo y madurez de frutos. Etapa fenológica en la que se observó un incremento en la incidencia y severidad de la enfermedad y disminuyó de manera gradual desde la madurez de frutos hasta el inicio del siguiente ciclo (fig. 2A). En vainilla cultivada la densidad de inóculo y la incidencia se ajustaron a modelos de crecimiento Gompertz y Logístico respectivamente, mientras que, en vainilla silvestre al modelo Monomolecular (Cuadro 1). El área bajo la curva de la severidad de la enfermedad marchitez fue estadísticamente diferente, con un valor mayor en vainilla cultivada (Cuadro1).

**Función: Solubilización de fosfatos.** De los 20 morfotipos evaluados, solo uno (*Penicillium* sp.) resultó positivo a la prueba. Se formó el halo característico de solubilización de fosfatos alrededor de la colonia en crecimiento, lo cual indica que el fósforo se vuelve asimilable para las plantas.



**Figura 2. Dinámica de la enfermedad en diferentes etapas fenológicas:** A) fluctuaciones del patógeno y la enfermedad, B) densidad de inóculo e incidencia acumulados en vainilla cultivada. Las letras entre paréntesis en cada etapa fenológica indican el mes de muestreo.

**Cuadro 1.** Diversidad de hongos endófitos relacionada a la enfermedad marchitez, en poblaciones de vainilla cultivada y silvestre.

			Modelo de ajuste		ABCPE	<i>t</i> -Student <i>P</i> -valor < alfa (0.05)
	<i>S</i>	índice de Shannon (H')	Densidad de inóculo	Incidencia	Severidad	Severidad
Vainilla cultivada	63 (59)	3.2	$G_r=0.005$	$L_r=0.130$	325.13	0.002*
Vainilla silvestre	88 (83)	3.9	$M_r=0.034$	$M_r=0.024$	127	

*S*= riqueza observada y estimada (entre paréntesis), *G*= modelo de crecimiento Gompertz, *L*= modelo Logístico, *M*= modelo Monómoleculer, *r*= tasa de crecimiento (% por mes).

\*El ABCPE de la severidad fue estadísticamente diferentes entre cada población de vainilla

**Producción de sideróforos.** En ambas poblaciones de vainilla, algunos morfotipos formaron el halo a las 24 y 72 horas. En *V. planifolia* solo tres morfotipos, el VC37 (*Bauveria* sp.), VC32 y VC50 (*Trichoderma* sp) resultaron positivos a la producción de sideróforos, siendo VC37 el más eficiente (d= 27.9 mm). En silvestre 15 morfotipos produjeron sideróforos de manera significativa, siendo VS63 el más eficiente (d= 42.5 mm).

## AGRADECIMIENTOS

Al Conahcyt por la beca otorgada para mis estudios de postgrado y al Colegio de Postgraduados por las facilidades otorgadas para mi formación, a mi consejo particular de investigación y a los productores de vainilla de Papantla Veracruz y Pluma Hidalgo, Oaxaca.

## LITERATURA CITADA

- Azofeifa-Bolaños J, Paniagua-Vázquez A y García-García JA. 2014. Importancia y desafíos de la conservación de la *Vanilla* spp. (Orquidaceae) en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 25 (1):189-202.
- Chaves ÓM y Bicca-Marques JC. 2016. Feeding Strategies of Brown Howler Monkeys in Response to Variations in Food Availability. *PLoS ONE* 11(2): e0145819. doi:10.1371/journal.pone.0145819
- Gamboa GMA y Otero OJT. 2016. Colombian *Vanilla* and ITS microbiota. III. Diversity and structure of endophytic community. *Acta Botánica Hungárica* 58(3-4): 241-256.
- González RH, Rodríguez GMP, Yáñez MMJ y Escalante EJAS. 2020. Dinámica temporal de la marchitez de la vainilla (*Vanilla planifolia*) asociada a *Fusarium* spp., en tres sistemas de producción en Papantla, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 23 (19).
- Gupta S, Chaturvedi P, Kulkarni MG, Van Staden J. 2020. A critical review on exploiting the pharmaceutical potential of plant endophytic fungi. *Biotechnol.* doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.107462.
- Han L, Shi J, He C and He X. Temporal and Spatial Dynamics of Dark Septate Endophytes in the Roots of *Lycium ruthenicum* in the Desert Region of Northwest China. 2021. *Agronomy*, 11: 648. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040648>.
- Khoyratty S, Dupont J, Lacoste S, Lacoste S, Palama TL, Hae CY, Kyong KH, Payet B, Grisoni M, Fouillaud M, Verpoorte R and Kodja H. 2015. Fungal endophytes of *Vanilla planifolia* across Réunion Island: isolation, distribution and biotransformation. *BMC Plant Biol* 15:142. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0522-5>.
- Koyyappurath, S, Atuahiva T, Le R, Batina H, Le-Squin S, Gautheron N, Edel HV, Peribe J, Jahiel M, Steinberg C, Liew EY, Alabouvette C, Besse P, Dron M, Sache I, Laval V and Grisoni M. 2016. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* is the causal agent of root and stem rot of *Vanilla*. *Plant Pathology* 65: 612–625.

- Rodriguez RJ, White JF Jr, Arnold AE, Redman RS. 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol.* 182(2):314-330. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x.
- Schwyn B and Neilands JB. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem.* 1987 Jan;160(1):47-56. doi: 10.1016/0003-2697(87)90612-9. PMID: 2952030.
- Soto MA y Dressle, RL. 2010. A revision of the Mexican and Central American species of *Vanilla plumier* ex Miller with a characterization of their ITS region of the nuclear ribosomal DNA. *Lankesteriana International Journal on Orchidology* (9):285-354.
- Turbat A, Rakk D, Vigneshwari A, Kocsubé S, Thu H, Szepesi Á, Bakacsy LD, Škrbić B, Jigjiddorj EA, Vágvölgyi C and Szekeres A. 2020-. Characterization of the Plant Growth-Promoting Activities of Endophytic Fungi Isolated from *Sophora flavescens*. *Microorganisms.* 7;8(5):683. doi: 10.3390/microorganisms8050683.

## ANÁLISIS EXPLORATORIO DEL EFECTO DE TEXTURA, pH, COMPACTACIÓN, MATERIA ORGÁNICA Y POBLACIÓN DE HONGOS DEL SUELO EN LA SUPRESIVIDAD DE *Fusarium* spp. EN *Agave tequilana*

Alfonso Muñoz-Alcalá<sup>1</sup>, Gustavo Mora-Aguilera<sup>1\*</sup>, Antonio Mora-Aguilera<sup>1</sup>, Ramón Rubio-Cortés<sup>2</sup>, Gerardo Acevedo-Sánchez<sup>1</sup> <sup>1</sup>Postgrado en Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México. <sup>2</sup>Departamento de Investigación Casa Sauza, Calle Luis Navarro 70, Colonia Centro, CP 46400, Tequila, Jalisco, México. \*Autor para correspondencia: morag@colpos.mx

### INTRODUCCIÓN

Las relaciones intrínsecas multivariadas que influyen en la salud de un suelo representan un reto metodológico y analítico debido a las complejas interacciones entre variables asociadas a factores fisicoquímicos y biológicos, los cuales son determinantes en la condición productiva de un suelo agrícola (Orr y Nelson, 2018). Consecuentemente, para comprender la salud de un suelo en la producción de *Agave tequilana* es importante realizar evaluaciones integrales que consideren dichas interacciones, a través de la medición de textura, pH, materia orgánica y riqueza biológica, entre otras variables, respecto a organismos infecciosos cuya densidad poblacional y parasitismo está fuertemente condicionado por el estrés de las plantas cultivadas (Mendoza-Ramos *et al.*, 2021; López-Bautista *et al.*, 2020). Esta investigación tuvo por hipótesis que la interacción entre suelos de texturas fina, con bajos contenidos de materia orgánica, con pH neutros a ácidos (<6.5) y altos niveles de compactación, se asociaran a condiciones inductivas mediante efectos directos y combinatorios en el suelo-rizosfera respecto al potencial infectivo de complejos de especies *Fusarium* asociados a rizosfera y raíz. Teniendo como objetivo seleccionar variables asociadas a determinantes de la *salud de suelo* mediante un enfoque analítico exploratorio consistente en el empleo de métodos descriptivos e inferenciales que permitan establecer hipótesis de validación estadística y/o biológica para la comprensión sistémica de la *salud de suelos* de Jalisco dedicados a la producción de *A. tequilana*.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de estudio.** La colecta se realizó en 86 plantaciones comerciales durante dos eventos: pre-lluvias (junio-julio de 2016) y post-lluvias (enero de 2017). Las plantaciones se seleccionaron por criterios de inductividad epidémica mediante la metodología REG-N (Acevedo-Sánchez *et al.*, 2017; Coria-Contreras *et al.*, 2019). Adicionalmente, se consideró la condición fitosanitaria predominante de plantación: marchitez (M), pudrición seca de cogollo (P), aparentemente sano

(AS) y suelos improproductivos (IP) respecto al agave debido a la marchitez (Coria-Contreras *et al.*, 2019; Acevedo-Sánchez *et al.*, 2017).

**Muestreo de suelo – rizosfera.** Se tomaron muestras compuestas de 500 g de suelo-rizosfera, integrada por cinco submuestras (dos foco y tres perifoco). Cada submuestra se tomó con una pala cilíndrica metálica diseñada para estandarizar el volumen de colecta a 10 cm del cuello de planta y 35 cm de profundidad. Para AS, se aplicó misma metodología en una sección interna de plantación en torno a plantas aparentemente sanas. En IP, la muestra compuesta consistió únicamente de suelo colectado en el tercio medio del predio. (López-Bautista *et al.*, 2020).

**Análisis de laboratorio.** Cada muestra compuesta se dividió en submuestra de 250 g, para análisis microbiológico (Unidades formadoras de colonias de hongos totales y *Fusarium*) y fisicoquímico (textura, pH, MO, entre otros). Estos últimos se realizaron en el laboratorio de fertilidad de suelos del Colegio de Postgraduados (COLPOS), Campus Montecillo.

**Análisis estadístico.** En SAS v9.4 y MS Excel 2016 se obtuvieron estadísticos descriptivos, para análisis de comportamiento y tendencias de asociatividad univariada respecto a la salud de suelo en su inductividad a SMAP. En SAS v9.4 y RStudio 2023.06.2, se realizaron análisis de correlación de Pearson ( $r$ ) para determinar intensidad de asociación bivariada. En RStudio y MS Excel 2020 se visualizaron correlaciones con la librería Corrplot y gráficos de dispersión, respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Comportamiento regional y variación de características fisicoquímicas, biológicas y SMAP en suelos de la DOT.** Se analizó una matriz epidemiológica integrada de 32 variables y 172 observaciones para un total de 5536 metadatos. Del total de variables, ocho fueron de identificación y caracterización de las plantaciones, 15 variables originales y nueve de interpolación geoestadística e índices. En el componente de atributos físicos, la compactación tuvo un decremento significativo para *pre* temporal de lluvias y *post* lluvias, pasando de 165.1 ( $\pm 102.7$ ) y 218.9 ( $\pm 120.8$ ) en 15 cm de la rizosfera, a 112.2 ( $\pm 110.6$ ) y 133.1 ( $\pm 124.9$ ) en 30 cm, respectivamente. En características de textura, Arena, Limo y Arcilla fueron estables en ambos eventos (26.5-30.4, 22.7-23.9 y 46.8-49.7, respectivamente), sugiriendo que la humedad no modifica la composición textural del suelo-rizosfera. El pH y MO tampoco cambiaron su

composición entre eventos a nivel regional, manteniéndose estable entre 6.37-6.38 ( $\pm 1.13-1.23$ ) y 2.3-2.38 ( $\pm 0.88-0.98$ ), respectivamente.

A nivel regional, el efecto *pre* temporal o *post* lluvia tuvo un comportamiento generalizado en las tres regiones de la DOT. No obstante, suelos agaveros de Los Altos tuvieron un incremento de  $< 30$  UFC *Fusarium* a más de 110 en *post* lluvias, inclusive suelos con mayor UFC en *pre* temporal (30.1 – 110 UFC) mantuvieron o aumentaron. Por otro lado, el incremento de *Fusarium* spp. no fue relacionado directamente con reducción en la diversidad biológica, ya que estas zonas incrementaron UFC hongos ( $> 89.1$  UFC). Sin embargo, la compactación de suelo se mantuvo entre 100 – 300 kPa (moderada – alta) en estas subregiones para ambos eventos. La expresión de síntomas del SMAP con severidad de plantas mayor a 40% se asoció regionalmente con UFC *Fusarium* mayor a 50.1 y compactación mayor a 100 kPa. Por el contrario, notablemente los suelos sin incremento de UFC *Fusarium* ( $< 30$  UFC) y severidad menor al 20% tuvieron baja diversidad biológica (UFC hongos  $< 25$ ) y baja compactación ( $< 100$  kPa) en *post* lluvia.

**Análisis de asociatividad mediante coeficiente de Pearson.** El análisis sin considerar factor lluvia, mostró correlaciones directamente proporcionales entre variables del Síndrome de Marchitez y Pudrición del Agave (SMAP) y biológicas UFC *Fusarium* e *IF*, con rangos de 0.37 – 0.89 ( $p < 0.01$ ). Por el contrario, Arena y pH, tuvieron correlación inversa con SMAP ( $r = -0.13$  a  $-0.35$ ,  $p < 0.05$ ). La asociatividad negativa más alta fue entre componentes texturales de suelo Arena y Arcilla ( $r = -0.86$ ,  $p < 0.01$ ), y positiva entre severidad máxima y promedio de plantas enfermas ( $r = 0.89$ ,  $p < 0.01$ ).

El análisis de clustering entre variables y plantaciones, usando agrupación por correlación de Pearson mostró consistencia en la conformación de variables indicadoras de salud de suelos agaveros de la DOT en *pre* temporal y *post* lluvias principalmente arena, pH y daño. Las variables biológicas mostraron incremento en las poblaciones de *Fusarium* en asociación con compactación. En periodos de estrés hídrico, la agrupación de correlaciones sugirió que la salud de suelo puede estar asociada con moderado contenido de arena y arcilla, pH neutro-alcalino, y baja compactación. Por el contrario, en periodos *post* lluvias las combinaciones de variables para comprender salud de suelo fueron más complejas. No obstante, destacó el bajo contenido de arcilla, moderado de arena y limo, pH neutro-alcalino, y baja compactación.

## CONCLUSIONES

Los análisis descriptivos e inferenciales demostraron viabilidad adecuada para identificar variables significativas con potencial explicativo de la salud de suelos agaveros en la Denominación de Origen del Tequila (DOT). Sin embargo, estas fueron marginales ( $p < 0.05$ ) por lo que se demuestra la explicación parcial de enfoques univariados para comprender la supresividad/inductividad del suelo debido a la alta heterogeneidad y variabilidad agroecológica asociada al comportamiento de variables de daño como incidencia o severidad de SMAP. En general, la combinación de humedad con bajo-moderado contenido de arena y arcilla, pH neutro-alcalino, y baja compactación fueron variables asociadas con salud de suelo y potencialmente supresivas a *Fusarium* spp. en predios agaveros de la DOT.

## AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCyT por la beca de posgrado otorgada. Al SENASICA por los fondos para ejecución del muestreo en campo. Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo por las facilidades proporcionadas para la realización de la investigación. Al Dr. Gustavo Mora, al Dr. Antonio y M. en C. Ramón Rubio por su paciencia y apoyo en esta investigación, al equipo de LANREF-CP por el procesamiento biológico de las muestras.

## LITERATURA CITADA

Acevedo-Sánchez, G., Santana-Peñaloza, B., López-Bautista, V., Martínez-Bustamante, V., Coria-Contreras, J., Mendoza-Ramos, C., Jiménez-González, L., y Mora-Aguilera, G. 2017. Criterios epidemiológicos para implementar una red de monitoreo de enfermedades causadas por *Fusarium* spp. en regiones agaveras de Jalisco. Revista Mexicana de Fitopatología 35: 176-177. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento352017.html>

- Coria-Contreras, J. J., Mora-Aguilera, G., Yañez-Morales, M. D. J., Acevedo-Sánchez, G., Santana-Peñaloza, B., Mendoza-Ramos, C., Jiménez-González, L., Martínez-Bustamante, V. I., García-Martínez, D. C., y Rubio-Cortés, R. 2018. Epidemiología regional aplicada a la caracterización inductiva y pronóstico de la mancha gris del agave azul (*Cercospora agavicola*) en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37(1): 71-94. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1809-4>
- Cruz-Castiblanco, G., Pérez-Caro, W., Martínez-Lemus, E., Sandoval-Cáceres, Y., Wilches-Ortiz, W., y Villa-Triana, A. 2022. Modelo de estimación para relacionar factores de suelo asociados con la presencia y ausencia de *Fusarium oxysporum* Schltdl en el cultivo de uchuva *Physalis peruviana* L. *Revista Científica Dékamu Agropec.*3(2): 14-25. <https://doi.org/10.55996/dekamuagropec.v3i2.95>
- Gordon, TR.; Stueven, M.; Pastrana, AM.; Enrique, PM.; Dennehy, CM.; Kirkpatrick, CS.; Daugovish, O. 2019. El efecto del pH sobre la germinación de esporas, el crecimiento y la infección de raíces de fresa por *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*, causante del marchitamiento por *Fusarium* de la fresa. *Planta Dis.*103: 691-696.
- Jiménez-González, LR., Mendoza-Ramos, C., Santana-Peñaloza, B., Coria-Contreras, JJ., Delgado-Mora, F., Acevedo-Sánchez, G., Guzmán-Hernández, E. y Mora-Aguilera, G. 2017. Escala logarítmica diagramática de severidad para medición de pudrición seca del cogollo, marchitez y mancha gris del agave azul. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 177. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento352017.html>
- López-Bautista, V., Mora-Aguilera, G., Gutiérrez-Espinosa, M. A., Mendoza-Ramos, C., Martínez-Bustamante, V. I., Coria-Contreras, J. J., Acevedo-Sánchez, G., and Santana-Peñaloza, B. 2019. Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated to the regional occurrence of wilt and dry bud rot in Agave tequilana. *Revista mexicana de fitopatología* 38(1): 79-106. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1911-4>
- Mendoza-Ramos, C., Mora-Aguilera, G., Coria-Contreras, JJ., Santana-Peñaloza, B., Acevedo-Sánchez, G., Martínez-Bustamante, V., Gutiérrez-Espinosa, MA., y Rubio-Cortés, R. 2021. *Fusarium* spp. y estimación de carga de inóculo asociados a hijuelos de *Agave tequilana* en diferentes niveles de inductividad epidémica regional. *Revista Mexicana de Fitopatología* 39(1): 94-121. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2006-8>

Vega-Ramos KL, Uvalle-Bueno JX, GómezLeyva JF. 2013. Molecular variability among isolates of *Fusarium oxysporum* associated with root rot disease of Agave tequilana. Biochemical Genetics 51: 243-255.

## EFECTO DE LA COMPOSTA SOBRE LA GERMINACIÓN DE *Agave angustifolia* (ASPARAGALES, ASPARAGACEAE).

Sergio Hernández Pablo<sup>1\*</sup>, Dionicio Alvarado Rosales<sup>1</sup>, Luz De Lourdes Saavedra Romero<sup>1</sup>, María Del Pilar Rodríguez Guzmán<sup>1</sup>, Víctor Manuel Zúñiga Mayo<sup>1</sup>, José Abel López Buenfil<sup>1</sup> y Andrés Quezada Salinas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Km. 36.5, Carr. México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. C.P. 56264.

<sup>2</sup> Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF)-Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Carretera Federal México-Pachuca km 37.5, Tecámac, 55740 Estado de México.

\* Autor de correspondencia ([sergio.hernandez@colpos.mx](mailto:sergio.hernandez@colpos.mx))

### INTRODUCCIÓN

El compostaje es un proceso de tipo bio-oxidativo que consiste en transformar material orgánico crudo en un producto para uso agrícola y forestal. Este proceso pasa por tres etapas: la mesófila, termófila y de maduración. Durante la etapa termófila, se reduce la población de patógenos y de semillas de malezas, mientras que en la de maduración se favorece la degradación de sustancias fitotóxicas, lo que hace del compost un producto estable. Para evaluar efectos fitotóxicos de las compostas, se realizan pruebas de germinación utilizando semillas de especies muy sensibles, las cuales son sencillas, rápidas, y de fácil reproductibilidad, económicas y confiables (Alurralde *et al.*, 2021, Camacho *et al.*, 2019).

El índice de germinación (IG) se usa para determinar la fitotoxicidad de la composta y valores inferiores a 50% indican una alta fitotoxicidad; entre 50 y 80% fitotoxicidad moderada y valores superiores a 80% revelan que el compost no presentaría fitotoxicidad (Eminio *et al.*, 2004) y por su parte Zucconi y colaboradores (1985) mencionan que cuando el IG excede el 100% el compost puede ser considerado un fitonutriente o fitoestimulante.

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto sobre la germinación y acumulación de biomasa *in vitro* en agave utilizando compostas a base de palma y lirio acuático.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de estudio.** El presente ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Patología Forestal del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo ubicado en Texcoco Estado de México y las compostas fueron proporcionadas por la empresa TERRAMULCH.

**Control de calidad y obtención de lixiviados de composta.** Se usaron compostas de palmera y palmera más lirio acuático bajo las siguientes condiciones: composta de 3.5 meses de edad hecha de palmera 100% (P100) y palmera 50% + lirio acuático 50% (PL-50-50) y otra de 4.5 meses de edad a base de palmera 50% + lirio acuático 50% (P6). La calidad de la composta fue evaluada con la norma mexicana (NMX-AA-180-SCFI-2018) y también fueron tamizadas, con el fin de eliminar residuos grandes, utilizando un tamiz del número 10 – 2mm. Para llevar a cabo las pruebas de germinación *in vitro*, utilizando lixiviados de las compostas, se pesaron 25 gramos de cada una de las compostas, fueron colocados en un matraz de 250 mL y se le agregó 100 mL de agua destilada, después los matraces fueron colocados en agitación orbital por 3 horas. El lixiviado de las compostas se filtró para eliminar los residuos.

**Germinación *in vitro* con lixiviados y medición de biomasa en plántulas de agave.** Se realizaron pruebas de germinación de *Agave angustifolia* Haw usando 100 semillas por tratamiento (50 semillas en cada caja Petri) y testigo (agua corriente - ALL), con dos repeticiones por tratamiento y la evaluación se realizó por 30 días. Las semillas se metieron en bolsas de polietileno para crear un ambiente húmedo y se dejaron en incubación dentro del Laboratorio de Patología Forestal. Las semillas germinadas fueron sometidas a congelación por un máximo de 24 horas con el propósito de separar las raíces y poder extenderlas para una mejor medición. Las mediciones se realizaron con un vernier digital de la marca UNbit (IP54). Una vez medidas, las raíces se pesaron para obtener el peso húmedo y posteriormente se colocaron en una estufa de secado (CRAFT) durante 48 horas a 60°C para obtener el peso seco.

Después de todo el proceso anterior, se procedió a obtener el % de germinación usando la siguiente relación:

Porcentaje de germinación = (Número de semillas germinadas / Número de semillas puestas a germinar) x 100

Para calcular el IG se usó la siguiente fórmula:

I.G.= (Gex / Gt) X (Lex / Lt) X (100) donde:

IG= índice de germinación, Gex= Número de semillas germinadas en el extracto, Gt= Número de semillas germinadas en el testigo absoluto, Lex= Longitud promedio de la radícula en el extracto de compostas y Lt= Longitud promedio de la radícula en el testigo absoluto.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Control de calidad y obtención de lixiviados de composta.** Los resultados obtenidos, de acuerdo con la NMX-AA-180-SCFI-2018, se encuentran especificados en el cuadro 1. En las compostas de 3.5 y 4.5 meses de edad, se aprecia que más del 60% de éstas se encuentra ya degradada.

Cuadro 1. Control de calidad de compostas obtenidas a partir de palmera y palmera más lirio acuático.

Tratamiento	% Material fino (2mm)	*Tipo de composta	*Fitotoxicidad (IG)
P100	62.3	Composta tipo I $\leq$ 10 mm	IG > 90 %
PL-50-50	70.9	Composta tipo I $\leq$ 10 mm	IG > 90 %
P6	61.4	Composta tipo I $\leq$ 10 mm	IG > 90 %

\* Especificación NMX-AA-180-SCFI-2018.

**Ensayos de germinación *in vitro* con lixiviados.** La germinación de semillas de *A. angustifolia* inició al cuarto día después de establecido el ensayo y el cual fue evaluado durante 30 días. La mayor cantidad de semillas germinadas se observó entre los días 6 y 11 después de establecido el ensayo. En el cuadro 2, se presentan los resultados obtenidos a inicios de enero del 2024 donde se encontraron porcentajes desde un 32 a 51% en los lixiviados de composta y el testigo.

Cuadro 2. Porcentaje e índice de germinación (IG) en *Agave angustifolia* Haw obtenido en lixiviados de composta hechos a base de palmera y lirio acuático después de 30 días de evaluación y bajo condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Especie	$\bar{x}$ longitud raíz (mm)	Peso seco (g)	% Germinación	IG
P100	<i>A. angustifolia</i>	23.98	0.3	51	220.5
PL-50-50	<i>A. angustifolia</i>	24.7	0.3	45	200.4
P6	<i>A. angustifolia</i>	22.81	0.2	32	131.6
Testigo	<i>A. angustifolia</i>	17.33	0.1	32	100.0

Las compostas usadas en este estudio están listas para ser usadas, como lo sugieren otros estudios que requieren de al menos 100 a 140 días de compostaje para su estabilización (Azula, 2022, Fain *et al.*, 2018). Sobre la germinación de semillas de agave, varios autores, mencionan

las dificultades que han enfrentado en la germinación de este tipo de semillas, por ejemplo, Garrido *et al*; 2005 mencionan que la semilla tiene una gran variación entre poblaciones, años y especialmente entre plantas. Por su parte, Sánchez y colaboradores en el 2017, mencionan que las semillas de agave presentan un porcentaje de germinación desde un 42 a 100%, y comienza entre el 3er y 4to día cuando son colocadas en arena y agua, en nuestros ensayos la germinación se presentó al cuarto día bajo condiciones de laboratorio. Gutiérrez y colaboradores en el 2020, mencionan que a 25°C la germinación fue de 4% y 87%, donde se obtuvo mayor porcentaje de germinación fue en semillas almacenadas por 6 y 17 meses, donde influye directamente el tiempo de almacenamiento de las semillas. Los estudios anteriores evaluaron únicamente la germinación bajo diferentes condiciones sin el uso de compostas, con los resultados obtenidos en el presente, se puede concluir que la germinación de semillas de agave puede ser usado como indicador de maduración en compostas hechas a base de palmera y lirio acuático.

De acuerdo a los resultados obtenidos tenemos que la composta puede ser considerado como un fitonutriente o fitoestimulante según lo propuesto por Zucconi y colaboradores (1985). Por su parte, Eminio y colaboradores (2004), propusieron que los valores de IG inferiores a 50% indican una alta fitotoxicidad; entre 50 y 80% fitotoxicidad moderada y valores superiores a 80% revelan que el compost no presentaría fitotoxicidad, por lo cual nuestros resultados reflejan que la especie sometida a germinación en lixiviados está por encima de los valores del 80% de IG.

La germinación para semillas de *Agave angustifolia* en lixiviados de composta de palmera y lirio acuático de 3.5 y 4.5 meses de edad, indican que éstas están en condiciones de ser usadas para germinación. Las mejores compostas para germinación de semillas de agave fueron la P100 y PL-50-50, ambas de 3.5 meses de edad, y que mostraron los mejores resultados en cuanto a % de germinación e índice de germinación (IG) a nivel de laboratorio. Ambas, se pueden considerar como un fitonutriente o fitoestimulante al exceder el IG más del 100% además de tener porcentajes altos de germinación.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por otorgamiento de la Beca Nacional para postgrado, al COLPOS - Fitosanidad por el uso de sus instalaciones para llevar a

cabo los ensayos de Laboratorio e Invernadero y a la empresa TERRA-MULCH por brindarnos sus materiales para llevar a cabo los estudios de Fitotoxicidad.

#### LITERATURA CITADA

Alurralde AL, Imhoff S, Gariglio N, Barbier AA. 2021. Caracterización de abonos sólidos y líquidos derivados del compostaje de alperujo y restos de poda de olivares. *Ciencia del Suelo* (Argentina) 39 (1): 94-111, 2021.

Azula BMC. 2022. Validación del compost producido a partir de especies invasoras como sustrato de propagación en el proceso de restauración ecológica (Validation of compost produced from invasive species as a propagation substrate in an ecological restoration process). *Revista de ciencias ambientales. Tropical Journal of Environmental Sciences*. Vol. 57(1): 1-19. DOI: <https://doi.org/10.15359/rca.57-1.12>.

Camacho CF, Uribe LL, Newcomer Q, Masters K, Kinyua M. 2019. Fitotoxicidad de compost producido con cultivos de microorganismos de montaña y lodos de biodigestor. *Cuadernos de Investigación UNED* (ISSN digital: 1659-441X) vol. 11(2): 75-84.

Eminio E, Warman P. 2004. Biological Assay for Compost Quality. *Compost Science & Utilization* 12(4): 342-348.

Fain BV, Butti M, Torti MJ. 2018. Índice de germinación como indicador de madurez en compost de residuos de incubación. *Avicultura. RTA* Vol:10 (37).

Garrido JL, Herrera CM, Rey PJ. 2005. Fuentes de variación en el tamaño de la semilla de la herbácea perenne *Helleborus foetidus* L. (Ranunculaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 62: 115-125.

Gutiérrez-Hernández GF, Ortiz-Hernández YD, Corzo-Ríos LJ, Aquino-Bolaños T. 2020. Composición química y germinación de semillas de tobalá (*Agave potatorum*). *Interciencia*, 45(5), 223-228.

Sánchez SJ, Flores J, Jurado E, Sáenz-Mata J, Orozco-Figueroa P, Muro PG. 2017. Hidrocoria en semillas de *Agave victoriae-reginae* T. Moore, especie en peligro de extinción: Morfología y anatomía como facilitadores de la hidro-dispersión y germinación. *Gayana. Botánica*, 74(2), 251-261.

Zucconi F, Monaco A, Forte M, De Bertoli M. 1985. Phytotoxins during the stabilization of organic matter. En: Gasser, J.K.R. (Ed.), *Composting of Agricultural and Other Wastes*. Elsevier, London, U.K, pp. 73-80.

# CULTIVOS BÁSICOS

## ETIOLOGÍA DE MANCHAS FOLIARES EN ARROZ (*Oryza sativa* L.) CULTIVADO EN LAS PRINCIPALES REGIONES PRODUCTORAS DEL ESTADO DE MORELOS

Eridani García-Vázquez<sup>1</sup>, Guadalupe Valdovinos-Ponce<sup>1</sup>, Ana María Hernández-Anguiano<sup>1</sup>, Gabriel Otero-Colina<sup>1</sup>, Javier Suárez-Espinosa<sup>1</sup>, Mónica Osnaya-González<sup>2</sup>, Edwin Barrios-Gómez<sup>3</sup>, Leonardo Hernández-Aragón<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5. Montecillo, 56264, Texcoco, Estado de México; <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Campeche, Carretera Federal Haltunchén-Edzna Km 17.5. Sihochac, 24450, Champotón, Campeche; <sup>3</sup>Campo Experimental Zacatepec-INIFAP, Carretera Zacatepec-Galeana s/n Km 0.5, 62780, Zacatepec, Morelos. \*Autora para correspondencia: gvapon@colpos.mx.

### INTRODUCCIÓN

En México, el arroz, ocupa el tercer lugar en superficie y producción después del maíz y del trigo (SIAP, 2024a). Campeche, Nayarit, Veracruz, Michoacán y Jalisco aportan el 83.36% (210 155.17 t) de la producción nacional; mientras que Morelos, con una superficie de 695 ha y una producción de 7 250.40 t, mantiene los rendimientos más altos (10.43 t/ha) (SIAP, 2024b). El área foliar de este cultivo puede ser infectada por hongos, bacterias, virus y nematodos (Webster y Gunnell, 1992), limitando el crecimiento de la planta y afectando el rendimiento y la calidad del grano (Laha *et al.*, 2017; Salini *et al.*, 2021).

En el ciclo primavera-verano 2021, en parcelas comerciales de arroz del estado de Morelos, se observaron síntomas putativos a hongos, los cuales se caracterizaron como lesiones ovaladas café con halo clorótico, puntos café y manchas café lineares e intervenales con o sin halo clorótico. De estos síntomas se aislaron 1076 hongos, los cuales se agruparon en 88 morfotipos de acuerdo con la forma, color y textura de las colonias. Los morfotipos con el mayor número de aislados correspondieron a *Nigrospora oryzae*, *Bipolaris oryzae*, *Epicoccum sorghinum*, *Fusarium equiseti*, *Cladosporium* sp. y *Alternaria* sp.; sin embargo, se desconoce el agente causal y el impacto que tiene en el rendimiento, por lo que el objetivo general de la investigación fue determinar la etiología de las manchas foliares en arroz en las principales regiones productoras de Morelos. Los avances que se presentan a continuación corresponden a la etiología de las manchas foliares y al efecto que tiene el agente causal en el rendimiento en ensayos establecidos en invernadero.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación de los experimentos.** Los ensayos se realizaron en una cubierta plástica con laterales de malla sombra en las instalaciones del INIFAP - Campo Experimental Zacatepec, Morelos.

**Material vegetal.** Plántulas de las variedades Morelos A-92 (MA92), Morelos A-98 (MA98), Morelos A-2010 (MA2010) y Morelos A-2016 (MA2016) se trasplantaron a macetas de 18 L con sustrato orgánico (tierra de monte - follaje seco de pino - agrolita) previamente desinfestado con BUSAN® 30 WB, se fertilizaron tres veces y se regaron diariamente.

**Inóculo.** Cultivos puros de *Cladosporium* sp. (C), y *Nigrospora oryzae* (No), *Bipolaris oryzae* (Bo), *Epicoccum sorghinum* (Es), *Fusarium equiseti* (Fe) y *Alternaria* sp. (A) se desarrollaron en medio V8 y en PDA complementado con 200 g de papa natural (PDAc), respectivamente, durante 15 días a 25 - 27° C con 12 h luz. Los conidios se recuperaron por filtración y se suspendieron en agua destilada estéril con Tween 20 al 100%, a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios/mL.

### Prueba de patogenicidad

**Diseño experimental.** El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con siete tratamientos por variedad, cada uno con cuatro repeticiones. El tratamiento uno consistió de plantas inoculadas con No, el tratamiento dos de plantas inoculadas con Bo, el tratamiento tres de plantas inoculadas con Es, el tratamiento cuatro de plantas inoculadas con Fe, el tratamiento cinco de plantas inoculadas con A, el tratamiento seis de plantas inoculadas con C, y el tratamiento siete de plantas asperjadas con agua destilada estéril con Tween 20 al 100% (testigo). La unidad experimental fue una maceta con una planta.

**Inoculación.** Las inoculaciones se realizaron en plantas de 61 días de edad en MA92 y MA2010. Para cada tratamiento, las plantas se asperjaron con 10 mL de inóculo y se cubrieron con una bolsa de plástico durante 24 h para favorecer la humedad. Las plantas del tratamiento testigo se asperjaron con 10 mL de agua destilada estéril con Tween 20 al 100%. Todas las plantas se regaron diariamente y se evaluaron cada 24 h, después de la inoculación, durante cinco días consecutivos.

**Reaislamiento de los hongos.** Se cortaron fragmentos de hoja de 1.0 cm<sup>2</sup>, considerando el síntoma y porciones sanas de la lámina, se desinfestaron con hipoclorito de sodio y se cultivaron en PDAc a 25 - 27° C con 12 h luz.

### Evaluación del rendimiento

**Diseño experimental.** El experimento se realizó en un diseño de parcelas divididas. Las parcelas grandes las conformaron las plantas inoculadas con Bo y las plantas asperjadas con agua destilada estéril con Tween 20 al 100% (testigo). Las parcelas chicas fueron las variedades MA98, MA2010 y MA2016. La unidad experimental fue una maceta con una planta.

**Inoculación.** Las plantas se inocularon a los 56, 76 y 98 días después del trasplante, como se describió anteriormente, se mantuvieron en invernadero y se regaron diariamente hasta la evaluación (antes de la cosecha).

**Evaluación de incidencia y severidad.** La incidencia se determinó con base en la ecuación de Campbell y Madden (1990). La severidad se evaluó con la escala diagramática de la mancha café (IRRI, 2002; Shrestha *et al.*, 2017) y el porcentaje correspondiente se calculó con la ecuación de Mau y colaboradores (2020).

**Rendimiento.** Se recolectaron todas las panículas y se almacenaron en bolsas de papel. Se contaron las panículas por planta, granos por panícula, granos llenos y se pesaron 1000 granos. El cálculo del rendimiento se realizó con la fórmula correspondiente (Chaudhary *et al.*, 2003).

**Análisis estadístico.** Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) con el paquete estadístico SAS Versión 9.4 (2013).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Pruebas de patogenicidad.** De los seis hongos inoculados en MA92 y MA2010, solamente *B. oryzae* causó pequeños puntos de color verde claro a las 24 horas después de la inoculación (hdi). A las 48 hdi, estas lesiones se desarrollaron en puntos café con halo clorótico, en manchas café romboides y en manchas café lineares e intervenales con presencia o no de halo clorótico. En Zacatepec y Cuautla, Morelos, se reportó la presencia de *B. oryzae* afectando hojas y panículas de variedades comerciales (Hernández y Tavitas, 2016). Sin embargo, no se demostró su papel como agente causal ni se describieron los síntomas. *Bipolaris oryzae* causa la mancha café en la hoja, enfermedad devastadora en muchas regiones productoras de arroz a nivel mundial. Las manchas son café oscuro a café púrpura, con centro café claro a grisáceo y márgenes café rojizos, y pueden desarrollar un halo amarillo (Ashfaq *et al.*, 2021), lo cual coincide con los resultados obtenidos en esta investigación. Cabe señalar que las manchas varían en forma y tamaño, dependiendo de las condiciones ambientales (Sunder *et al.*, 2014).

