

Trichoderma harzianum y espinosina en el control de gorgojo del trigo *Sitophilus granarius* (L. 1758)

Trichoderma harzianum and spinosyn in the control of wheat weevil *Sitophilus granarius* (L. 1758)

Andrade-Bustamante G.¹, Angel Manuel Suarez-Hernandez², Emmanuel Aispuro-Hernández³ y Martínez-Ruiz Francisco E.^{1*}

¹ Universidad Estatal de Sonora, Hermosillo, Sonora, México, C.P. 83000.

² Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ingeniería y Negocios San Quintin: Ensenada, Baja California, Méx.

³ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora, Méx.

ABSTRACT

Sitophilus granarius, is a small insect which, under favorable conditions, affects up to 85 % of stored wheat. Research efforts are being directed towards the development of bioproducts based on fungi or bacteria with entomopathogenic action, with potential utility as bioinsecticides. Studies related to *Trichoderma harzianum* and spinosyn in the control of the beetle pest of stored grains are minimal and it is in this context, that the objective of this work was to evaluate the effect of *Trichoderma* and spinosyn in the control of *Sitophilus granarius* in stored wheat. For the development of the study, the grain of all treatments was first impregnated with spinosyn; three concentrations (three treatments) of *T. harzianum* conidia were sprayed (T1:10³, T2:10⁶ y T3:10⁹ conidias/mL⁻¹), with five repetitions for each treatment. In the study they were considered controls without treatments. The results show that *Trichoderma harzianum* has a bioregulatory effect on *S. granarius*, which is significant when combined with spinosyn. This bioregulatory effect is emphasized when higher concentrations than 10⁹ conidia/mL are inoculated. Studies related to coinoculation and the use of spinosyn should be carried out, as well as evaluating the viability of the seed and the organoleptic properties of the grain.

Keywords: Insect pests; stored grains; postharvest; bioproducts; biological control.

RESUMEN

Sitophilus granarius, es un pequeño insecto el cual bajo condiciones favorable llega a afectar al trigo almacenado hasta en un 85 %. Los esfuerzos investigativos están siendo orientados hacia el desarrollo de bioproductos a base de hongos o bacterias con acción entomopatógena, con utilidad potencial como bioinsecticidas. Estudios relacionados con *Trichoderma harzianum* y espinosina en el control del coleópteros-plaga de granos almacenados son mínimos y es en este contexto, el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el efecto de *Trichoderma* y la espinosina en el control de *Sitophilus granarius* en trigo almacenado. Para el desarrollo del estudio, el grano de todos los tratamientos fue impregnado primeramente con espinosina; tres concentraciones (tres tratamientos) de conidias de *T. harzianum*

fueron asperjadas (T1:10³, T2:10⁶ y T3:10⁹ conidias/mL⁻¹), con cinco repeticiones cada tratamiento. En el estudio fueron considerados controles sin tratamientos. Los resultados muestran que, *Trichoderma harzianum* presenta un efecto biorregulador sobre *S. granarius*, el cual es significativo cuando se combina con la espinosina. Este efecto biorregulador se enfatiza cuando se inoculan concentraciones superiores de 10⁹ conidias/mL. Se deben realizar estudios relacionados con la coinoculación y el uso de la espinosina, asimismo, evaluar la viabilidad de la semilla y propiedades organolépticos del grano.

Palabras claves: Plagas insectiles; granos almacenados; postcosecha; bioproductos; control biológico.

INTRODUCCIÓN

Sonora, un estado ubicado en el noroeste de México, se destaca a nivel mundial por ser un productor y proveedor de granos y forrajes. Con relación a la producción de granos, el estado de Sonora, México resalta a nivel nacional en la producción de trigo, sorgo, maíz, garbanzo, girasol y centeno, principalmente, siguiéndoles en segundo y tercer orden a los estados de Baja California y por Guanajuato, respectivamente. Al mes de septiembre de 2021, Sonora tuvo una superficie sembrada de trigo de 467,319 hectáreas de las cuales se cosecharon 465,997 (99.7 %), con una producción de 2,802,008 toneladas; 16.8 % menos que la obtenida en su homólogo ciclo del año anterior; derivado de una menor superficie sembrada (22 %) (SADER, 2022). En este ciclo en promedio se obtuvo un 95 % de la producción del año agrícola. Sonora con 1.4 millones de toneladas (51.7 % de la producción en el país) junto con Guanajuato, Baja California y Sinaloa, en conjunto aportan el 82.7 % de la producción nacional. La producción obtenida en el ciclo otoño-inverno 2020/21 a nivel nacional, en su mayoría fue del grupo cristalino 56 % y el resto (44 %) fue del tipo panificable (fuerte, medio fuerte, suave y corto, y tenaz). En Sonora el 83 % de la producción de trigo en la entidad es del tipo cristalino y el 17.0 % restante es panificable.