En las condiciones evaluadas, *N. oryzae*, *E. sorghinum*, *F. equiseti*, *Alternaria* sp. y *Cladosporium* sp. no indujeron algún síntoma en MA92 y MA2010; no obstante, se han reportado como patógenos de arroz de importancia económica. En México, *B. oryzae* y *Alternaria* sp. se asociaron a manchas foliares (Hernández y Tavitas, 2016) y, junto con *A. alternata*, *A. solani*, *N. oryzae*, *N. sphaerica*, *E. sorghinum* y *Cladosporium cladosporioides*, a la decoloración del grano

(Hernández *et al.*, 2012; Sandoval-Martínez, 2022). No obstante, solo se comprobó que *B. oryzae* y *E. sorghinum* son los agentes causales de manchas foliares (Sandoval-Martínez, 2022).

De los síntomas que se desarrollaron en las plantas inoculadas con *B. oryzae*, se aisló un hongo, el cual, hasta el momento, se identificó morfológicamente como *Bipolaris* sp.

**Incidencia, severidad y rendimiento.** Las plantas de las variedades MA98, MA2010 y MA2016 inoculadas con *B. oryzae* y las del tratamiento testigo presentaron una incidencia del 100% de la enfermedad; y aun cuando la severidad fue significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) en las plantas inoculadas (59.05%), no hubo diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en el rendimiento entre el tratamiento testigo (9.23 t) y las plantas inoculadas (9.03 t). A pesar de que los ensayos de patogenicidad se llevaron a cabo en las mejores condiciones asépticas, es posible que haya ocurrido una contaminación cruzada durante el manejo de las plantas, lo que resultó en el desarrollo de manchas café en las plantas del tratamiento testigo.

Los síntomas que se desarrollaron en las plantas inoculadas con *B. oryzae* fueron similares a los observados en campo (lesiones ovaladas café con halo clorótico, puntos café y manchas café lineares e intervenales con o sin halo clorótico), por lo que se concluye que esta especie es el agente causal de las manchas. No se tienen datos concluyentes sobre el efecto de *B. oryzae* en el rendimiento, toda vez que las plantas del tratamiento testigo presentaron síntomas.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCyT, por la beca 781284 otorgada a la primera autora para sus estudios de Doctorado en Ciencias. Al Colegio de Postgraduados, por el apoyo financiero y las facilidades otorgadas para realizar la investigación. Al INIFAP-CE Zacatepec, por el apoyo técnico e infraestructura. A los productores de arroz de Morelos, por permitirnos ingresar a sus plantaciones.

### LITERATURA CITADA

- Ashfaq B, Arshad HMI, Atiq M, Yousaf S, Saleem K, Arshad A. 2021. Biochemical profiling of resistant phenotypes against *Bipolaris oryzae* causing brown spot disease in rice. *Frontiers in Agronomy* 3: 675895. doi: 10.3389/fagro.2021.675895.
- Campbell CL, Madden, LV. 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley and Son. New York, USA. 532 p.

- Chaudhary RC, Nanda JS, Tran DV. 2003. Guía para identificar las limitaciones de campo en la producción de arroz. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (FAO). Roma. 73 p. ISBN 92-5-304684-8. <https://www.fao.org/3/y2778s/y2778s00.htm> (Recuperado: julio 2023).
- Hernández AM, Barrios GEJ, Canul-Ku J, Berriozabal-Onofre A, Rodríguez-Espinoza JJ. 2012. Calidad fitosanitaria y tratamiento químico para control de patógenos en semillas de arroz tipo Morelos. *Investigación Agropecuaria* 9(2): 103-111.
- Hernández AL, Tavitas FL. 2016. El arroz en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Pacífico Sur. Campo Experimental Zacatepec. Libro técnico No. 14. 544 p.
- IRRI. 2002. International Rice Research Institute. Standard evaluation system for rice. International Rice Research Institute. Philippines, 56 pp.
- Laha GS, Singh R, Ladhakshmi D, Sunder S, Srinivas PM, Dagar CS, Babu RV. 2017. Importance and management of rice diseases: A global perspective. In: Chauhan B, Jabran K, Mahajan G. (Eds.) *Rice production worldwide*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-47516-5\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-47516-5_13).
- Mau YS, Ndiwa ASS, Oematan SS. 2020. Brown spot disease severity, yield and yield loss relationships in pigmented upland rice cultivars from East Nusa Tenggara, Indonesia. *Biodiversitas* 21(4): 1625-1634. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210443>.
- Salini R, Farzana AJ, Yamini B. 2021. Pesticide suggestion and crop disease classification using machine learning. *International Journal of Engineering Science and Computing* 63(5): 9015-9023.
- Sandoval-Martínez MIE. 2022. Hongos asociados a síntomas foliares y manchado de grano en arroz (*Oryza sativa* L.) en Campeche, México. Tesis de doctorado, Colegio de Postgraduados. 82 p.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2024a. Producción mensual agrícola: Avance de siembra y cosechas. [https://nube.siap.gob.mx/avance\\_agricola/](https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/) (Recuperado: febrero 2024).
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2024b. Cierre de la producción agrícola por estado. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> (Recuperado: junio 2024).

- Shrestha S, Aryal L, Parajuli B, Panthi J, Sharma P, Saud YS. 2017. Field experiment to evaluate the efficacy of different doses of chemical fungicides against rice brown leaf spot disease caused by *Bipolaris oryzae* L. at Paklihawa, Rupandehi, Nepal. *World Journal of Agricultural Research* 5(3): 162-168.
- SAS (Statistical Analysis System). 2013. SAS/STAT R 9.1 User's Guide, Cary. North Carolina, USA. 121 p.
- Sunder S, Singh R, Agarwal R. 2014. Brown spot of rice: an overview. *Indian Phytopathology* 67(3): 201-215. <https://epubs.icar.org.in/index.php/IPPJ/article/view/43108>
- Webster RK, Gunnell, PS. 1992. Compendium of rice diseases, American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 46-48 p.

## DETECCIÓN Y EVALUACIÓN DE LOS SINTOMAS DE MANO DE CHANGO EN DIFERENTE GERMOPLASMA DE MAÍZ

José Jesús Márquez-Diego<sup>1</sup>, Daniel Leobardo Ochoa-Martínez\*<sup>1</sup>, Reyna Isabel Rojas- Martínez<sup>1</sup>, J. Concepción Rodríguez-Maciel<sup>2</sup>, Cristián Nava-Díaz<sup>1</sup>, José Ricardo Sánchez-Pale<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Programa de posgrado en Fitosanidad-Fitopatología Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Km 36.5 Carretera México-Texcoco. Montecillo, Edo. de México, CP 56230.

<sup>2</sup>Programa de Posgrado de Fitosanidad-Entomología; Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Km 36.5 Carretera México-Texcoco. Montecillo, Edo. de México, CP 56230.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, C.P. 50295.

### INTRODUCCIÓN

Los mexicanos se autocalifican como “gente de maíz” (Kato *et al.*, 2009). Pese a la importancia de este cultivo, estimaciones para años venideros dan un panorama desalentador para México, estimando que para 2030 se acrecentará de manera histórica la brecha entre el consumo y producción (CIMMYT, 2019).

Dentro de los factores que propician el aumento de esta brecha se encuentra una sintomatología de producción múltiple de jilotes que productores de zonas maiceras conocen como “mano de chango”, la cual hasta la fecha se desconoce su etiología y cuya incidencia puede llegar a 100% (Farabaugh *et al.*, 2019). Con pérdidas de grano reportadas para México entre 20 y 86% (Márquez *et al.*, 2021), y variaciones de 35 a 91% en los Estados Unidos de Norteamérica (Ortez *et al.*, 2022).

Por lo anterior, los objetivos del presente trabajo son diagnosticar el patógeno asociado a síntomas de la enfermedad mano de chango en el cultivo de maíz, evaluar la incidencia y severidad en distinto germoplasma incluyendo híbridos comerciales, variedades nativas y variedades de polinización libre en distintos estados de la República Mexicana y determinar su asociación con posibles insectos vectores de la familia Cicadellidae.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Incidencia y severidad: este primer apartado tuvo como objetivo corroborar la importancia de esta enfermedad. Se evaluó su incidencia y severidad en 21 híbridos comerciales en el Valle de Toluca, México, un híbrido comercial y una variedad nativa de polinización libre en el Valle del Mezquital, Hidalgo, y seis variedades mejoradas de polinización libre en Montecillo, Texcoco, México. Se contabilizaron 400 plantas de surcos centrales ubicando las positivas a mano de cambio y la planta vecina asintomática, las plantas así apareadas se colectaron en pares para pesarlas, desgranarlas y registrar el porcentaje de humedad en grano fresco con un medidor de humedad Dicky John miniGAC plus® y ajustando su humedad a 14%. El peso del grano de mazorcas producidas por las plantas con síntomas de la enfermedad y el de las plantas vecinas sanas fueron analizados usando un diseño de parcelas apareadas.

Incidencia en diferentes localidades: Una vez que se reportó la importancia de la mano de cambio en diferente germoplasma de maíz, fue necesario conocer su distribución en la república mexicana. Por lo cual, se evaluaron diferentes localidades en diferentes estados, se localizaron parcelas de siembras comerciales de maíz en etapa fenológica R1 o posterior, donde fue necesario tener acceso a la identidad del material genético cultivado. En cada localidad se determinaron las coordenadas geográficas, metros sobre el nivel del mar (msnm), material genético e incidencia del síntoma mano de cambio en 100 plantas en cada uno de cuatro surcos en la parte central de la parcela.

Identificación del agente causal: Desde el año 2021 se han colectado muestras de maíz sintomáticas y asintomáticas a la mano de cambio en diferentes estados de México. Sobre estas muestras se extrajo ADN utilizando el kit DNeasy Plant (QIAGEN®) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para su secuenciación se elaboró una muestra compuesta con 10 plantas provenientes de diferentes estados, la calidad se evaluó con el programa FastQC y el ensamble *de novo* se realizó con el programa SPAdes versión 3.10.1. Las secuencias obtenidas se compararon con la base de datos (GenBank) del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).

Estudios en la chicharrita del maíz: por el efecto de su alimentación y transmisión de patógenos *Dalbulus maidis* es una plaga importante del maíz. En este cultivo, el uso de

insecticidas químicos es la principal herramienta utilizada por los productores, lo que mantiene el riesgo de producir poblaciones resistentes. El presente capítulo tuvo como objetivo evaluar la viabilidad de una adaptación del método CDC para determinar el tiempo letal a insecticidas comerciales de los grupos neonicotinoides, piretroides, sulfoxaminas y organofosforados. Esto con el fin de abonar a la estrategia de control químico y manejo de la resistencia a *Dalbulus maidis*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Incidencia y severidad:** En todo el germoplasma evaluado se encontró la presencia de la mano de chango causando pérdida directa de grano con mayor efecto en los genotipos Aspros HC8 y la variedad nativa “Hidalgo”, en el Valle del Mezquital, Hidalgo. Respecto al rendimiento de grano aplicando el análisis de parcelas pareadas, se observó una pérdida significativa en producción de grano por mazorca en todas las variedades, las cuales disminuyeron su rendimiento dependiente del material genético desde el 86 % en MO19:15# Bco (Colpos) hasta el 20 % en MO19: CP Hilda 2 Amar (Colpos), tal como reportan Elmore y Abendroth (2006), Alcántara-Mendoza et al. (2010) Thomison (2015), Sravani et al. (2021), Márquez-Diego et al. (2021), Moghadam et al. (2022), quienes mencionan que tanto la incidencia como severidad son dependiente del germoplasma utilizado.

**Incidencia en diferentes localidades:** La sintomatología de mano de chango se encontró presente en todos los estados del sur, centro y norte de México. Se encontraron plantas con síntomas en todas las entidades evaluadas, con incidencias de hasta el 96%. Las variedades nativas presentaron mayor incidencia que los híbridos comerciales y las de polinización libre. Se detectó una covarianza positiva y una correlación significativa entre las variables incidencia y altitud.

**Identificación del agente causal:** Después del análisis bioinformático las muestras procesadas indican la presencia de diversos agentes que pueden estar involucrados en la sintomatología de

mano de chango del maíz. Se encontraron virus de los géneros polerovirus, potexvirus, marafivirus y tobamovirus, diversos fitoplasmas y spiroplasmas

Estudios en la chicharrita del maíz: Dong y Lukasz (2017) definieron a los bioensayos tipo CDC como una herramienta eficiente para diversas especies. En este apartado se reportan los tiempos letales medios para los insecticidas evaluados. La técnica CDC con las modificaciones realizadas, resultó viable para el estudio de la resistencia de *D. maidis*. En concordancia con Vargas y Ubilla (2001) obtener el tiempo letal para esta plaga funciona como un buen estimador de la toxicidad de plaguicidas que permite evaluar de manera simple, con precisión y cuyo costo no es impedimento para su realización.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca proporcionada para la realización del trabajo de Doctorado. Al Colegio de Postgraduados. A los Profesores Consejeros y a la plantilla académica en general.

#### LITERATURA CITADA

Alcántara-Mendoza S, Téliz-Ortíz D, De León C, Cárdenas- Soriano A y Hernández-Anguiano A. 2010. Detección y evaluación del fitoplasma maize bushy stunt en el estado de Veracruz, México. Revista Mexicana de Fitopatología 97: 34–43. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v28n1/v28n1a4.pdf>

CIMMYT. 2019. Maíz Para México. Plan Estratégico 2030. <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/20219/60937.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Dong, C. X. y Lukasz S. L. 2017. Rapid detection of insecticide resistance in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) populations, using a bottle bioassay. Source: Florida Entomologist, 100(1): 124-133. URL: <https://doi.org/10.1653/024.100.0118>

Elmore RW y Abendroth LJ. 2006. Multiple ears per node. Iowa State University Agronomy Extension Corn Production. <https://crops.extension.iastate.edu/corn/production/management/mid/multiple.html>

Farabaugh, K. B.; Ortez, O. A.; McMechan, J.; Koehler, C. K. y Elmore, R. 2019. Planting Date Impact on Corn Growth and Ear Issues. The University of Nebraska Extension, CropWatch. <https://cropwatch.unl.edu/2019/planting-date-impact-corn-growth-and-ear-issues>

Kato, T. A.; Mapes, S. C.; Mera, O. L. M.; Serratos, H. J. y Boettler, R. A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 116 pp. México, D.F. [https://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/versiones\\_digitales/Origen\\_deMaiz.pdf](https://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/versiones_digitales/Origen_deMaiz.pdf)

Márquez-Diego JJ, De León-García de Alba C, Rojas-Martínez RI y Sánchez-Pale JR. 2021. Incidence and Effect on Grain Yield of the “ Monkey’ s Hand ” Disease in 29 Maize Genotypes. Mexican Journal of Phytopathology 39(3): 1–9. doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2106-2.

Márquez, D. J.; De León, G. A. C.; Rojas, M. R.; Rodríguez, M. J. and Nava, D. C. 2022. Incidence of monkey’s hand in maize germplasm from different locations in Mexico. Mexican Journal of Phytopathology, 40(3): 1–8. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2204-1>

Moghadam HH, Najafinezhad H y Shirkhani A. 2022. Bouquet ears in maize inbred lines as affected by agronomic factors. Crop Improvement 1–17. <https://doi.org/10.1080/15427528.2022.2063776%0ABouquet>

Ortez OA, McMechan AJ, Hoegemeyer T, Rees J, Jackson ZT y Elmore RW. 2022. Abnormal ear development in corn: A field survey. Agrosystems, Geosciences & Environment 5(1): 1–12. <https://doi.org/10.1002/agg2.20242>

Sravani D, Guddeti M, y Rajanikanth E. 2021. “Boquet Ears in Maize.” Biotica Research Today 3(1): 70–71. [https://www.researchgate.net/publication/350688092\\_Boquet\\_Ears\\_in\\_Maize](https://www.researchgate.net/publication/350688092_Boquet_Ears_in_Maize)

Thomison PL y Geyer A. 2015. “Abnormal Corn Ears.” Troubleshooting abnormal corn ears. Ohio State University extension. [https://cpb-us-w2.wpmucdn.com/u.osu.edu/dist/d/4866/files/2014/08/Abnormal\\_ear\\_poster\\_2015\\_April28-168l0pl.jpg](https://cpb-us-w2.wpmucdn.com/u.osu.edu/dist/d/4866/files/2014/08/Abnormal_ear_poster_2015_April28-168l0pl.jpg).

Vargas, M. R. y Ubillo, F. A. 2001. Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas. Florida Entomologist, 100(1): 124-133. <https://doi.org/10.1653/024.100.0118>

## ETIOLOGÍA DE LA DECOLORACIÓN DEL GRANO DE ARROZ

Magnolia Ramona Ortiz-Lazalde<sup>1</sup>, \*Guadalupe Valdovinos-Ponce<sup>1</sup>, Guillermo Márquez-Licona<sup>2</sup>, Victoria Ayala-Escobar<sup>1</sup>, Alma Rosa Solano-Báez<sup>2</sup>, Edwin Barrios-Gómez<sup>3</sup>, Leonardo Hernández-Aragón<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. <sup>2</sup>CEPROBI-IPN. <sup>3</sup>INIFAP-CE Zacatepec. \*[gvapon@colpos.mx](mailto:gvapon@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

De acuerdo con los índices mundiales de agricultura, el arroz (*Oryza sativa* L.) es uno de los principales cereales en la dieta de la población, después del maíz y del trigo. A nivel internacional, China e India son los países líderes en la producción de este cereal (FAO, 2023). México ocupa el lugar número 56, con una producción de 257 mil t anuales. Sin embargo, no se cubren las necesidades alimenticias del país, por lo que es necesario importarlo (SIAP, 2022).

El grano de arroz es afectado por numerosos agentes infecciosos que causan distintas enfermedades, y que, en determinadas condiciones ambientales, constituyen uno de los factores limitantes de mayor importancia en el aprovechamiento de este cereal (Almaguer *et al.*, 2008). Los hongos son los microorganismos de mayor importancia, ya que inducen numerosas enfermedades, afectando la calidad y el rendimiento de la cosecha (Almaguer *et al.*, 2008).

El manchado del grano o decoloración del grano de arroz es una enfermedad causada por un complejo de patógenos fúngicos, aunque algunas bacterias también están asociadas al síntoma (Valdez-Nuñez *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2010). Esta enfermedad se caracteriza por la presencia de lesiones en las glumas y en el grano, que van desde pequeños puntos oscuros a manchas de color marrón, negro, púrpura, amarillo y rojo que pueden cubrirlo totalmente (Scheidt *et al.*, 2019). Los patógenos asociados a la decoloración de grano inciden de forma negativa al afectar la germinación, el vigor y el tamaño de las plántulas; disminuir el peso y el número de granos por panícula; e inducir un alto porcentaje de vaneo (Rivero *et al.*, 2009).

Como se señaló previamente, la decoloración de grano se ha asociado a diferentes patógenos. Sin embargo, pocos investigadores han llevado a cabo las pruebas de patogenicidad con el fin de determinar el agente causal de esta enfermedad.

En 2012, en los municipios de Jojutla, Cuautla y Emiliano Zapata, Morelos, se identificaron hongos asociados a panículas con granos decolorados en las variedades de arroz Morelos A-92, Morelos A-98, Morelos A-2016, Morelos A-08, Kosi A-08 y Morelos A-2010 (Valencia *et al.*,

2016). No obstante, estos reportes no incluyen la identificación molecular ni las pruebas de patogenicidad que demuestren que estos microorganismos son los agentes causales de la decoloración del grano. Por lo anterior, es fundamental determinar la etiología de la enfermedad a partir de hongos aislados de panículas sintomáticas recolectadas en parcelas comerciales de arroz de Jojutla y Zacatepec, Morelos. La información que se genere, permitirá al agricultor mexicano establecer una correcta estrategia de manejo del cultivo de arroz y el control de la enfermedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Aislamiento y purificación.** En verano de 2022, en los municipios de Jojutla y Zacatepec, Morelos, se recolectaron panículas de arroz de las variedades Morelos A-2010 (MA2010), Morelos A-92 (MA92) y Morelos A-2016 (MA2016), con síntomas de decoloración del grano. Se tomaron 15 granos sintomáticos y cinco asintomáticos por panícula, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3%, se enjuagaron con agua destilada estéril y se colocaron sobre papel secante estéril para retirar el exceso de humedad. Los granos se cultivaron en PDA modificado (200 g papa + 5 g agar + 39 g PDA BD Bioxon™/L agua) a  $25 \pm 2$  °C con 16 h luz/8 h oscuridad. Posteriormente, las colonias se separaron con base en su morfología, se purificaron por punta de hifa y se identificaron morfológicamente. Los aislados se mantuvieron en medio Papa (200 g/L) Dextrosa (BD Bioxon) a 4 °C para su posterior reactivación.

**Material vegetal.** En marzo de 2023, semillas de las variedades MA92 y MA2010 se desinfectaron cinco días antes de la siembra. Posteriormente, se sembraron en pacholes ubicados en el municipio de Jojutla. Veinte días después de la germinación, las plántulas se retiraron de los pacholes y se transportaron al CEPROBI-IPN, localizado en el municipio de Yautepec, Morelos. Las plántulas se trasplantaron a macetas de plástico de 10 L de capacidad con suelo previamente barbechado y expuesto al sol durante tres semanas, se regaron diariamente y se fertilizaron.

**Pruebas de patogenicidad.** Para la variedad MA2010, se establecieron cuatro tratamientos con cuatro repeticiones cada uno. El tratamiento 1 consistió en plantas inoculadas con *Bipolaris* sp. (B), el tratamiento 2 de plantas inoculadas con *Nigrospora* sp. (N), el tratamiento 3 de plantas inoculadas con *Phaeoseptoria* sp. (Pha) y el tratamiento 4 de plantas infiltradas con agua destilada estéril (testigo). Para la variedad MA92, se establecieron ocho tratamientos con cuatro repeticiones cada uno. El tratamiento 1 consistió de plantas inoculadas con N, el tratamiento 2 de plántulas inoculadas con B, el tratamiento 3 de plántulas inoculadas con *Phoma* sp. (Pho), el tratamiento 4

de plántulas inoculadas con *Fusarium* sp. (F), el tratamiento 5 de plántulas inoculadas con *Corynespora* sp. (Co), el tratamiento 6 de plántulas inoculadas con *Alternaria* sp. (A), el tratamiento 7 de plántulas inoculadas con *Curvularia* sp. (Cu) y el tratamiento 8 de plántulas infiltradas con agua destilada estéril (testigo).

Los ensayos se establecieron en un diseño completamente al azar; la unidad experimental fue una panícula por planta.

**Inoculación.** Panículas en la etapa de embuche (60 días después del trasplante), se infiltraron con 2.5 mL de inóculo ( $1 \times 10^5$  esporas/mL) con una jeringa hipodérmica de 3 o 5 mL. Posteriormente, cada panícula se cubrió con una bolsa de plástico, previamente perforada, y se asperjó con 5 mL del mismo inóculo para mantener condiciones de humedad. Seis días después, se realizó una segunda inoculación mediante infiltración o aspersion de la misma cantidad de inóculo.

El 20 de septiembre de 2023, se recolectaron las panículas inoculadas y se transportaron al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las tres variedades evaluadas, se desarrollaron panículas con granos decolorados y solamente en la variedad MA92 hubo granos vanos. Los granos decolorados se caracterizaron por presentar manchas de color marrón a café oscuro, de forma redonda, alargada o irregular, que cubrían un tercio o la totalidad del grano, lo cual coincide con los síntomas descritos por Baite *et al.* (2020) y Guyana Rice Development Board (2016). No obstante, también se han observado manchas de color negro, púrpura, amarillo y rojo (Rivero *et al.*, 2012; Gutiérrez y Mazzanti de Castañón 2015; Scheidt *et al.*, 2019).

De manera global y a nivel de variedades, se observó que MA92 presentó el mayor número de aislados y géneros identificados (15), seguido por MA2016 (6) y MA2010 (4). En todas ellas, *Bipolaris* sp. y *Nigrospora* sp. fueron los géneros que tuvieron la mayor prevalencia. Además, en la variedad MA2010 se aisló con mayor frecuencia al género *Phaeoseptoria* sp.; en MA2016 a *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Corynespora* sp. y *Gonytrichum* sp.; y en MA92 a *Phoma* sp., *Fusarium* sp. y *Corynespora* sp.

En la variedad MA2010, los hongos *Bipolaris* sp. y *Nigrospora* sp. causaron la decoloración del grano de las panículas; además, junto con *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., y *Phoma* sp. causaron

esta enfermedad en MA92. Estos resultados coinciden con las pruebas de patogenicidad que se realizaron en Cuba (Rivero *et al.*, 2012), Colombia (Castaño, 1983), India (Balgude y Gaikwad, 2016), Tailandia (Vu y Somsiri, 2006) y Nigeria (Oppong *et al.*, 2022). En México, no se habían realizado las pruebas de patogenicidad para determinar la etiología, por lo que en esta investigación se reporta por mi primera vez los hongos que inducen la decoloración del grano de arroz. Estos hongos inhibieron o disminuyeron el desarrollo de la panícula; ocasionaron granos vanos con manchas redondas o irregulares de color café y negro, así como el manchado total o parcial de las glumas de granos llenos.

En las variedades evaluadas, todos los hongos que se inocularon se reaislaron de los granos que presentaron decoloración, a excepción de *Phaeoseptoria* sp., en la variedad MA2010, y de *Corynespora* sp. y *Fusarium* sp. en la variedad MA92.

Es posible que los síntomas observados en las panículas inoculadas con *Phaeoseptoria* sp., hayan sido inducidos por *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp. y/o *Alternaria* sp., ya que estos hongos se aislaron con una frecuencia de 47.05, 23.52, 17.64 y 5.88 % respectivamente. En las panículas inoculadas con *Corynespora* sp. o *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. se presentó con una prevalencia del 72.72 y 50%, respectivamente, por lo que probablemente fue el agente causal de la decoloración.

*Bipolaris* sp., *Nigrospora* sp., *Alternaria* sp., *Phoma* sp. y *Curvularia* sp. se reaislaron de las panículas en las que se inocularon; no obstante, en todos los casos, *Curvularia* sp. se aisló con frecuencias del 23.80 al 92.85 %, lo que sugiere que estos hongos son los agentes causales de la decoloración, y que *Curvularia* sp., además de patógeno, pudo ser un contaminante y un posible endófito (Priyadharsini y Muthukumar, 2017), ya que se aisló (100%) de las panículas asperjadas con agua destilada estéril.

## AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT, por la beca 822851 otorgada a la primera autora para sus estudios de Maestría en Ciencias. Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, y al Posgrado en Fitosanidad - Fitopatología, por proporcionarnos los recursos, el equipo y la infraestructura para el desarrollo de esta investigación. Al CEPROBI-IPN y al INIFAP, Campo Experimental Zacatepec, Morelos, por

facilitarnos el uso de las instalaciones. A los productores de arroz del estado de Morelos, por permitirnos trabajar en sus parcelas.

### LITERATURA CITADA

- Almaguer M, Rojas T, Hernández A. 2008. Perspectivas de los estudios aeromicológicos para la protección del cultivo del arroz. *Rev. Protección Vegetal* 3 (3), pp: 137-143.
- Baite MS, Raghu C, Prabhukarthikeyan SR, Umapatía K, Namdeorao N, Rath P. 2020. Disease incidence and yield loss in rice due to grain discolouration. *Journal of Plant Disease Protection* 127, pp: 9–13.
- Balgude Y S, Gaikwad AP. 2016. Integrated Management of Grain Discolouration Disease in Paddy. *Journal of Rice Research*, 9 (2).
- Castaño JZ. 1983 <https://cgspace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/3a6f6aea-b5bc-43a5-b306-f5b192527549/content> (Recuperado: junio 2024).
- FAO, 2023. Nota informativa de la FAO sobre la oferta y la demanda de cereales. <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/> (Recuperado: junio 2024).
- Gutiérrez SA, Mazzanti de Castañón MA. 2015. Hongos asociados a granos manchados de arroz. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina. 3 p.
- Guyana Rice Development Board. 2016. Grain Discoloration. <https://grdb.gy/wp-content/uploads/2016/09/Grain-Discoloration.pdf> (Recuperado: junio 2024).
- Oppong C, Amoatey C, Honger JO. 2022. Characterization and control of *Curvularia lunata* infecting farmer-saved rice seeds in Ghana. *African crop science journal*, 30 (4) pp: 485–496.
- Priyadharsini P, Muthukumar T. 2017. The root endophytic fungus *Curvularia geniculata* from *Parthenium hysterophorus* roots improves plant growth through phosphate solubilization and phytohormone production. *Fungal Ecology*, 27, pp: 69–77.
- Rivero D, Cruz A, Martínez B, Ramírez M, Rodríguez A. 2009. Actividad antifúngica *in vitro* de la quitosana sigma frente a hongos fitopatógenos causantes del manchado del grano en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) *Fitosanidad* 13 (2), pp: 101-108.

- Rivero D, Cruz A, Rodríguez A, Echeverría A, Martínez B. 2012. Hongos asociados al manchado del grano en la variedad de arroz INCA LP-5 (*Oryza sativa* L.) en Cuba. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología (32), pp: 131-138.
- Scheidt TB, Berghetti J, Zanella EJ, Casa RT, Bevilaqua D, Ludwing AH. 2019. Symptoms of *Fusarium graminearum* infection in irrigated rice grains. Ciencia Rural, Santa Maria, 49 (03).
- SIAP, 2022. Panorama Agroalimentario 2020. Datos de un campo que avanza sin dejar a nadie atrás. México, pp: 34-35.
- Valdez-Nuñez R, Ríos-Ruíz W, Ormeño-Orrillo E, Torres-Chávez E, Torres-Delgado J. 2020. Caracterización genética de bacterias endofíticas de arroz (*Oryza sativa* L.) con actividad antimicrobiana contra *Burkholderia glumae*. Revista Argentina de Microbiología. 52 (4), pp: 315-327.
- Valencia Botín AJ, Hernández Arenas M, Ortega Arreola R. 2016. XIII. Enfermedades. Hernández Aragón L, Tavitas Fuentes L, (Eds.), El arroz en México. Libro técnico No. 14. pp: 363-378.
- Vu VB, Somsiri S. 2006. Seed borne and Transmission of *Bipolaris oryzae*, the Causal Pathogen of Brown Spot of Rice. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 40, pp: 353-360.
- Yan H, Yu SH, Xie GL, Fang W, Su T, Li, B. 2010. Grain discoloration of rice caused by *Pantoea ananatis* (syn. *Erwinia uredovora*) in China. Plant Disease, 94 (4), pp: 482-482.

# EFECTO DE LA APLICACIÓN DE *Trichoderma atroviride* Y NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBRE EN EL CONTROL DE *Fusarium graminearum*, CAUSANTE DE LA FUSARIOSIS EN PLANTAS DE TRIGO (*Triticum aestivum*)

\*Brenda Arriaga García<sup>1</sup>, Reyna I. Rojas Martínez<sup>1</sup>, Guillermo M. Herrera Pérez<sup>2</sup>, Ana María Hernández Anguiano<sup>1</sup> Víctor M. Zúñiga Mayo<sup>1</sup>, Julio Huerta Espino<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados, Montecillo 56230, México 2. CIMAV. 3. INIFAP

\*Correo de correspondencia: arriaga.brenda@colpos.mx

## INTRODUCCIÓN

El trigo (*Triticum aestivum* L.), es el segundo grano más cultivado en el mundo con 789.5 millones de toneladas (Mt) y en México ocupa el cuarto lugar con una producción de 3.281 Mt, siendo el trigo harinero de ciclo otoño-invierno de riego el que aporta alrededor del 90% de la producción nacional (CANIMOLT, 2022; SIAP, 2023; Sowell & Williams, 2024). Gálvez Gamboa *et al.*, (2018) estima un aumento y demanda de alimentos para el 2050 y consigo se duplicará el uso de agroquímicos, plaguicidas e insecticidas para el control de plagas y enfermedades. El cultivo de trigo, es afectado por fitopatógenos como roya de la hoja inducida por *Puccinia triticina*, mancha foliar inducida por *Septoria tritici*, el oídio del trigo inducida por *Blumeria graminis* y el tizón de la espiga inducido por *F. graminearum* (Dean *et al.*, 2012; Qi *et al.*, 2019). Estos patógenos amenazan la productividad del trigo en todo el mundo, debido a que afectan el rendimiento, produciendo semillas de mala calidad y pudrición del grano (Qi *et al.*, 2019). Además, *F. graminearum* produce micotoxinas como tricotecenos, deoxinivalenol (DON) y el nivalenol (NIV) perjudiciales para la salud humana y animal (Malbrán *et al.*, 2014; McMullen *et al.*, 2012). Para el control de este patógeno se utilizan cultivares moderadamente resistentes a resistentes; sin embargo, no son suficientes para prevenir una epidemia; además, variedades resistentes como Sumai 3, no tienen buen tamaño para la trilla, ni buen rendimiento del grano (Ribichich *et al.*, 2007; Tóth *et al.*, 2008). Por otro lado, además del control genético para combatir la fusariosis, se utilizan químicos como los benzimidazoles, triazoles y estropullurinas; sin embargo, el uso excesivo e indiscriminado ha inducido resistencia y aumento de micotoxinas (Becher *et al.*, 2010; Duan *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2020). Aún no existe un control efectivo de esta enfermedad por lo que se propone el uso de *T. atroviride*, debido a que es amigable con el ambiente y posee un mecanismo micoparasítico por medio de compuestos antifúngico, enzimas (Prb1, Ech42 y Gluc78) y proteínas

que provocan la lisis de la pared celular del patógeno. Además, activa el mecanismo de defensa de la planta, facilitan la absorción de nutrientes que promueven el crecimiento y desarrollo de esta (Olmedo-Monfil *et al.*, 2002; Schmoll & Schuster, 2010; Vinale *et al.*, 2008; Viterbo *et al.*, 2002). Por otro lado, la nanotecnología ha incursionado en la creación de nanopesticidas para la protección de plagas y enfermedades en los cultivos de importancia agronómica (Lira-Saldivar *et al.*, 2018; Shang *et al.*, 2019). Las nanopartículas (NPs) de los óxidos metálicos tienen propiedades antibacterianas y antifúngicas, siendo la primera, la más ampliamente estudiada (Akbar *et al.*, 2019; Balderrama-González *et al.*, 2021). Pariona *et al.*, (2019) y Viet *et al.*, (2016) reportan que NPs de CuO y Cu poseen efecto antifúngico en *Fusarium* spp., específicamente en *F. solani* y *F. oxysporum*. Por lo anterior, el objetivo general de la presente investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de *T. atroviride* y NPs de CuO en el control de *F. graminearum* en plantas de trigo. En este trabajo se presenta la síntesis y caracterización de las NPs de CuO, además de los ensayos de inhibición de las NPs de CuO y de antagonismo de *T. atroviride* contra *F. graminearum*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Síntesis de NPs de CuO

La síntesis se realizó en el laboratorio de Fisiología y Biología Molecular de la Interacción Planta-Patógeno-Vector y Control Biológico, del Postgrado en Fitosanidad- Fitopatología del, Campus Montecillo. Para la obtención de las NPs de CuO se utilizó el método de síntesis por precipitación química descrito por Lanje *et al.*, (2010), con algunas modificaciones en el centrifugado, reduciendo de 12, 500 a 4,500 rpm. Las NPs de CuO se colocaron sobre un vidrio de reloj y se dejaron secar a temperatura ambiente. Una vez que las nanopartículas estuvieron completamente secas, se recuperaron y pesaron, para evaluar su rendimiento, este procedimiento se realizó por triplicado. La caracterización de SEM y TEM, se realizó en el laboratorio de Microscopía Electrónica, Campus Montecillos. La difracción de rayos X (DRX) y espectroscopia Raman se realizó en CIMAV, Chihuahua.

### Caracterización de NPs de CuO.

Las características morfológicas, estructurales, análisis elemental y tamaño de las nanopartículas se determinaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM- JEOL JSM-6390) y microscopía electrónica de transmisión (TEM- FEI Tecnai G2 Spirit TWIN 120 KV). Para montar las muestras, primero se sonicaron (Branson-1800) por 30 min usando dos solventes: etanol absoluto y acetona. Para SEM se usó etanol, se recubrió con oro y paladio, se realizaron 4 lecturas

para la cuantificación elemental para cada muestra. En cuanto a TEM se usó acetona como solvente y se colocó una gota pequeña de la muestra en una rejilla de cobre con recubrimiento de Fomvar-Carbon (Agar Scientific- 200 mesh) y se secaron a temperatura ambiente durante tres días antes de observarse, una vez obtenidas las micrografías de campo claro se midieron aproximadamente 600 nanopartículas con ayuda del programa ImageJ (Campa, 2017). El histograma de tamaños se ajustó con la función matemática log-normal y el método iterativo de Levenberg-Marquardt se elaboraron en el programa OriginPro2022 (Ranganathan, 2004). La caracterización estructural y determinación del tamaño promedio de la cristalita de NPs de CuO se realizó por difracción de Rayos X (DRX) utilizando una geometría de Bragg-Brentano, se realizó el refinamiento de Rayos X por el método del Rietveld, refinando las posiciones atómicas, usando el programa de FullProf Suite y la función matemática de tipo pseudo-Voigt y una estructura de tipo tenorita con fase monoclinica y un grupo espacial C2/c (Shinde *et al.*, 2019). Finalmente, para ver los efectos microestructurales se utilizó el método de armónicos esféricos, la función matemática Thompson-Cox-Hasting pseudo-Voigt y la fórmula de Debye-Scherrer (Thakar *et al.*, 2021). Para la caracterización por espectroscopia de Raman, se tomó el espectro a 633 nm de longitud de onda de excitación con láser V (LabRAM HR VIS), se realizó mediante la identificación de los modos de vibración usando la notación Mulliken. El análisis de las bandas Raman se lleva a cabo con el manejo del programa Fityk (Siddiqui *et al.*, 2020). Los resultados fueron comparados con la base de datos de RRUFF usando la estructura de tipo tenorita en fase monoclinica (R120076).

#### **Preparación de los medios de cultivo y ensayos de inhibición de las NPs de CuO.**

Para el testigo se utilizó medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA-Difco™) se preparó como lo describe el fabricante y el medio que contenía las NPs de CuO se preparó como se describe: una vez esterilizado el medio PDA, se mantuvo en agitación constante y se le agregaron concentraciones de 50, 200, 400, 500, 600, 700, 900 y 1000 mg/L, las NPs de CuO previamente sonicadas por 20 min (Morales García, 2020). El medio se mantuvo por 15 min en agitación constante, para lograr la mezcla y homogenización. Finalmente, se inocularon mediante la técnica de bocado a *T. atroviride* y *F. graminearum* y se monitoreo su crecimiento durante 15 días. Los ensayos se realizarán por triplicado y el porcentaje de inhibición micelial se determinó por medio de la ecuación propuesta por González *et al.*, (2015).

#### **Ensayos de antagonismo de *T. atroviride* contra *F. graminearum*.**

Las confrontaciones se realizaron por triplicado siguiendo la metodología descrita por Guzmán-Guzmán, *et al.*, (2017), se incubaron a 28 °C a 12h luz y 12 h oscuridad. Como control, cada hongo se confrontó consigo mismo. Para las confrontaciones en presencia de NPs de CuO, se utilizaron concentraciones de 50, 200, 400 y 500 mg/L se monitoreo durante 15 días y se calculó el porcentaje de reducción de crecimiento con la ecuación propuesta por Sundar *et al.*, (1995).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron tres síntesis de NPs de CuO, donde el pH final de las reacciones fue de aproximadamente 6.6. El rendimiento promedio de la síntesis de NPs de CuO de los tres lotes fue de 444.66 mg. En total, se obtuvieron 1.33 g de NPs de CuO. De cada uno de los lotes se tomaron muestras para su caracterización en DRX, RAMAN, TEM y SEM. En este último, observan micrografías donde se aprecia la forma cuasi esférica de las NPs y en el análisis elemental de estas, donde se corroboran los elementos de Cu<sup>+</sup> y O<sub>2</sub> de las muestras, por lo que se concluye que son puras. En TEM se observan las micrografías de campo claro, confinando la forma cuasi esférica y tamaño promedio de las NPs fue de  $10.9 \pm 0.7$  nm, el rango del tamaño es de 2 a 25 nm corroborado con un histograma de frecuencias con Log Normal. Por otro lado, en el patrón DRX de difracción calculado, se concluye que es CuO una estructura de tipo tenorite con una orientación preferencial en hkl (111), corroborado en la base de datos RRUFF (ID R120076) y el tamaño obtenido en el análisis fue de  $9.6 \pm 0.7$  nm y la forma elíptica. Finalmente, los resultados de espectroscopia Raman muestran un pico A<sub>g</sub>, este se asigna como modo de alta frecuencia y es la primera banda Raman que tiene un valor de 276.849 cm<sup>-1</sup>, que corresponde al rango de rotación de los átomos de cobre y oxígeno en fase monoclinica. La ocurrencia de los modos B<sub>g1</sub> (331.899 cm<sup>-1</sup>) y B<sub>g2</sub> (604.982 cm<sup>-1</sup>), corresponden a la flexión y estiramiento simétrico del oxígeno de CuO, los valores de los modos coinciden con los reportados por Siddiqui *et al.*, (2020). Finalmente, para este objetivo se concluye que el método de síntesis fue el adecuado y coincide con lo reportado por Ramírez-Valdespino *et al.*, (2020) y Salas-Leiva *et al.*, (2019).

La inhibición del desarrollo de *F. graminearum* en medio PDA con NPs de CuO, se observó al noveno día de la inoculación, mostrando una reducción del crecimiento micelial de 9.6 %, 54.17 %, 22.13% y 100 % con dosis de 50, 200, 400 y 500 mg/mL, respectivamente. A partir de 500 mg/mL, hay una inhibición del 100%, por lo que las NPs de CuO poseen propiedades antifúngicas, coincidiendo con lo reportado por Pariona *et al.*, (2019), quienes mencionan que observaron una inhibición del 93.9% de *F. oxysporum* a una concentración de 450 mg/mL. En cuanto a las pruebas

de antagonismo, el porcentaje de reducción del crecimiento micelial fue de 43.4% para el control (medio de cultivo sin NPs de CuO) y para los tratamientos con NPs fue de 62.85%, 67.42%, 80.57% y 100% a 50, 200, 400 y 500 mg/mL, respectivamente. Considerando los resultados antes mencionados encontramos que la combinación del *T. atroviride* y las NPs de CuO tienen un efecto antagónico a *F. graminearum*.

### AGRADECIMIENTOS

Primer autor agradece al CONAHCYT por la beca otorgada para llevar a cabo sus estudios de maestría. Al Colegio de Postgraduados por las facilidades proporcionadas para la realización de la investigación. Así como, el agradecimiento a CIMMYT por la donación de *F. graminearum*.

### LITERATURA CITADA.

- Akbar, A., Sadiq, M. B., Ali, I., Muhammad, N., Rehman, Z., Khan, M. N., Muhammad, J., Khan, S. A., Rehman, F. U., & Anal, A. K. (2019). Synthesis and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *17*, 36–42. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2018.11.005>
- Balderrama-González, A. S., Piñón-Castillo, H. A., Ramírez-Valdespino, C. A., Landeros-Martínez, L. L., Orrantía-Borunda, E., & Esparza-Ponce, H. E. (2021). Antimicrobial Resistance and Inorganic Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences* *2021*, Vol. 22, Page 12890, 22(23), 12890. <https://doi.org/10.3390/IJMS222312890>
- Becher, R., Hettwer, U., Karlovsky, P., Deising, H. B., & Wirsel, S. G. R. (2010). Adaptation of *Fusarium graminearum* to Tebuconazole Yielded Descendants Diverging for Levels of Fitness, Fungicide Resistance, Virulence, and Mycotoxin Production. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-5-0444>, *100*(5), 444–453. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-5-0444>
- Campa, V. (2017). *Análisis de Imágenes de Microscopía con ImageJ* (Vol. 1). [https://www.researchgate.net/publication/313768335\\_Analisis\\_de\\_Imagenes\\_de\\_Microscopia\\_con\\_ImageJ](https://www.researchgate.net/publication/313768335_Analisis_de_Imagenes_de_Microscopia_con_ImageJ)
- CANIMOLT. (2022). *Compendio Estadístico 2027-2021*. <https://www.canimolt.org/publicaciones?04#reportes>
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, *13*(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2011.00783.X>
- Duan, Y., Xiao, X., Li, T., Chen, W., Wang, J., Fraaije, B. A., & Zhou, M. (2018). Impact of epoxiconazole on *Fusarium* head blight control, grain yield and deoxynivalenol accumulation in wheat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *152*, 138–147. <https://doi.org/10.1016/J.PESTBP.2018.09.012>
- Gálvez Gamboa, G. T., Sánchez Servín, M. R., Parra Cota, F., García Pereyra, J., Aviña Martínez, G. ., & Santos Villalobos, S. (2018). Plaguicidas en la agricultura mexicana y potenciales alternativas sustentables para su sustitución. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, *6*(1), 61–75. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v6i1.138>
- González, L. C., Lorenzo Nicao, M. E., Muiño, B. L., Pérez, R. H., & Sánchez, D. G. (2015). Efecto in vitro de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum* cepa A- 34. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, *47*(2), 185–196.
- Lanje, A. S., Sharma, S. J., Pode, R. B., & Ningthoujam, R. S. (2010). *AdSSR-2010-1-2-36-40 - CuO 6nm.pdf*. *1*(2), 36–40.

- Lira-Saldivar, R. H., Argüello, B. M., Villarreal, G. D. los S., & Reyes, I. V. (2018). Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28(2), 9–24. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>
- Malbrán, I., Mourellos, C. A., Girotti, J. R., Balatti, P. A., & Lori, G. A. (2014). Toxigenic Capacity and Trichothecene Production by *Fusarium graminearum* Isolates from Argentina and Their Relationship with Aggressiveness and Fungal Expansion in the Wheat Spike. *https://Doi.Org/10.1094/PHYTO-06-13-0172-R*, 104(4), 357–364. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-13-0172-R>
- McMullen, M., Bergstrom, G., De Wolf, E., Dill-Macky, R., Hershman, D., Shaner, G., & Van Sanford, D. (2012). A Unified Effort to Fight an Enemy of Wheat and Barley: *Fusarium* Head Blight. *https://Doi.Org/10.1094/PDIS-03-12-0291-FE*, 96(12), 1712–1728. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0291-FE>
- Morales García, M. (2020). *Caracterización de la actividad micoparasítica y benéfica de un aislado de Trichoderma viride en presencia de nanopartículas de CuO*. CIMAV.
- Olmedo-Monfil, V., Mendoza-Mendoza, A., Gómez, I., Cortés, C., & Herrera-Estrella, A. (2002). Multiple environmental signals determine the transcriptional activation of the mycoparasitism related gene *prb1* in *Trichoderma atroviride*. *Molecular Genetics and Genomics*, 267(6), 703–712. <https://doi.org/10.1007/S00438-002-0703-4/METRICS>
- Pariona, N., Mtz-Enriquez, A. I., Sánchez-Rangel, D., Carrión, G., Paraguay-Delgado, F., & Rosas-Saito, G. (2019). Green-synthesized copper nanoparticles as a potential antifungal against plant pathogens. *RSC Advances*, 9(33), 18835–18843. <https://doi.org/10.1039/C9RA03110C>
- Qi, T., Guo, J., Peng, H., Liu, P., Kang, Z., & Guo, J. (2019). Host-Induced Gene Silencing: A Powerful Strategy to Control Diseases of Wheat and Barley. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol. 20, Page 206, 20(1), 206. <https://doi.org/10.3390/IJMS20010206>
- Ramírez-Valdespino, C., Morales-García, M., Herrera-Perez, G., & Orrantia-Borunda, E. (2020). Synthesis and Characterization of CuO Nanoparticles and Their Effect in Alfalfa Plants. *Microscopy and Microanalysis*, 26(S2), 1276–1277. <https://doi.org/10.1017/S1431927620017559>
- Ranganathan, A. (2004). *The Levenberg-Marquardt Algorithm*.
- Ribichich, K. F., Lopez, S. E., & Vegetti, A. C. (2007). Histopathological Spikelet Changes Produced by *Fusarium graminearum* in Susceptible and Resistant Wheat Cultivars. *https://Doi.Org/10.1094/PDIS.2000.84.7.794*, 84(7), 794–802. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.7.794>
- RRUFF. (n.d.). *Tenorite R120076 - RRUFF Database: Raman, X-ray, Infrared, and Chemistry*. Retrieved June 13, 2024, from <https://rruff.info/tenorite/display=default/R120076>
- Salas-Leiva, J., Herrera-Pérez, G., Palma-Cano, L., Rojas-George, G., Ornelas-Gutierrez, C., & Luna-Velasco, A. (2019). Structural and Microstructural Analysis for CuO Nanoparticles Prepared by Precipitation Method. *Microscopy and Microanalysis*, 25(S2), 1984–1985. <https://doi.org/10.1017/S1431927619010651>
- Schmoll, M., & Schuster, A. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(3), 787–799. <https://doi.org/10.1007/S00253-010-2632-1/FIGURES/1>
- Shang, Y., Kamrul Hasan, M., Ahammed, G. J., Li, M., Yin, H., & Zhou, J. (2019). Applications of Nanotechnology in Plant Growth and Crop Protection: A Review. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 2558, 24(14), 2558. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24142558>
- Shinde, A. B., Mhamane, D. A., & Nishandar, S. V. (2019). Experimental investigation of rheological properties of water lubricant by adding CuO nano particles. *AIP Conference Proceedings*, 2200(1). <https://doi.org/10.1063/1.5141238>
- SIAP. (2023). *De Nuestra cosecha...*
- Siddiqui, H., Qureshi, M. S., & Haque, F. Z. (2020). Biosynthesis of Flower-Shaped CuO Nanostructures and Their Photocatalytic and Antibacterial Activities. *Nano-Micro Letters*, 12(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/S40820-019-0357-Y/FIGURES/4>
- Sowell, A., & Williams, A. (2024). Economic Research Service | Situation and Outlook Report. *USDA*.
- Sundar, A. R., Das, N. D., & Krishnaveni, D. (1995). In-vitro Antagonism of *Trichoderma* spp. against two Fungal Pathogens of Castor. *Indian J. Plant Prot.*, 23, 152–155. [www.IndianJournals.com](http://www.IndianJournals.com)

- Thakar, M. A., Saurabh Jha, S., Phasinam, K., Manne, R., Qureshi, Y., & Hari Babu, V. V. (2021). X ray diffraction (XRD) analysis and evaluation of antioxidant activity of copper oxide nanoparticles synthesized from leaf extract of *Cissus vitiginea*. *Materials Today: Proceedings*, 51, 319–324. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.05.410>
- Tóth, B., Kászonyi, G., Bartók, T., Varga, J., & Mesterházy, Á. (2008). Common resistance of wheat to members of the *Fusarium graminearum* species complex and *F. culmorum*. *Plant Breeding*, 127(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0523.2008.01412.X>
- Viet, P. Van, Nguyen, H. T., Cao, T. M., & Hieu, L. Van. (2016). *Fusarium* Antifungal Activities of Copper Nanoparticles Synthesized by a Chemical Reduction Method. *Journal of Nanomaterials*, 2016(1), 1957612. <https://doi.org/10.1155/2016/1957612>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). Trichoderma–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2007.07.002>
- Viterbo, A., Ramot, O., Chernin, L., & Chet, I. (2002). Significance of lytic enzymes from *Trichoderma* spp. in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 81(1–4), 549–556. <https://doi.org/10.1023/A:1020553421740/METRICAL>
- Zhou, Z., Duan, Y., & Zhou, M. (2020). Carbendazim-resistance associated  $\beta$ 2-tubulin substitutions increase deoxynivalenol biosynthesis by reducing the interaction between  $\beta$ 2-tubulin and IDH3 in *Fusarium graminearum*. *Environmental Microbiology*, 22(2), 598–614. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14874>

# MÉTODOS ALTERNATIVOS DE COMBATE

## ACTIVIDAD INSECTICIDA DE FITOQUÍMICOS CONTRA *Rhyssomatus nigerrimus*

Marilem Rodríguez-Labastida<sup>1\*</sup>, Guillermo López-Guillén<sup>2</sup>, Gonzalo Iván Silva-Aguayo<sup>3</sup>, Eyra Ortiz-Pérez<sup>4</sup>, Arnoldo Wong-Villarreal<sup>5</sup>, Ariel W. Guzmán Franco<sup>1</sup>, Liliana Aguilar-Marcelino<sup>6</sup> y Ma. Teresa Santillán-Galicia<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco, km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México.

<sup>3</sup>Facultad de Agronomía. Universidad de Concepción. Casilla 537. Chillán. Chile

<sup>4</sup>Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa 88710, Tamaulipas, México.

<sup>5</sup>División Agroalimentaria, Universidad Tecnológica de la Selva, Ocosingo, Chiapas, México.

<sup>6</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Forestales y Pecuarias, Centro de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, Jiutepec, Morelos, México.

\*Autor para correspondencia: [rodriguez.marilem@colpos.mx](mailto:rodriguez.marilem@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

El picudo de la soya *Rhyssomatus nigerrimus* (Fahraeus) es una plaga muy perjudicial que ocasiona considerables pérdidas en los cultivos de soya en México, especialmente en los estados como Chiapas, Tamaulipas, San Luis Potosí y Veracruz (Terán-Vargas *et al.*, 2014). Las hembras ponen huevos en las vainas de la soya y las larvas se alimentan de las semillas, causando hasta un 70% de daños si no se toman medidas de control. Para combatir el picudo de la soya, se utilizan insecticidas como el fipronil (Regent<sup>®</sup>) y tiametoxam (López-Guillén *et al.*, 2022). El uso de insecticidas tiene un impacto negativo en el ambiente, por lo que se buscan alternativas de control. Los fitoquímicos presentes en las plantas son una opción biodegradable y potencialmente efectiva contra las plagas agrícolas. Los objetivos del trabajo fueron determinar la concentración letal media de los extractos de *Piper auritum* (Kunth), *Ruta graveolens* (L.) y *Petiveria alliacea* (L.) contra el picudo de la soya *R. nigerrimus*, identificar los fitoquímicos de los extractos de las plantas anteriormente mencionadas y predecir la toxicidad de estos fitoquímicos en *R. nigerrimus* mediante el uso de un modelo *in silico*.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el laboratorio de Sanidad Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México, en 2023 y en el Laboratorio de Metabolómica del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del INIFAP, Jiutepec, Morelos, México,

en 2024. Las plantas medicinales *R. graveolens* se colectaron en San Juan Tlacotenco, Tepoztlán, Morelos, México, *P. auritum* y *P. alliacea* en Tuxtla Chico, Chiapas, México, en 2023. Las hojas se lavaron, secaron en un horno (Arsa®) a 80 °C, y se molieron usando un molino (A 11 Basic; IKA® Molinos). Para obtener los fitoquímicos de los extractos, se utilizaron matraces Erlenmeyer de 2 L para cada planta. La extracción se realizó durante 24 h a 28 ± 2 °C en oscuridad total, con 250 g de planta en 1 L de metanol al 100% (MeOH). Una vez completada la extracción, se filtró y se concentró en un evaporador rotativo (Heidolph® G3, Hei-VA Precision). Se realizaron colectas de los insectos adultos de *R. nigerrimus* de forma manual en los cultivos de soya en el municipio de Tapachula, Chiapas, México, durante los meses de julio, noviembre y diciembre de 2023. Los insectos fueron colocados en frascos de plástico de 1 L cubiertos con tela organdí y alimentados con camote morado (*Ipomoea batatas*) (López-Guillén *et al.*, 2016). Para determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>), se llevaron a cabo bioensayos de toxicidad por contacto de superficie contaminada, utilizando cajas Petri modificadas de 10 cm con tapas de malla. En éstas se agregaron 200 µL, de manera independiente, de los extractos a diferentes concentraciones, utilizando Tween 20 y hexano como solventes. Los tratamientos fueron los tres extractos de las plantas, los cuales se aplicaron en siete concentraciones: 10, 15, 20, 25, 30 y 40 mg/mL. Los controles negativos fueron Tween 20 al 0.5% para el extracto de *R. graveolens* y hexano al 100% para los extractos de *P. auritum* y *P. alliacea*; así como un control positivo con fipronil al 1% (DULKO 480 SC®). La mortalidad de los insectos se registró a las 96 horas posteriores a la exposición a los tratamientos y controles, considerando muerto a aquel individuo incapaz de presentar movimiento al ser estimulado con un pincel durante un minuto (López-Guillén *et al.*, 2016). El estudio se realizó con un diseño completamente aleatorizado, donde cada combinación de extracto y sus concentraciones tuvieron 10 repeticiones, y todo el experimento se realizó en tres fechas diferentes. Los datos de mortalidad se analizaron utilizando Probit de modelos paralelos con el programa GenStat v8 (2005). Los datos de los testigos negativo y positivo fueron excluidos del análisis, ya que se obtuvieron mortalidades del 0 y 100%, respectivamente. La identificación de los fitoquímicos presentes en los extractos se realizó utilizando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en un cromatógrafo de gases (CG) Thermo Scientific TRACE con un detector de masas de trampas de iones ITQ900 (Thermo Electron Corporation, Milan, Italia). Para realizar el modelo *in silico*, se revisaron diferentes bases de datos, para la selección de proteínas. Las estructuras cristalizadas se

obtuvieron del Banco de Datos de Proteínas (PDB) disponible en [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org). Los ligandos cristalizados se descargaron de PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). La estructura del control positivo (Fripónil) se obtuvo de DrugBank (<https://go.drugbank.com/>). La validación y el acoplamiento de las estructuras se realizaron con Open Babel y gnina, respectivamente. Las interacciones residuo-ligando se analizaron con los programas PLIP y Pymol.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayor toxicidad (CL<sub>50</sub> de 11.53 mg/mL) contra *R. nigerrimus* fue con el extracto de *R. graveolens*. Los tratamientos de *Petiveria alliacea* y *Piper auritum* proporcionaron una CL<sub>50</sub> de 18.57 mg/mL y 18.28 mg/mL, respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Toxicidad de los extractos de plantas medicinales contra *Rhyssomatus nigerrimus*. L.F.= límites fiduciales, e.e.= error estándar

Plantas medicinales	CL <sub>50</sub> (mg/mL)	L.F. (%)	Pendiente (e.e.)	Ordenada al origen (e.e.)
<i>Petiveria alliacea</i>	18.57	15.65-20.78	3.099 (0.467)	-3.932 (0.657)
<i>Piper auritum</i>	18.28	14.44-20.87	2.031 (0.420)	-2.563 (0.580)
<i>Ruta graveolens</i>	11.53	10.27-12.63	3.562 (0.303)	-3.783 (0.383)

Los resultados obtenidos en este estudio respaldan la eficacia de los extractos de *R. graveolens*, *P. alliacea* y *P. auritum* como agentes tóxicos contra *R. nigerrimus*, siendo *R. graveolens* la más tóxica. Esta es la primera evidencia de la evaluación de los extractos utilizados con las hojas de esta planta contra este insecto, lo que representa un gran avance en relación con los estudios que buscan el control del picudo. Akintan y Akinneye, (2020), sugieren que el extracto de la corteza y aceite esencial de *P. alliacea* puede utilizarse contra plagas, en su investigación encontraron que el extracto de la hoja tuvo de 75 al 100% de mortalidad durante 2 h de exposición contra el adulto del mosquito *Culex quinquefasciatus*. De igual forma, se observó que los extractos del tallo de *P. alliacea* mostraron actividad acaricida contra la garrapata bovina *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, ya que obtuvieron una mortalidad de 100% en larvas (Rosado-Aguilar *et al.*, 2010). La actividad de los aceites de *R. graveolens* mostró actividad insecticida contra *Ephestia kuehniellabasilicum* y *Ectomyeloides ceratoniae* obteniendo un valor de

CL<sub>50</sub> de 1.02 µL/L y 1.97 µL/L, respectivamente (Chaaban *et al.*, 2019). Jiménez-Durán *et al.* (2021), investigaron la actividad insecticida del extracto metanólico de *P. auritum* contra los primeros estadios de *Spodoptera frugiperda* observando el 100% de mortalidad a una concentración de 92 mg/cm<sup>2</sup>.

En cuanto al análisis cromatográfico, se observaron siete compuestos en *P. auritum*, del cual el fitol ya ha sido reportado en la literatura (Conde-Hernández *et al.*, 2017). Para el extracto de *P. alliacea* se encontraron: fitol, benzofurano, ácido hexadecanoico y éster metílico. En cuanto a *R. graveolens* se encontró 2-undecanona y 2-Tridecanona. En general, los resultados del análisis fitoquímico de *R. graveolens*, son consistentes con lo reportado en diversos estudios (Bozhuyuk, 2020; da Silva *et al.*, 2014). Las diferencias de los compuestos encontrados en este estudio en comparación con otros pueden basarse en diversos factores, como el ambiente, tipos de solventes, métodos de extracción (Haggerty y Mazer, 2008), tipo de suelo, clima, altitud, latitud, época y hora de colecta. Finalmente, se utilizaron varias plataformas y software para el análisis *in silico*, estas plataformas y software predicen las actividades biológicas de las moléculas utilizando la relación estructura-actividad (Filimonov *et al.*, 2014). Se buscó la estructura de los ligandos cristalizados descargados de PubChem. Se revisó la literatura sobre la selección de proteínas blanco y se revisaron varias bases de datos del Banco de Datos de Proteínas (PDB: Protein Data Bank), base de datos Uniprot y AlphaFold. Sin embargo, la información acerca de la secuencia de aminoácidos y/o proteínas del picudo de la soya *Rhyssomatus nigerrimus*, necesarias para el análisis de acoplamiento molecular no existen, por lo que el análisis de modelos *in silico* no fue posible. Por lo que se sugiere sintetizar los compuestos encontrados, para evaluarlos en adultos del picudo, y así determinar cuál o cuáles de éstos son los responsables de causar la mortalidad en este insecto.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT por la beca otorgada para la realización de sus estudios de Doctorado. Al proyecto 2-1.6-11144235374-A-M.2-: Desarrollo de variedades y manejo agronómico para mejorar la productividad y fomentar la expansión del cultivo de soya en los Estados de Chiapas y Oaxaca. Agradecemos las facilidades otorgadas por el Laboratorio de Sanidad Vegetal, Campo

Experimental Rosario Izapa, INIFAP y al Laboratorio de Metabolómica del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del INIFAP, Jiutepec, Morelos, México.

### LITERATURA CITADA

Akintan MO, Akinneye JO. 2020. Fumigant toxicity and phytochemical analysis of *Petiveria alliacea* (Linneaus) leaf and root bark oil on adult *Culex quinquefasciatus*. Bulletin of the National Research Centre, 44(1).

Bozhuyuk AU. 2020. Herbicidal activity and chemical composition of two essential oils on seed germinations and seedling growths of three weed species. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 23(4), 821–831.

Chaaban SB, Hamdi SH, Mahjoubi K, Jemâa JMB. 2019. Composition and insecticidal activity of essential oil from *Ruta graveolens*, *Mentha pulegium* and *Ocimum basilicum* against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Plant Diseases and Protection: Scientific Journal of the German Phytomedical Society (DPG)

Conde-Hernández LA, Espinosa-Victoria JR, Guerrero-Beltrán JÁ. 2017. Supercritical extraction of essential oils of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. The Journal of Supercritical Fluids, 127, 97–102.

da Silva FGE, Mendes FRdaS, Assunção JCdaC, Santiago GPM, Bezerra MA, Barbosa FG, Mafezoli J, Rodrigues RR. 2014. Seasonal variation, larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Ruta graveolens* L. Journal of Essential Oil Research, 26(3), 204–209.

Haggerty BM, Mazer SJ. 2008. The phenology handbook. A guide to phenological monitoring for students, Teachers, Families, and Nature Enthusiasts. University of California: Santa Barbara, CA, USA, 2008. [https://bpb-us-w2.wpmucdn.com/u.osu.edu/dist/0/103634/files/2021/04/The-Phenology-Handbook\\_v3Aug2009.pdf](https://bpb-us-w2.wpmucdn.com/u.osu.edu/dist/0/103634/files/2021/04/The-Phenology-Handbook_v3Aug2009.pdf) (Acceso en 10 junio 2024)

Filimonov DA, Lagunin AA, Glorizova TA, Rudik AV, Druzhilovskii DS, Pogodin PV, Poroikov VV. 2014. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. Chemistry of Heterocyclic Compounds, 50(3), 444–457.

Jiménez-Durán A, Barrera-Cortés J, Lina-García LP, Santillán R, Soto-Hernández RM, Ramos-Valdivia AC, Ponce-Noyola T, Ríos-Leal E. 2021. Biological activity of phytochemicals from agricultural wastes and weeds on *Spodoptera frugiperda* (J.e. smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Sustainability, 13(24), 13896.

López-Guillén G, Valdez-Carrasco J, Gómez RJ, Martínez ZCJ, Cruz-López L. 2016. Sexual dimorphism and ratio of natural populations of *Rhyssomatus nigerrimus* adults. Southwestern Entomologist, 41(3), 837-844.

López-Guillén G, López-Morales D, Castañeda-Ramírez GS, Aguilar-Marcelino L, Cruz-López L, Grajales-Solís M, Alonso-Báez M. 2022. Evaluación de insecticidas comerciales para el control químico de *Rhyssomatus nigerrimus* (Coleoptera: Curculionidae). Memorias del III Congreso Nacional Entomología Aplicada, Morelos, México.

Terán-Vargas A, López-Guillén G. 2014. El picudo de la soya *Rhyssomatus nigerrimus* Fahraeus 1837 (Coleoptera: Curculionidae). Coyoacán, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.

Rosado-Aguilar JA, Aguilar-Caballero A, Rodriguez-Vivas RI, Borges-Argaez R, García-Vázquez Z, Méndez-González M. 2010. Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 168(3–4), 299–303. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.022>

## EXPRESIÓN TISULAR DE DIEZ GENES DE UNIÓN A OLORES (OBPS) EN TRES ESTADOS DE MADURACIÓN DE ADULTOS DE *Ceratitis capitata* (Wiedemann)

María Guadalupe Reyes Santiago<sup>1</sup>, Obdulia Lourdes Segura-León<sup>2\*</sup>, Brenda Torres-Huerta<sup>2</sup>, José Manuel Pineda Ríos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, Km 38.5, 56230, Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup> Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México.

\*Autor de correspondencia: [sleon@colpos.mx](mailto:sleon@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

La mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata* Wiedemann), también conocida como moscamed, es una de las plagas más destructivas del mundo. Esta especie polífaga puede alimentarse de más de 200 especies de plantas y tiene una notable capacidad para adaptarse a una amplia variedad de climas. Su establecimiento en México podría causar pérdidas económicas superiores a los 7 mil millones de dólares anuales, además de restringir la exportación y movilización nacional de productos hortofrutícolas (Salcedo-Baca *et al.*, 2009; Szyniszewska & Tatem, 2014).

En 1978 se creó el Programa MOSCAMED y desde 1982 México mantiene un estatus como país libre de la moscamed (Enkerlin *et al.*, 2015). Dentro de las estrategias fitosanitarias implementadas por el programa se incluye la Técnica del Insecto Estéril (TIE) que integra la biología, ecología y comportamiento de *C. capitata* (Liedo *et al.*, 2020). Gran parte del comportamiento de la moscamed se basa en estímulos olfativos, los cuales están estrechamente relacionados con su supervivencia, búsqueda de hospederos, reproducción y oviposición (Sims *et al.*, 2022). Este sistema es mediado por un conjunto de proteínas sensoriales, entre ellas las proteínas de unión a olores (OBPs). Estas proteínas son pequeñas, globulares, hidrofílicas y actúan como el primer filtro en la detección de infoquímicos, esenciales en la regulación de comportamientos vitales (Zhou, 2010).

A pesar de la importancia de las OBPs, hasta el presente año existía una falta de consenso sobre su número y clasificación en la moscamed (Torres-Huerta *et al.*, 2024). Actualmente, hay una brecha en el conocimiento sobre su caracterización funcional y perfiles de expresión, limitada a moscas vírgenes de cuatro días de edad de la cría ISPRA (Siciliano *et al.*, 2014). Por ello, el objetivo del presente trabajo es caracterizar la expresión de 10 CcapOBPs en diferentes

tejidos sensoriales de adultos machos y hembras en distintos estados fisiológicos de madurez. Estas OBPs son homólogas a las de la mosca modelo *Drosophila melanogaster*, las cuales fueron reportadas como específicas para órganos sensoriales.

## MATERIALES Y MÉTODO

**Colecta de material biológico.** Se estableció una cría de material silvestre en la Colonia Madre de la Nueva Planta Moscamed, a partir de cerezas de café infestadas con larvas de la moscamed, recolectadas en Las Cruces, Frontera Comalapa, Chiapas, el 14 de junio de 2023. El material biológico incluyó 150 machos y 150 hembras de la F2 en tres estados fisiológicos: recién emergidos (1-3 días), con madurez sexual vírgenes (8-10 días) y copulados.

**Disección de tejidos sensoriales, extracción de ARN total y síntesis de cDNA.** Se realizaron disecciones de 20 cabezas completas, 120 pares de antenas, 120 aparatos bucales, 25 cabezas sin antenas ni aparatos bucales y 420 patas de hembras y machos en las tres etapas fisiológicas. Todos los tejidos disectados se conservaron en RNAlater a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la extracción de ARN total. Se realizaron 30 extracciones de ARN total utilizando el kit SV Total RNA Isolation System de Promega. La cantidad y calidad del ARN total se evaluaron mediante el Nanodrop 2000. La síntesis de cDNA se realizó con el kit GoScript™ Reverse Transcription Mix, Oligo(dT) de Promega con 200 ng de ARN total para todos los tejidos, excepto para antenas de inmaduros de machos y hembras y machos maduros vírgenes, donde se utilizaron 100 ng de ARN total.

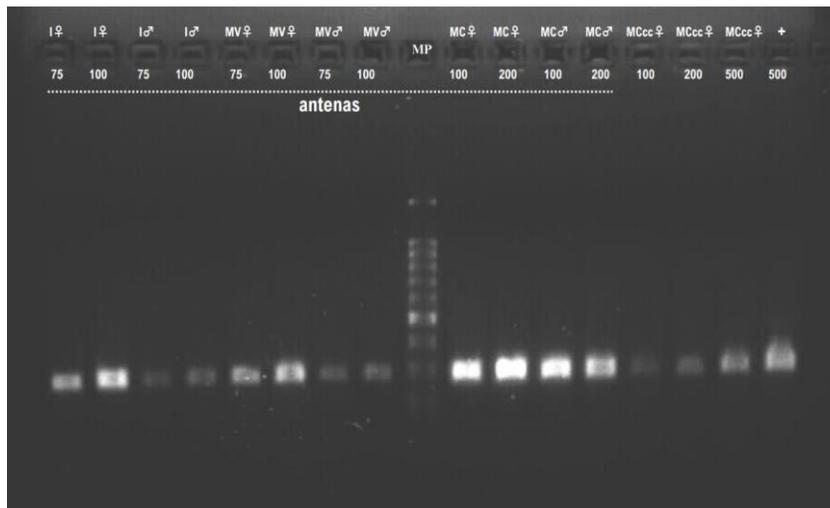
**Amplificación génica de CcapObps en tejidos sensoriales de machos y hembras en tres etapas fisiológicas.** Los cebadores para las diez CcapOBPs se diseñaron en Geneious v2024.0.2 y se sintetizaron en T4 Oligo, Irapuato, México. Las reacciones de RT-PCR se realizaron con 100 ng/ $\mu\text{L}$  de ADNc y 2  $\mu\text{L}$  de cebadores en un volumen final de 25  $\mu\text{L}$  con GoTaq Master Mix de Promega. Las condiciones de RT-PCR consistieron en: desnaturalización a  $94^{\circ}\text{C}$  por 3 minutos, 30 ciclos a  $94^{\circ}\text{C}$  por 30 segundos, alineación específica durante 30 segundos, extensión a  $72^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos y extensión final a  $72^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos. Se utilizó cDNA de cabezas completas como control positivo. Los resultados se evaluaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% con Red Stain Gel de Biotium

como agente intercalante y se visualizaron en un sistema Quantum ST5 de Vilber Lourmat.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Extracción de ARN total y síntesis de cDNA.** Las concentraciones de ARN total en la mayoría de los tejidos fueron adecuadas para la síntesis de cDNA, superando los 200 ng/μL, con relaciones de absorbancia 260/280 de 2.0-2.2 y 260/230 de 2. Estos indicadores confirmaron que las muestras eran de alta calidad y aptas para la síntesis de cDNA y análisis de expresión génica. Sin embargo, las concentraciones en las antenas fueron bajas (10-47.5 ng/μL).

Para las antenas, se realizaron pruebas de síntesis de cDNA con diferentes concentraciones de ARN total (75, 100 y 200 ng), junto con un control positivo y se corroboró la integridad mediante la amplificación de la *Ccapobp28a* con un control positivo estandarizado. No se observaron diferencias significativas en la síntesis de cDNA y la concentración de 100 ng/μL de ARN fue óptima ya que no hubo diferencias notables en la intensidad y el ancho de las bandas (figura 1). Por lo tanto, la síntesis de cDNA para la mayoría de los tejidos se realizó con 200 ng/μL, excepto en tres tejidos de antena con baja concentración, donde se utilizó 100 ng/μL de ARN total. Los resultados mostraron una concentración ideal para RT-PCR, superando los 1000 ng/μL por síntesis.



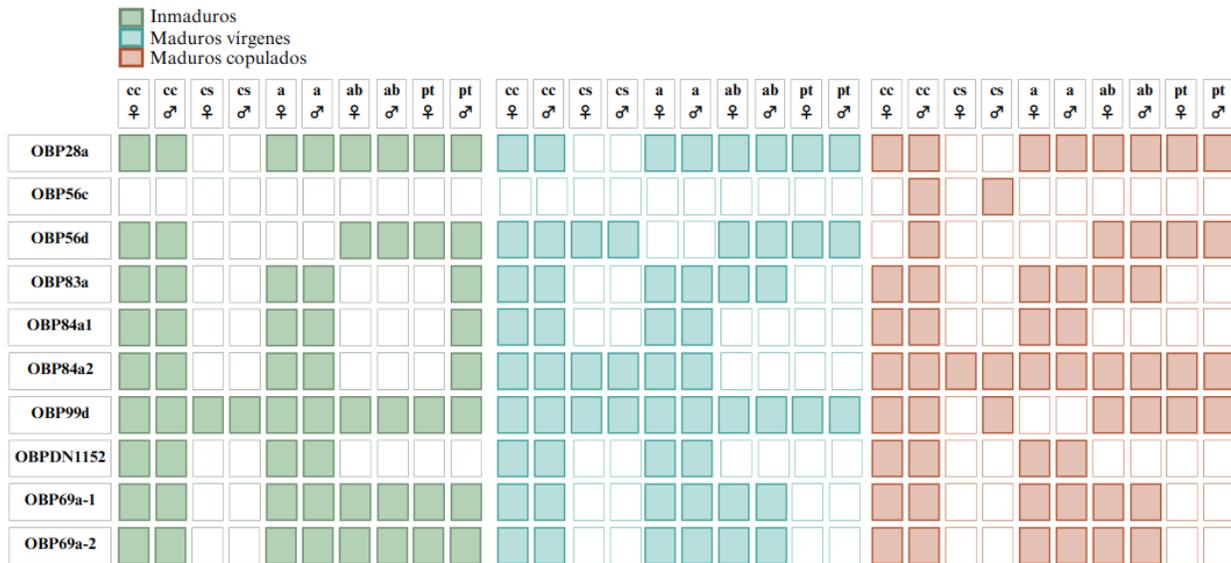
**Figura 1.** RT-PCR de *CcapObp28a*. Inmaduras (I), maduros vírgenes (MV), maduros copulados (MC). ♂: machos; ♀: hembras; cc: cabeza completa; MP: marcador de peso; +: positivo estandarizado.