Se puede inferir que la conjunción de las condiciones agroclimáticas y tecnológicas existentes en las regiones donde se siembra trigo en Sonora, son favorables. Sin embargo,

*Autor para correspondencia: Martínez-Ruiz Francisco E.
 Correo electrónico: francisco.martinez@ues.mx

Recibido: 1 de agosto de 2022

Aceptado: 18 de septiembre de 2022

hay temporadas y espacios donde las plagas se vuelven un problema y uno de ellos es en el almacenaje ya que, Iturralde (2015), indica que las pérdidas debidas a estos daños oscilan entre un 5 % y un 10 % en países desarrollados y alrededor del 50 % en países en vías de desarrollo, que se traducen en pérdidas económicas que representan unos 300 millones de dólares en países desarrollados. Existen unas 1,000 especies de insectos que infestan los productos almacenados, siendo las de mayor importancia económica las que se encuentran dentro de los órdenes Coleóptera y Lepidóptera (Riudavets *et al.*, 2002). Tradicionalmente, a estas especies se las suele clasificar en plagas primarias o secundarias con base al daño producido sobre el grano (Iturralde, 2015). Las plagas primarias están representadas por insectos altamente especializados con la capacidad de perforar la testa de las semillas (Laskowski *et al.*, 2019). Dentro de este grupo encontramos a coleópteros de las familias Dryophthoridae (*Sitophilus granarius* Linneo = gorgojo de grano =; *Sitophilus oryzae* Linneo = gorgojo del arroz= y *Sitophilus zeamais* Linneo = gorgojo del maíz=), Bostrichidae (*Prostephanus truncatus* Horn = barrenador grande de granos=; *Rhyzopertha dominica* Fabricius = capuchino de los granos=), Bruchidae (*Callosobruchus maculatus* Arora =gorgojo del frijol=) y lepidópteros de la familia Gelechiidae (*Sitotroga cerealella* Olivier = palomilla dorada de los granos, palomita de los cereales=). Las plagas secundarias en cambio son insectos poco especializados que atacan un amplio rango de productos almacenados, procesados y manufacturados. Dentro de éstas se encuentran coleópteros de las familias Cucujidae (*Cryptolestes ferrugineus* Stephens = gorgojo plano = y *Cryptolestes pusillus* Schönherr = gorgojo rojizo de los granos=) Silvanidae (*Oryzaephilus surinamensis* Linneo = carcoma dentada de los granos=) y Tenebrionidae (*Tribolium castaneum* Herbst = gorgojo castaño de la harina = y *Blapstinus interruptum* Solier = escarabajo o gorgojo negro=) (Mebarkia *et al.*, 2010).

Sitophilus granarius, catalogado como uno de los escarabajos oscuros, pertenece al orden Coleoptera, es un pequeño insecto perteneciente a la familia Dryophthoridae; esta familia es rica en especies y morfológicamente diversa con aproximadamente 2,300 géneros y 20,000 especies en todo el mundo (Nietupski *et al.*, 2021; Matthews *et al.*, 2010), y muchos más taxones por describir.

Sitophilus granarius es un pequeño coleóptero, de mucha movilidad, de aproximadamente 4.5 a 6.5 mm de largo y 2.5 mm de ancho. Los adultos presentan élitros de color marrón negruzco, con diferentes tonos claros u oscuros (Mebarkia *et al.*, 2010). El pronoto está punteado, como los élitros; estos tienen una puntuación localizada en surcos longitudinales. Tiene una tribuna larga, más larga en las hembras que en los machos, y antenas geniculadas rojizas. Las alas traseras están ausentes, por lo que no puede volar. Las patas son de color marrón rojizo. Las larvas tienen una forma típica de "C" de color blanco amarillento, con una cabeza de color marrón oscuro (Fornal *et al.*, 2007).

Para el control de las plagas de los granos almacenados y otros productos agrícolas, la utilización de insecticidas

sintéticos se ha convertido en la herramienta empleada con mayor frecuencia (Acevedo *et al.*, 2018). El uso reiterado de estos ha ocasionado resistencia, eliminación de organismos benéficos, contaminación de agua, suelo y aire (Zehler, 2000), la eficacia de los productos químicos contra las plagas de granos almacenados varía después del tratamiento (Singh y Kaur, 2018). De igual manera, el uso indiscriminado de estos insecticidas sintéticos causa gran riesgo para el medio ambiente y sus residuos pueden afectar a los consumidores. Sobre esta base la necesidad de desarrollar nuevas alternativas que sean seguras y convenientes para el ecosistema, además de eficaces en el control de plagas. En este sentido, los esfuerzos investigativos están siendo orientados hacia el desarrollo de bioproductos a base de hongos o bacterias con acción entomopatógena, con utilidad potencial como bioinsecticidas (Tamez *et al.*, 2001), en particular dada la baja predisposición de este tipo de bioproductos a generar fenómenos de resistencia en los organismos plaga (Anderson, 1998; Porcuna, 2019).