**Análisis de Perfiles de expresión.** En la figura 2 se presentan los perfiles de expresión de 10 genes OBP en individuos de *C. capitata* en tres estados fisiológicos distintos,

abarcando varios tejidos sensoriales, incluyendo la cabeza completa y la cabeza sin órganos sensoriales. En general, se logró amplificar con éxito las 10 *CcapObps* seleccionadas, observándose variaciones en la expresión según el estado fisiológico, el tejido sensorial y el sexo.

Los genes *CcapObp28a* y *CcapObp99d* mostraron **expresión general** en todos los tejidos sensoriales y estados fisiológicos, en ambos sexos. *CcapObp28a* tuvo una alta expresión en antenas, aparato bucal y patas de individuos maduros copulados, y en patas de individuos vírgenes. Por otro lado, *CcapObp99d* se expresó de manera tenue, sugiriendo niveles de expresión bajos.

En los órganos sensoriales de la cabeza, *CcapObp69a1* y *CcapObp69a2* se **expresaron en antenas y aparato bucal**, con mayor expresión en antenas y similar en ambos sexos y estados fisiológicos, mientras que, en individuos copulados, la expresión en aparato bucal fue mayor en comparación con otros estados. El gen *CcapObp56d* se **expresó en aparato bucal y patas**, pero no en antenas, la expresión fue similar en inmaduros y hembras.



**Figura 2.** Representación de los perfiles transcripcionales de las 10 *Ccapobps*, en los tejidos de machos y hembras de las tres etapas fisiológicas evaluadas. Cc: cabeza completa; es: cabeza sin órganos sensoriales; a: antena; ab: aparato bucal; pt: patas; ♂: machos; ♀: hembras.

Tres genes mostraron **expresión específica en antenas**: *CcapObp83a*, *CcapObp84a1* y *CcapObp83a-r*. *CcapObp83a* tuvo alta expresión en individuos copulados y ligera en

aparato bucal de vírgenes y copulados. *CcapObp83a-r* mostró expresión similar en machos y hembras en todos los estados fisiológicos. *CcapObp84a1* se expresó en antenas en todos los estados, con alta expresión en hembras vírgenes y machos copulados. *CcapObp84a-2* se expresó en antenas de inmaduros y vírgenes, y en copulados mostró inespecificidad, expresándose en antenas, aparato bucal, patas y cabeza completa.

Finalmente, el gen *CcapObp56c* **no mostró expresión en ningún tejido sensorial** ni en la cabeza completa en machos y hembras de los tres estados fisiológicos. Solo se observó amplificación en individuos copulados, específicamente en la cabeza completa y cabeza sin órganos sensoriales de machos.

### AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, por el equipo y las instalaciones. al Programa MOSCAMED por el material biológico y a la Universidad Autónoma Chapingo por la educación y sustento recibido.

### LITERATURA CITADA

- Enkerlin, W., Gutiérrez-Ruelas, J. M., Cortes, A. V., Roldan, E. C., Midgarden, D., Lira, E., ... & Arriaga, F. J. T. (2015). Area freedom in Mexico from Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): a review of over 30 years of a successful containment program using an integrated area-wide SIT approach. *Florida entomologist*, 98(2), 665-681. (s/f). <https://doi.org/10.1653/024.098.024>
- Guzmán-Plazola, R. M. 2010. Mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann), Ficha técnica. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Texcoco, Estado de México, México.
- Liedo, P., Enkerlin, W. R., & Hendrichs, J. (2020).19. La Técnica del Insecto Estéril. En P. Montoya, J. Toledo y E. Hernández (Eds), *Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo*. (pp. 357-374). S y G Editores.
- Salcedo-Baca, D., Lomelí-Flores J. R, Terrazas-González G. H. (2009). Evaluación económica del Programa Moscamed en México (1978 - 2008) / IICA – México: IICA. 144 p.
- Sims, C., Birkett, M. A., & Withall, D. M. (2022). Enantiomeric Discrimination in Insects: The Role of OBPs and ORs. *Insects*, 13(4), 368. <https://doi.org/10.3390/insects13040368>
- Szyniszewska, A., & Tatem, A. J. (2014). Global Assessment of Seasonal Potential Distribution of Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: tephritidae). *PLOS ONE*, 9(11), e111582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111582>
- Torres-Huerta, B., Segura-Leon, O. L., Meza, H. S., Cibrián-Tova, J. Soto-Rojas, L. (2023). Análisis genómico y transcriptómico de la familia de genes de proteínas de unión a olores de *Ceratitis capitata*. Manuscrito inédito. Departamento de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados
- Zhou, J. J. 2010. Odorant-binding proteins in insects. *Vitam Horm*, 83: 241–272. [https://doi.org/10.1016/s0083-6729\(10\)83010-9](https://doi.org/10.1016/s0083-6729(10)83010-9)

# ETIOLOGÍA DE ENFERMEDADES E INSECTOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE PITAHAYA (*Hylocereus* spp. (Caryophyllales:Cactaceae)) EN EL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO

Edith Luna-Martínez<sup>1</sup>, Sergio Aranda-Ocampo<sup>\*</sup>, Dimas Mejía-Sánchez<sup>2</sup>, Manuel Livera-Muñoz<sup>3</sup>, Daniel Teliz-Ortiz<sup>1</sup>, Antonio Mora-Aguilera<sup>1</sup>, Laura Delia Ortega-Arenas<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Postgrado Fitosanidad-Fitopatología. Km. 36.5 Carretera México- Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. Km. 38.5 Carretera México- Texcoco, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

<sup>3</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad (PREGEP)- Genética. Km. 36.5 Carretera México- Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

<sup>4</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Postgrado Fitosanidad-Entomología. Km. 36.5 Carretera México- Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

\*Autor de correspondencia: saranda@colpos.mx.

## INTRODUCCIÓN

La pitahaya, también conocida como fruta del dragón, es originaria de Centro y Sudamérica (Bravo, 1978). En América se cultiva en Nicaragua, Colombia, México y Guatemala; no obstante, se ha extendido a Israel, Vietnam, China, India e Indonesia debido a su valor nutritivo (Balendres & Bengoa, 2019). En México, los principales productores de este fruto son los estados de Quintana Roo (10,347 t), Yucatán (3,821 t), Puebla (874 t), Tabasco (134 t) y Aguascalientes (103 t) (SIAP, 2023). Actualmente, las enfermedades amenazan la producción óptima de pitahaya. A nivel mundial, se han identificado 17 géneros y 25 especies de fitopatógenos que afectan flores, frutos y tallos en diferentes materiales genéticos de pitahaya; la mayoría de estas enfermedades son causadas por hongos (Balendres & Bengoa, 2019). En México, en los últimos 20 años, en el cultivo de pitahaya únicamente se han identificado dos enterobacterias asociadas con la pudrición del tallo y al hongo *Botryosphaeria dothidea* como agente causal de necrosis en tallos en el estado de Yucatán (Valencia-Botín *et al.*, 2004; 2013). Desde entonces, no existe información adicional sobre enfermedades que afectan la producción de pitahaya en México. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar la etiología de las principales enfermedades que afectan el cultivo de pitahaya en el estado de Puebla, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el ciclo de producción de 2023, se realizaron muestreos en diferentes etapas fenológicas del cultivo de pitahaya (mayo-junio, julio-agosto y septiembre-octubre) en los municipios de Santa Clara Huitziltepec y San Gabriel Chilac en el estado de Puebla. En cada etapa se recolectaron muestras de frutos y tallos con síntomas de pudrición, tallos con manchas negras e insectos asociados al cultivo.

### **Aislamiento de bacterias de tallos y frutos con síntomas de pudrición**

Se cortaron aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> de tejido en la zona de transición entre tejido sano y enfermo. El tejido se desinfectó con hipoclorito de sodio al 1% durante 30 segundos, seguido de tres lavados con agua destilada estéril. Posteriormente, se maceraron 0.5 g de tejido en agua destilada estéril; de aquí, se sembraron 100 µL en placas con medio de cultivo B de King (BK), R2A y CPV. Las placas se incubaron a 4 y 28°C durante 10 y 3 días respectivamente. Del crecimiento bacteriano se purificaron los diferentes morfotipos en medio agar Wilbrinks. Los aislados bacterianos se preservaron en glicerol (30%) a -80 °C (Mahlangu & Tai, 2022).

### **Aislamiento de hongos del síntoma de mancha negra en tallo**

Se cortaron porciones de tejido de 1 cm<sup>2</sup> de la zona de transición entre tejido sano y enfermo con síntomas de mancha negra en tallo. El tejido se desinfectó con hipoclorito de sodio al 1% durante 1 minuto, seguido de tres lavados con agua destilada estéril. Después, las porciones de tejido se colocaron en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) y se incubaron a 28 °C hasta que se observó crecimiento de micelio. Para obtener cultivos puros, se utilizó la técnica de punta de hifa en resiembras en el mismo medio de cultivo. Los hongos aislados se caracterizaron por morfometría.

### **Aislamiento de bacterias de insectos asociados a las flores de pitahaya**

Se recolectaron flores que aún permanecían abiertas por la mañana y se colocaron en jaulas para conservar con vida los insectos asociados. Los insectos se agruparon con base a la similitud de las características morfológicas. Dos ejemplares de cada grupo se colocaron en un tubo Eppendorf con cuatro repeticiones. Los insectos de dos repeticiones se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante 30 segundos y los insectos de las otras dos repeticiones se mantuvieron sin desinfectar. Después, se agregó 1 mL de buffer fosfato a cada tubo y los

insectos se maceraron con un micropistilo; de aquí, se sembraron 100  $\mu\text{L}$  en placas con los medios de cultivo BK, R2A y CPV. Las placas se incubaron a 4 y 28 °C durante 10 y 3 días respectivamente. Del crecimiento bacteriano se purificaron los diferentes morfotipos en medio Wilbrinks agar.

### **Patogenicidad en tallos de pitahaya**

La patogenicidad de los aislamientos bacterianos y fúngicos se evaluó en tallos de pitahaya desinfectados con hipoclorito de sodio al 1% durante 1 minuto, seguido de tres lavados con agua destilada estéril. Los aislamientos bacterianos se inocularon por herida directa en tallos y rodajas de tallo (aproximadamente 1 cm de grosor) con 10  $\mu\text{L}$  de una suspensión celular con  $10^6$  ufc  $\text{mL}^{-1}$ . Los tallos y rodajas inoculados se incubaron en cámara húmeda a 28 °C y se realizaron observaciones diarias durante 10 días (Masyahit *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2017). La patogenicidad de los hongos aislados se evaluó por herida y sin herida en tallos. En ambos casos, se inocularon 0.2 mL de una suspensión con  $10^5$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de cada hongo aislado. Los tallos inoculados se mantuvieron en cámara húmeda (humedad relativa > 90%) y temperatura constante de 25 °C (Tarnowski *et al.*, 2010).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Bacterias aisladas de tallos y frutos con síntomas de pudrición**

Del síntoma de pudrición se aislaron ocho morfotipos bacterianos de los tallos y 12 de frutos. Entre estos, tres cepas aisladas de tallo (2TA, 2-3 y 2-Ex) y tres de fruto (1F2, 1FA y 2F7) reprodujeron el síntoma de pudrición en tallo de pitahaya. De los insectos colectados de las flores, se aislaron ocho morfotipos bacterianos, el aislamiento C1-4 aislada de *Nitops craigheadi* (Dobson, 1972) sin desinfectar causó pudrición en rodajas de tallos de pitahaya. Entre las bacterias que reprodujeron el síntoma de pudrición, cuatro fueron Gram negativas y tres Gram positivas. En México, en 2003, Valencia-Botín *et al.* consignan que al menos dos enterobacterias estaban involucradas en la pudrición de tallo en cultivos de pitahaya en Yucatán que no corresponden al género *Erwinia*; sin embargo, en este estudio no fueron concluyentes en la identificación precisa del agente causal. A nivel mundial, es limitada la información sobre bacterias fitopatógenas como agentes causales de pudrición en pitahaya.

### Hongos aislados de tallo y fruto

Se aislaron e identificaron por morfometría a *Bipolaris* y *Alternaria* spp. del síntoma de las manchas negras del tallo; *Glomerella* sp. del síntoma de antracnosis en el tallo, y *Alternaria* y *Pyrenochaeta* spp. del síntoma de mancha rojo-marrón en los frutos.

La identificación molecular de las bacterias y hongos aislados que han evidenciado patogenicidad mediante la inoculación experimental en pitahaya se encuentra en proceso en esta investigación.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al CONAHCyT por la beca otorgada y por financiar la investigación, así como a los productores por su apoyo en la toma de muestras dentro de sus parcelas.

### LITERATURA CITADA

- Balendres, M. A., & Bengoa, J. C. (2019). Diseases of dragon fruit (*Hylocereus* species): Etiology and current management options. *Crop protection*, 126, 104920. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104920>.
- Mahlangu, S. G., & Tai, S. L. (2022). Morphological and molecular characterization of bacterial endophytes from *Centella asiatica* leaves. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 20(1), 171. <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00456-8>.
- Masyahit, M., Sijam, K., Awang, Y., Ghazali, M., & Satar, M. (2009). First Report on Bacterial Soft Rot Disease on Dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) Caused by *Enterobacter cloacae* in Peninsular Malaysia. *Int. J. Agric. Biol.* 11. 1560-8530.
- SIAP. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2023). Base de datos en línea (Consulta: 04 de junio del 2024).
- Tarnowski, T. L. B., Palmateer, A. J., & Crane, J. H. (2010). First report of fruit rot on *Hylocereus undatus* caused by *Bipolaris cactivora* in South Florida. *Plant Disease*, 94(12), 1506-1506. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-10-0406>.
- Valencia-Botín, A. J., Cruz-Hernández, P., & Rodríguez-Canto, A. (2003). Avances en la etiología y manejo de la pudrición blanda de tallos de pitahaya, *Hylocereus undatus* H. (Cactaceae). *Fitosanidad*, 7(2), 11-17. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209118162002.pdf>.

- Valencia-Botín, A. J y Sandoval-Islas, J. S., Cárdenas-Soriano, E., Michailides, T. J. & Rendón-Sánchez, G. (2004). A New Stem Spot Disease of Pitahaya [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose] caused by *Fusicoccum*-like anamorph of *Botryosphaeria dothidea* (Moug.: Fr.) Ces. and De Not. in Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(1), 140-142. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61222119>.
- Valencia-Botín, A. J., Kokubu, H., & Ortiz-Hernández, Y. D. (2013). A brief overview on pitahaya (*Hylocereus* spp.) diseases. *Australasian Plant Pathology*, 42, 437-440.
- Zhang, R. Y., Zhao, S. X., Tan, Z. Q., & Zhu, C. H. (2017). First report of bacterial stem rot disease caused by *Paenibacillus polymyxa* on *Hylocereus undulates* in China. *Plant Disease*, 101(6), 1031-1031. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-16-1577-PDN>.



1 Extracción de los COV's. Para la adsorción de los COV's emitidos de los tejidos se expuso una  
2 fibra gris empacada de DVB/CAR/PDMS 50/30  $\mu\text{m}$  (Supelco®) en el espacio cabeza del frasco  
3 durante 30 min (n=4). Después la fibra fue retirada y desorbida en el puerto de inyección del  
4 cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-EM) durante 30 min a 40 °C.

5 Análisis de los COV's. El CG/EM (HP-6890/ HP-5973) estuvo equipado con una columna HP-  
6 5MS (30 m x 0.250 mm ID, 0.25  $\mu\text{m}$  de la fase estacionaria, J&W Science, Folsom, CA, USA). Se  
7 utilizó helio del 99.999 % de pureza con flujo de 1 mL/min. Las condiciones particulares del  
8 análisis ya se describieron previamente por Bautista-San Juan *et al.*, (2019). La identificación de  
9 los picos cromatográficos se realizaron mediante la comparación de sus espectros iónicos de las  
10 muestras con las de la biblioteca NIST V. 2014 y con estándares auténticos (Sigma Aldrich®).

### 11 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

12 Los perfiles de volátiles de las variedades de *C. annuum*, en flores y frutos fueron 33 y 44  
13 compuestos, respectivamente. Los COV's se agruparon en alcoholes, alcanos, aldehídos,  
14 monoterpenos, sesquiterpenos, ésteres, pirazinas y otros. Estos se caracterizan por su fácil  
15 volatilidad en el ambiente y son sensibles a temperaturas moderadas (Chern *et al.*, 2013).

16 En tejidos de flores, los chiles que registraron mayor número de COV's fueron la var. güero  
17 (22), árbol y piquín (17), bola (15), morrón (15), jalapeño (14) y serrano (13). Entre estos, el (Z)-  
18  $\beta$ -ocimeno, (E)- $\beta$ -ocimeno, terpinoleno, cosmeno, neo-alo-ocimeno y (Z)-3-hexenil isovalerato  
19 fueron los volátiles más comunes identificados en las siete variedades (Cuadro 1), excepto el último  
20 que no fue constante, pero representa un papel importante en el cultivo de Chile.

21 Cuadro 1. Comparación de medias de las abundancias (área bajo la curva) de COV's determinados  
22 en flores de *Capsicum* spp.

Variedad	ZBO	EBO	NAO	COS	TER
SER	0.6250a	0.0322a	0.1600ab	0.0284a	0.0323a
JAL	0.7050a	0.031a	0.1840ab	0.0111ab	0.0191a
GUE	0.6240a	0.0224a	0.0887b	0.0180ab	0.0179a
ARB	0.6920a	0.0343a	0.0904b	0.0063b	0.0134a
MOR	0.5980a	nd	0.2520a	0.0196ab	0.0264a
BOL	0.6700a	0.0282a	0.1210b	0.0099ab	0.0192a
PIQ	0.6820a	0.027a	0.1020b	0.0083ab	0.0203a
Pr(>F)	0.4478	0.6504	0.002486**	0.02797*	0.1286

23 La comparación de medias (Tukey,  $\alpha=0.05$ ) indica diferencias significativas cuando las letras son  
24 distintas (a y b); las comparaciones son válidas únicamente en columnas. nd, no determinado.

1 El neo-alo-ocimeno fue la molécula que presentó diferencias significativas en el chile var.  
2 morrón con respecto al chile var. güero, árbol, bola y piquín. Este compuesto es un monoterpeno  
3 con olor característico a cítricos y juega un papel importante en la tolerancia al estrés ambiental de  
4 las plantas (Arimura & Pearse, 2017).

5 El cosmeno también presentó diferencia significativa en el chile var. morrón con respecto a la  
6 var. güero, árbol, bola y piquín. El cosmeno es un alcatetraeno (PubChem, 2023b) registrado como  
7 esencia floral en plantas de la familia Orchidaceae y en especies de *Capsicum* spp (The Pherobase,  
8 2024).

9 Por otro lado, en tejidos de frutos, el orden en que las variedades registraron mayor número de  
10 compuestos fueron piquín (26), güero y bola (21), árbol (18), serrano y jalapeño (15) y morrón  
11 (13). Las moléculas más comunes identificados cualitativamente en las siete variedades fueron el  
12  $\gamma$ -terpineno, (E)- $\beta$ -ocimeno, (Z)- $\beta$ -ocimeno, terpinoleno, cosmeno, (3E)-2,7-dimetil-1,3,7-  
13 octatrieno y neo-alo-ocimeno, pero los que destacaron en abundancia y repetición entre series se  
14 observan en el Cuadro 2.

15 Cuadro 2. Comparación de medias de las abundancias (área bajo la curva) de COV's  
16 determinados en frutos de *Capsicum* spp.

Variedad	ZBO	EBO	NAO	COS	TER
SER	0.6250a	0.0322a	0.1600ab	0.0284a	0.0323a
JAL	0.7050a	0.031a	0.1840ab	0.0111ab	0.0191a
GUE	0.6240a	0.0224a	0.0887b	0.0180ab	0.0179a
ARB	0.6920a	0.0343a	0.0904b	0.0063b	0.0134a
MOR	0.5980a	nd	0.2520a	0.0196ab	0.0264a
BOL	0.6700a	0.0282a	0.1210b	0.0099ab	0.0192a
PIQ	0.6820a	0.027a	0.1020b	0.0083ab	0.0203a
Pr(>F)	0.4478	0.6504	0.002486**	0.02797*	0.1286

17 La comparación de medias (Tukey,  $\alpha=0.05$ ) indica diferencias significativas cuando las letras  
18 son distintas (a y b); las comparaciones son válidas únicamente en columnas. nd, no determinado.

19 Los COV's del Cuadro 2 no presentaron diferencias significativas entre variedades, pero son  
20 moléculas importantes en los tejidos. El (Z)- $\beta$ -ocimeno se identificó en flores y frutos inmaduros  
21 de *C. annuum* con abundancias superiores al resto de los compuestos. Este monoterpeno desprende  
22 un olor característico a rancio (Mazida *et al.*, 2005), se ha reportado en frutos de chile var. morrón,  
23 poblano y árbol con 23.1E-06, 3.0E-06 y 4.0E-06 de abundancias, respectivamente (Moreno *et al.*,  
24 2012; Bautista-San Juan *et al.*, 2019), en la planta de *Origanum vulgare* var. aureum L., con el

1 7.65% de abundancia (Jianu *et al.*, 2023). Además, es una caïromona esencial para la atracción del  
2 picudo del chile (Muñiz-Merino *et al.*, 2015).

3 El (E)- $\beta$ -Ocimeno fue otro compuesto constante identificado en los tejidos de flores y frutos  
4 inmaduros de *C. annuum*, aunque no se compara con la abundancia de (Z)- $\beta$ -Ocimeno. La síntesis  
5 de dicho monoterpeno, además de ser una esencia floral, actúa como mecanismo de defensa para  
6 atraer enemigos naturales durante la herbivoría (Fäldt *et al.*, 2003). El (E)- $\beta$ -Ocimeno se reportó  
7 también en frutos de chile morrón (Lunning *et al.*, 1994), árbol, piquín y serrano con 1.5E8, 0.3E8  
8 y 0.4E8 de abundancia, respectivamente (Rodríguez-Burruezo *et al.*, 2010). Además, su mezcla  
9 con otros compuestos sintéticos mediante pruebas de olfatometría bajo laboratorio es detectado por  
10 los adultos del picudo del chile (Muñiz-Merino *et al.*, 2015 y Bautista-San Juan *et al.*, 2019).

11 El neo-alo-ocimeno fue la segunda molécula abundante. Esta molécula se reportó en frutos de  
12 chile morrón (Luning *et al.*, 1994) y en plantas de anacardo, que en conjunto con otros volátiles  
13 atraen a larvas de *Chrysoperla externa* Hagen (Saraiva *et al.*, 2024). Además, en respuesta de  
14 defensa a los daños causados por trips y gusanos del fruto su síntesis incrementa (Kirana *et al.*,  
15 2021).

16 El cosmeno es un alcatetraeno identificado en los tejidos de flores y frutos, sin diferencias entre  
17 estos. El cosmeno se ha registrado como esencia floral en varias plantas de la familia Asparagales  
18 (The Pherobase, 2024), en frutos de *Citrus hystrix* (Sato *et al.*, 1990) y en frutos de chile var.  
19 poblano (Bautista-San Juan *et al.*, 2019).

20 El terpinoleno y el 2-isobutil-3-metoxipirazina fueron registrados en los frutos de *C. annuum*.  
21 El último desprende un aroma característico a chile verde, de acuerdo a varios reportes. Sus  
22 aplicaciones de ambos compuestos en pruebas biológicas junto con otros compuestos sintéticos  
23 incrementan la atracción de los adultos del picudo del chile bajo evaluaciones de laboratorio y en  
24 campo (Muñiz-Merino *et al.*, 2011 y Bautista-Hernández *et al.*, 2020). Mazida *et al.* (2005)  
25 reportaron que de acuerdo a la variedad, desarrollo y estado de madurez del fruto varían sus  
26 abundancias y emisiones en el ambiente. Esto se observa con el resto de moléculas, ya que algunos  
27 tienden a sintetizarse en abundancia durante el estado inmaduro de los tejidos y decrecen durante  
28 la madurez fisiológica del fruto o incrementan su emisión conforme madura el fruto.

29

## CONCLUSIONES

1 Los compuestos comunes determinados en los tejidos de flores y frutos de las siete variedades de  
2 *C. annuum* fueron el (Z)- $\beta$ -Ocimeno, (E)- $\beta$ -Ocimeno, terpinoleno y 2-isobutil-3-metoxipirazina,  
3 que en conjunto con el neo-alo-ocimeno y cosmeno, por sus significancias entre variedades, son  
4 candidatos específicos para ser evaluados en una mezcla como atrayentes cairomonales para el  
5 manejo del picudo del chile.

## 6 AGRADecIMIENTOS

7 Al CONAHCYT por la beca otorgada (789930) para continuar con mis estudios de Doctorado. Al Colegio de  
8 Postgraduados por sus instalaciones para la realización de la investigación.

## 9 LITERATURA CITADA

- 10 Adeleye, V. O., Seal, D. R., Liburd, O. E., McAuslane, H., & Alborn, H. (2022). Pepper weevil,  
11 *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) suppression on jalapeño pepper using non-  
12 host insect repellent plants. *Crop Protection*, 154, 105893.
- 13 Arimura, G. I., & Pearse, I. S. (2017). From the lab bench to the forest: ecology and defence  
14 mechanisms of volatile-mediated 'talking trees'. In *Advances in botanical research* (Vol. 82, pp.  
15 3-17). Academic Press.
- 16 Bautista-Hernández, C. F., Cibrián-Tovar, J., Velázquez-González, J. C., & Rodríguez-Guzmán,  
17 M. D. P. (2020). Evaluación en campo de atrayentes para la captura de *Anthonomus eugenii*  
18 Cano (Coleoptera: Curculionidae). *Revista chilena de entomología*, 46(2), 211-219.
- 19 Bautista-San Juan, A., Cibrián-Tovar, J., López-Romero, R. M., Bautista-Martínez, N., & Gómez-  
20 Domínguez, N. S. (2019). Atracción de Adultos de *Anthonomus eugenii* (Cano) 1 a Mezclas de  
21 Compuestos Volátiles Sintéticos. *Southwestern Entomologist*, 44(3), 743-754.
- 22 Chern, L. Y., Shukor, M. Y., & Muse, R. (2013). Monoterpenes in plants-a mini review. *Asian*  
23 *Journal of Plant Biology*, 15-19.
- 24 EPPO Global Database. 2024. *Anthonomus eugenii* (ANTHEU).  
25 <https://gd.eppo.int/taxon/ANTHEU>. Consulta: marzo 2024.
- 26 Fäldt, J., Arimura, G. I., Gershenzon, J., Takabayashi, J., & Bohlmann, J. (2003). Functional  
27 identification of AtTPS03 as (E)- $\beta$ -ocimene synthase: a monoterpene synthase catalyzing  
28 jasmonate-and wound-induced volatile formation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 216: 745-751.
- 29 Fontes-Vasconcelos, J., Dias-Pini, N., Saraiva, W. V. A., Farias, L. D. L., Ribeiro, P. R. V., Melo,  
30 J. W. D. S., ... & Macedo, V. H. M. (2022). Volatile and phenolic compounds In the resistance  
31 of the melon to the vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae).
- 32 Jianu, C., Lukinich-Gruia, A. T., Rădulescu, M., Mioc, M., Mioc, A., Şoica, C., ... & Radu, R. G.  
33 (2023). Essential Oil of *Origanum vulgare* var. aureum L. from Western Romania: Chemical  
34 Analysis, In Vitro and In Silico Screening of Its Antioxidant Activity. *Applied Sciences*, 13(8),  
35 5076.

- 1 Kirana, R., Anwariudin, M. J., & Setiawati, W. (2021, December). The diversity of chili pepper  
2 volatile compounds and its relationship to insect pests. In IOP Conference Series: Earth and  
3 Environmental Science (Vol. 948, No. 1, p. 012042). IOP Publishing.
- 4 Luning, P. A., De Rijk, T., Wichers, H. J., & Roozen, J. P. (1994). Gas chromatography, mass  
5 spectrometry, and sniffing port analyses of volatile compounds of fresh bell peppers (*Capsicum*  
6 *annuum*) at different ripening stages. *Journal of agricultural and food chemistry*, 42(4) 977-983.
- 7 Mazida, M. M., Salleh, M. M., & Osman, H. (2005). Analysis of volatile aroma compounds of  
8 fresh chilli (*Capsicum annuum*) during stages of maturity using solid phase microextraction  
9 (SPME). *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(5), 427-437.
- 10 Moreno, E., Fita, A., González-Mas, M. C., & Rodríguez-Burruezo, A. (2012). HS-SPME study of  
11 the volatile fraction of *Capsicum* accessions and hybrids in different parts of the fruit. *Scientia*  
12 *Horticulturae*, 135, 87-97.
- 13 Muñiz-Merino, M., Cibrián-Tovar, J., Hidalgo-Moreno, C., Bautista-Martínez, N., Vaquera-  
14 Huerta, H., & Aldama-Aguilera, C. (2014). Compuestos volátiles atraen al picudo (*Anthonomus*  
15 *eugenii* Cano) del chile (*Capsicum* spp.) y presentan sinergia con su feromona de agregación.  
16 *Agrociencia*, 48(8): 819-832.
- 17 National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID  
18 5368451, Cosmene. Retrieved June, 2024 from  
19 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cosmene>.
- 20 Pinto, C.M.F., dos Santos, I.C., de Araujo, F.F., da Silva, T.P. (2016). Pepper Importance and  
21 Growth (*Capsicum* spp.). In: *Production and Breeding of Chilli Peppers*. Springer, Cham.
- 22 Ruiz Sánchez, E., Aguilar Ochoa, O., Alejo, J. C., Tún Suárez, J. M., Latournerie Moreno, L., &  
23 Pérez Gutiérrez, A. (2009). Comparación de la efectividad de un insecticida botánico y dos  
24 químicos convencionales en el control del picudo (*Anthonomus eugenii* cano) (Coleoptera:  
25 Curculionidae) en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Fitosanidad*, 13(2), 117-120.
- 26 Saraiva, W. V. A., Monteiro, N. V., da Silva Dias-Pini, N., Vasconcelos, J. F., de Godoy Alves  
27 Filho, E., da Silva Melo, J. W., ... & de Sousa Neto, E. P. (2023). *Chrysoperla externa* (Hagen)  
28 (Neuroptera, Chrysopidae) is a good candidate for predation of *Aleurodicus cocois* (Curtis)  
29 (Hemiptera: Aleyrodidae) in cashew crop. *Arthropod-Plant Interactions*, 17(1), 99-110.
- 30 Sato, A., Asano, K., & Sato, T. (1990). The chemical composition of *Citrus hystrix* DC (Swangi).  
31 *Journal of Essential Oil Research*, 2(4), 179-183.
- 32 Toapanta, Marco A., David J. Schuster, and Philip A. Stansly. 2005. "Development and life history  
33 of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) at constant temperatures." *Environmental*  
34 *Entomology* 34.5: 999-1008.
- 35 The pherobase. 2024. Consulta: junio 2024. [https://www.pherobase.com/database/floral/floral-](https://www.pherobase.com/database/floral/floral-taxa-genus-Galeottia.php)  
36 [taxa-genus-Galeottia.php](https://www.pherobase.com/database/floral/floral-taxa-genus-Galeottia.php)

## INTERACCION ENTRE LA MICROBIOTA EXTERNA DE LARVAS DE *Phyllophaga* Y LA INFECCION POR HONGOS ENTOMOPATOGENOS DE LOS GENEROS *Metarhizium* Y *Beauveria*

Roberto Carlos Ortega-García<sup>1</sup>, Ariel Wilbert Guzmán-Franco<sup>1</sup>, Ma. Teresa Santillán-Galicia<sup>1</sup>, Sergio Aranda-Ocampo<sup>1</sup>, Carmela Hernández-Domínguez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56264 Texcoco, Estado de México, México.

\*Autor de correspondencia: [roberto.carlos.ortega.98@gmail.com](mailto:roberto.carlos.ortega.98@gmail.com)

### INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los cultivos más importantes en México, por la superficie sembrada de 7.3 millones de Ha con una producción de 27.5 millones de toneladas (SIAP, 2023). Sin embargo, existen diversos factores que limitan su producción, entre los que se encuentran los insectos, específicamente los que llevan a cabo su ciclo biológico en el suelo y se alimentan del sistema radicular de la planta. Las larvas de género *Phyllophaga* se consideran entre las principales plagas rizofagas de este cultivo (Morón *et al.*, 2014). Para el manejo de esta plaga, se hacen aplicaciones de insecticidas (Loera *et al.*, 2010).; sin embargo, su uso excesivo ocasiona los ya conocidos daños ambientales y a la salud humana, sin mencionar la capacidad de los organismos plaga para generar resistencia. Por lo que la búsqueda y evaluación de diferentes métodos de manejo es importante.

El control biológico es uno de los métodos más importantes y con mayor potencial para el manejo y reducción de poblaciones de plagas insectiles (Rojas *et al.* 2017). Dentro de estos, los hongos entomopatógenos, específicamente de los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*, al ser habitantes naturales del suelo (Carrillo, 2012), representan una herramienta importante para el manejo de plagas rizofagas. Existen estudios que reportan infecciones naturales de larvas de *Phyllophaga* en campo con aislamientos de las especies *B. pseudobassiana* y *M. pingshaense* (Guzmán-Franco *et al.*, 2012; Carrillo-Benítez *et al.*, 2013). Sin embargo, al evaluar estos aislamientos en larvas de *Phyllophaga* bajo condiciones de laboratorio, nunca ocasionaron mortalidades arriba del 30% (Guzmán-Franco *et al.*, 2012). Por otro lado, al inyectar directamente blastosporas de *B. pseudobassiana* al hemocele de las larvas de *Phyllophaga*, se obtuvo mortalidades del 100% en solo tres días (Enriquez-Vara *et al.*, 2014). Lo cual sugiere que la cutícula de las larvas de *Phyllophaga* es la barrera principal que impide la infección por hongos entomopatógenos. Existen estudios que reportan la presencia de bacterias en la cutícula de larvas de lepidopteros, como una barrera biológica que inhibe la infección por hongos (Martinez-Martinez *et al.*, 2022), por lo que

es posible que la presencia de bacterias en la cutícula de larvas de *Phyllophaga* sean las responsables de que los hongos entomopatógenos no ocasionen mortalidades altas. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo es identificar las bacterias presentes en la cutícula de larvas de *Phyllophaga*, así como determinar su posible efecto inhibitorio de la infección por hongos entomopatógenos.

## MATERIAL Y METODOS

*Larvas y aislamientos de hongos.* Larvas de *Phyllophaga* se colectaron de parcelas de maíz del estado de Guanajuato. Las larvas se transportaron al laboratorio de Patología de Insectos del Colegio de Postgraduados y se mantuvieron en observación durante 15 días, antes de usarse en los experimentos. Se emplearon dos aislamientos, uno de *B. pseudobassiana* y otro de *M. pingshaense*, ambos de obtenidos de larvas de gallina ciega y pertenecientes a la colección de hongos entomopatógenos del laboratorio de Patología de Insectos.

*Infección de larvas de Phyllophaga por hongos entomopatógenos.* Para determinar el papel de las bacterias presentes en la cutícula de larvas de *Phyllophaga* en la infección por hongos entomopatógenos, se evaluaron los dos aislamientos de hongos en larvas tratadas y no tratadas con antibióticos. Para esto, grupos de 12 larvas se sumergieron en una solución de 4 antibióticos (estreptomicina, ampicilina, tetraciclina y rifampicina) todos a una concentración de 8000 ppm, durante 10 segundos. Otro grupo de larvas únicamente fue sumergido en Tween 80 al 0.03% siendo este el testigo. Ambos grupos de larvas, tratadas y no tratadas con antibióticos, fueron sumergidos en suspensiones de conidios de cada aislamiento a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios mL<sup>-1</sup> durante 10 segundos, y se incubaron a 25 °C en total oscuridad. La mortalidad se registró cada 24 h durante 12 días.

*Obtención e identificación molecular de bacterias de la cutícula de larvas de Phyllophaga.* Para la obtención de bacterias, grupos de 10 larvas se sumergieron en un buffer a base de nitrato de amonio, y se agitaron en el vortex durante 10 segundos. Posteriormente, se hicieron diferentes diluciones, desde -1 hasta -5 para seleccionar la más adecuada que permitiera la obtención de colonias individuales, y así caracterizarlas morfológicamente basada en color, borde, textura, elevación, etc. Para la identificación molecular de las bacterias, se realizó la extracción de ADN de cada colonia con un kit de extracción (Qiagen). Posteriormente, se amplificó una región del gen 16S con los iniciadores 27F y 1492R por medio de PCR. Los productos resultantes se enviaron a

la compañía Macrogen para su secuenciación directa, y así determinar su identidad por medio de comparaciones con secuencias de bacterias ya identificadas y depositadas en bases de datos como GenBank.

*Pruebas de antagonismo.* Ambos aislamientos de hongos entomopatógenos se sembraron por medio de perlas de cristal en medio ADS. Para esto, se inocularon 100  $\mu\text{L}$  de una suspensión de  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  en cajas Petri cuadrículadas, después de 90 minutos, una vez que el exceso de humedad se eliminó, se procedió a la inoculación de todas las colonias bacterianas, por medio de la técnica del micropunto, sobre los hongos previamente inoculados. La presencia de halos de inhibición en los hongos inoculados señaló aquellas colonias de bacterias que tuvieron este efecto. Este estudio se realizó en dos ocasiones para confirmar los resultados.

## RESULTADOS

*Infección de larvas de Phyllophaga por hongos entomopatógenos.* En larvas tratadas con antibióticos se obtuvo 100% de mortalidad en 12 días con ambos aislamientos, mientras que en las no tratadas con antibióticos, la mortalidad fue de 80% en el mismo tiempo. No hubo mortalidad en el testigo. Este experimento será repetido nuevamente este año para confirmar los resultados.

*Obtención e identificación molecular de bacterias de la cutícula de larvas de Phyllophaga.* Se obtuvieron 124 aislamientos bacterianos morfológicamente diferentes. Estos aislamientos se encuentran aún en proceso de identificación molecular.

*Pruebas de antagonismo.* Los resultados señalan que aproximadamente 45 aislamientos bacterianos ocasionan una inhibición en *M. pingshaense* mientras que en *B. pseudobassiana* solo 26 aislamientos bacterianos tuvieron este efecto. La combinación de estos resultados con la identificación molecular, permitirá seleccionar aislamientos bacterianos específicos para realizar estudios más detallados de inhibición del crecimiento y germinación de los aislamientos de hongos entomopatógenos. Asimismo, estos aislamientos bacterianos seleccionados serán identificados con tres marcadores moleculares para tener mayor certeza en su estatus taxonómico.

## AGRADECIMIENTOS

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo económico para el desarrollo de la presente investigación y al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Al personal del CESAVEG por el apoyo en la toma de muestras de la plaga y el transporte de estas al Colegio de Postgraduados.

## LITERATURA CITADA

- Carrillo-Benítez, M. G., Guzmán-Franco, A. W., Alatorre-Rosas, R., & Enríquez-Vara, J. N. (2013). Diversity and genetic population structure of fungal pathogens infecting white grub larvae in agricultural soils. *Microbial Ecology*, 65, 437-449.
- Enríquez-Vara, J. N., Guzmán-Franco, A. W., Alatorre-Rosas, R., González-Hernández, H., Córdoba-Aguilar, A., & Contreras-Garduño, J. (2014). Immune response of *Phyllophaga polyphylla* larvae is not an effective barrier against *Metarhizium pingshaense*. *Invertebrate Survival Journal*, 11(1), 240-246.
- Loera G, J., Pérez D, J. F y L. A. Rodríguez del Bosque. 2010. Control químico. Plagas del suelo (eds. L. A. Rodríguez del Bosque y M. A. Morón), pp. 197-214. INIFAP, México
- Martinez-Martinez S., Rodríguez- Leyva, E., Guzmán-Franco, A. W, (2022) DIVERSIDAD MICROBIANA ASOCIADA AL INTESTINO DE *Hyperaspis trifurcata*, *Laetilia coccidivora* Y *Leucopina bellula* DEPREDADORES DE *Dactylopius* spp. (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE) Colegio de Postgraduados.
- Morón, M. A., Nogueira, G., Rojas G, C. V y R. Arce P. 2014. Biodiversidad de Melolonthidae (Coleóptera) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 298-302
- Rojas, R., Vargas-Flores, J., Sánchez-Choy, J., Oliva-Paredes, R., Alarcón-Castillo, T., & Villegas, P. (2020). *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* as compatible and efficient controllers of plague insects in aquaponic crops. *Scientia agropecuaria*, 11(3), 419-426. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.14>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2023. Cierre de la producción agrícola 2023. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

# INNOVACIÓN AGRÍCOLA

## MODELADO DEL NICHU ECOLÓGICO DE *Xylosandrus compactus* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) ESPECIE CUARENTENARIA DE RECIENTE INGRESO A MÉXICO

Iván Fermín Quiroz-Ibáñez<sup>1\*</sup>, Armando Equihua-Martínez<sup>1</sup>, Nidia  
Bélgica Pérez-De la O<sup>1</sup>, Bruno Laureano-Ahuelicán<sup>1</sup>, Héctor González-  
Hernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Postgrado en Fitosanidad orientación en Entomología y Acarología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados.  
56230. Montecillo, Estado de México. \*Autor de correspondencia: [quiroz.ivan@colpos.mx](mailto:quiroz.ivan@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

El barrenador negro de ramas (*Xylosandrus compactus* Eichhoff, 1875) es un escarabajo ambrosial escolítino, de la tribu Xyleborini originario del sureste asiático; Actualmente está presente en África, Asia, Norteamérica (EE. UU. y México), Sudamérica y Europa (Equihua *et al.*, 2023; Urvois *et al.*, 2022). A diferencia de la mayoría de los escolítinos de este grupo, ataca tanto a plantas estresadas como a las aparentemente sanas, con rango de hospedantes de 220 especies pertenecientes a 62 familias botánicas, incluyendo árboles, arbustos y cultivos agrícolas (Gugliuzzo *et al.*, 2021; Greco y Wright, 2015). La hembra de *X. compactus* coloniza preferentemente ramas pequeñas desarrollando galerías y cultivando hongos ambrosiales específicos que representan la única fuente de alimento para su progenie (Hara y Beardsley, 1979). El ciclo biológico de huevo a adulto, requiere de 28.5 d entre los 23 - 27 °C y 50 - 60% de HR (Hara y Beardsley, 1979). *X. compactus* se reproduce por partenogénesis arrenotoca (i.e. haplodiploidía), en la que las hembras producen machos a partir de huevos no fecundados, mientras que los fecundados producen progenie femenina (Greco y Wright, 2015). Afecta varias especies vegetales de importancia económica incluyendo cacao, mango, aguacatero y cafeto (Oliveira *et al.* 2008). Los adultos de *X. compactus* están activos entre marzo y septiembre, aunque las variaciones están relacionadas con las condiciones climáticas locales y estacionales; además, sólo las hembras pueden volar y atacar nuevas plantas hospederas, barrenando ramas pequeñas de 1 a 3 años de edad, con un diámetro de hasta 4 a 6 cm (Anses, 2017). En México, el cafeto se produce principalmente en los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca y Puebla de 14 estados productores (85% de la superficie nacional), en una superficie de 702,686.02 ha, con un volumen de producción de 1,025,034.80 t en 485 municipios de México (SIAP, 2022). De acuerdo con Equihua *et al* (2023), en México se reportó por primera vez en 2021 en Zoquitlán, Puebla infestando café robusta, aunque ya había

registros previos de este insecto por parte del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) (Pérez, 2020). Debido a que este insecto se comporta como una plaga de importancia económica, Por lo anterior, se estudiaron las condiciones ambientales idóneas que permitan su establecimiento y su dispersión en este país, para lo cual que se aplicó la metodología de modelado de nicho ecológico (MNE) mediante el algoritmo supervisado MAXENT con sólo presencias.

## MATERIALES Y MÉTODO

**Obtención de registros de presencia.** La recopilación de datos se realizó mediante la revisión de información de Scopus, GBIF, ResearchGate, Google académico, página web Bark and Ambrosia Beetles. **Preparación de datos.** De la literatura científica se recabaron 352 ocurrencias y 46 de GBIF (n= 398). La base de datos fue auditada previamente para evitar errores de modelado. **Variables ambientales.** Las variables bioclimáticas (19) se descargaron de la página [www.worldclim.org](http://www.worldclim.org) (consultado el 23 de mayo de 2023) con una resolución espacial de 30 s (~ 1 km); el área de transferencia o G fué México, EUA, Guatemala, Honduras, Belize y El Salvador (1: 14,000,000). Para crear modelos candidatos se realizaron dos análisis de MNE. Se seleccionaron las variables para armar los conjuntos para calibración de los modelos, con base en el análisis de correlación de Pearson con valores de  $\pm 0.80$  y análisis de componentes principales (cuatro conjuntos). Se generó un área de calibración (buffer ) de 20 km con las ocurrencias y se realizó una unión con las zonas de ecoregiones (Olson *et al.*, 2001) donde estaban más conglomerados los puntos. Las capas se incluyeron a los conjuntos de variables bioclimáticas. **Calibración del modelo.** Los datos ambientales de una región a otra pueden incluir nuevas condiciones ambientales, por lo que es fundamental calibrar los modelos. El área de calibración de especies (M), representa áreas que han sido accesibles a la especie durante su historia biogeográfica, fue definida por ecorregiones mundiales caracterizadas por su biodiversidad. La información ambiental se extrajo de las ocurrencias en QGIS® ver. 3.22.5-Białowieża (QGIS.org, 2024). Con el paquete de blockCV (Valavi *et al.*, 2019) en Rstudio® ver. 4.3.1 (R Core Team, 2023) se generaron los puntos de entrenamiento y prueba para la validación cruzada de los modelos. Las carpetas correspondientes se generaron con los conjuntos para calibrar y validar el modelo. Con el paquete spThin (Aiello-Lammens *et al.*, 2015) se limpió nuevamente la base de datos original de duplicados y/o datos cercanos. **Desarrollo de modelos candidatos.** Los modelos

candidatos se ejecutaron con Rstudio® ver. Interfaz 4.3.1, el paquete Kuenm (Cobos *et al.*, 2019) y versión Maxent. 3.4.4 (Phillips *et al.*, 2024). El rendimiento del modelo se evaluó en función de la significación estadística (ROC parcial), las tasas de omisión (OR) y el criterio de información de Akaike corregido para tamaños de muestra pequeños (AICc). **Evaluación del modelo.** La evaluación se realizó en Rstudio® ver. 4.3.1 con la función `kuenm_feval` del paquete Kuenm. para lo cual se evaluaron 300 modelos distribuidos en cuatro conjuntos, cinco configuraciones de multiplicadores de regularización, 15 combinaciones de restricciones y cuatro conjuntos distintos de variables ambientales. La selección del modelo se basa en la importancia, la previsibilidad y la complejidad, con ese orden de prioridad. Primero se filtran los modelos para detectar aquellos que son estadísticamente significativos. El criterio de la tasa de omisión se aplica a este pequeño conjunto de modelos. Finalmente, entre los modelos candidatos significativos y de bajas emisiones, fueron aquellos con valores delta AICc menores a dos, menor tasa de omisión y valor de significancia ( $pROC \leq 0.05$ ). **Análisis de extrapolación de modelos.** El análisis de Superficie de Similitud Ambiental Multivariada (MESS) se realizó con el software Maxent. Este análisis identifica áreas donde una o más variables ambientales están fuera del rango de entrenamiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Parametrización y variables ambientales que definieron los modelos.** En este análisis se seleccionó sólo un modelo con las mejores parametrizaciones siguientes: Mean\_AUC\_ratio: 1.09, pval\_pROC: 0.00, Omission\_rate\_at\_5%: 0.05, AICc: 8281.99, delta\_AICc: 0.00, W\_AIC\_c: 1.00 y num\_parameters; 12. Con los parámetros anteriores se generaron tres modelos finales: Extrapolación, Extrapolación and Clamping y No Extrapolativo. De acuerdo con la prueba de Jackknife, la variable ambiental con mayor ganancia cuando se usa de forma aislada, es la precipitación del mes más húmedo (bio13); mientras que, la variable ambiental que más disminuye la ganancia cuando se omite, es la temperatura media del trimestre más húmedo (bio8). **Idoneidad ambiental.** La idoneidad ambiental en México y países fronterizos se estimó a lo largo de la Sierra Madre Occidental, hasta llegar al límite con el Eje Neovolcánico, donde disminuye la idoneidad ambiental de la zona central al Este de esta provincia biogeográfica. A partir de este punto, el nicho calculado se extiende al norte a lo largo de la Sierra Madre Oriental y al sur a lo largo de la Sierra Madre de Chiapas. A lo largo de la zona media y sur del Golfo de México se predijo una idoneidad ambiental alta. Sin embargo, el daño que los ambrosiales pueden causar depende de la

disponibilidad de sus especies hospederas, de la presencia/abundancia de otras especies ambrosiales y su capacidad de dispersión (Lira-Noriega *et al.*, 2018). **Análisis multivariado de superficie de similitud ambiental (MESS)**. El análisis MESS confirma que el riesgo de extrapolación es bajo en las áreas predichas para el modelo de nicho calculado de *X. compactus*, ya que las áreas no análogas se proyectaron en provincias biogeográficas diferentes.

## CONCLUSIONES

El barrenador negro de ramas (*X. compactus*) tiene una idoneidad ambiental en México que coincide con Estados de importancia en la producción de café. El estado de Veracruz demostró tener conectividad bioclimática en zonas productoras de café. Los impactos negativos asociados a este ambrosial podrían incrementarse derivado a que tiene un amplio rango de hospederos y las condiciones son adecuadas para su desarrollo en México, como en el sureste de México, Sierra Madre Occidental y parte del Eje Neovolcánico Transversal. El MNE observado revela que este escarabajo ambrosial tiene el potencial de aumentar su distribución en lugares donde aún no se ha establecido.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) y COLPOS por el financiamiento académico y de investigación al primer autor. A la empresa biotecnología ANDREB., a los técnicos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Puebla y Veracruz, a los productores de cafeto de Puebla y Veracruz y al SENASICA por su amable colaboración. Al consejo particular del autor como colaboradores directos para lograr la ejecución del proyecto.

## LITERATURA CITADA

Aiello-Lammens, M. E., R. A. Boria, A. Radosavljevic, B. Vilela and R. P Anderson. 2015. spThin: an R package for spatial thinning of species occurrence records for use in ecological niche models. *Ecography*, 38(5): 541-545. <https://doi.org/10.1111/ecog.01132>

Anses.2017. Évaluation do risque simplifié sur *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) identifié en France métropolitaine. France. 68 p.[en línea]. Disponible en: <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANTVEG2016SA0170Ra.pdf> (revisado el 07 de mayo de 2024).

Cobos, M. E., Peterson, A. T., Barve, N., and Osorio-Olvera, L. 2019. kuenm: an R package for detailed development of ecological niche models using Maxent. *PeerJ*, 7, e6281. Portico. <https://doi.org/10.7717/peerj.6281>

- Equihua-Martínez, A., J. D. Robledo-Martínez, and J. F. Barrera. 2023. The Presence of *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in the Sierra Negra of Puebla, Veracruz and Oaxaca, Mexico. *Florida Entomologist* 106(3): 192–194. <https://doi.org/10.1653/024.106.0307>
- GBIF.org (18 April 2023) GBIF Occurrence Download <https://doi.org/10.15468/dl.bavfrs>
- Greco, E.B. and M.G. Wright. 2015. Ecology, biology, and management of *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) with emphasis on coffee in Hawaii. *Journal of Integrated Pest Management*. 6:7. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmv007>
- Gugliuzzo, A., H. W. Biedermann P., D. Carrillo, A. Castrillo L., P. Egonyu J., D. Gallego, K. Haddi, J. Hulcr, H. Jactel, H. Kajimura, *et al.* 2021. Recent advances toward the sustainable management of invasive *Xylosandrus ambrosia* beetles. *Journal Pest Science*. 94(3): 615–637. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01382-3>
- Hara, A. H., and J. W. Beardsley Jr. 1979. The biology of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff), in Hawaii. *Proc. Hawaii. Entomol. Soc.* 18: 55–70
- Lira-Noriega, A., J. Soberón, and J. Equihua. 2018. Potential invasion of exotic ambrosia beetles *Xyleborus glabratus* and *Euwallacea* sp. in Mexico: A major threat for native and cultivated forest ecosystems. *Scientific Reports*. 8(1): 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28517-4>
- Oliveira, C. M., C. A. Flechtmann, and M. R. Frizzas. 2008. First record of *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) on soursop, *Annona muricata* L. (Annonaceae) in Brazil, with a list of host plants. *The Coleopterists Bulletin* 62(1): 45–48. <https://doi.org/10.1649/1039.1>
- Olson, D. M., E. Dinerstein, E. D. Wikramanayake, N. D. Burgess, G. V. N. Powell, E. C. Underwood, J. A. D'amico, I. Itoua, H. E. Strand, J. C. Morrison, C. J. Loucks, T. F. Allnutt, T. H. Ricketts, Y. Kura, J. F. Lamoreux, W. W. Wettengel, P. Hedao, and K. R. Kassem. 2001. Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth. *BioScience* 51(11): 933 - 938. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0933:TEOTWA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0933:TEOTWA]2.0.CO;2)
- Pérez, S. M. 2020. Revisión de la subtribu Xyleborina (Curculionidae: Scolytinae) en México. Tesis de Doctorado en Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. México. 140 p.
- Phillips, S. J., D. Miroslav and R. E. Schapire. [Internet] Maxent software for modeling species niches and distributions (Version 3.4.4). Available from url: [http://biodiversityinformatics.amnh.org/open\\_source/maxent/](http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/). Accessed on 2024-6-13
- QGIS.org, 2024. QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>
- R Core Team. 2023. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- SIAP. 2022. Datos abiertos, estadística de producción agrícola. [en línea]: <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> (Consultado el 08 de junio de 2024)
- Urvois, T., C. Perrier, A. Roques, L. Sauné, C. Courtin, Y. Li, A. J. Johnson, J. Hulcr, M.-A. Auger-Rozenberg, and C. Kerdelhué. 2022. A first inference of the phylogeography of the worldwide invader *Xylosandrus compactus*. *Journal Pest Science* 95(3): 1217–1231. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01443-7>
- Valavi, R., J. Elith, J.J. Lahoz-Monfort and G. Guillera-Arroita. 2019. blockCV: An R package for generating spatially or environmentally separated folds for k-fold cross-validation of species distribution models. *Methods in Ecology and Evolution*. 10:225-232. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13107>

## MONITOREO DE *Bactericera cockerelli* (HEMIPTERA: TRIOZIDAE) EN PAPA, MEDIANTE IMÁGENES TOMADAS POR DRONES

Elizabeth Martínez-Trejo<sup>1</sup>, Alejandro Pérez-Panduro<sup>1\*</sup>, Remigio A. Guzmán Plazola<sup>1</sup>, Héctor Flores-Magdaleno<sup>2</sup>, Lauro Soto-Rojas<sup>1</sup>, Gabriel Otero-Colina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Postgrado en Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México. \*autor para correspondencia

<sup>2</sup>Postgrado en Hidrociencias, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México.

### INTRODUCCIÓN

*Bactericera cockerelli* (Sulc.) también conocido como pulgón saltador de la papa, salerillo, paratrioza o psílido del tomate o de la papa (Bujanos Muñiz & Ramos Méndez, 2015), es la plaga clave en las principales zonas productoras de papa en México, tanto por los daños directos como indirectos que provoca al tubérculo (Díaz-Valasis *at al.*, 2008). El 70% de la superficie dedicada a este cultivo (Rubio-Covarrubias *at al.*, 2002) tiene problemas asociados con este vector del agente causal de punta morada y “zebra chip” *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso), (Contreras-Rendon *at al.*, 2017). Este patógeno afecta el floema de la planta (Hansen *at al.*, 2008), reduce la tasa fotosintética de las hojas, disminuye la cantidad de almidón y aumenta la cantidad de azúcares reductores en el tubérculo, alterando su sabor y su aspecto interno (Wallis *at al.*, 2012), así como el rendimiento del cultivo. Tales efectos son más severos mientras más temprana es la infestación del vector (Gao *at al.*, 2016). Este patosistema suele ser atendido con hasta 16 tipos de insecticidas (hasta 16 diferentes) con 11 diferentes modos de acción (Vereijssen *at al.*, 2018), llegándose a realizar en promedio ocho aplicaciones por temporada, con un costo de \$USD 1, 235 por hectárea (Eigenbrode y Gomulkiewicz, 2022). Los productores tienen la percepción de que, si ejecutan dicho plan de aplicaciones, corren el riesgo de perder la cosecha.

El objetivo de este trabajo es evaluar el potencial de las imágenes RGB y multiespectrales tomadas por drones para detectar la presencia de *B. cockerelli* en papa. Se espera que la detección temprana permita la implementación de tácticas de combate dirigido y disminuya la aplicación de insecticidas para el control de esta plaga.

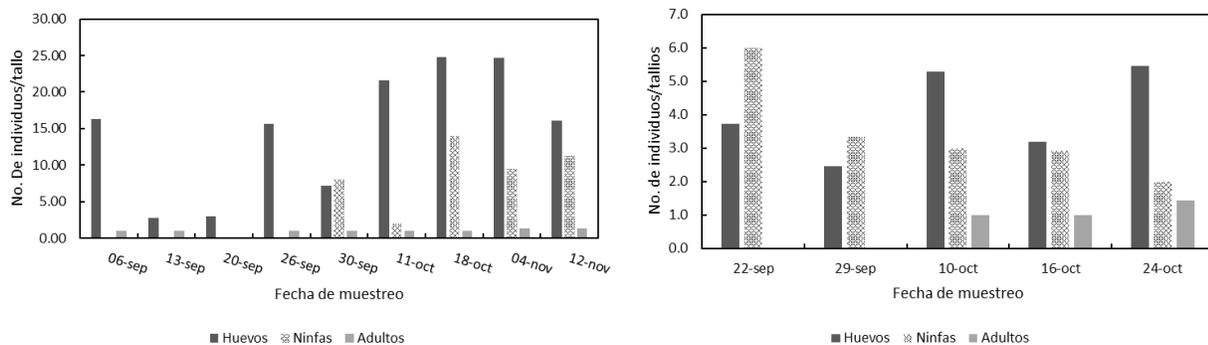
## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se planeó para desarrollarse en dos fases: ciclo de producción primavera-verano 2022 y 2023, el cual se llevó a cabo en el municipio de San José del Rincón, México, en papa (*Solanum tuberosum* L) variedad Fianna con productores cooperantes. Las parcelas monitoreadas tuvieron una superficie de 2 y 1.2 ha. **Toma de fotografías y procesamiento de imágenes.** Se tomaron dos tipos de imágenes: RGB y multiespectral. Las imágenes RGB se tomaron en 4 ocasiones (1, 11 y 18 de octubre y 3 de noviembre), para el ciclo 2022 y en una ocasión (10-oct) para el ciclo 2023, con un dron DJI phantom4 pro® (DJI, Shenzhen, Guangdong, China) equipado con un sensor CMOS de 1 pulgada y 20 megapíxeles a 30 m de altura. Las imágenes multiespectrales se tomaron el 18 de octubre y 3 de noviembre de 2022; con una cámara Parrot Sequoia plus® (China) montada sobre un dron eBee® (Suiza) a 50 m de altura; la cámara incluye cuatro sensores, los correspondientes a las bandas verde (550±40 nm), roja (660±40), borde rojo (735±10) e infrarrojo cercano o NIR (790±40), con una resolución monobanda de 1.2 MP, 1 280 x 960 px, más un sensor de luz solar y calibración radiométrica automática. Las imágenes obtenidas se procesaron en el software Pix4D (Pix4D SA, Lausanne, Switzerland) para obtener los ortomosaicos y ubicar las plantas que sirvieron de muestra para el entrenamiento en el modelo de predicción y detección del daño de *B. cockerelli*. **Monitoreo de *B. cockerelli*.** Se monitoreó semanalmente la presencia de adultos mediante trampas amarillas pegajosas de 22 x 15 cm, colocadas en estacas de madera por arriba de las plantas, a 25 m entre trampas y un total de 16 trampas/ha. Complementariamente, se monitorearon semanalmente 50 plantas (para el ciclo 2022) y 100 plantas (para el ciclo 2023) marcadas 48 días después de la siembra, para cuantificar la presencia de huevos, ninfas y adultos durante el ciclo del cultivo. **Incidencia, severidad de “zebra chip” y rendimiento.** Al final del ciclo productivo, de cada planta marcada se registró el número de tubérculos producidos por planta, los cuales fueron pesados y clasificados por calidad comercial según su diámetro polar y diámetro ecuatorial. De cada planta, se seleccionó un tubérculo al azar, para estimar la incidencia de “zebra chip” (No. de tubérculos infectados/tubérculos totales x 100). En cada tubérculo, la severidad se estimó mediante la escala propuesta por Anderson *at al.* (2013). **Procesamiento de datos.** Se crearon mapas con base en los valores obtenidos de diversos índices de reflectancia derivados de las imágenes RGB (De Castro *at al.*, 2015) y multiespectrales (Xie *at*

al., 2021) y (Vanegas *at al.*, 2018), mediante el programa Open Source licenciado bajo la licencia GNU—General Public License of the Geographic Information System (QGIS). **Modelo de predicción y detección del daño de *B. cockerelli***. Con los valores obtenidos de los pixeles de cada banda y sus respectivos índices se construyó la tabla de sus atributos y se analizaron con el modelo de machine learning Random Forest y máquinas de soporte vectorial (MVS), usando el lenguaje de programación Python y Google colab, con 90% de los datos para entrenamiento y 10% de prueba, en cada uno de los vuelos.

## RESULTADOS

**Incidencia de *B. cockerelli***. Las plantas que estaban infestadas por algún estadio del insecto variaron durante el ciclo: se llegaron a encontrar en promedio plantas con 25 huevos o 15 ninfas para el ciclo 2022. En 2023 la incidencia fue menor, los valores más altos registrados fueron de 5 huevos, 6 ninfas y 2 adultos por tallo para ambos ciclos (Figura 1).



**Figura 1.** Presencia de *B. cockerelli* (huevos, ninfas y adultos en promedio por tallo y por planta infestada) en papa durante el ciclo de producción 2022 (izquierda) y 2023 (derecha)

**“Zebra chip” y rendimiento.** La incidencia de “zebra chip” fue del 41% para el ciclo 2022 y para 2023, de 55%. El rendimiento obtenido en gramos por planta, para el 2022, fue de 936.52 y 842.61, para las plantas que presentaron síntomas de “zebra chip” y plantas sanas, respectivamente, sin que hubiera significancia para la diferencia entre dichos promedios, de acuerdo con la prueba de t-student con  $\alpha=0.05$ , esto mientras que, para el ciclo 2023, fue de 559 y 853 gramos por planta enferma y sana, respectivamente, diferencia significativa.

**Detección de *B. cockerelli* mediante imágenes tomadas por drones.** Fue posible detectar la presencia de *Bactericera* en las plantas marcadas mediante los índices de reflectancia explorados. La precisión más alta se obtuvo con los índices derivados de las imágenes RGB (76%) en la tercera

fecha de muestreo. El primer muestreo produjo mayor precisión (87%), pero puede deberse a que el modelo es susceptible a un sobreajuste cuando se tienen datos desbalanceados (o sea de los 46 registros solo 9 plantas estaban infestadas) (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Evaluación de la precisión en la discriminación de plantas infectadas con *B. cockerelli* en papa, valores obtenidos de imágenes de drones a 30 (RGB) y 50 (multiespectral- ME) m de altura en diferentes fechas, usando random forest y máquinas de soporte vectorial (MVS).

Año	Fecha	Fase fenológica	Índices	Precisión (%)	
				Random Forest	MVS
2022	1-oct	Inicio de tuberización (73 dds)	RGB	85 ± 0.122	<b>87 ± 0.125</b>
	11-oct	Inicio de tuberización (83 dds)	RGB	70 ± 0.233	80 ± 0.221
	18-oct	Inicio de tuberización (90 dds)	RGB	78 ± 0.060	80 ± 0.00
			ME	56 ± 0.213	80 ± 0.00
			RGB+ME	68 ± 0.133	80 ± 0.00
	3-nov	Llenado de tubérculos (106 dds)	RGB	70 ± 0.00	75 ± 0.00
ME			75 ± 0.00	75 ± 0.00	
RGB+ME			77 ± 0.075	75 ± 0.00	
2023	10-oct	Inicio de tuberización (66 dds)	RGB	96 ± 0.08	<b>97.5 ± 0.00</b>

### CONCLUSIONES

Mediante los índices derivados de las imágenes RGB y el modelo MVS, fue posible detectar las plantas infestadas con *B. cockerelli* con una precisión del 97%.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT por la beca otorgada al primer autor para la realización de sus estudios de Doctorado y al Colegio de Postgraduados por las facilidades proporcionadas para la realización de la investigación.

### LITERATURA CITADA

Anderson J. A. D., Walker G. P., Alspach P. A., Jeram M., and Wright P. J. 2013. Assessment of Susceptibility to Zebra Chip and *Bactericera cockerelli* of Selected Potato Cultivars under Different Insecticide Regimes in New Zealand. American Journal of Potato Research, 90(1):58–65. <https://doi.org/10.1007/s12230-012-9276-x>

Bujanos Muñoz R., Y Ramos Méndez, C. 2015. El psílido de la papa y tomate *Bactericera* (=Paratrioza) *cockerelli* (Sulc) (Hemiptera:Triozidae): ciclo biológico; la relación con las enfermedades de las plantas y la estrategia de manejo integrado de plagas en la región

del OIRSA. (OIRSA).

<https://www.oirsa.org/contenido/Manual%20Bactericera%20Cockerelli%20version%201.3.pdf>

Contreras-Rendón A., A Gutiérrez-Ibáñez, J. Sánchez-Pale, H.V. Silva-Rojas y A Laguna-Cerda. 2017. Comportamiento espacial de Zebra chip y *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) en *Solanum tuberosum* L. en valles altos de México. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias* 49(1):175–184

De Castro A. I., R. Ehsani, R.C. Ploetz, J.H. Crane, and S. Buchanon, S. 2015. Detection of laurel wilt disease in avocado using low altitude aerial imaging. *PLoS ONE* 10(4):1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124642>

Díaz-Valasis M., M.A. Cadena-Hinojosa, M.R. Rojas I., E. Zavaleta-Mejía, D. Ochoa M, y R. Bujanos M. 2008. Responses of potato cultivars to the psyllid (*Bactericera cockerelli*) under greenhouse conditions. *Agricultura Técnica en México* 34(4):471-479.

Hansen A. K., Trumble, J. T., Stouthamer, R., y Paine, T. D. 2008. A new huanglongbing species, “*Candidatus liberibacter psyllaourous*,” found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied and Environmental Microbiology*, 74(18), 5862–5865. <https://doi.org/10.1128/AEM.01268-08>

Bujanos Muñiz, R., & Ramos Méndez, C. (2015). *El psílido de la papa y tomate Bactericera (=Paratrioza) cockerelli (Sulc) (Hemiptera:Triozidae): ciclo biológico; la relación con las enfermedades de las plantas y la estrategia de manejo integrado de plagas en la región del OIRSA*. (OIRSA). chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<https://www.oirsa.org/contenido/Manual%20Bactericera%20Cockerelli%20version%201.3.pdf>

Vanegas, F., Bratanov, D., Powell, K., Weiss, J., & Gonzalez, F. (2018). A novel methodology for improving plant pest surveillance in vineyards and crops using UAV-based hyperspectral and spatial data. *Sensors (Switzerland)*, 18(1), 1–21. <https://doi.org/10.3390/s18010260>

Xie, T., Li, J., Yang, C., Jiang, Z., Chen, Y., Guo, L., & Zhang, J. (2021). Crop height estimation based on UAV images: Methods, errors, and strategies. *Computers and Electronics in Agriculture*, 185(April), 106155. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106155>

# INVESTIGACIÓN EN FRUTILLAS

## DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Botrytis* spp. EN MÉXICO, SENSIBILIDAD A FUNGICIDAS Y RESPUESTA METABÓLICA EN BAYAS DE ARÁNDANO

Medali Heidi Huarhua-Zaquinaula<sup>1</sup>, Cristian Nava-Díaz<sup>1</sup>, Reyna Rojas-Martínez<sup>1</sup>, Manuel Rosas-Romero<sup>2</sup>, Jesús Torres-García<sup>3</sup>, Daniel Téliz-Ortiz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Postgrado en Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup> Chief Scientific Officer, Planasa, 240 Lewis Road. Watsonville, CA, 95076, USA

<sup>3</sup> CIIDIR IPN, Unidad Michoacán, Justo Sierra#28, Jiquilpan, Michoacán CP 59510, Michoacán, México.

\*Autor para correspondencia: dteliz@colpos.mx

### INTRODUCCIÓN

Los arándanos en México van adquiriendo mayor importancia en el mercado internacional, ubicándose en el octavo exportador mundial de arándanos frescos durante los últimos cuatro años (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2023). Sin embargo, este crecimiento puede verse afectado por el ataque de diversos patógenos, entre ellos el hongo *Botrytis* spp.

*Botrytis cinerea* es el agente causal de la enfermedad conocida como el moho gris, una de las enfermedades de mayor importancia a nivel mundial (Orozco-mosqueda et al., 2023). Es la segunda especie del patógeno más importante causante de enfermedades de plantas (Dean et al., 2012). *B. cinerea* se ha descrito como una especie compleja, donde se han reclasificado un conjunto de especies morfológicamente crípticas (Azevedo et al., 2020). Su Diversidad genética en este género se ve atribuida por una serie de factores como son la capacidad de reproducción sexual, por lo que detectar los tipos de apareamientos de esta especie da una información de la capacidad de intercambio genético, aunque sean raramente evidenciadas en el campo (Beever & Weeds, 2007). Asimismo, la variabilidad en el genoma se puede deber a elementos transponibles (Elad et al., 2016) en donde para el caso de *Botrytis* se han reportado el elemento *Boty* y *Flipper* (Giraud et al., 1997). Sin embargo, para la identificación de especies dentro del complejo *B. cinerea* es necesario el análisis de genes codificantes nucleares (*G3PDH*, *HSP60*, *RPB2*) y genes de necrosis y producción de etileno *NEP1* y *NEP 2* (Staats et al., 2005, 2007). Además, Leroch et al.(2013) determinaron que a nivel intraespecifico se puede determinar el *B. cinerea* grupo S al evaluar el polimorfismo del gen codificante *mrr1* de los aislamientos (Leroch et al., 2013; Plesken et al., 2015). Todo ello, ha conllevado que en diferentes países actualicen el estudio a nivel de la diversidad genética presente en este complejo de *B. cinerea*, reportando de esta manera nuevas especies (Harper et al., 2019; Saito et al., 2016; Zhou et al., 2014).

Por lo que el primer objetivo de esta investigación fue caracterizar fenotípica y genéticamente aislamientos de *Botrytis* spp. procedentes de México, mediante descriptores culturales, detectar tipos de apareamiento MAT1-1/ MAT 1-2, elementos transponibles (*Boty* o *Flipper*) y determinar subgrupos N y S e identificar aislamientos de *Botrytis* bajo un análisis multilocus.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Lugar de colecta y aislamiento.** Las muestras de arándanos fueron recolectadas en campos comerciales bajo manejo orgánico o convencional. El muestreo fue dirigido a flores y frutos con signos, síntomas o asintomáticos (n=109) en cinco estados productores: Jalisco, Michoacán, Sinaloa, Guanajuato y Baja California. El período de colección fue de agosto del 2023 a febrero del 2024. Los aislados de *Botrytis* fueron cultivados en medio PDA y para la obtención de cultivos monoconidiales se siguió el procedimiento descrito por Pei et al.(2019).

**Caracterización cultural.** Los aislamientos se analizaron siguiendo la metodología de Pei et al.(2019) y se clasificaron según su tipo morfológico y morfotipos de acuerdo a Martínez et al. (2003). También se evaluaron los niveles de esporulación (E) y la capacidad de formación de esclerocios (cfe), utilizando las categorías definidas por Esterio en 2005 (Copier, 2013).

**Caracterización molecular.** Para la extracción de DNA se empleó el protocolo desarrollado por Saitoh et al. (2006) con algunas modificaciones. El micelio fue colectado con 8 días de crecimiento en medio PDA y la lisis se realizó empleando perlas de 4 mm de diámetro en el disruptor celular Retsch 400 MM, durante 16 minutos a 20 RPM. Las concentraciones de DNA fueron diluidas a una concentración de 50 a 100 ng/μl y almacenadas a - 20°C. Para la identificación de los aislamientos se emplearon los genes nucleares (RPB2-F/RPB2-R, G3PDH-F/G3PDH-R, and HSP60-F/HSP60-R ) y los genes de necrosis y proteínas inductoras de etileno ( NEP 2) (Staats et al., 2005, 2007). La PCR fue realizada empleando las condiciones respectivas para cada uno de los genes estudiados.

**Análisis filogenético.** Un aislamiento fue seleccionado para ser secuenciado con los 4 genes (G3PHD, HSP60, RPB2, NEP2) en ambos sentidos (forward y reverse). Las secuencias consenso fueron obtenidas con el programa de BioEdit, las cuales fueron comparadas con las secuencias disponibles en el NCBI, usando el programa BLAST.

Se construyó un árbol filogenético concatenado G3PDH + HSP60 + RPB2 +NEP2, usando la inferencia Bayesiana (Peña, 2011). Finalmente, se visualizaron todos los árboles en el

software FigTree v.1.4.2. También se analizó la máxima verosimilitud (ML) mediante Bootstrap basada en 50000 repeticiones con el programa raxmlGUI 2.0 (Edler et al., 2021). Se consideraron las ramas que tuvieron Bootstrap  $\geq 60\%$  y las probabilidades  $\geq 0.9$

**Determinación del tipo de apareamiento.** Se basó en la detección de los genes *MAT1-1* y *MAT1-2* empleando los primers desarrollados por Van Kan et al. (2010).

**Detección de elementos transponibles.** Para la detección de los elementos transponibles *Flipper* y *Boty* se usaron los primers F300 y F1500 (Levis et al., 1997) y Boty-F y Boty-R (Muñoz et al., 2008), respectivamente.