La exploración de los hongos para el control de plagas implica una amplia investigación multidisciplinar: genética, fisiología, ecología, patología, producción masiva, etc. (Vega, 2008). Entre los microorganismos que se destacan en el control de plagas y enfermedades figuran *Trichoderma* spp., *Bacillus thuringiensis* - kurstaki, *Bacillus thuringiensis* - tenebrionis, *Bacillus subtilis*, *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Spinosad*, *Coniothyrium minitans* y Nematodos entomopatógenos, entre otros (Ortiz-Urquiza *et al.*, 2010). Estas especies han sido investigadas como agentes de control biológico de plagas y enfermedades por cerca de 70 años (Kumar *et al.*, 1996), pero es sólo recientemente que las cepas han comenzado a ser comercialmente aprovechables. Las cepas de *Trichoderma* se les ha denominado Agentes de Control Biológico (ACB), debido a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizosfera, fuerte agresividad contra agentes de enfermedades e insectiles fitopatógenos y eficiencia en promoción de crecimiento de plantas e inducción de mecanismos defensa (Cañedo y Ames *et al.*, 2004). Estas propiedades han hecho, sean entre otras, altamente demandado para ser utilizada en el biocontrol de plagas y enfermedades.

El género *Trichoderma* un ACB, posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por fitopatógenos (Hernández y Orozco, 2019). Estos agentes causantes de enfermedades actúan por medio de una combinación de competencia por nutrientes, producción de metabolitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas y micoparasitismo, además de producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal (De Oliveira *et al.*, 2014). De igual forma, las especies de *Trichoderma* se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas que ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo. Asimismo, pueden producir enzimas extracelulares, antibióticos antifúngicos, ser competidores contra

hongos fitopatógenos y nematodos del género *Meloidogyne* spp. y promover el crecimiento en plantas (Cedeño, 2005; Nenaah *et al.*, 2015; Puertas *et al.*, 2006); con relación a plagas insectiles, específicamente con larvas de *Tenebrio molitor*, estudios demuestran que *Trichoderma harzianum* e investigada para la producción de serina proteasa, quitinasa y actividad antibiótica en relación con la entomopatogenia, la cepa produjo serina proteasa con un kDa; la enzima se produjo durante la fase de crecimiento y presentaba peptidos activos con acción insecticida cuando se alimentaron a las larvas de *Tenebrio molitor* (Shakeri y Howard, 2007).

Otro bioproducto potencial en el control de insectos plaga, destaca la espinosina de origen natural producido por la fermentación del actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* Mertz (Cisneros *et al.*, 2002). La espinosina es una neurotoxina compuesta por una mezcla de las spinosinas A y D (de ahí spinosAD), las cuales son compuestos tetracíclicos de macrolidos que actúan sobre los receptores post-sinápticos de la acetilcolina nicotínica y los receptores GABA (Ruiz *et al.*, 2008). Su modo de acción no es sistémico, presenta actividad por ingestión y contacto, mientras que su mecanismo de acción es actuar sobre los receptores nicotínicos de la acetilcolina, excitando el sistema nervioso por alteraciones en la función nicotínica y los canales iónicos del GABA (Marina *et al.*, 2014). Los estudios demuestran la capacidad de ser efectivo en el control de lepidópteros (Mendez *et al.*, 2002), dípteros (Bond *et al.*, 2004) y homópteros (Pérez *et al.*, 2007), entre otros.

Estudios relacionados con *Trichoderma* y espinosina en el control del coleópteros- plaga de granos almacenados son mínimos y es en este contexto, que el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el efecto de *Trichoderma* y la espinosina en el control de *Sitophilus granarius* en trigo almacenado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepa de *Trichoderma harzianum* y la espinosina

Se adquirió una cepa de *Trichoderma harzianum* de la Empresa "Fertilizantes de la Costa Atlántica" en sustrato sólido a base de arroz. Para su posterior propagación, la cepa fue aislada en medio agar papa dextrosa (20 g de dextrosa, 22 g de extracto de papa, 15 g de agar), fue incubada durante siete días a una temperatura de 25 - 28 °C. Siguiendo la técnica de Arévalo *et al.* (2017), se incrementó la producción de conidios a partir de cascarilla de arroz entera + semilla de arroz quebrada (1/4 de tamaño las piezas de arroz) en una proporción de 60 g y 40 g, respectivamente, enriquecida con Carbonato de Calcio al 0,5 mL g⁻¹ sustrato; el sustrato se depositó en bolsas de plástico de 1 kg. El mismo fue esterilizado en autoclave durante 30 min a 15 psi. En condiciones asépticas se agregó una suspensión de conidios/mL (1 x 10³) a los sustratos a razón de 0.04 mL g⁻¹ de sustrato, una vez inoculado los sustratos se removió las bolsas para lograr una buena homogenización, finalmente se cerró las bolsas para evitar contaminación. La incubación del hongo consistió en ubicar las bolsas en oscuridad a temperatura de 25 °C y hu-

medad relativa del 80 % por 3 d, con la finalidad de propiciar el desarrollo de micelio; transcurrido el tiempo, las bolsas fueron removidas ligeramente con el propósito de brindar oxigenación a los hogos para facilitar el desarrollo (Arévalo *et al.*, 2017). A los siete días de incubación, se abrieron las bolsas para favorecer aireación y deshumerar el sustrato, generando una mayor esporulación hasta los 14 d. Los últimos cuatro días del proceso de esporulación los sustratos con los hongos, las bolsas se sometieron a temperatura de 16 °C para facilitar la desecación del sustrato. Finalmente, la cosecha de conidios del hongo biocontrolador fue realizada envasando y sellando el producto según Kamaly *et al.* (2016).

La espinosina fue obtenida del producto comercial Spintor 12 Sc (Dow Agro Sciences); Spinosad: (Spinosyn A y Spinosyn D) 11.60 %, equivalente a 120 g de ingrediente activo por litro. Se preparó la espinosina a razón de 0.4 ppm (según EPA/LMRs), colocando 5 mL:L agua⁻¹.

Obtención de *Sitophilus granarius*

Los individuos insectiles de *Sitophilus granarius* procedieron de un asentamiento colonial del laboratorio de la Empresa "Fertilizantes de la Costa Atlántica". Durante seis días para generar una oviposición, los ejemplares progenitores se desarrollaron bajo condiciones controladas de temperatura (29 ± 2 °C), humedad relativa (73 ± 5 %) y fotoperiodo (12 luz: 12 oscuridad), posteriormente fueron eliminados y la nueva generación se mantuvo por 35 d y así generar nueva descendencia de nuevos individuos, los cuales infestaron nuevas muestras de grano estéril y ser utilizados en las pruebas biológicas.

Biotratamientos de mortalidad de *Sitophilus granarius*

Para el desarrollo del estudio, el grano de todos los tratamientos fue impregnado primeramente con espinosina (15 mL:caja Petri); los 15 mL fueron impregnados al grano apoyándose de una pizeta con punta de spray y después de 180 minutos, tres concentraciones (tres tratamientos) de conidios de *T. harzianum* fueron asperjadas (T1:10³, T2:10⁶ y T3:10⁹ conidios:mL⁻¹), con cinco repeticiones cada tratamiento utilizando placas de Petri de 50 mL con diez gramos de trigo e infestándose con 20 ejemplares no sexados de *S. granarius*. Una placa Petri con trigo infestado sin someterse a ningún tratamiento de los bioproductos en estudio, fue empleado como control. Asimismo, otro tratamiento con espinosina sin *T. harzianum* fue considerado. Las cajas Petri con los respectivos tratamientos se sellaron con parafilm para impedir pérdidas y desecación de conidios, volatilización de la espinosina y de organismos insectiles; después se colocaron en una cámara de incubación (MLR-352-PE PHC Europe B.V. / PHCbi) a 29 ± 2 °C y 80 ± 5 % HR. Los tiempos de exposición del insecto a los tratamientos fueron de 72, 144 y 216 h. El experimento se realizó por quintuplicado. Al final de cada tiempo de exposición, los insectos fueron removidos y la tasa de mortalidad fue calculada según la siguiente ecuación de Wong *et al.* (2017) y Abbott (1925):

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{100 (\% \text{ muertos tratados} - \% \text{ muertos control})}{100 - \% \text{ muertos control}}$$