**Detección de subgrupos de *B. cinerea* (N y S).** Para diferenciar los grupos de *B. cinerea* N (sensu estricto) de *B. cinerea* S se empleó un grupo de tres juegos de primers diseñados por Plesken et al. (2015).

**Prueba de patogenicidad.** Las pruebas de patogenicidad fueron realizadas con frutos de arándanos recién cosechados bajo dos metodologías de inoculación: con heridas y sin heridas. Los frutos fueron desinfectados siguiendo la metodología de Saito et al. (2016). El método de inoculación fue por conidios a una concentración de  $1 \times 10^6$  (Cosseboom et al., 2017). Para evaluar la incidencia, diez frutos fueron inoculados por cada tratamiento e incubados a 22°C por 10 días.

**Análisis estadístico.** Para el análisis estadístico de genotipos y fenotipos se empleó la prueba de prueba ji-cuadrado de Pearson. Los análisis fueron analizados por el programa RStudio 2024.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se colectaron 109 aislamientos de los estados de Michoacán (23), Guanajuato (9), Jalisco (48), Sinaloa (19), Baja California (10). Del total de aislamientos el 82 % (89) fueron del tipo esclerocial y el 18% del tipo micelial ( $P=3.87 \times 10^{-11}$ ). Los esclerocios, poseen una melanina que les confiere resistencia o tolerancia contra factores ambientales extremos (temperaturas extremas, radiación UV, aplicaciones químicas, desecación y ataques microbianos) (Zhou et al., 2018). Podemos inferir que al menos el 82 % de aislamientos obtenidos en México podría tener esa ventaja de adaptación. Así mismo, estos esclerocios pueden ser la fuente de inóculo inicial

para el arándano u otros cultivos susceptibles; ya que tienen la capacidad de infectar a muchos hospedantes por su capacidad polífaga (Beever & Weeds, 2007).

Se detectaron los ocho morfotipos descritos por Martínez et al. (2003) con diferencias significativas entre estos ( $P=9.12 \text{ E}^{-05}$ ), predominando el morfotipo S3 (esclerocios grandes distribuidos aleatoriamente) y S4 (esclerocios pequeños distribuidos aleatoriamente) con un porcentaje de 31.1% y 24.8%, respectivamente.

De acuerdo al nivel de capacidad formadora de esclerocios y nivel de esporulación descritos por Esterio (2005), se encontraron 4 categorías (cfe-0, cfe-1, cfe-2, cfe-3) ( $P=5.49 \text{ E}^{-13}$ ), con una alta frecuencia (56.9%) de la categoría cfe-3 (alta producción de esclerocios). A nivel de esporulación, el 43 % tuvo una esporulación escasa (E1) y 38% una esporulación abundante (E3), seguido de aislamientos que esporulan escasamente (E2) (16%) y los que no esporulan (E0) (3%).

A nivel de caracterización genética, los dos tipos de apareamiento MAT1-1 y MAT1-2 se encontraron con una frecuencia de 42.2% y 57.8%, respectivamente; en una relación 1:1 ( $P=0.1035$ ), lo que indicaría el potencial de ocurrencia de una reproducción sexual como lo indican investigaciones previas (Pei et al., 2019). Basados en la detección de los dos elementos transponibles presentes en *Botrytis* (*Boty* y *Flipper*), se detectaron tres genotipos: Boty, Flipper y Transposa; sin embargo, el genotipo predominante fue Transposa con una frecuencia de 86.2%, seguido del genotipo Boty (8.3%) y Flipper (5.5%). El genotipo Vacuma no se encontró.

Se encontró el subgrupo *B. cinerea* S con una frecuencia de 2.8% en este estudio en México. Además, se encontró un *Botrytis cinerea* rosado, esto fue confirmado bajo un análisis multilocus.

*Botrytis cinerea* “rosado” se ha reportado en Italia, Japón, Francia, EUA y en China (Kamaruzzaman et al., 2018). Esta coloración se le atribuye a un pigmento denominado bikaverina (Kamaruzzaman et al., 2018; Limón et al., 2010).

Este es el primer reporte de *B. cinerea* de color rosado y del subgrupo *B. cinerea* S en arándano en México.

## AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCyT por la beca de posgrado otorgada. Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo por sus áreas de investigación, equipos y materiales brindados. A PLANASA, TOYO-KASEI, IPN-SINALOA, CAMPOSOL, Dra. María de Jesús Yáñez, Dr. Marcos Magallanes, M.C. Valdez Carrasco, M.C. Román García, Ing. Kiyotaka Sakurada, Ing. Daigo Ishikawa, Lcdo. Iván Ríos, Lcdo. Cesar Anda, M.C. Carlos Cruz, Ing. Erick Contreras, Ing. Ana Romero, Ing. Berenice Rodríguez, Ing. Gonzalo Meza, Ing. Luis Díaz, Nayeli Jiménez y Juan Trejo y a las diferentes empresas productoras de arándano que amablemente nos facilitaron el ingreso a sus plantaciones para la toma de muestras.

### LITERATURA CITADA

- Azevedo, D. M. Q., Martins, S. D. S., Guterres, D. C., Martins, M. D., Araújo, L., Guimarães, L. M. S., Alfenas, A. C., & Furtado, G. Q. (2020). Diversity, prevalence and phylogenetic positioning of *Botrytis* species in Brazil. *Fungal Biology*, 124(11), 940-957. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.08.002>
- Beever, R. E., & Weeds, P. L. (2007). Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia*. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, 29-52. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3_3)
- Cosseboom, S. D., Ivors, K. L., Schnabel, G., & Holmes, G. J. (2017). First Report of *Botrytis mali* Causing Gray Mold on Strawberry in California S. *Plant Disease*, 102(3), 1-3.
- Copier Aliaga, C. (2013). Caracterización Genética y Fenotípica de Aislados chilenos de *Botrytis cinerea* Pers. Provenientes de *Vitis-vinifera* L cv. Thompson Seedless con distinto nivel de sensibilidad a estrobilurinas. Tesis profesional de Ingeniera Agrónoma y grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención Sanidad Vegetal. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Edler, D., Klein, J., Antonelli, A., & Silvestro, D. (2021). raxmlGUI 2.0: A graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML. *Methods in Ecology and Evolution*, 12(2), 373-377. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13512>
- Elad, Y., Vivier, M., & Fillinger, S. (2016). *Botrytis*, the Good, the Bad and the Ugly. En S. Fillinger & Y. Elad (Eds.), *Botrytis - The Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems* (pp. 1-15). Springer International. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0>
- Giraud, T., Fortini, D., Levis, C., Leroux, P., & Brygoo, Y. (1997). RFLP markers show genetic recombination in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) and transposable elements reveal two sympatric species. *Molecular Biology and Evolution*, 14(11), 1177-1185. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025727>
- Harper, L. A., Derbyshire, M. C., & Lopez-Ruiz, F. J. (2019). Identification and characterization of *Botrytis medusae*, a novel cryptic species causing grey mould on wine

- grapes in Australia. *Plant Pathology*, 68, 939-953. <https://doi.org/10.1111/ppa.13005>
- Kamaruzzaman, M., Hao, F., Wu, M., & Li, G. (2018). Gray mold of strawberry (*Fragaria ananassa*) caused by a rare pink-colored isolate of *Botrytis cinerea* in China. *Australasian Plant Pathology*, 47(6), 587-589. <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0593-5>
- Leroch, M., Plesken, C., Weber, R. W. S., Kauff, F., Scalliet, G., & Hahn, M. (2013). Gray mold populations in German strawberry fields are resistant to multiple fungicides and dominated by a novel clade closely related to *Botrytis cinerea*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(1), 159-167. <https://doi.org/10.1128/AEM.02655-12>
- Levis, C., Fortini, D., & Brygoo, Y. (1997). Flipper, a mobile Fot1-like transposable element in *Botrytis cinerea*. *Molecular and General Genetics*, 254(6), 674-680. <https://doi.org/10.1007/s004380050465>
- Limón, M. C., Rodríguez-Ortiz, R., & Avalos, J. (2010). Bikaverin production and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(1), 21-29. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2551-1>
- Martinez, F., Blancard, D., Lecomte, P., Levis, C., Dubos, B., & Fermaud, M. (2003). Phenotypic differences between vacuina and transposa subpopulations of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 109(5), 479-488. <https://doi.org/10.1023/A:1024222206991>
- Muñoz, C., Gomez, S., Oriolani, E., & Arias, F. (2008). Identificación rápida de distintas razas de *Botrytis cinerea* en cultivos de vid. *Revista Enología*, 6(November), 1-4.
- Orozco-mosqueda, M. C., Kumar, A., Fadiji, A. E., Babalola, O. O., Puopolo, G., & Santoyo, G. (2023). *Agroecological Management of the Grey Mould Fungus*. 1-18.
- Pei, Y. G., Tao, Q. J., Zheng, X. J., Li, Y., Sun, X. F., Li, Z. F., Qi, X. B., Xu, J., Zhang, M., Chen, H. B., Chang, X. L., Tang, H. M., Sui, L. Y., & Gong, G. S. (2019). Phenotypic and genetic characterization of *Botrytis cinerea* population from kiwifruit in Sichuan Province, China. *Plant Disease*, 103(4), 748-758. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-18-0707-RE>
- Peña, C. (2011). Métodos de inferencia filogenética. *Revista Peruana de Biología*, 18(2), 265-267. <https://doi.org/10.15381/rpb.v18i2.243>
- Plesken, C., Weber, R. W. S., Rupp, S., Leroch, M., & Hahn, M. (2015). *Botrytis pseudocinerea* Is a Significant Pathogen of Several Crop Plants but Susceptible to Displacement by Fungicide-Resistant *B. cinerea* Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(20), 7048-7056. <https://doi.org/10.1128/aem.01719-15>
- Saito, S., Margosan, D., Michailides, T. J., & Xiao, C. L. (2016). *Botrytis californica*, a new cryptic species in the *B. cinerea* species complex causing gray mold in blueberries and table grapes. *Mycologia*, 108(2), 330-343. <https://doi.org/10.3852/15-165>
- Saitoh, K., Togashi, K., Arie, T., & Teraoka, T. (2006). A simple method for a mini-preparation of fungal DNA. *J Gen Plant Pathol*, 72, 348-350. <https://doi.org/10.1007/s10327-006-0300-1>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo rural. (29 de noviembre del 2023). México, octavo exportador mundial de arándano, mayoritariamente azul: Agricultura. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/mexico-octavo-exportador-mundial-de-arandano-mayoritariamente-azul-agricultura>

- Staats, M., van Baarlen, P., Schouten, A., van Kan, J. A. L., & Bakker, F. T. (2007). Positive selection in phytotoxic protein-encoding genes of *Botrytis* species. *Fungal Genetics and Biology*, 44(1), 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2006.07.003>
- Staats, M., Van Baarlen, P., & Van Kan, J. A. L. (2005). Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular Biology and Evolution*, 22(2), 333-346. <https://doi.org/10.1093/molbev/msi020>
- van Kan, J.A.L., Duarte, J., Dekkers, E., Dyer, P.S. and Kohn, L. M. (2010). *The Botrytis cinerea mating type loci. XV International Botrytis symposium. 31st May-4 th June 2010* (abstract).
- Zhou, Y. J., Zhang, J., Wang, X. D., Yang, L., Jiang, D. H., Li, G. Q., & Hsiang, T. (2014). Morphological and phylogenetic identification of *Botrytis sinoviticola*, a novel cryptic species causing gray mold disease of table grapes (*Vitis vinifera*) in China. *Mycologia*, 106(1), 43-56. <https://doi.org/10.3852/13-032>
- Zhou, Y., Li, N., Yang, J., Yang, L., Wu, M., Chen, W., Li, G., & Zhang, J. (2018). Contrast between orange- and black-colored sclerotial isolates of *Botrytis cinerea*: Melanogenesis and ecological fitness. *Plant Disease*, 102(2), 428-436. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-16-1663-RE>

## MUESTREO SECUENCIAL Y DETECCIÓN DE RESISTENCIA VEGETAL DE VARIETADES DE FRESA (*Fragaria x ananassa*) EN LA PALOMILLA DEL PIMIENTO (*Duponchelia fovealis*)

Jannet Jaraleño-Teniente<sup>1\*</sup>, Héctor González-Hernández<sup>1</sup>, J. Refugio Lomeli-Flores<sup>1</sup>, Lauro Soto-Rojas<sup>1</sup>,  
Fernando Tamayo-Mejía<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Posgrado en Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5 Montecillo, CP. 56230 Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup> Secretaría de Desarrollo Agropecuario de Guanajuato, Av. Irrigación S/N, Colonia Monte Camargo, CP. 38010 Celaya, Guanajuato, México.

\*Autor para correspondencia: tenientejanet@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

En 2023, México destacó en la producción de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch), ocupando el cuarto lugar a nivel mundial (SIAP, 2023) y el segundo lugar en exportación de esta frutilla (FAO, 2024). En Guanajuato, la fresa se cultiva en 20 municipios y se posiciona como el segundo estado productor nacional de este fruto, con un aporte de más de 96,000 t (SIACON, 2023; SIAP, 2023). La palomilla europea del pimiento, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), es una plaga de reciente introducción a México, con reportes de daños en cultivos de fresa y arándano, principalmente (Reyes-Serrano *et al.*, 2023; Rodríguez-Vázquez *et al.*, 2023). Las larvas de *D. fovealis* perforan tallos y raíces, por lo que provocan marchitez y debilitamiento de las plantas y reducen significativamente los rendimientos (Bethke y Vander-Mey, 2011). En el contexto del Manejo Integrado de Plagas, el muestreo es indispensable para conocer la abundancia, distribución espacial y estructura de las poblaciones plagas y los daños asociados, permitiendo así tomar decisiones de manejo basadas en los hallazgos obtenidos (Romero-Rosales, 2010). En esta misma línea, la resistencia vegetal, enmarcada dentro del control genético, representa la primera línea de defensa de las plantas y su implementación puede reducir significativamente los daños causados por artrópodos plaga (Smith, 2005). En este contexto, uno de los objetivos de la presente investigación fue desarrollar un plan de muestreo secuencial para optimizar el tiempo de estimación de la densidad poblacional de *D. fovealis* en parcelas de fresa. Un segundo objetivo fue evaluar las respuestas de preferencia y desempeño de *D. fovealis* sobre cinco variedades de fresa para detectar si existe evidencia de resistencia vegetal de algunas de ella.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Muestreo de la población

En los estados de Guanajuato y Michoacán, se realizaron 22 muestreos independientes en parcelas de cultivo de fresa con diversos grados de infestación por *D. fovealis*. En cada parcela se inspeccionaron 50 plantas, seleccionadas mediante un muestreo sistemático con inicio aleatorio, y se registró la presencia o ausencia de la plaga y el número de estados inmaduros encontrados por planta. Con la información derivada de los muestreos antes descritos, se calcularon los parámetros de Taylor (Taylor, 1961) para conocer la disposición espacial de la plaga, esto sirvió para desarrollar un plan de muestreo secuencial con precisión fija a través del método de Green (Green, 1970), el cual se implementó en la aplicación Agromuestreo y se validó mediante evaluaciones de la plaga en campo

### **Evaluación de la resistencia por antixenosis**

*Cría de insectos.* La cría de *D. fovealis* se ha mantenido en condiciones controladas en el laboratorio de Control Biológico del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Las larvas se mantienen juntas en un recipiente y se alimentan con dieta artificial (Southland Products Inc., Arkansas) y dieta natural compuesta por hojas de fresa de la variedad Albión. Los adultos se alimentan con una solución de agua-miel en proporción 9:1 y se mantienen en jaulas para insectos de 30 x 30 cm.

*Material vegetal.* Las plantas de fresa se mantienen en condiciones de invernadero en instalaciones del Campus, Montecillo. Las variedades empleadas son San Andreas, Camino Real, Victor, Cabrillo y Albión, que se obtuvieron de un vivero ubicado en Irapuato, Guanajuato.

*Bioensayo de consumo foliar sin opción.* La arena experimental consistió en una charola de plástico de 15 x 15 cm; dentro de la arena se colocó una larva de *Duponchelia fovealis* de 4° instar y una hoja de fresa de una determinada variedad (previamente digitalizada con un escáner HP Deskjet 2050 para obtener la superficie inicial foliar), con el pecíolo sumergido en un tubo Eppendorf de 5 ml con agua simple para mantener la turgencia. Después de 48 h, se retiró la larva y se volvió a digitalizar la hoja para obtener el área consumida. Cada variedad representó un tratamiento y se realizaron 30 repeticiones por tratamiento.

*Bioensayo consumo foliar con opción.* La preparación de las hojas por variedad de fresa siguió un procedimiento similar al del experimento anterior, con la excepción de que no se incluyó la variedad Albion en este ensayo. La arena experimental consistió en una bandeja redonda de 40 cm de diámetro, en la cual se colocaron cuatro hojas de diferentes variedades, dispuestas en forma de

cruz y equidistantes entre sí. En el centro de la arena se ubicó una larva de *D. fovealis* de 4° instar, y se cubrió con una tapa de plástico para evitar su escape. La larva se retiró después de 72 horas, y se digitalizaron las hojas para determinar la superficie final, en aquellas que mostraban signos de consumo. Se realizaron 60 repeticiones por tratamiento, 15 repeticiones en el tiempo, en cada ocasión se instalaron 4 unidades experimentales. El área foliar consumida por variedad, medida en cm<sup>2</sup>, se analizó mediante una prueba de ji cuadrada utilizando el software estadístico R versión 4.3.2.

### **Evaluación de la resistencia por antibiosis**

*Hipótesis de preferencia de oviposición en materia orgánica.* La arena experimental se estableció en una jaula para insectos de 30 x 30 cm. En esta jaula se colocaron dos tratamientos. El primer tratamiento consistía en tres hojas de fresa de la variedad San Andreas, con el peciolo sumergido en un frasco con 15 ml de agua para mantener la turgencia, ubicadas en un extremo de la jaula. En el otro extremo se colocó una caja de Petri de 5 cm de diámetro con una sanita en la base y tres hojas de la misma variedad en proceso de descomposición (hojas cortadas 30 días antes del inicio del experimento) y humedecidas constantemente para evitar la desecación. Posteriormente, se expuso a una pareja de adultos de menos de 24 h de emergencia; también se colocó en el centro de la jaula un algodón humedecido con una solución de agua y miel en proporción 9:1 como alimento para los adultos. Después de 72 h, se retiraron las palomillas y se procedió al conteo de huevos por tratamiento. Para este experimento se realizaron ocho repeticiones. Los datos de oviposición se analizaron mediante una prueba t de Student para muestras pareadas utilizando el software estadístico R versión 4.3.2.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Muestreo sistemático.** Los datos de los muestreos realizados en plantaciones de fresa de Guanajuato y Michoacán, se incorporaron a la aplicación Agromuestreo para sistema operativo Android (registrada en el sitio para aplicaciones móviles Play Store), indican una disposición espacial de *Duponchelia fovealis* al azar con una ligera agregación. Agromuestreo es una aplicación que implementa el muestreo secuencial con precisión fija para estimar la abundancia de artrópodos plaga en los agroecosistemas. Conocer la disposición espacial de una plaga es crucial para

desarrollar planes de muestreo eficientes, planificar tácticas de manejo y mejorar la precisión en la estimación de poblaciones y predecir los daños de una plaga (Martins *et al.*, 2018).

En el bioensayo para evaluar la resistencia vegetal por antixenosis sin opción, donde la larva de *D. fovealis* estaba restringida a consumir una sola variedad, se encontraron diferencias significativas entre las variedades. La prueba de comparación de medias determinó que la única variedad estadísticamente diferente fue Albión ( $p = 0.024$ ), que fue la menos preferida, en contraste con San Andreas que fue la variedad con mayor porcentaje de consumo. Estos resultados difieren de lo encontrado por Bischoff y colaboradores (2023), quienes determinaron que en pruebas sin opción, la variedad Albión era la más consumida por *D. fovealis* cuando se comparaba contra las variedades Portola, Aromas y San Andreas, ésta última usada en el presente experimento. En el bioensayo con opción, donde se proporcionaron simultáneamente diferentes variedades a la larva, el área foliar consumida no difirió entre las variedades probadas. Estos resultados coinciden con un estudio similar en el cual los investigadores no encontraron evidencia de preferencia hacia alguna variedad en ensayos de libre elección (Bischoff *et al.*, 2023). La antixenosis o no preferencia consiste en que la planta puede provocar un cambio en la conducta de los artrópodos, impidiéndoles utilizarla como sitio de refugio, oviposición o alimento (Stout, 2013). Por lo tanto, la antixenosis predice que ciertos rasgos de las plantas afectan el comportamiento de los herbívoros, de manera que estos reducen la colonización o aceptación de la planta huésped (Stout, 2013). Los ensayos del presente estudio sugieren que no existe un efecto de antixenosis hacia *D. fovealis* por parte de las variedades de fresa; sin embargo, actualmente se están desarrollando experimentos de preferencia de oviposición para robustecer esta hipótesis. Para evaluar la resistencia por antibiosis, se llevaron a cabo experimentos para obtener los parámetros biológicos de *D. fovealis* alimentada con cuatro diferentes variedades de fresa. Sin embargo, en pruebas preliminares se observaron mortalidades del 45 al 90% de larvas de primer instar en todas las variedades, probablemente debido al grosor o dureza de la hoja de fresa, lo que dificultó el establecimiento de larvas neonatas. Se ha probado que factores como la morfología de la planta o rasgos físicos como la presencia de tricomas o la dureza de la hoja pueden influir en el establecimiento o en el desempeño de los herbívoros (Carmona *et al.*, 2011).

Por observaciones de campo, se planteó la hipótesis de que los primeros estadios larvales de *D. fovealis* se desarrollan sobre un sustrato diferente a la planta, concretamente materia orgánica en descomposición cercana al surco. Este comportamiento puede deberse a que esta materia orgánica

no presenta la misma dureza que una hoja viva. El experimento planteado para probar esta hipótesis consistió en ofrecer simultáneamente dos sustratos diferentes a la hembra de *D. fovealis* y medir la oviposición en cada uno de ellos. El análisis estadístico ( $t = -3.39$ ,  $p = .0115$ ,  $gl = 7$ ) indicó que existían diferencias en la preferencia del sustrato, ya que la oviposición promedio en materia orgánica fue de 37.7 huevos; mientras que, el promedio de huevos sobre la planta fue de 4.87. La preferencia de la larva por lugares húmedos, así como por los hábitos de consumo saprófagos de *D. fovealis*, habían sido reportados con anterioridad (White, 2012; Rodríguez-Vázquez *et al.*, 2023). Sin embargo, ésta es la primera ocasión en que se reporta la preferencia de oviposición de *D. fovealis* sobre materia orgánica. Con base en los resultados del presente experimento, actualmente se desarrollan pruebas para la detección de resistencia por antibiosis con tablas de vida fraccionadas. También se desarrollarán pruebas para determinar si existen diferencias significativas en la dureza de las hojas vivas o recién cortadas de fresa y hojas en proceso de descomposición. Los experimentos para evaluar las respuestas de preferencia y desempeño de *D. fovealis* sobre variedades de fresa tienen como finalidad detectar la resistencia vegetal de alguna de las variedades. Asimismo, la detección de preferencia de oviposición sobre materia orgánica refuerza la idea de un manejo eficaz de la plaga por métodos culturales, mediante la remoción de restos de plantas presentes en la parcela (Copeman y Frank, 2024).

### AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados por el apoyo financiero para desarrollar los experimentos y al CONACYT por la beca otorgada al primer autor para realizar sus estudios de doctorado. Al CESAVEG por su apoyo para el acercamiento a los productores, así como la colecta de material biológico en las plantaciones de fresa.

### LITERATURA CITADA

- Bethke J, & Vander-Mey B. 2011. Pest Alert: *Duponchelia fovealis*. University of California Cooperative Extension, San Diego. <https://ucanr.edu/sites/cetest/files/55177.pdf>
- Bischoff, A. M., Araujo, E. S., Benatto, A., Zimmermann, R. C., de Oliveira, M. C., da Rosa, J. M., ... & Zawadneak, M. A. 2023. Evidence of antibiosis resistance of four strawberry cultivars against *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae). Crop Protection, 168, 106213. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106213>

- Carmona, D., Lajeunesse, M. J., & Johnson, M. T. 2011. Plant traits that predict resistance to herbivores. *Functional Ecology*, 25(2), 358-367. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01794.x>
- Copeman, S. M., & Frank, S. D. 2024. Profile of *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae) as a greenhouse and nursery pest in the United States. *Journal of Integrated Pest Management*, 15(1), 19. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmae011>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2024. FAOSTAT. Datos sobre alimentación y agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia. <https://www.fao.org/faostat/es/#home> (Consulta: junio 2023).
- Green, R.H. 1970. On fixed precision level sequential sampling. *Population Ecology*. 12, 249–251. <https://doi.org/10.1007/BF02511568>
- Martins, J., Picanço, M., Silva, R., Gonring, A., Galdino, T., & Guedes, R. 2018. Assessing the spatial distribution of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs in open-field tomato cultivation through geostatistical analysis. *Pest management science*, 74(1), 30-36. <https://doi.org/10.1002/ps.4664>.
- Reyes-Serrano, M. A., Guzmán-Franco, A. W., Santillán Galicia, M. T., Alatorre-Rosas, R., Tamayo-Mejía, F., & Rodríguez-Maciel, J. C. 2023. Susceptibility of *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) to different entomopathogens in laboratory conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 33(6), 555-566. <https://doi.org/10.1080/09583157.2023.2207790>
- Rodríguez-Vázquez, E., Pineda-Guillermo, S., Hernández-Juárez, A., Tejeda-Reyes, M. A., López-Bautista, E., & Llescas-Riquelme, C. P. 2023. Sexual dimorphism, diagnosis and damage caused by *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 82(3), 13-20. <https://doi.org/10.25085/rsea.820303>
- Romero-Rosales, F. 2010. Manejo ecológico de patosistemas: las bases, los conceptos y los fraudes (o manejo integrado de plagas, MIP). Departamento de Agroecología y Sociología Rural. Universidad Autónoma Chapingo.

- SIACON (Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta). 2023. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430> (Consulta: junio 2023).
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2023. Panorama Agroalimentario 2023. [https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/) (Consulta: junio 2023).
- Smith, C. M. (Ed.). 2005. Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Stout, M. J. 2013. Reevaluating the conceptual framework for applied research on host-plant resistance. *Insect Science*, 20(3), 263-272. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12011>
- Taylor, L.R. 1961. Aggregation, variance and the mean. *Nature*. 189, 732-735. <https://doi.org/10.1038/189732a0>
- White J. 2012. Greenhouse pest alert the European Pepper Moth, *Duponchelia fovealis*. Vol. 324. UK Cooperative Extension Service. 2 p. <https://entomology.ca.uky.edu/files/ef324.pdf>

# ORNAMENTALES

## HONGOS ENDÓFITOS DE LA PALMA CANARIA (*Phoenix canariensis* H. Wildpret) EN LA CIUDAD DE MEXICO

Nancy Patricia Nava-García<sup>1\*</sup>, Dionicio Alvarado-Rosales<sup>1</sup>, Luz de Lourdes Saavedra-Romero<sup>1</sup>, Andrés Quezada-Salinas<sup>1</sup>, Sergio Aranda-Ocampo<sup>1</sup>, Armando Equihua-Martínez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Postgrado en Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México. \*Autor para correspondencia: nava.nancy@colpos.mx

### INTRODUCCIÓN

*Phoenix canariensis* es una palmera utilizada principalmente en jardinería como planta ornamental (Obón *et al.*, 2017). Esta palmera posee una amplitud ecológica que le permite vivir en condiciones climáticas y geográficas muy variables, así, la podemos encontrar desde sitios a nivel del mar hasta altitudes de 2240 metros como la Ciudad de México (CDMX) (Sosa *et al.*, 2021; Martínez 2017). La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) establece que *P. canariensis* forma parte de las plantas más comunes de la CDMX; siendo la palmera más cultivada en los parques y jardines de la ciudad (CONABIO, 2021). Actualmente, existen alrededor de 15 000 palmeras en la CDMX, siendo la más común *P. canariensis* (SEDEMA 2022), especie que desde 2015 está siendo afectada por problemas sanitarios que la conducen a su muerte.

Las palmeras son plantas que brindan diversos nichos ecológicos que son habitados por diferentes microorganismos que residen dentro del tejido de la hoja, llamados endófitos, en particular poblaciones fúngicas (Liu *et al.*, 2020; Trivedi *et al.*, 2020). Los hongos endófitos son comunidades asociadas al hospedante que colonizan los espacios intercelulares o intracelulares de los tejidos de la planta, en ésta, encuentran un nicho protegido que les brinda nutrientes necesarios para su desarrollo, a cambio de este lugar seguro los hongos mejoran la aptitud de las plantas desempeñando funciones importantes en el crecimiento de las plantas, la resistencia a las enfermedades, la tolerancia al estrés ambiental y el mayor suministro y reciclaje de nutrientes (Poveda y Baptista 2021; Sivacumar *et al.*, 2020; Alam *et al.* 2021; Vandenkoornhuyse *et al.* 2015).

Tomando en cuenta los beneficios que los hongos endófitos proporcionan a la planta, es de suma importancia ahondar en el estudio de las poblaciones endófitas fúngicas en *P. canariensis* que

contribuya al desarrollo de alternativas viables que coadyuven en el cuidado de la salud de las palmeras.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestreo y aislamiento.** Se muestrearon 18 palmeras aparentemente sanas y sintomáticas en cuatro sitios: La Avenida Paseo de las Palmas (APP) con tres palmeras, Avenida de los Maestros (AM) con tres palmeras, Ferrería (FER) con 6 palmeras y Avenida 535 Esquina Talismán (AET) con seis palmeras. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico herméticas y se transportaron en hielera para su procesamiento en el laboratorio de Patología Forestal del Programa de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

Trozos de pecíolo desinfectados se colocaron en medio papa-dextrosa agar y se incubaron a 28 °C por 10-15 días. Una vez que se observó el crecimiento de micelio se tomó una fracción y se transfirió a otra caja Petri con medio PDA y se incubó por 5-7 días. Transcurrido ese tiempo, se tomaron cuatro fracciones de micelio y se colocaron en medio agar-agua al 2% para su purificación; después se conservaron en aceite mineral para su uso posterior.

**Identificación.** Los hongos endófitos se caracterizaron morfológicamente y para la identificación molecular, se utilizaron cebadores de PCR “forward y reverse” para amplificar y secuenciar la región ITS.

**Actividad antagónica por cultivo dual.** Hongos endófitos y patógenos se cocultivaron en placas de 90 mm de diámetro, se utilizaron tres diferentes medios de cultivo: PDA, extracto de malta y agar-agua, se colocaron discos de 5 mm de diámetro de colonias puras en la periferia de las cajas con una separación de 40 mm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 18 plantas muestreadas se obtuvieron 127 aislamientos. Las palmeras más jóvenes (10-20 años) mostraron una mayor diversidad de morfotipos, mientras que las palmeras de mayor edad (60-80 años) mostraron menor diversidad. Por otro lado, para los tres rangos de edad, las palmeras con síntomas de enfermedad presentaron mayor diversidad de morfotipos. De igual forma, en cuanto a la frecuencia de morfotipos se encontró que las palmeras de 10-20 años mostraron mayor número de aislamientos en comparación con las palmeras de 60-80 y de 40-60 años. Por medio de ITS se identificaron molecularmente 25 especies. En las pruebas de

antagonismo, los hongos *Xylaria* sp. y *Mucor racemosus* presentaron mayor actividad antagonica frente a los patógenos *Nalanthamala vermoesonii*, *Lasiodipodia pseudotheobromae* y *Alternaria tenuissima*.

Los resultados obtenidos muestran que existe un desequilibrio de las poblaciones endófitas fúngicas el cual puede estar ligado a una enfermedad tal como se ha estudiado en plantas atacadas por hongos, bacterias e insectos en donde se ha observado que existe un considerable aumento de la población del filo Proteobacteria y disminución en Firmicutes, así como de la diversidad en general (Chen *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020). De igual forma, la edad de la palmera desempeña un papel determinante en la abundancia y diversidad de hongos endófitos; al respecto, se ha encontrado que en *Citrus sinensis* L. la diversidad y abundancia se ve afectada por las estaciones, el tejido vegetal y la edad del árbol (Ziaie *et al.*, 2019) Así mismo, se observó que la diversidad de hongos endófitos fue mayor en hojas senescentes que en hojas jóvenes de *Calostropis procera* Aiton (Nascimento *et al.*, 2015). Por otro lado, los hongos *Xylaria* sp y *Mucor racemosus* mostraron actividad antifúngica en los tres medios de cultivo en donde fueron confrontados, dichos organismos se han reportado como organismos endófitos que presentan actividad antagonica debido a los compuestos secundarios que biosintetizan (Charria *et al.* 2021; Basheer *et al.*, 2018). Así mismo, además de las enzimas extracelulares que producen, la literatura señala a *Xylaria* sp., como promotor del crecimiento de las plantas (Sharma *et al.*, 2023). En ese sentido, identificar y seleccionar organismos con potencial antagonico y propiedades que optimicen la adquisición de nutrientes es el primer y más importante paso para establecer alternativas de manejo que contribuyan a la sanidad de las palmeras. Este trabajo es el primer informe en México que describe hongos endófitos que residen en pecíolos de *P. canariensis* y evalúa su potencial capacidad de biocontrol.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT por la beca otorgada al primer autor para la realización de sus estudios de Doctorado. Al Colegio de Postgraduados por las facilidades proporcionadas para la realización de la investigación.

## LITERATURA CITADA

- Alam B, Li J, Ge Q, Alam M, Gong J, Mehmood S, Yuan Y y Gong W. 2021. Endophytic fungi: from symbiosis to secondary metabolite communications or vice versa?. *Frontier in Plant Science*. 12- 791033.
- Basheer M, Mekawey A, El-Kafrawy B y Abouzeid A. 2018. Antimicrobial activities of endophytic fungi of Red Sea aquatic plant *Avicennia marina*. *Egyptian Journal of Microbiology*, 53(1): 231-240.
- Charria-Girón E, Espinosa C, Zapata-Montoya A, Méndez J, Caicedo P, Dávalos F y Caicedo H. 2021. Evaluation of the antibacterial activity of crude extracts obtained from cultivation of native endophytic fungi belonging to a tropical montane rainforest in Colombia. *Frontiers in Microbiology*. 12:716523.
- Chen T, Nomura K, Wang X, Sohrabi R, Xu J, Yao L, Paasch C, Ma L, Kremer J, Cheng Y, Zhang L, Wang N, Wang E, Xin F y He Y. 2020. A plant genetic network for preventing dysbiosis in the phyllosphere. *Nature*. 580 (7805): 653– 657.
- CONABIO. 2021. Guía de árboles comunes de la Ciudad de México. 4 p.
- Durán R. 2016. Palmas. Biodiversidad y desarrollo humano Yucatán (CICY). 490 p.
- Li P, Xu J, Wang Z y Li H. 2020. Phyllosphere microbiome in response to citrus Melanose. *Research Square*. 1-26.
- Liu, H, Brettell E y Singh B. 2020. Linking the phyllosphere microbiome to plant health. *Trends in Plant Science*. 25(9): 841–844.
- Martínez M. 2017. El género *Phoenix* en jardinería y paisajismo: el caso de *Phoenix canariensis*. Tesis de Doctorado. Universidad Miguel Hernández. 170 p.
- Nascimento L, Oki Y, Lima M, Almeida-Cortez J, Fernandes W y Souza-Motta C. 2015. Biodiversity of endophytic fungi in different leaf ages of *Calotropis procera* and their antimicrobial activity. *Fungal ecology*. 14:79-86.
- Obón C, Rivera D, Alcaraz F, Laguna E y Fajardo J. 2017. *Phoenix canariensis*. Inventario español de los conocimientos tradicionales relativos a la biodiversidad. Pardo Santayana M, R.

- Morales L. Aceituno y M. Molina. Ministerio de Agricultura, alimentación y medio ambiente. Madrid. 413p.
- Poveda, J, Eugui D, Abril-Urías P and Velasco P. 2021. Endophytic fungi as direct plant growth promoters for sustainable agricultural production. *Symbiosis*. 85: 1–19.
- SEDEMA. 2022. Atención a palmeras de la Ciudad de Mexico. Boletín informativo. 10 p.
- Sivakumar N, Sathishkumar R, Selvakumar G, Shyamkumar R and Arjunekumar K. 2020. Plant microbiomes for sustainable agriculture: Chapter 5. Phyllospheric Microbiomes: Diversity ecological significance and biotechnological applications. Springer. 496p.
- Sharma S, Dhar K y Kaul, S. 2023. Antagonistic, plant growth promoting and extracellular hydrolytic enzyme activity of fungal endophytes of *Dioscorea bulbifera* L. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 50-102694
- Sosa P, Saro I, Johnson D y Alcaraz F. 2021. Biodiversity and conservation of *Phoenix canariensis*: a review. Springer. 30(1):1-19.
- Trivedi P, Leach J, Tringe S, Sa T y Singh B. 2020. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*. 18:607–621.
- Vandenkoornhuyse P, Quaiser A, Duhamel M, Le Van A y Dufresne A. 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*. 206 (4):1196–1206.
- Ziaie, Tajick M, Rahimian H, Karimi K y Arzanlou M. 2019. Seasonal, tissue and age influences on frequency and biodiversity of endophytic fungi of *Citrus sinensis* in Iran. *Forest Pathology*. 49(6): e12559.

# EXPOSICIÓN DE CARTELES

## ANÁLISIS DE HAPLOTIPOS ND5-ND4 EN *Ceratitis capitata* (MOSCA DEL MEDITERRÁNEO) DE LA ZONA FRONTERIZA DE CHIAPAS

Leonardo Roa-Mosqueda<sup>1</sup>, Brenda Torres-Huerta<sup>2\*</sup>, Obdulia Lourdes Segura-León<sup>2</sup>, Oscar Morales Galván<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, Km 38.5, 56230, Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México.