Análisis estadístico

Un diseño completamente al azar fue desarrollado en el experimento con cinco repeticiones y como fuentes de variación las concentraciones conidiales de *T. harzianum* (10^3 , 10^6 y 10^9 conidias/mL⁻¹; control sin ACB y control únicamente con espinosina) y, un tiempo de exposición con tres niveles (72, 144 y 216 h). La variable de estudio fue la del porcentaje de mortalidad. Para establecer las diferencias entre los tratamientos y los testigos, se realizaron análisis de varianza con un nivel de significancia $p = 0.05$ y comparación de medias por Tukey Kramer, mediante el paquete estadístico JMP versión 5.1. Los valores porcentuales fueron transformados al arco-seno \sqrt{p} (Sokal y Rohlf, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los tratamientos fueron efectivos contra *S. granarius*, con diferencias significativas respecto al control para $P < 0,005$. Asimismo, los análisis arrojan que no hubo diferencias significativas de mortalidad al evaluar diferentes concentraciones de conidias de *T. harzianum* (Tabla 1) considerando los distintos tiempos de exposición; sin embargo, numéricamente, se manifiesta que a una concentración de 10^9 conidias/mL es superior en comparación de las demás concentraciones al cabo de 216 h. Es importante hacer notar que la inoculación de *T. harzianum* sin la espinosina se comportó numéricamente superior a las 72 h, pero sin diferencias significativas con los tratamientos conidiales a base de *T. harzianum*. A las 144 h, se pudo visualizar que el tratamiento con espinosina + *T. harzianum*, a las 144 h, en concentraciones de 10^9 conidias/mL⁻¹ superó su efectividad en 5 unidades adicionales vs el tratamiento único con *T. harzianum* (10^9 conidias/mL⁻¹) sin la adición de espinosina. Un incremento en la mortalidad de *S. granarius* a las 216 h, se ve manifestado (6.2 %), con aquel mismo tratamiento a base de espinosina + *T. harzianum* (10^9 conidias/mL⁻¹), en comparación con el de Esp S/T (Tabla 1), y en un 16.5 % con los tratamientos a base de espinosina + *T. harzianum* (10^3 y 10^6 conidias/mL⁻¹).

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad de *S. granarius* en trigo expuesto a espinosina y *Trichoderma harzianum*.

conidias/mL ⁻¹	Trichoderma harzianum		
	72 h	144 h	216 h
10^3	65(a)A	73(a)A	82(a)A
10^6	68(a)A	75(a)A	85(a)A
10^9	68(a)A	82(a)A	97(a)A
Esp S/T	69(a)A	77(a)A	92(a)A
control	0(a)B	0(a)B	0(a)B

Literales minúsculas diferentes en una fila dentro de una misma fuente de conidias son diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P < 0,05$. Literales mayúsculas diferentes en una columna dentro de una misma fuente de conidias son diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P < 0,05$. Los valores son el promedio de cinco réplicas. Esp S/T: espinosina sin *T. harzianum*; Control: sin los agentes de control biológico (Espinosa + *T. harzianum*).

Son diversos los resultados que se han obtenido por parte de los ACB. Las observaciones experimentales y de campo, arrojan por ejemplo que *Bacillus thuringiensis*, se caracteriza por formar una espora central o terminal en el esporangio y también por la presencia de un cristal proteico; produce tres exotoxinas: la beta, alfa y gama y una endotoxina llamada delta endotoxina, que es la responsable principal del efecto insecticida; su modo de entrada es las esporas o los cristales de endotoxinas, entran por la boca conforme el insecto se alimenta del follaje, para luego alcanzar el intestino el cual tiene un pH alcalino (Kumar et al., 1996). Otro ACB que figura, es el *Bacillus popilliae*, el cual es causante de la enfermedad lechosa en los escarabajos; las esporas son elípticas o cilíndricas y están ubicadas en la porción central o distal del esporangio; las esporas son ingeridas con suelo y material de las raíces por las larvas mientras se alimentan; en el interior del insecto las esporas germinan y las células vegetativas invaden la hemolinfa; se ha observado que las esporas actúan a nivel de membrana o cutícula, y/o degradando pared celular principalmente en las regiones frágiles de la cutícula de larvas de la familia Scarabaeidae (Coleóptera) y generando una bacteremia (replicación interna de la bacteria). *Beauveria bassiana* por su parte, su micelio es de color blanco y las conidias presentan una coloración blanca a crema. Produce la enfermedad conocida como: Muscardina blanca; el micelio invade los órganos y tejidos, comenzando por el tejido graso generando intranquilidad y pérdida de coordinación del insecto y posteriormente cese de la alimentación, aunado a un cambio en la coloración del tegumento principalmente en escarabajos como *Cosmopolites sordidus*. El ACB, *Trichoderma* spp., se caracteriza por ser saprofito. Es un hongo competitivo, ya que crece muy rápido, y esporula abundantemente. Son antagonísticos: producen antibióticos como gliotoxinas, viridinas y enzimas líticas (Alamri et al., 2016).

Los resultados obtenidos en el presente estudio, concuerdan con Mukherjee et al. (2012), Kamali et al. (2016) y Alamri et al. (2016), al indicar que la inoculación de *Trichoderma* con complejos enzimáticos pueden potencializar su efecto biocontrol; fenómeno visualizado en este trabajo. Si bien es cierto, los estudios con *Trichoderma* indican más su efectividad sobre hongos Delgado y Maurcia-Ordoñez (2011) y Vallejos et al. (2014), manifiestan sobre su acción bioinsecticida sobre dípteros plaga de cultivos agrícolas. Los mismos autores indican que *Trichoderma* spp., tiene la capacidad de ser utilizado como un ACB vs insectos, debido a su producción de metabolitos secundarios y enzimas (en menor proporción que tales como: proteasas, celulasas, xilanasas, pectinasas, amilasas, quitinasas, entre otras (Tronsmo & Harman, 1993; Monzón, 2001), que son los factores clave en el biocontrol. Esta última (quitinasas), se caracterizan por hidrolizar el enlace tres, del polímero N - acetilglucosamina, componente esencial en la estructura de cubierta y membrana de la mayoría de los insectos y microorganismos (Tronsmo y Harman, 1993; Monzón, 2001), lo que da pie al deterioro de la misma y facilita la acción de los demás componentes involucrados en

el biocontrol (metabolitos secundarios). Situación que pudo ocurrir en el presente estudio al observar (entre más tiempo transcurrido y más concentración conidial), como el micelio del hongo se apreciaba sobre la base de las antenas y debajo de los élitros de los insectos en estudio. Adicional a lo anterior, es importante hacer notar que la esporulación de los conidios de *Trichoderma* sobre *S. granarius*, se hizo notar a la acción biocontroladora de la espinosina; éste fenómeno fue más enfático cuando las concentraciones conidiales eran por encima de 10^6 condias/mL⁻¹. En este sentido, la acción biocontroladora de la espinosina según Infante-Rodríguez *et al.* (2011), Marina *et al.* (2012, 2014, 2018), indican que al ser una neurotoxina compuesta por una mezcla de las spinosinas A y D (de ahí spinosAD), los cuales son compuestos tetracíclicos de macrolidos que actúan sobre los receptores post-sinápticos de la acetilcolina nicotínica y los receptores GABA de los insectos (Marina *et al.*, 2012; 2014; 2018; Pérez *et al.*, 2007), pudo deberse su efecto sinérgico con el de *Trichoderma* spp. (Monzó, 2001; Mukherjee *et al.*, 2012) y que aunque existen estudios donde *Trichoderma* interactúa positivamente con otra clase de organismos benéficos como es el estudio de Martínez *et al.* (2011), que evaluaron la interacción de cuatro especies de micorrizas arbusculares (*Glomus intraradices*, *G. mosseae*, *G. claroideum* y *G. constrictum*) y *Trichoderma harzianum* en plantas de melón, con el fin de valorar el crecimiento de las plantas y la incidencia de la marchitez producida por el hongo patógeno, también se han visto efecto positivos en el manejo y control de plagas de almacén (Motta-Delgado y Murcia-Ordoñez, 2011).

CONCLUSIONES

Trichoderma harzianum como un Agente de Control Benéfico presenta un efecto biorregulador sobre *S. granarius*, el cual es significativo cuando se combina con la espinosina. Este efecto bioregulador se enfatiza cuando se inoculan concentraciones superiores de 10^9 condias/mL. Los autores sugieren, que se deben realizar estudios relacionados con la coinoculación de otros ACB y el uso de la espinosina, asimismo, evaluar la viabilidad de la semilla y propiedades organolépticos del grano.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Ingeniero Martín Arellano Hernández presidente de la Empresa Fertilizantes de la Costa Atlántica, por las facilidades ofrecidas para el desarrollo del presente estudio.