\*Autor de correspondencia: [torres.brenda@colpos.mx](mailto:torres.brenda@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

La mosca del Mediterráneo (*Ceratitis capitata*), o moscamed, es considerada una de las plagas más destructivas y de mayor importancia económica en cultivos hortofrutícolas (Deschepper *et al.*, 2021). Aunque México es un territorio libre de la moscamed, se han reportado diversas entradas transitorias. Por ejemplo, el 24 de abril de 2019 se detectó un ejemplar en el puerto de Manzanillo, Colima, el cual fue erradicado según un informe de la NAPPO (2020). Además, SENASICA (2023), en su quinto informe mensual de las Actividades del Programa MOSCAMED, reportó la presencia de 637 entradas transitorias activas en la frontera de Chiapas con Guatemala.

El análisis de las vías de introducción de la moscamed es crucial para la eficacia de las estrategias de exclusión, ya que conocer la probable fuente geográfica de una introducción puede mejorar las políticas cuarentenarias. El uso de la PCR y la secuenciación ha permitido distinguir entre poblaciones de *C. capitata*, identificando nuevas variantes poblacionales, como se describe en el trabajo de Ruiz-Arce *et al.* (2020).

Investigaciones recientes sobre la genética poblacional de la moscamed, que analizan la región ND5-tRNA-ND4, han identificado cerca de 231 haplotipos en seis regiones geográficas (Valencia-Rueda, 2023). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es realizar un análisis de polimorfismos y haplotipos del locus ND5-ND4 en individuos de moscamed colectados en tres localidades de la zona fronteriza de Chiapas.

### MATERIALES Y MÉTODO

**Material biológico.** Las muestras biológicas fueron proporcionadas por el laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Genética del Programa Operativo de Moscas, provenientes de tres localidades de la zona fronteriza de Chiapas: El Vergel, Comitán; Santa Rita, Frontera Comalapa; y Pico de Loro, Frontera Comalapa. Las muestras se preservaron en RNA later (Invitrogen™ by Thermo Fisher Scientific) y etanol al 70%.

**Amplificación y secuenciación de la región mitocondrial N5N4.** Se utilizaron los

cebadores ND5-J-7908 (5'-ACGATTAATATTGATATCTCC-3') y ND4-N-8628 (5'-TGGTCATGGATTATGTTC-3') descritos por Barr (2009) y sintetizados en T4Oligo. La amplificación se realizó en un volumen de 25  $\mu$ l, incluyendo 12.5  $\mu$ l de GoTaq® Colorless Master Mix (Promega) y 20-80 ng de ADN. Las condiciones de termociclado fueron: desnaturalización inicial de 3 min a 95°C, seguida de 30 ciclos de 95°C por 30 s, 53.3°C por 30 s y 72°C por 1 min, con una extensión final de 5 min a 72°C. Los productos se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% con GelRed (Biotium, Inc.) en un fotodocumentador (Vilber Lourmat ST5). Se realizó limpieza de productos de PCR con Sephadex G-50 si fue necesario. Los productos se enviaron a secuenciar a Macrogen Inc. en Seúl, Corea.

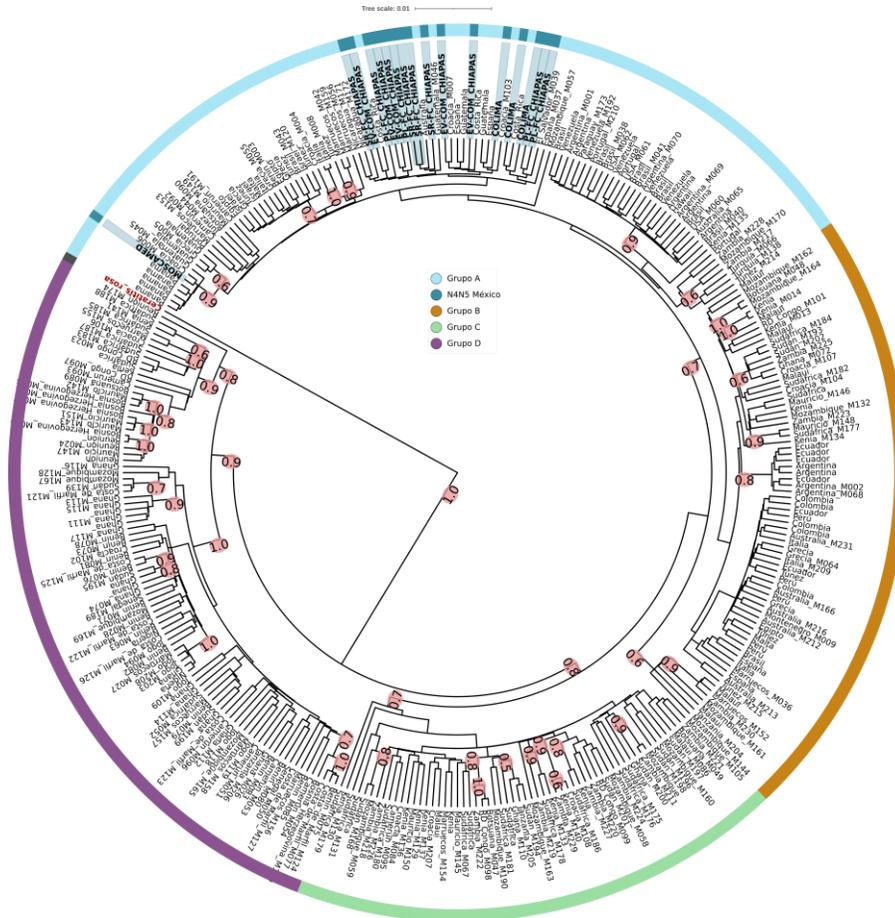
**Reconstrucción filogenética.** Las secuencias se ensamblaron con Geneious Prime v2024.0.2. Se generó una base de datos con secuencias de la región ND5-ND4 de los individuos de este estudio, 318 secuencias reportadas en NCBI y tres secuencias de un brote en Manzanillo, Colima (Segura-León y Torres-Huerta, 2021). Se realizó un alineamiento múltiple con Clustal Omega y se utilizó a *C. rosa* como grupo externo. El mejor modelo evolutivo de sustitución nucleotídica se obtuvo con ModelTest-NG según el criterio de BIC. El análisis filogenético se realizó mediante inferencia bayesiana en Beast2 v1.10.4 con 50,000,000 generaciones. La salida MCMC se evaluó en Tracer v1.7.1, y se construyó el árbol consenso descartando el 30% de los árboles iniciales. La edición del árbol consenso se realizó en iTOL v6.5.8.

**Análisis de polimorfismo y redes de haplotipos del marcador N5N4.** La diversidad de haplotipos se analizó con DnaSP v6.12.03, estimando el número de haplotipos (k), sitios segregantes (S), diversidad de haplotipos (h) y diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ). Se construyó una red de haplotipos en PopART usando el algoritmo de unión de mediana (MJ) (Bandelt *et al.*, 1999) para representar las relaciones genéticas y geográficas entre las secuencias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Reconstrucción filogenética.** El conjunto de datos incluyó 318 secuencias de individuos procedentes de 50 países y 8 regiones geográficas: Mediterráneo, Centroamérica, Sudamérica, Hawái, Australia, África subsahariana, Oeste de África y Este Sur de África. Para el análisis filogenético se utilizó el modelo de sustitución de nucleótidos TrN+G4+I, según el criterio de BIC. Las secuencias obtenidas tuvieron longitudes de 584 y 681 pb, con una cobertura mínima de

584 pb. El árbol filogenético estructuró las secuencias en 4 grupos (Figura 1). Las secuencias de los individuos de Chiapas se clasificaron en el grupo A, el más numeroso, con 109 secuencias recolectadas de 25 localidades en 28 países y 7 regiones geográficas. La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) en este grupo es de 0.0055, con 36 sitios segregados y 13 sitios informativos para parsimonia, mientras que el estadístico D de Tajima tuvo un valor de -1.73324 con una significancia de 0.97087.

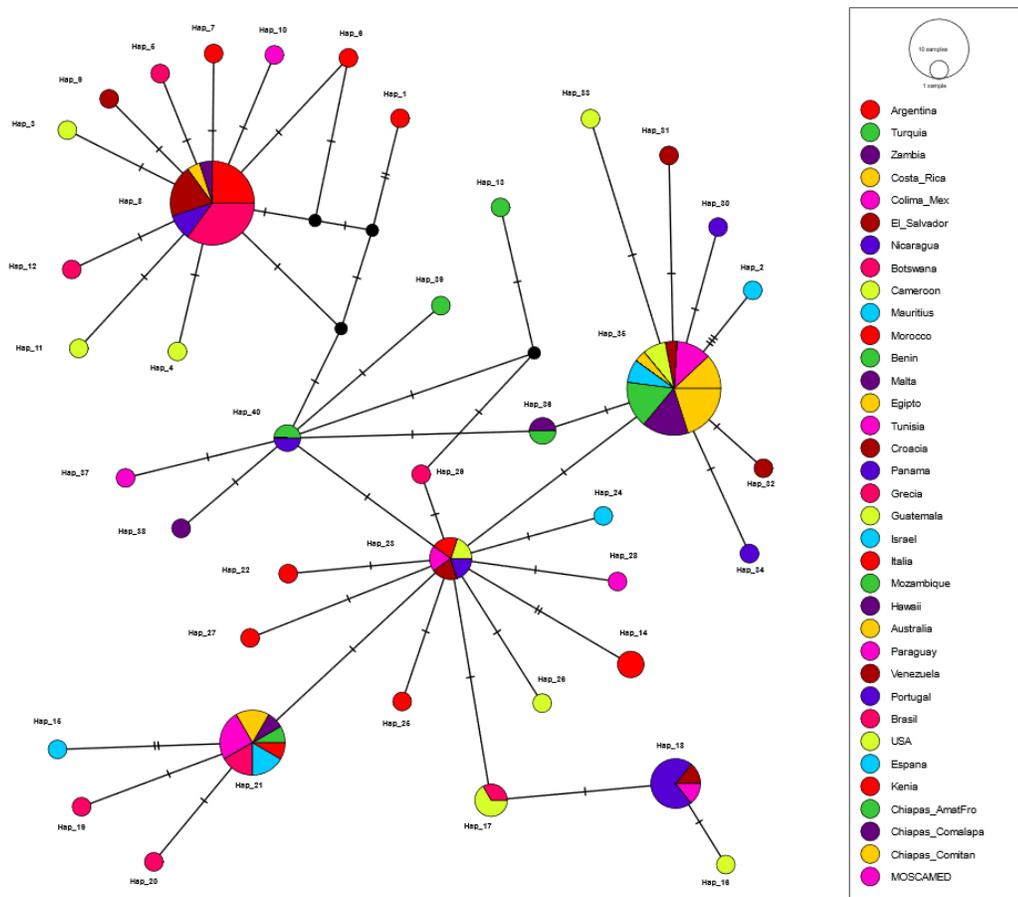


**Figura 1.** Filogenia de haplotipos únicos de la región N5N4 del ADNmt de *C. capitata* con base en BIC realizado en iTOL v6.5.8. Las secuencias N4N5 pertenecientes a individuos de la mosca med colectados en México se resaltan en el haplogrupo A con un color más oscuro.

**Análisis de polimorfismo y redes de haplotipos del marcador N5N4.** Se seleccionó el grupo A de la filogenia (Figura 1) para generar una red de haplotipos en PopArt (Figura 2). Todos los individuos colectados en Chiapas, así como los del brote de Colima en 2021, se agruparon en el haplotipo 35. La alta frecuencia del haplotipo 35 sugiere una amplia distribución geográfica y temporal, agrupando secuencias de tres regiones geográficas

diferentes y recolectadas durante más de 65 años, desde su primera detección en 1956.

Los individuos de Chiapas y Colima (2021) se agruparon en el haplotipo Hap\_35, junto con secuencias de Guatemala, España, Croacia, Australia y Costa Rica. En Guatemala se presentaron cuatro haplotipos, pero la mayoría de las secuencias datan de 1990, con solo una en 2009, lo que limita la comprensión actual de la diversidad genética de la moscamed en este país. Sin embargo, Guatemala parece ser el origen más probable de los individuos recolectados en las tres localidades de la zona fronteriza de Chiapas y los reportados en los brotes de Colima en 2021, debido a la coincidencia con el haplotipo 35 y la proximidad geográfica de los sitios de recolección. Estos hallazgos subrayan la necesidad de actualizar la información de diversas localidades de Centroamérica e incluso Sudamérica para obtener un panorama preciso y completo de la diversidad genética de la moscamed, así como de las posibles rutas de introducción en la región.



**Figura 2.** Red de haplotipos generada con el algoritmo MJN en PopArt. El Hap\_35 engloba a los individuos colectados de Chiapas y los de Colima.

### AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, por el equipo y las instalaciones. al Programa MOSCAMED por el material biológico y a la Universidad Autónoma Chapingo por la educación y sustento recibido.

### LITERATURA CITADA

- Bandelt, H. J., Forster, P., & Rohlf, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology And Evolution*, 16(1), 37-48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Deschepper, P., Todd, T. N., Virgilio, M., De Meyer, M., Barr, N. B., & Ruiz-Arce, R. (2021). Looking at the big picture: worldwide population structure and range expansion of the cosmopolitan pest *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *Biological Invasions*, 23(11), 3529-3543. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02595-4>
- Montes, A. M. S., Sandoval-Rodríguez, A., & Borunda, J. A. (2013). Biología Molecular. Fundamentos Y Aplicaciones En Las Ciencias De La Salud. *McGRAW-HILL*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=830133>
- North American Plant Protection Organization [NAPPO]. (2020). Eradicated Mediterranean fruit fly - *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in Manzanillo, Colima, Mexico. [pestalerts.org](https://www.pestalerts.org). Recuperado 15 de febrero de 2024, de <https://www.pestalerts.org/nappo/official-pest-reports/931/>
- Ruiz-Arce, R., Todd, T. N., Deleon, R., Barr, N. B., Virgilio, M., De Meyer, M., & McPheron, B. A. (2020). Worldwide Phylogeography of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) Using Mitochondrial DNA. *Journal Of Economic Entomology*, 113(3), 1455-1470. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa024>
- Segura León, O. L., & Torres Huerta, B. (2021). Análisis de polimorfismo de la región NADH5-tRNA-NADH4 de individuos de la mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*) detectados en Colima 2021 [Conjunto de datos].
- SENASICA & Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023). Quinto Informe Mensual Actividades del Programa Mosca del Mediterraneo. En [gob.mx](https://www.gob.mx). Recuperado 22 de diciembre de 2023, de [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/873569/05\\_Mayo.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/873569/05_Mayo.pdf)
- Valencia Rueda, I. (2023). Evaluación de métodos de extracción de ADN y su efecto en la amplificación de marcadores moleculares de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) en Colombia [Trabajo de Grado para Título]. Universidad Industrial de Santander.

## Clasificación y caracterización filogenética de la superfamilia del citocromo P450 (CYP) de *Anastrepha ludens* (Diptera:Tephritidae)

Jose Yahir Cabrera Gonzalez<sup>1</sup>, Brenda Torres Huerta<sup>2\*</sup>, Obdulia Lourdes Segura-León<sup>2</sup>, Raymundo Rosas Quijano<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas, Boulevard Príncipe Akishino sin número. Tapachula, Chiapas, México.

<sup>2</sup> Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México.

\*Autor de correspondencia: [torres.brenda@colpos.mx](mailto:torres.brenda@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

Las mono-oxigenasas del citocromo P450 constituyen una diversa superfamilia de enzimas presentes en distintos organismos vivos (Rodríguez y Rodeiro, 2014). En insectos, las enzimas P450 están involucradas en la síntesis y degradación de compuestos fisiológicamente esenciales, como ecdisteroides, hormonas juveniles y feromonas, así como en el metabolismo de químicos externos de origen natural y sintético (Zhang *et al.*, 2018; Feyereisen, 2015).

La genómica y la transcriptómica son disciplinas que se utilizan para estudiar las proteínas P450. Estas proporcionan una comprensión integral de la identidad y la variabilidad de los genes *Cyp* presentes en un genoma, así como sus patrones de regulación y expresión. Este conocimiento es fundamental para entender la evolución, diversidad funcional y adaptaciones específicas de estos genes en diferentes especies (Bedoya y Guanilo, 2006).

Diversos estudios han revelado que el número de genes *Cyp* varía en insectos, interpretado como adaptaciones evolutivas a diferentes entornos ecológicos (Lu *et al.*, 2023; Yu *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2019). La mosca modelo *Drosophila melanogaster* tiene 90 genes en 25 familias y 47 subfamilias (Tijet *et al.*, 2001), de los cuales 46 pertenecen a la familia CYP6 y 43 a la CYP4. Por otro lado, *Bactrocera dorsalis* o la mosca oriental de la fruta tiene 101 genes en 25 familias y 57 subfamilias, mientras que *Ceratitis capitata*, la mosca del mediterráneo cuenta con 103 genes en 24 familias y 44 subfamilias (Papanicolaou *et al.*, 2016; Jing *et al.*, 2020).

El primer genoma de la mosca mexicana de la fruta (*Anastrepha ludens*), considerada una plaga cuarentenaria (Loera, 2017), fue reportado por el USDA en 2023. Sin embargo, actualmente no existe un estudio que caracterice específicamente los genes *AludCyp*. En la información existente solo se clasifican como 'predichos', lo que resalta la necesidad de su confirmación. Es por ello que, en el presente estudio, se identificaron, clasificaron y caracterizaron mediante inferencia

filogenética con el organismo modelo *D. melanogaster* a la superfamilia del citocromo P450 (CYP) de la mosca mexicana de la fruta.

## MATERIALES Y MÉTODO

**Minería y análisis funcionales de genes *Cyp* en el genoma de *A. ludens*.** Se obtuvo el genoma de la mosca mexicana de la fruta (idAnaLude1.1), reportado por el USDA en 2023. A partir de las secuencias de proteínas codificadas en el genoma, se realizó un análisis de homología utilizando Blastp (Boratyn *et al.*, 2019) contra la base de datos UniProtKB/Insecta 2023, con un E-value de  $1e-6$  (Coudert *et al.*, 2023). Además, se llevó a cabo la anotación de ontología génica y el análisis de dominios conservados y motivos funcionales utilizando InterProScan (Jones *et al.*, 2014). A partir de los resultados del análisis de homología y la anotación de los dominios funcionales, se realizó la minería de secuencias relacionadas con citocromo P450 con comandos Bash (sed, grep, cat y awk) y la herramienta SeqKit (Campesato, 2023; Shen *et al.*, 2016). Las secuencias del ADN del genoma, las secuencias CDS y las proteínas anotadas como AludCyp fueron filtradas y unificadas, junto con sus coordenadas y características genómicas.

**Análisis filogenéticos y clasificación de las AludCYP.** Se llevó a cabo un análisis de homología utilizando blastp para comparar las AludCYP unificadas con las secuencias CYP del organismo modelo *D. melanogaster* depositadas en la flybase, utilizando un Evalue de  $1e-6$  (Boratyn *et al.*, 2019). Posteriormente, se creó un conjunto de datos que incluyó las secuencias de proteínas de las AludCYP junto con las secuencias de *D. melanogaster*. Este conjunto de datos se utilizó para realizar un alineamiento múltiple con los programas Clustal Omega y MAFFT con los parámetros estándar (Sievers *et al.*, 2011) y se seleccionó el mejor alineamiento. Con el alineamiento múltiple, se obtuvo el mejor modelo evolutivo con ModelTest-NG (Darriba *et al.*, 2020), y se generó un árbol filogenético mediante inferencia bayesiana en Beast2 con 20,000,000 de generaciones. La salida del MCM (Cadena de Monte Carlo) se evaluó en Tracer v1.7 (Rambaut *et al.*, 2018). Para la anotación del árbol consenso, se descartó el 30% de los árboles iniciales y se calculó la probabilidad posterior con los árboles restantes. El árbol consenso resultante se visualizó y editó en iTOL. Con la filogenia obtenida, se procedió a clasificar las AludCYP en familias y subfamilias, y se les asignaron nombres basados en los homólogos con *D. melanogaster*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Minería y análisis funcionales de genes Cyp en el genoma de *A. ludens*.** El genoma de *A. ludens* posee un tamaño de 820,8 Mb y está estructurado en cinco cromosomas autosómicos y dos sexuales. Contiene un total de 17,305 genes y 14,586 proteínas codificadas, de los cuales, 117 genes codifican AludCyp putativas. Sin embargo, tras el análisis detallado de homología y dominios conservados, se identificaron 125 genes que codifican AludCyp. Estos genes son homólogos a secuencias Cyp de tefrítidos con los siguientes parámetros de BLASTp: E-value de 0 a 9.41E-135, identidad del 96.917% al 41.04%, y cobertura del 100% al 49%. Además, también presentan los dominios correspondientes a la familia P450 con Evalue de 0 a 7,00E-215 y un rango de 438 residuos y la clasificación de ontología génica (Cuadro 1).

Cuadro 1. Bases de datos utilizados en InterPro para dominios conservados en P450 y términos GO.

InterPro		
Base de datos	Entrada	Nombre
pfam	PF00067	Citocromo P450
SUPERFAMILY	SSF48264	Citocromo P450
PANTHER	PTHR24292	Citocromo P450
Terminos GO		
Función molecular		
Actividad monooxigenasa ( GO:0004497 )		
unión de iones de hierro ( GO:0005506 )		
Actividad oxidorreductasa, que actúa sobre donantes emparejados, con incorporación o reducción de oxígeno molecular ( GO:0016705 ).		
Unión hemo ( GO:0020037 )		

### Análisis filogenéticos y clasificación de las AludCYP con respecto a *D. melanogaster*.

En el árbol filogenético, se observaron distintas divisiones entre los clanes de la superfamilia P450: el clan mitocondrial, el clan CYP2, el clan CYP3 y el clan CYP4. Entre estos, los clanes CYP3 y CYP4 mostraron un mayor número de proteínas filogenéticamente relacionadas, lo que indica una mayor diversidad y posible funcionalidad en estos clanes. Esta distribución es similar a la

encontrada en otros dípteros, donde los clanes CYP3 y CYP4 también están mayormente representados. Hablando específicamente dentro de cada clan, las familias más representativas fueron las familias CYP4 (clan CYP4) y CYP6 (clan CYP3), reflejando un patrón común en otros dípteros (Feyereisen,2012). Además, se detectaron varias isoformas y duplicaciones dentro de estos clanes, sugiriendo eventos de duplicación génica que podrían haber contribuido a la expansión y diversificación de las funciones de estas proteínas. El análisis filogenético también muestra grupos terminales de proteínas altamente soportados, reforzando la confianza en la precisión de las relaciones evolutivas observadas (figura 1).

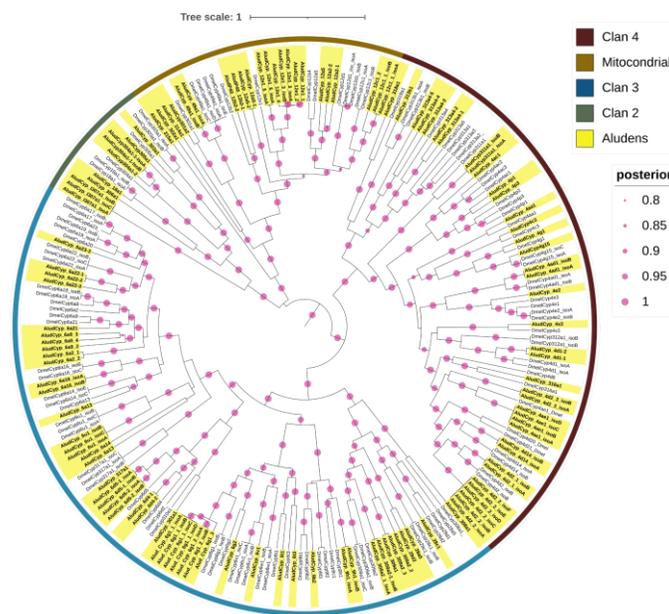


Figura 1. Análisis filogenético bayesiano de proteínas P450 de *Anastrepha ludens* con homólogos al organismo modelo *Drosophila melanogaster* . Los clanes identificados en tienen marcas de barras de colores distintas. Los círculos mostraron valores de probabilidad posterior superiores al 90%.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Instituto de Biociencias de la Universidad Autónoma de Chiapas, al Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, por el equipo y las instalaciones y al Programa Operativo de Moscas y Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, por el material biológico.

## LITERATURA CITADA

- Bedoya F and Guanilo C. 2006. Genómica y proteómica: Un paso más. *Acta Med Per*, 23: 185.
- Boratyn G, Thierry-Mieg J, Thierry-Mieg D, Busby B and Madden T. 2019. Magic-BLAST, un alineador RNA-seq preciso para lecturas largas y cortas. *Bioinformática BMC*.20:405.
- Darriba D, Posada D, Kozlov A, Stamatakis A, Morel B and Flouri T. 2020. ModelTest-NG: ModelTest-NG: A New and Scalable Tool for the Selection of DNA and Protein Evolutionary Models. *Molecular Biology and Evolution*.37: 291–294. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz189>
- Feyereisen R. 2015. Insect P450 inhibitors and insecticides: challenges and opportunities. *Pest management science*.71: 793-800. <https://doi.org/10.1002/ps.3895>
- Jing TX, Wang DF, Ma YP, Zeng LL, Meng LW, Zhang Q, Dou W and Wang JJ. 2020. Genome-wide and expression-profiling analyses of the cytochrome P450 genes in *Bactrocera dorsalis* (Hendel) and screening of candidate P450 genes associated with malathion resistance. *Agronomy Journal*. 76:2932-2943. <https://doi.org/10.1002/ps.5891>
- Lu J, Zhang H, Wang Q and Huang X. 2023. Genome-Wide Identification and Expression Pattern of Cytochrome P450 Genes in the Social Aphid *Pseudoregma bambucicola*. *Insects*. 14: 212. <https://doi.org/10.3390/insects14020212>
- Papanicolaou A, Schetelig M, Arensburger P. 2016. The whole genome sequence of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), reveals insights into the biology and adaptive evolution of a highly invasive pest species. *Genome Biol*. 17:192. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1049-2>
- Rambaut A, Drummond A, Xie D, Baele G, Suchard MA. 2018. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*. 67:901-904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Rodríguez J, Rodeiro I. 2014. El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos. *Revista Cubana de Farmacia*.48:3
- Sievers F, Wilm A, Dineen DG, Gibson T, Karplus K, Li W, Lopez R, McWilliam H, Remmert M, Söding J, Thompson JD, Higgins D. 2011. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular systems biology*.7:539 <https://doi.org/10.1038/msb.2011.75>
- Tijet N, Helvig C and Feyereisen R. 2001. The cytochrome P450 gene superfamily in *Drosophila melanogaster*: annotation, intron-exon organization and phylogeny. *Gene*, 262: 189-198. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(00\)00533-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00533-3)
- Wang J, Lv Z, Lei Z, Chen Z, Lv B, Yang H, Wang Z and Song Q. 2019. Expression and functional analysis of cytochrome P450 genes in the wolf spider *Pardosa pseudoannulata* under cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 172: 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.034>
- Yu L, Tang W, He W, Ma X, Vasseur L, Baxter S, Yang G, Huang S, Song F, You M. 2015. Characterization and expression of the cytochrome P450 gene family in diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Scientific Reports*. 5:1 <https://doi.org/10.1038/srep08952>
- Zhang H, Zhao M, Liu Y, Zhou Z and Guo J. 2018. Identification of cytochrome P450 monooxygenase genes and their expression in response to high temperature in the alligatorweed flea beetle *Agasicles hygrophila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Scientific reports*. 8.1: 17847. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35993-1>

## EXPRESIÓN TISULAR DE DIEZ GENES DE UNIÓN A OLORES (OBPS) EN TRES ESTADOS DE MADURACIÓN DE ADULTOS DE *Ceratitis capitata* (Wiedemann)

María Guadalupe Reyes Santiago<sup>1</sup>, Obdulia Lourdes Segura-León<sup>2\*</sup>, Brenda Torres-Huerta<sup>2</sup>, José Manuel Pineda Ríos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, Km 38.5, 56230, Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup> Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230 Texcoco, Estado de México, México.

\*Autor de correspondencia: [sleon@colpos.mx](mailto:sleon@colpos.mx)

### INTRODUCCIÓN

La mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata* Wiedemann), también conocida como moscamed, es una de las plagas más destructivas del mundo. Esta especie polífaga puede alimentarse de más de 200 especies de plantas y tiene una notable capacidad para adaptarse a una amplia variedad de climas. Su establecimiento en México podría causar pérdidas económicas superiores a los 7 mil millones de dólares anuales, además de restringir la exportación y movilización nacional de productos hortofrutícolas (Salcedo-Baca *et al.*, 2009; Szyniszewska & Tatem, 2014).

En 1978 se creó el Programa MOSCAMED y desde 1982 México mantiene un estatus como país libre de la moscamed (Enkerlin *et al.*, 2015). Dentro de las estrategias fitosanitarias implementadas por el programa se incluye la Técnica del Insecto Estéril (TIE) que integra la biología, ecología y comportamiento de *C. capitata* (Liedo *et al.*, 2020). Gran parte del comportamiento de la moscamed se basa en estímulos olfativos, los cuales están estrechamente relacionados con su supervivencia, búsqueda de hospederos, reproducción y oviposición (Sims *et al.*, 2022). Este sistema es mediado por un conjunto de proteínas sensoriales, entre ellas las proteínas de unión a olores (OBPs). Estas proteínas son pequeñas, globulares, hidrofílicas y actúan como el primer filtro en la detección de infoquímicos, esenciales en la regulación de comportamientos vitales (Zhou, 2010).

A pesar de la importancia de las OBPs, hasta el presente año existía una falta de consenso sobre su número y clasificación en la moscamed (Torres-Huerta *et al.*, 2024). Actualmente, hay una brecha en el conocimiento sobre su caracterización funcional y perfiles de expresión, limitada a moscas vírgenes de cuatro días de edad de la cría ISPRA (Siciliano *et al.*, 2014). Por ello, el objetivo del presente trabajo es caracterizar la expresión de 10 CcapOBPs en diferentes

tejidos sensoriales de adultos machos y hembras en distintos estados fisiológicos de madurez. Estas OBPs son homólogas a las de la mosca modelo *Drosophila melanogaster*, las cuales fueron reportadas como específicas para órganos sensoriales.

## MATERIALES Y MÉTODO

**Colecta de material biológico.** Se estableció una cría de material silvestre en la Colonia Madre de la Nueva Planta Moscamed, a partir de cerezas de café infestadas con larvas de la moscamed, recolectadas en Las Cruces, Frontera Comalapa, Chiapas, el 14 de junio de 2023. El material biológico incluyó 150 machos y 150 hembras de la F2 en tres estados fisiológicos: recién emergidos (1-3 días), con madurez sexual vírgenes (8-10 días) y copulados.

**Disección de tejidos sensoriales, extracción de ARN total y síntesis de cDNA.** Se realizaron disecciones de 20 cabezas completas, 120 pares de antenas, 120 aparatos bucales, 25 cabezas sin antenas ni aparatos bucales y 420 patas de hembras y machos en las tres etapas fisiológicas. Todos los tejidos disectados se conservaron en RNAlater a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la extracción de ARN total. Se realizaron 30 extracciones de ARN total utilizando el kit SV Total RNA Isolation System de Promega. La cantidad y calidad del ARN total se evaluaron mediante el Nanodrop 2000. La síntesis de cDNA se realizó con el kit GoScript™ Reverse Transcription Mix, Oligo(dT) de Promega con 200 ng de ARN total para todos los tejidos, excepto para antenas de inmaduros de machos y hembras y machos maduros vírgenes, donde se utilizaron 100 ng de ARN total.

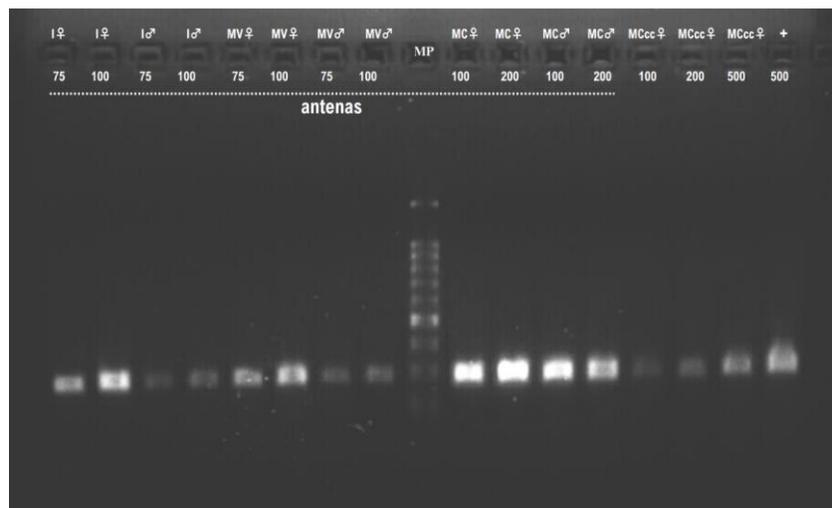
**Amplificación génica de CcapObps en tejidos sensoriales de machos y hembras en tres etapas fisiológicas.** Los cebadores para las diez CcapOBPs se diseñaron en Geneious v2024.0.2 y se sintetizaron en T4 Oligo, Irapuato, México. Las reacciones de RT-PCR se realizaron con 100 ng/ $\mu\text{L}$  de ADNc y 2  $\mu\text{L}$  de cebadores en un volumen final de 25  $\mu\text{L}$  con GoTaq Master Mix de Promega. Las condiciones de RT-PCR consistieron en: desnaturalización a  $94^{\circ}\text{C}$  por 3 minutos, 30 ciclos a  $94^{\circ}\text{C}$  por 30 segundos, alineación específica durante 30 segundos, extensión a  $72^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos y extensión final a  $72^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos. Se utilizó cDNA de cabezas completas como control positivo. Los resultados se evaluaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% con Red Stain Gel de Biotium

como agente intercalante y se visualizaron en un sistema Quantum ST5 de Vilber Lourmat.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Extracción de ARN total y síntesis de cDNA.** Las concentraciones de ARN total en la mayoría de los tejidos fueron adecuadas para la síntesis de cDNA, superando los 200 ng/μL, con relaciones de absorbancia 260/280 de 2.0-2.2 y 260/230 de 2. Estos indicadores confirmaron que las muestras eran de alta calidad y aptas para la síntesis de cDNA y análisis de expresión génica. Sin embargo, las concentraciones en las antenas fueron bajas (10-47.5 ng/μL).

Para las antenas, se realizaron pruebas de síntesis de cDNA con diferentes concentraciones de ARN total (75, 100 y 200 ng), junto con un control positivo y se corroboró la integridad mediante la amplificación de la *Ccapobp28a* con un control positivo estandarizado. No se observaron diferencias significativas en la síntesis de cDNA y la concentración de 100 ng/μL de ARN fue óptima ya que no hubo diferencias notables en la intensidad y el ancho de las bandas (figura 1). Por lo tanto, la síntesis de cDNA para la mayoría de los tejidos se realizó con 200 ng/μL, excepto en tres tejidos de antena con baja concentración, donde se utilizó 100 ng/μL de ARN total. Los resultados mostraron una concentración ideal para RT-PCR, superando los 1000 ng/μL por síntesis.



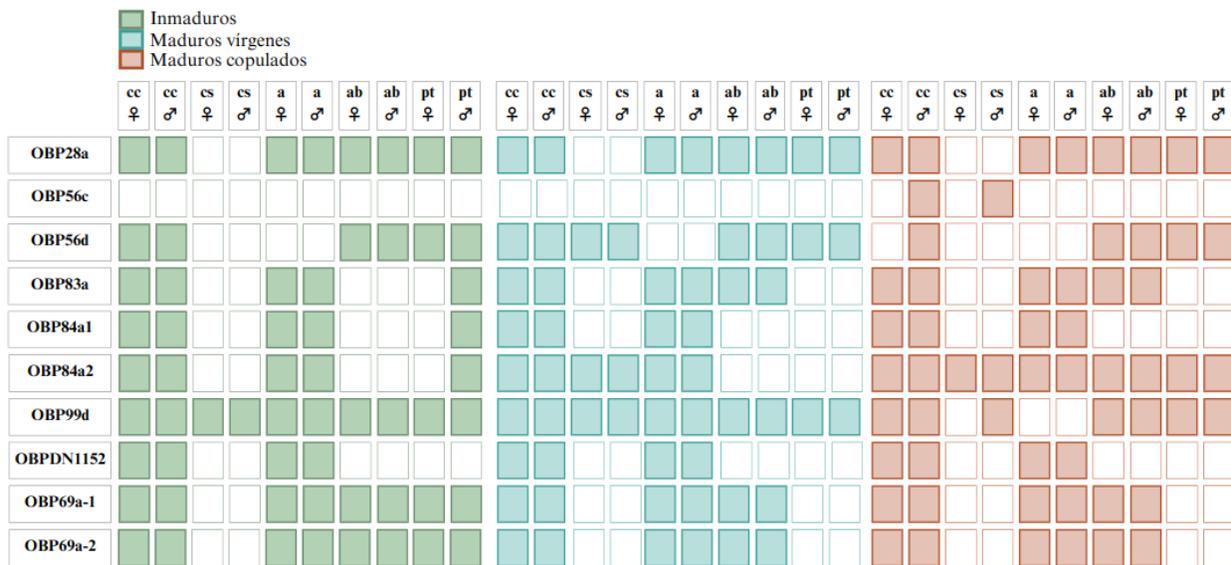
**Figura 1.** RT-PCR de *CcapObp28a*. Inmaduras (I), maduros vírgenes (MV), maduros copulados (MC). ♂: machos; ♀: hembras; cc: cabeza completa; MP: marcador de peso; +: positivo estandarizado.