REFERENCIAS

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Econ. Entom.* 18:265-267. doi: 10.4067/S0718
- Acevedo, M., Zurn, J., Molero, G., y Singh, P. 2018. The role of wheat in global food security. In: Udaya S., editor. *Agricultural Development and Sustainable Intensification: Technology and Policy Challenges in the Face of Climate Change*. Routledge; London, UK. pp. 81-110.
- Alamri, S., Mostafa, Y. S., Hashem, M., y Alrumman, S. 2016. Enhancing the Biocontrol Efficiency of *Trichoderma harzianum* JF419706 through Cell Wall Degrading Enzyme Production. *International Journal of Agriculture and Biology*. 18(4): 765-772.
- Anderson, M. W. 1988. *Biotechnology, alternative agriculture, and public research in Maine*. University of Maine, Ag. Experiment Station, Vol. 1, No. 4.
- Arévalo E., Cayotapa J.C., Olivera D., Gárate M., Trigoso E., Do Bomfim Costa, y León B. 2017. Optimization of substrates for conidia production of *Trichoderma harzianum* by Solid fermentation in the region of San Martin. Peru. *Rev. investig. Altoandín*. 19(2):123-145.
- Bond, J.G., Marina, C.F., y Williams, T. 2004. The naturally-derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. *Med. Vet. Entom.* 18, 50-56.
- Cisneros, J., Goulson, D., Derwent, L.C., Penagos, D.I., Hernández, O. y Williams, T. 2002. Toxic effects of spinosad on predatory insects. *Biological Control* 23, 156-163.
- Cañedo, V. y Ames, T. 2004. *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Lima, Perú; Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú, 62 p.
- Cedeño D. Control de *Meloidogyne* spp. en pepino (*Cucumis sativa*) con Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral®), *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus*. 2005. [Tesis para optar el Grado Académico de Licenciado]. Honduras: Zamorano; 167 p.
- Delgado, P. A. M., y Murcia-Ordoñez, B. 2011. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambi-Agua, Taubaté*. 6(2): 77-90.
- De Oliveira, J., Campos, E., Bakshi, M., Abhilash, P., y Fraceto, L. 2014. Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: Prospects and promises. *Biotech. Adv.*32(8):1550-1561. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.010>
- Fornal, J., Jeliński, T., Sadowska, J., Grudas, S., Nawrot, J., Niewiada, A., Warchalewski, J.R., y Błaszczak, W. 2007. Detection of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) eggs and internal stages in wheat grain using soft X-ray and image analysis. *J. Stored Prod. Res.*43:142-148. doi: 10.1016/j.jspr.2006.02.003.
- Hernández, T. y Orozco, S. 2019. Nanoformulations of botanical insecticides for the control of agricultural pests. *Rev. Fac. Cs' - Univ. Nal. Col.* 9(1)2357-5749. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v9n1.81401>
- Iturralde Garcia, R.D. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el insecto *Callosobruchus maculatus* Fab. En Garbanzo almacenado. Tesis de Maestro en Ciencias. Universidad de Sonora. 86 p., 2015.
- Infante-Rodríguez, D.A., Novelo-Gutiérrez, R., Mercado, G., y Williams, T. 2011. Spinosad toxicity to *Simulium* spp. larvae and associated aquatic biota in a coffee-growing region of Veracruz State, Mexico. *J. Med. Entom.* 48: 570-576.
- Kamali, N., Sahebani, N., y Pourjam, E. 2016. Effect of *Trichoderma harzianum* BI on chitinase and glucanase activity in tomato roots infected with *Meloidogyne javanica* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 52(1), 165-187.
- Kumar, P.A., Malik, V.S., y Sharma, R.P. 1996. Insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Advances in Applied Microbiology*. 42: 1-43.