**Análisis de Perfiles de expresión.** En la figura 2 se presentan los perfiles de expresión de 10 genes OBP en individuos de *C. capitata* en tres estados fisiológicos distintos,

abarcando varios tejidos sensoriales, incluyendo la cabeza completa y la cabeza sin órganos sensoriales. En general, se logró amplificar con éxito las 10 *CcapObps* seleccionadas, observándose variaciones en la expresión según el estado fisiológico, el tejido sensorial y el sexo.

Los genes *CcapObp28a* y *CcapObp99d* mostraron **expresión general** en todos los tejidos sensoriales y estados fisiológicos, en ambos sexos. *CcapObp28a* tuvo una alta expresión en antenas, aparato bucal y patas de individuos maduros copulados, y en patas de individuos vírgenes. Por otro lado, *CcapObp99d* se expresó de manera tenue, sugiriendo niveles de expresión bajos.

En los órganos sensoriales de la cabeza, *CcapObp69a1* y *CcapObp69a2* se **expresaron en antenas y aparato bucal**, con mayor expresión en antenas y similar en ambos sexos y estados fisiológicos, mientras que, en individuos copulados, la expresión en aparato bucal fue mayor en comparación con otros estados. El gen *CcapObp56d* se **expresó en aparato bucal y patas**, pero no en antenas, la expresión fue similar en inmaduros y hembras.



**Figura 2.** Representación de los perfiles transcripcionales de las 10 *Ccapobps*, en los tejidos de machos y hembras de las tres etapas fisiológicas evaluadas. Cc: cabeza completa; es: cabeza sin órganos sensoriales; a: antena; ab: aparato bucal; pt: patas; ♂: machos; ♀: hembras.

Tres genes mostraron **expresión específica en antenas**: *CcapObp83a*, *CcapObp84a1* y *CcapObp83a-r*. *CcapObp83a* tuvo alta expresión en individuos copulados y ligera en

aparato bucal de vírgenes y copulados. *CcapObp83a-r* mostró expresión similar en machos y hembras en todos los estados fisiológicos. *CcapObp84a1* se expresó en antenas en todos los estados, con alta expresión en hembras vírgenes y machos copulados. *CcapObp84a-2* se expresó en antenas de inmaduros y vírgenes, y en copulados mostró inespecificidad, expresándose en antenas, aparato bucal, patas y cabeza completa.

Finalmente, el gen *CcapObp56c* **no mostró expresión en ningún tejido sensorial** ni en la cabeza completa en machos y hembras de los tres estados fisiológicos. Solo se observó amplificación en individuos copulados, específicamente en la cabeza completa y cabeza sin órganos sensoriales de machos.

### AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, por el equipo y las instalaciones. al Programa MOSCAMED por el material biológico y a la Universidad Autónoma Chapingo por la educación y sustento recibido.

### LITERATURA CITADA

- Enkerlin, W., Gutiérrez-Ruelas, J. M., Cortes, A. V., Roldan, E. C., Midgarden, D., Lira, E., ... & Arriaga, F. J. T. (2015). Area freedom in Mexico from Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): a review of over 30 years of a successful containment program using an integrated area-wide SIT approach. *Florida entomologist*, 98(2), 665-681. (s/f). <https://doi.org/10.1653/024.098.024>
- Guzmán-Plazola, R. M. 2010. Mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann), Ficha técnica. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Texcoco, Estado de México, México.
- Liedo, P., Enkerlin, W. R., & Hendrichs, J. (2020).19. La Técnica del Insecto Estéril. En P. Montoya, J. Toledo y E. Hernández (Eds), *Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo*. (pp. 357-374). S y G Editores.
- Salcedo-Baca, D., Lomelí-Flores J. R, Terrazas-González G. H. (2009). Evaluación económica del Programa Moscamed en México (1978 - 2008) / IICA – México: IICA. 144 p.
- Sims, C., Birkett, M. A., & Withall, D. M. (2022). Enantiomeric Discrimination in Insects: The Role of OBPs and ORs. *Insects*, 13(4), 368. <https://doi.org/10.3390/insects13040368>
- Szyniszewska, A., & Tatem, A. J. (2014). Global Assessment of Seasonal Potential Distribution of Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: tephritidae). *PLOS ONE*, 9(11), e111582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111582>
- Torres-Huerta, B., Segura-Leon, O. L., Meza, H. S., Cibrián-Tova, J. Soto-Rojas, L. (2023). Análisis genómico y transcriptómico de la familia de genes de proteínas de unión a olores de *Ceratitis capitata*. Manuscrito inédito. Departamento de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados
- Zhou, J. J. 2010. Odorant-binding proteins in insects. *Vitam Horm*, 83: 241–272. [https://doi.org/10.1016/s0083-6729\(10\)83010-9](https://doi.org/10.1016/s0083-6729(10)83010-9)

## INHIBICIÓN DE LA OVIPOSICIÓN DE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) MEDIANTE MEZCLAS DE COADYUVANTES Y EXTRACTO DE AJO (*Allium sativum*)

Samuel Cruz-Perales<sup>1\*</sup>; Jorge Luis Vega-Chávez<sup>1</sup>; Esteban Rodríguez-Leyva<sup>2</sup>; J. Refugio Flores-Lomeli<sup>2</sup>;  
Jovani Tepato-Barba<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico Superior de Huichapan. El Saucillo, Huichapan, CP 42400 Estado de Hidalgo.

<sup>2</sup>Colegio de Postgraduados, Posgrado en Fitosanidad, Montecillo, CP 56264 Texcoco, Estado de México.

\*Correo-e: [samicruzz86@gmail.com](mailto:samicruzz86@gmail.com)

### INTRODUCCIÓN

*Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), o palomilla dorso de diamante, es la plaga más importante y destructiva de brasicáceas en el mundo. Poblaciones altas de larvas de éste lepidóptero ocasionan daño al follaje que puede disminuir el rendimiento hasta en un 80% (Juric et al., 2017). Así mismo, para su control principalmente se utilizan insecticidas organosintéticos y en consecuencia, éste insecto ha desarrollado resistencia a más de 100 ingredientes activos (Arthropod Resistance Pesticide Database, 2024; Kannan et al., 2017). Por estas razones algunos autores proponen que el uso de extractos vegetales en el manejo de *P. xylostella* puede ser una alternativa ante el uso de insecticidas. Algunos estudios han demostrado que los extractos de ciertas plantas ocasionan repelencia o disuasión de la oviposición en adultos de lepidópteros (Karimzadeh & Rabiei, 2020). Sin embargo, a pesar de su potencial, éstos productos son de naturaleza biodegradable al exponerse a altas temperaturas, a humedad, al viento y a la luz solar (Perumalsamy et al., 2015; Sokovic et al., 2010). Es por ello que se buscan sustancias que prolonguen su modo de acción en campo. Un coadyuvante es una sustancia que puede mejorar el modo de acción de los insecticidas de las siguientes maneras: aumenta la cobertura de aplicación, minimiza las pérdidas por evaporación, penetra eficazmente la cutícula de insectos o plantas y rompe la tensión superficial del agua (Horak et al., 2021; Zhang & Xiong, 2021). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto inhibitorio de la oviposición del extracto de ajo mezclado con coadyuvantes sobre *Plutella xylostella*.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Lugar del experimento

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Control Biológico e invernadero del Posgrado en Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo en Texcoco, Estado de México, México.

#### Material vegetal

Se utilizaron plantas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) variedad Imperial de 50 a 60 días de edad. Estas plantas fueron nutridas con una solución universal de Steiner y se mantuvieron en un invernadero de mediana tecnología a  $27 \pm 3$  °C y  $70 \pm 5$  % de HR.

#### **Cría de *Plutella xylostella***

Se estableció una cría de *P. xylostella* con material de campo que se ha mantenido desde 2021 en el Colegio de Postgraduados. Las larvas se mantuvieron con una dieta natural a base de plantas de brócoli y los adultos se mantuvieron con miel y agua. Las palomillas estuvieron dentro de una jaula de tela de organza (30 x 60 x 30 cm) y las larvas estuvieron sobre plantas de brócoli. Todo el conjunto se mantuvo en una cámara bioclimática a  $25 \pm 3$  °C,  $75 \pm 5$  % HR y un fotoperiodo de 12:12 h L:O.

#### **Extracto de ajo y coadyuvantes**

Se evaluaron productos estandarizados en los ensayos por lo que se utilizaron productos comerciales. Se utilizó un extracto esencial de ajo [GarliMax (Plant Health Care México<sup>TM</sup>)] y cuatro coadyuvantes [Inex-A®, Sigma (Progranic®), Tural® y VegexFos (Idainature®)].

#### **Inhibición de la oviposición**

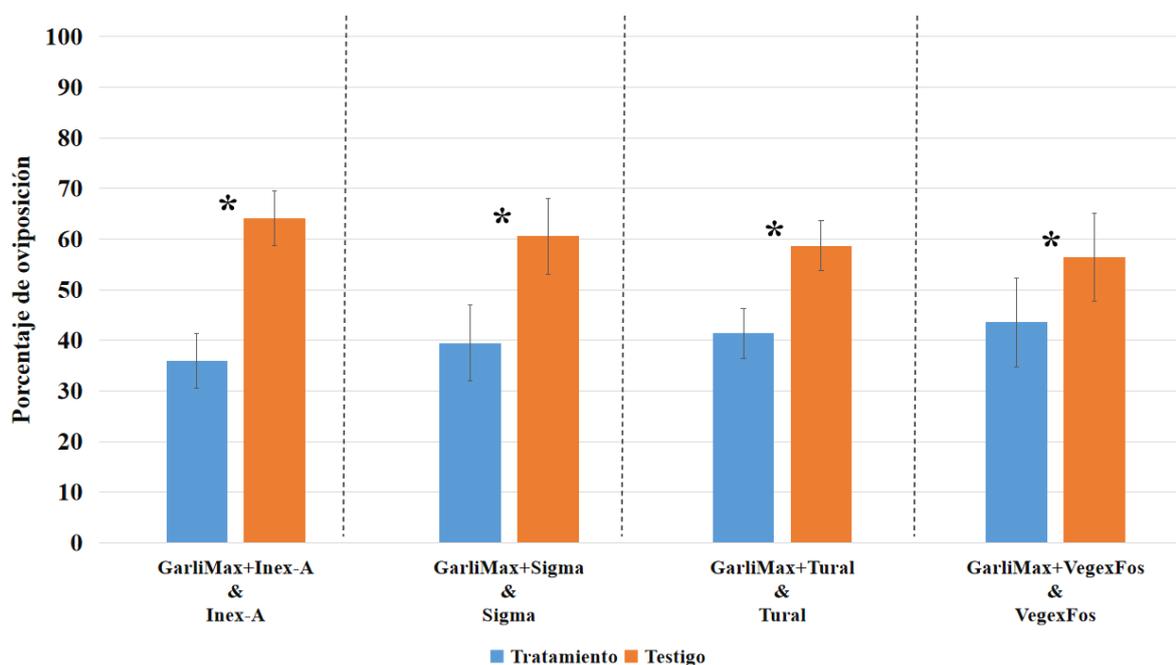
En este bioensayo se realizaron pruebas de opción con la metodología propuesta por Pehlevan & Kovanci (2018) con algunas modificaciones. La arena experimental se constituyó de una jaula de tela de organza (30 x 30 x 30 cm). Dentro de la jaula se colocaron dos hojas de brócoli con el pecíolo sumergido en agua para mantenerla la turgencia. Antes de introducir las hojas, una se asperjó con 30 mL de extracto+coadyuvante y la otra con 30 mL solo del coadyuvante. Una vez preparadas las arenas se introdujo en cada jaula cinco hembras adultas de *P. xylostella* de 3 a 7 días de edad. La hoja asperjada con extracto+coadyuvante se consideró como tratamiento y la hoja asperjada con coadyuvante se consideró testigo. Las palomillas se mantuvieron durante 24 h en su respectiva arena, y todas las arenas estuvieron dentro de un invernadero ( $27 \pm 3$  °C y  $70 \pm 5$  % HR). La evaluación se realizó 24 h después de instalar el bioensayo y se contabilizó el número de huevos de cada hoja. Se tuvieron cuatro tratamientos y cada uno se replicó diez veces (Tabla 1). El número de huevos se transformó a porcentaje y por ser una prueba de opción los datos fueron analizados con una prueba de Chi Cuadrado en RStudio.

**Tabla 1.** Productos y dosis empleadas en el bioensayo de inhibición de la oviposición de *Plutella xylostella*.

Tratamientos	Productos	Dosis (mL) para 0.5 L de agua destilada
T1	GarliMax+Inex	1,8 mL + 0,5 mL
Testigo 1	Inex	0,5 mL
T2	GarliMax+Sigma	1,8 mL + 2,5 mL
Testigo 2	Sigma	2,5 mL
T3	GarliMax+Tural	1,8 mL + 2,5 mL
Testigo 3	Tural	2,5 mL
T4	GarliMax+VegexFos	1,8 mL + 0,5 mL
Testigo 4	VegexFos	0,5 mL

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto de ajo en mezcla con cualquiera de los cuatro coadyuvantes inhibió la oviposición de adultos de *P. xylostella*. Inex-A ( $X^2 = 53,071$ ;  $df = 9$ ;  $P = < 0,0001$ ); Sigma ( $X^2 = 87,964$ ;  $df = 9$ ;  $P = < 0,0001$ ); Tural ( $X^2 = 33,502$ ;  $df = 9$ ;  $P = 0,0001092$ ); VegexFos ( $X^2 = 116,84$ ;  $df = 9$ ;  $P = < 0,0001$ ). El rango de disminución de la oviposición fue del 60 al 65 % (Figura 1). Estos resultados son semejantes a los reportados por Sangha et al. (2018) quienes observaron una disminución del 75.4 % de la oviposición de *P. xylostella* tras aplicar extracto de ajo sobre hojas de repollo (*B. oleracea* var. Capitata). Por otro lado, Lo Pinto et al. (2022) reportaron una disminución de la oviposición del 58 y 90 % en *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Golenchiidae) al aplicar extracto de ajo a concentraciones de 3000 y 6000  $\mu\text{L/mL}$  en hojas de tomate. Estos resultados se deben a los compuestos azufrados del extracto de ajo, debido a que afectan al comportamiento de varios ordenes de insectos, incluido el Lepidoptera (Bedini et al., 2020). Se sugiere que este comportamiento se debe a las neuronas sensoriales o aferentes, ya que son las encargadas de localizar pareja, alimento o sitios de oviposición (Masse et al., 2008). También se propone que estos efectos ocurren a causa del disulfuro de dialilo y el trisulfuro de dialilo, dos compuestos mayormente presentes en el extracto o aceite de ajo (Mann et al., 2011).



**Figura 1.** Oviposición de *Plutella xylostella* sobre hojas de brócoli asperjadas con la mezcla del producto comercial de extracto de ajo con coadyuvante vs coadyuvante solo (testigo) (\*= diferencia estadística;  $P = < 0,0001$ ).

En conclusión, las cuatro mezclas de extracto de ajo + coadyuvantes demostraron tener un efecto repelente o inhibitor de la oviposición de *Plutella xylostella*.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece en particular al equipo de Control Biológico del Posgrado de Fitosanidad-Entomología y Acarología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por brindar apoyo técnico y logístico para el desarrollo de esta investigación.

### LITERATURA CITADA

- Bedini S., Guarino S., Echeverria M.C., Flamini G., Ascriczzi R., Loni A. & Conti B. 2020. *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis*, and *Salvia officinalis* essential oils: A spiced shield against blowflies. *Insects*, 11(3): 143. <https://doi.org/10.3390/insects11030143>
- Horak I., Horn S. & Pieters, R. 2021. Agrochemicals in freshwater systems and their potential as endocrine disrupting chemicals: A South African context. *Environmental Pollution*, 268: 115718. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115718>
- Juric I., Salzburger W. & Balmer O. 2017. Spread and global population structure of the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and its larval parasitoids *Diadegma semiclausum* and *Diadegma fenestrata* (Hymenoptera: Ichneumonidae) based

- on mtDNA. *Bulletin of Entomological Research*, 107(2): 155-164. <https://doi.org/10.1017/S0007485316000766>
- Kannan M., Lokesh S., Prithiva J. N. & Mohan M. 2017. Toxicity and sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* B.  $\delta$ -endotoxin Cry1Ab on the biological parameters of diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Mysore Journal Agriculture Science*, 51(A): 153-158.
- Karimzadeh J. & Rabiei A. (2020). Larvicidal and oviposition deterrent effects of the jimsonweed (*Datura stramonium* L.) extracts on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 22(5): 1279–1293.
- Lo Pinto M., Vella L. & Agrò A. 2022. Oviposition deterrence and repellent activities of selected essential oils against *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae): laboratory and greenhouse investigations. *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(5): 3455-3464. <https://doi.org/10.1007/s42690-022-00867-7>
- Mann R. S., Rouseff R. L., Smoot J. M., Castle W. S. & Stelinski L. L. 2011. Sulfur volatiles from *Allium* spp. affect Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), response to citrus volatiles. *Bulletin of Entomological Research*, 101(1): 89-97. <https://doi.org/10.1017/S0007485310000222>
- Masse N. Y., Turner G. C., & Jefferis G. S. 2009. Olfactory information processing in *Drosophila*. *Current Biology*, 19(16): R700-R713. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.06.026>
- Mota-Sánchez, D. & Wise, J. C. 2024. *Arthropod Pesticide Resistance Database*. Universidad de Michigan. Recuperado el 17 de julio del 2024 de: <https://www.pesticideresistance.org/search.php>
- Pehlevan B. & Kovanci O. B. 2018. Laboratory assay of toxicity and oviposition deterrence of selected vegetable seed oils against *Cacopsylla pyricola* (Homoptera: Psyllidae). *Journal of Entomological Science*, 53(2): 192-204. <https://doi.org/10.18474/JES17-48.1>
- Perumalsamy H., Jang M. J., Kim J. R., Kadarkarai M. & Ahn, Y. J. 2015. Larvicidal activity and possible mode of action of four flavonoids and two fatty acids identified in *Millettia pinnata* seed toward three mosquito species. *Parasites & Vectors* 8:237–244. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0848-8>
- Sangha J. S., Astatkie T. & Cutler G. C. 2017. Ovicidal, larvicidal, and behavioural effects of some plant essential oils on diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *The Canadian Entomologist*, 149(5): 639-648. <https://doi.org/10.4039/tce.2017.13>

- Soković M., Glamočlija J., Marin P. D., Brkić D. & Van Griensven L.J. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15(11): 7532-7546. <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>
- Zhang X., & Xiong L. 2021. Effect of adjuvants on the spray droplet size of pesticide dilute emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 619: 126557. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126557>

## MORTALIDAD OCASIONADA EN *Brevipalpus yothersi* POR PRODUCTOS COMERCIALES A BASE DE EXTRACTOS NATURALES

Alexis Guzmán-Kantun<sup>1\*</sup>, Ma. Teresa Santillán-Galicia<sup>1</sup>, Ariel Wilbert Guzmán-Franco<sup>1</sup> y René Gómez-Mercado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo. México, C. P. 56230, México.

\*Correspondencia: alexisguzmankantun@gmail.com

### INTRODUCCIÓN

La citricultura es de suma importancia para el sector agrícola mexicano, el consumo es interno, pero también hay exportaciones a otros países (SIAP, 2020). Durante la temporada 2021-2022, México se promedió como el segundo productor mundial de limones y limas, cuarto lugar en naranjas y tercero en toronjas (FAO, 2023). Sin embargo, una de las problemáticas a la que se enfrenta esta actividad económica es la presencia de la leprosis de los cítricos, ocasionada por el agente causal *Citrus leprosis virus* (CiLV), y es considerada como la enfermedad viral más importante en cítricos (SENASICA, 2019). LA enfermedad se clasifica como citoplasmática o nuclear, dependiendo de donde se replique el virus (Rodrigues *et al.*, 2003). El ácaro *Brevipalpus yothersi* es el vector de la leprosis de los cítricos tipo citoplasmática (CiLV-C), así como el más frecuente en las principales áreas productoras de cítricos de México (Beltran-Beltran *et al.*, 2020; Salinas-Vargas *et al.*, 2016). Aunque genera daños foliares por su alimentación, los daños indirectos como vector del virus son los que más impacto económico generan por los daños ocasionados a hojas, ramas y frutos de naranja y mandarina.

La presencia del virus reduce significativamente la producción y la vida útil del cítrico, para combatir a *B. yothersi* se realiza la aplicación de productos químicos; sin embargo, se ha reportado la reducción de la eficacia de los acaricidas para su control (Della-Vechia *et al.*, 2019). La prevención de la leprosis se basa en el control del ácaro vector, se ha centrado en la utilización de químicos, a pesar de esto se han mostrado ineficiente en el control de *B. yothersi* (Della-Vechia *et al.*, 2021). Se propone optar por otros productos alternativos para su control, con la intención de evitar la propagación del virus de la leprosis en las principales zonas productoras de cítricos y evadir la resistencia a los insecticidas (Rocha *et al.*, 2021). El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto acaricida de productos comerciales formulados con extractos vegetales como Organ Oil Plus®, Bio Capsi Xtra® y Bio Piretrin Plus® en el control de *B. yothersi*, bajo condiciones de laboratorio.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El sitio experimental fue el Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México. Los ácaros fueron proporcionados por el Colegio de Postgraduados, los tratamientos fueron extractos naturales de productos comerciales en las presentaciones Organ Oil Plus®, Bio Capsi Xtra® y Bio Piretrin Plus®. La unidad experimental consistió en una caja Petri de plástico de 60 mm de diámetro con un orificio de 30 mm de diámetro cubierto

de malla de serigrafía para permitir la aireación (Vázquez-Benito *et al.*, 2022). En la base se colocó una toallita de algodón húmeda de 58 mm de diámetro y encima de ésta se colocó un disco de hoja de naranja de 30 mm de diámetro con el envés hacia arriba, a la cual se le puso en el raquis central, una franja de 10 mm de ancho y 20 mm de una mezcla de arena, yeso y harina (1:1:1).

Las aplicaciones se hicieron en todos los estados de desarrollo de *B. yothersi* de acuerdo con el siguiente orden: huevo, ninfa y adulto, los cuales se colocaron de 10 en 10, en cada unidad experimental. Los productos comerciales se aplicaron de manera individual con tres repeticiones en cada tratamiento y usando de testigo un coadyuvante con agua destilada. La aspersión de los tratamientos se realizó con torre de pulverización. Los individuos de cada tratamiento y repetición se pasaron con un pincel fino a las unidades experimentales previamente preparadas con la mezcla de harina. Todo el experimento se mantuvo a temperatura de  $25 \pm 1$  °C,  $60 \pm 5\%$  HR y L12:O12 de fotoperiodo (Salinas-Vargas *et al.*, 2016). La mortalidad fue revisada cada 24 h durante siete días en todos los estados de desarrollo y en los huevos hasta la eclosión del último huevo del testigo.

Se utilizó un diseño completamente al azar y los datos fueron analizados mediante regresión logística usando una estructura factorial jerárquica. Primero, el tratamiento testigo se comparó con todos los tratamientos y posteriormente, se compararon únicamente entre los tratamientos (productos) en los diferentes estados de desarrollo; todos los análisis fueron realizados por el programa GenStat V8 (Payne *et al.*, 2005).

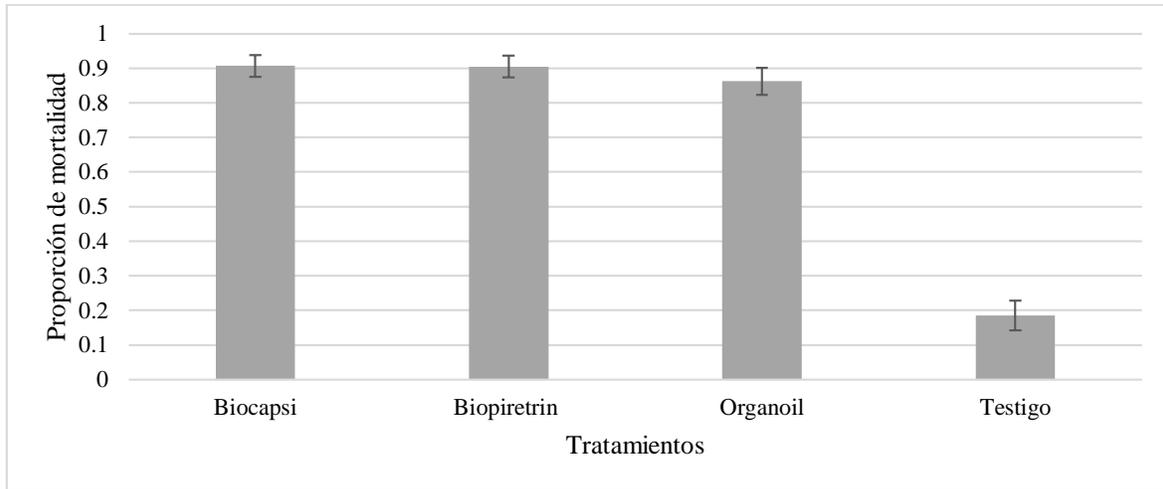
**Cuadro 1.** Tratamientos evaluados y dosis.

Tratamientos	Compuesto	Dosis
T1: Organ Oil Plus®	Sales potásicas Girasol Orégano Ajo	5000 ppm
T2: Bio Capsi Xtra®	Derivado de aceites Chile Canela Ricino Ajo	5000 ppm
T3: Bio Piretrin®	Crisantemo Neem	5000 ppm
Testigo: AD3000®	Polidimetilsiloxano Surfactante no iónico	5000 ppm

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

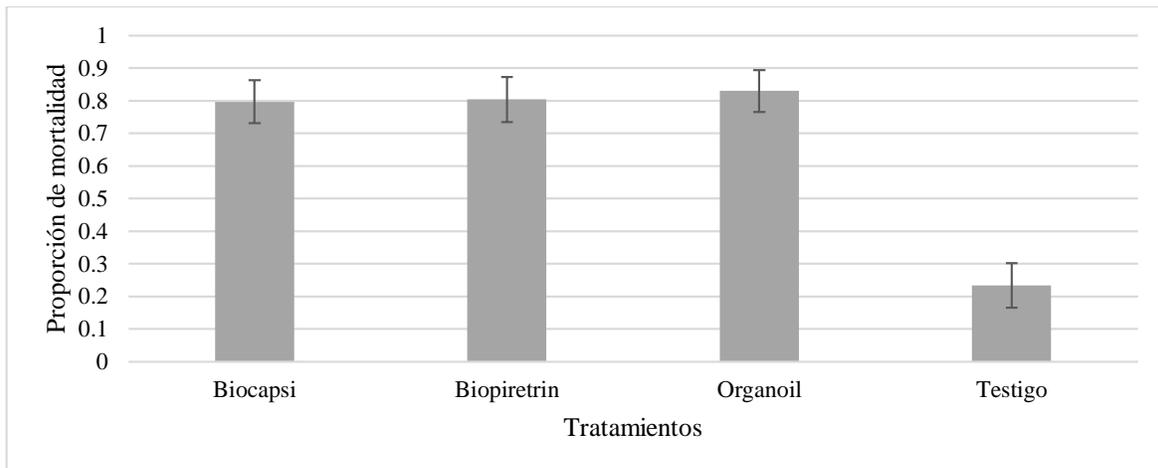
En los huevos se observa una diferencia significativa entre el testigo y los tratamientos ( $F_{1,32}=13.92$ ,  $P<0.003$ ), donde la mayor mortalidad fue observada en los

productos evaluados. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los mismos tratamientos ( $F_{2,32} = 0.29$ ,  $P < 0.754$ ), aunque la proporción de mortalidad en todos los tratamientos fue de un 90% aproximadamente (Figura 1).



**Figura 1.** Proporción de mortalidad de huevos de *B. yothersi* ocasionadas por productos formulados con extractos vegetales. Las barras de error representan el error estándar de la media

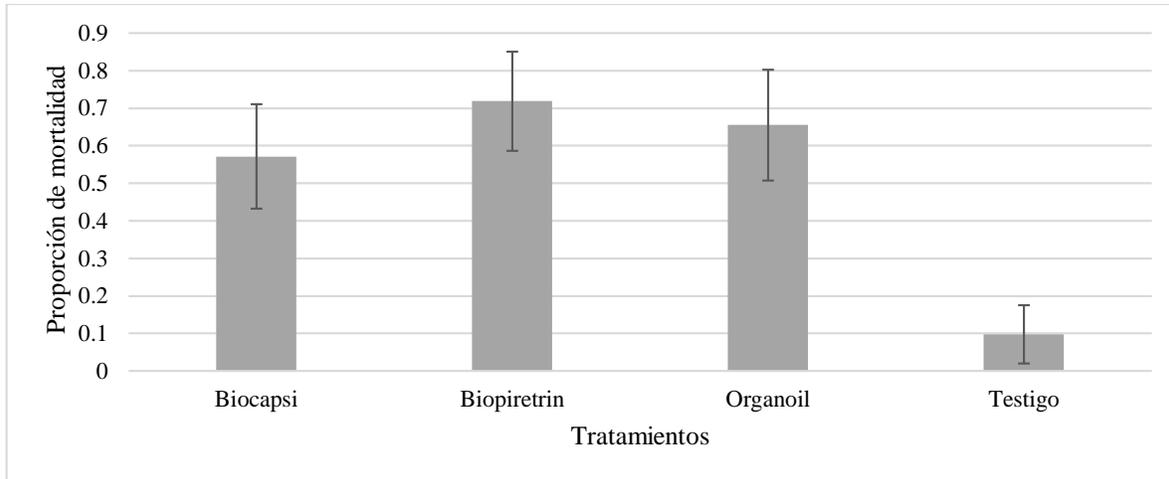
En el estadio de ninfa, los resultados fueron similares, donde se encontró una diferencia significativa entre el testigo y los tratamientos ( $F_{1,31} = 40.24$ ,  $P < 0.001$ ), pero sin diferencia significativa entre los tratamientos ( $F_{2,31} = 0.07$ ,  $P < 0.932$ ), con una proporción de mortalidad de hasta 80% (Figura 2).



**Figura 2.** Proporción de mortalidad de ninfas de *B. yothersi* ocasionadas por productos formulados con extractos vegetales. Las barras de error representan el error estándar de la media.

En el caso del estado adulto, se encontraron diferencias significativas entre las mortalidades del testigo y los productos evaluados ( $F_{1,12} = 13.92$ ,  $P < 0.003$ ), donde la mayor

mortalidad de adultos se encontró en los productos evaluados comparados con el testigo. A pesar de ello, no hubo diferencias significativas entre los productos evaluados ( $F_{2, 12} = 0.29$ ,  $P = 0.754$ ); sin embargo, se observa una mortalidad entre los tratamientos del 70% aproximadamente (Figura 3).



**Figura 3.** Proporción de mortalidad de adultos de *B. yothersi* ocasionadas por productos formulados con extractos vegetales. Las barras de error representan el error estándar de la media.

Los productos utilizados Organ Oil Plus®, Bio Capsi Xtra® y Bio Piretrin Plus® causaron mortalidad en todos los estados de desarrollo en los que se aplicaron, generando mortalidades superiores al 50% en todos los estadios de desarrollo, Carrillo-Rodríguez *et al.* (2009) reporta resultados similares en sus ensayos a base de extractos botánicos, destacando el uso de *Azadirachta indica* y *Ricino Comunista* sobre *Tetranychus urticae*. Aunque los porcentajes de mortalidad fueron diferentes en cada uno de ellos, el mayor fue observada en huevo (87 a 90%) y el menor en adultos (57 a 72%). El resultado del producto Bio Piretrin® (*A. indica* y *Chrysanthemum cinerariaefolium*) en adultos, es de manera semejante al caso que obtiene Calvo (2015) en su experimento, alcanzando una mortalidad similar de 70% en la aplicación de *A. indica* en dosis de 500 ppm sobre hembras adultas de *T. urticae* en rosal.

Los extractos naturales utilizados para el control de ácaros Lemus-Soriano *et al.*, (2016) reportaron una buena efectividad de productos biorracionales contra *Acalitus sp.* en cultivo de zarzamora en condiciones de campo, destacando la utilización del producto Organ Oil Plus® en combinación de Neem Higuier® y Bio Plague®. Por otro lado, Bhullar *et al.*, (2024) realizaron la aplicación de extracto de Neem junto a antocóridos para el control de *Polyphagotarsonemus latus* y plantea la posibilidad de incorporar los productos biorracionales en manejo integrado en cultivos.

La mayor susceptibilidad en estados inmaduros, se puede deber por no contar con un desarrollo completo, los diferentes metabolitos secundarios en los extractos y los diferentes mecanismos de acción de estos mismos, ya que generan la inhibición de la alimentación,

síntesis de quitina, modifica el comportamiento, inhibición del crecimiento, desarrollo, reproducción y mortalidad, entre otros (Ascher, 1993). el hecho de afectar más a huevos que a los otros estados de desarrollo, podría resultar positivo desde un punto de vista de manejo integrado de plagas, puesto que el causar mortalidad en huevos, se evitaría la presencia de futuras ninfas y adultos, que son los responsables de la transmisión de CiV-C (Tassi *et al.*, 2017). Con base en los resultados obtenidos, concluimos que los extractos de los productos Organ Oil Plus®, Bio Capsi Xtra® y Bio Piretrin Plus® causan mortalidad en *Brevipalpus yothersi* en todos sus estados de desarrollo; sin embargo, el estado más susceptible es el huevo seguido de las ninfas y finalmente el adulto.

### LITERATURA CITADA

Ascher, KRS. 1993. Efectos insecticidas no convencionales de los pesticidas disponibles a partir del árbol de Neem, *Azadirachta indica*. Archivos de bioquímica y fisiología de insectos, 22, 433-449.

Beltran-Beltran AK, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, Téliz-Ortiz D, Gutiérrez-Espinoza MA, Romero-Rosales F, Robles-García PL. 2020. Incidence of Citrus leprosis virus C and Orchid fleck dichorhavirus Citrus Strain in Mites of the Genus *Brevipalpus* in México. Journal Economic Entomology 113 (3): 1576-1581. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa007>

Bhullar M.B, Heikal HM, Kaur P. 2024. Efficacy of natural products and biorationals against yellow mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) infesting hydroponic Capsicum under protected cultivation. International Journal of Tropical Insect Science. 44: 681–688. <https://doi.org/10.1007/s42690-024-01173-0>

Calvo-Narcia LA. 2015. Efectividad Biológica de Extracto de Neem *Azadirachta indica* Sobre Araña Roja *Tetranychus urticae* Koch Sobre Hojas de Rosal. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Carrillo-Rodríguez JC, Hernández-Cruz B, Chávez-Servia JL, Vera-Guzmán AM, Perales-Segovia C. 2011. Efecto de extractos vegetales sobre la mortalidad de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en laboratorio. Journal of the Interamerican Society for Tropical Horticulture. 53:154-157.

Della-Vechia JF, Bassanezi RB, Andrade DJ. 2019. Physicochemical and biological compatibility of insecticide mixtures with acaricide in the management of *Brevipalpus yothersi*. Systematic and Applied Acarology 24:1455–1464. <https://doi.org/10.11158/saa.24.8.8>

Della-Vechia JF, Zanardi OZ, Kapp ABP, Bassanezi RB, De Andrade DJ. 2021. Lethal and sublethal effects of insecticides on the survival and reproduction of *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae). Experimental and Applied Acarology 85: 191-204. <https://doi.org/10.1007/s10493-021-00672-w>

FAO (Food and Agriculture Organization corporate statistical database). 2023. Datos, cultivos. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize>. Consultado el 19 de junio del 2024.

Payne RW, Murray D, Harding SA, Baird DB, Soutar DM. 2009. GenStat for Windows. 12th Edition, Introduction. VSN International Hemel Hempstead.

Lemus-Soriano BA, Pérez-Aguilar DA, Garza-Blanco J. 2016 Insecticidas biorracionales para el control de *Acalitus sp.* (Prostigmata: Eriophyidae) en zarzamora. *Entomología Mexicana* 3: 316-319.

Rocha CM, Della-Vechia JF, Savi PJ, Omoto C, Andrade DJ. 2021. Resistance to spirodiclofen in *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae) from Brazilian citrus groves: detection, monitoring, and population performance. *Pest Management Science* 77 (7): 3099-3106 <https://doi.org/10.1002/ps.6341>

Rodrigues JCV, Kitajima EW, Childers CC, Chagas CM. 2003. Citrus leprosis virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on citrus in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*. 30:161-179.

Salinas-Vargas D, Santillán-Galicia MT, Guzman-Franco AW, Hernández-López A, Ortega- Arenas LD, Mora-Aguilera G. 2016. Analysis of genetic variation in *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae) populations from four species of citrus host plants. *PLoS ONE* 11 (10): e0164552. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164552>

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2019. Leprosis de los cítricos. Ficha técnica no. 35: 2.

SIAP (Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera). 2020. Panorama Agroalimentario 2020. [https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2020/AtlasAgroalimentario-2020](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2020/AtlasAgroalimentario-2020). Consultado el 18 de junio del 2024.

Tassi AD, Garita-Salazar LC, Amorim L, Novelli VM, Freitas-Astúa J, Childers CC, Kitajima EW. 2017. Virus-vector relationship in the Citrus leprosis pathosystem. *Experimental and Applied Acarology*. 71: 227–241. <https://doi.org/10.1007/s10493-017-0123-0>

Vázquez-Benito JA, Santillán-Galicia MT, Guzmán-Franco AW, Hernández-Domínguez C, Romero-Rosales F, Ortiz-Osuna, Á, Rodríguez-Maciél JC. 2022. Combined application of predatory mites and fungal pathogens for biological control of *Brevipalpus yothersi* (Acari: Tenuipalpidae) under laboratory conditions. *Biological Control* 167:104853. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104853>