- Marina, C.F., Bond, J.G., Muñoz, J., Valle, J., Chirino, N., y Williams, T. 2012. Spinosad: a biorational mosquito larvicide for use in car tires in southern Mexico. *Parasites & Vectors*. 5: 95-112.
- Marina, C.F., Bond, J.G., Muñoz, J., Valle, J., Novelo-Gutiérrez, R., y Williams, T. 2014. Efficacy and non-target impact of spinosad, Bti and temephos larvicides for control of *Anopheles* spp. in an endemic malaria region of southern Mexico. *Parasites & Vectors*. 7: 5-88.
- Marina, C.F., Bond J.G., Muñoz, J. Valle, J., Quiroz-Martínez, H., Torres-Monzón, J.A. y Williams, T. 2018. Efficacy of larvicides for control of dengue, Zika and chikungunya vectors in an urban cemetery in southern Mexico. *Parasit. Res.* 117:1941-1952.
- Martínez, M. A., Roldán, A. y Pascual, J.A. 2011. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* under conventional and low input fertilization field condition in melon crops: Growth response and Fusarium wilt biocontrol. *App. Soil Ecol.* 47: 98-105.
- Matthews Eg, Lawrence Jf, Bouchard P, Steiner We Jr, Ślipiński Sa. Tenebrionidae Latreille, 1802. In: Leschen RAB, Beutel RG, Lawrence JF. (Eds) *Handbook of Zoology. Volume IV, Arthropoda: Insecta. Part 39, Coleoptera, Beetles. Volume 2: Morphology and Systematics (Elateroidea, Bostrichiformia, Cucujiformia partim)*. Walter de Gruyter, Berlin, 574-659, 2010.
- Mebarkia, A., Rahbe, Y., Guechi, A., y Bouras, A. 2010. Susceptibility of twelve soft wheat varieties (*Triticum aestivum*) to *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) *Agric. Biol. J. N. Am.* 1:571-578.
- Méndez, W.A., Valle, J., Ibarra, J.E., Cisneros, J., Penagos, D.I. y Williams, T. 2002. Spinosad and nucleopolyhedrovirus mixtures for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Biological Control* 25, 195-206.
- Mukherjee, M., Mukherjee, P., Horwitz, B., Zachow, C., Berg, G. y Zeilinger, S. 2012. *Trichoderma*-Plant-Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control. *Indian Journal of Microbiology*. 52(4): 522-529.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas CATIE. Turrialba*. 54: 1-12.
- Motta-Delgado, P. A. y Murcia-Ordoñez, B. 2011. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Revista Ambiente & Agua - An Interdisciplinary J. App. Sc.* 6(2): 1-14.
- Nenaah, G., Ibrahim, S., y Al-Assiuty, B. 2015. Chemical composition, insecticidal activity and persistence of three Asteraceae essential oils and their nanoemulsions against *Callosobruchus maculatus* (F.). *J. Stored Prod. Res.* 61:9-16. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.12.007>
- Nietupski, M., Ludwiczak, E., Cabaj, R., Purwin, C., y Kordan, B. 2021. Fatty Acids Present in Wheat Kernels Influence the Development of the Grain Weevil (*Sitophilus granarius* L.). *Insects*. 12(9):806-819. doi: 10.3390/insects12090806.
- Laskowski, W., Górska-Warsewicz, H., Rejman, K., Creuzot, M., y Zwolińska, J. 2019. How Important are Cereals and Cereal Products in the Average Polish Diet? *Nutriens*. 11:679. doi: 10.3390/nu11030679.
- Ortiz-Urquiza A., Riveiro-Miranda L., Santiago-Álvarez C., y Quesada-Moraga E. 2010. Insect-toxic secreted proteins and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *J Invertebr Pathol.* 105, 270-278.
- Pérez, C.M., Marina, C.F., Bond, J.G., Rojas, J.C., Valle, J., y Williams, T. 2007. Spinosad, a naturally-derived insecticide, for control of *Aedes aegypti*: efficacy, persistence and oviposition response. *J. Med. Entom.* 44:631- 638.
- Porcuna, C.J. 2019. Control de plagas y enfermedades en agricultura ecológica. *Sociedad Española de Agricultura Ecológica*, Madrid España. 80p.
- Puertas, A., de la Noval, B., Martínez, B., Miranda, I., Fernández, F. y Hidalgo, L. 2006. Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita*. *Rev. Prot. Veg.* 21:80-89.
- Riudavets, J., Lucas, E., y Pons, M. 2002. Insects and Mites of Stored Products in the Northeast of Spain. *International Organization for Biological and Integrated Control /West Palearctic Regional Section*. 25:41-44.
- Ruiz, L., Flores, S., Cancino, J., Arredondo, J., Valle, J., Díaz-Fleischer, F., y Williams, T. 2008. Lethal and sublethal effects of spinosad-based GF-120 bait on the tephritid parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*. 44: 296-304.
- SADER. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Recursos Hidráulicos, Pesca y Acuicultura. ¿Sabías que? Sonora es líder en la producción de trigo y grano. 1-4, 2022. <http://oiapes.sagarhpa.sonora.gob.mx/notas/econo/prod-trigo.pdf>
- SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Ficha Técnica sobre Actividades Agrícolas, Pecuarias y de Traspasamiento – Almacenamiento y Conservación de Granos y Semillas. 2022. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Publicaciones/Paginas/FichasTécnicas.aspx>. fecha: 20/04/2022.
- Shakeri, J., y Foster H.A. 2007. Proteolytic activity and antibiotic production by *Trichoderma harzianum* in relation to pathogenicity to insects. *Enz. Microb. Tech.* 40(4):961-968.
- Singh, B., y Kaur, A. 2018. Control of insect pests in crop plants and stored food grains using plant saponins: A review. *LWT—Food Sci. Technol.* 87:93-101. doi: 10.1016/j.lwt.2017.08.077. -
- Sokal, R. y Rohlf, F.J. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. (3rd edn). Freeman & Co, San Francisco, CA., 878 p., 1988.
- Tamez, G., Galán, W., Medrano, R., García, G., Rodríguez, P., Gómez, F. y Tamez, G. 2001. Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México. *Ciencia UANL*. IV(2):143-152.
- Vega F. 2008. Insect pathology and fungal endophytes. *J Invertebr Pathol.* 98, 277-279.
- Wong-Corral, F., Manríquez, V., Vásquez, V., Buitrón, L., Cabral, T., Barrales, H., Borboa-Flores, J., Cinco-Moroyoqui, F. y Rueda Puente, E. 2017. Aceite de ricinus para el control de *Rhizopryta dominica* en trigo almacenado. *Biotecnia XIX*:23-33. <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/411>
- Zehler, J.A. 2000. Chemical Control of Stored Product Insects With Fumigants and Residual Treatments. *Crop Protection*. 19: 577-582.
- Zilkowski, B. y Cossé, A. 2015. A Culture Method for Darkling Beetles, *Blapstinus* spp. (Coleoptera:Tenebrionidae). *J Econ Entomol.* 108(3):1010-1013.