



## Short Note [Nota corta]

**PRESENCIA DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS ASOCIADOS A SUELOS CULTIVADOS CON AGUACATE (*Persea americana* Mill.) EN COLIMA, MÉXICO †**

**[OCCURRENCE OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI ASSOCIATED WITH AVOCADO (*Persea americana* Mill.) SOILS IN COLIMA, MEXICO]**

**J.C. Rodríguez-Rodríguez<sup>1,2</sup>, J.P. Castruita-Domínguez<sup>1</sup>, B. Rodríguez-Vélez<sup>2</sup>, C. Neri-Luna<sup>1</sup> and M.A. Ayala-Zermeño<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Camino Ramón Padilla Sánchez 2100, Las Agujas, 44600, Zapopan, Jalisco, México.

<sup>2</sup>Departamento de Control Biológico, CNRF-DGSV-SENASICA-SADER. Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, Col. Tepeyac C.P. 28110, Tecomán, Colima, México. Email: \*ayalazermeno@yahoo.com.mx

\* Corresponding author

## SUMMARY

**Background:** Entomopathogenic fungi (EF) play a key role in the regulation of arthropod populations and biotransformation in natural systems, as well as biological pest control agents in different agroecosystems, including avocado cultivation (*Persea americana* Mill.), where Mexico is a leader in production and export worldwide. **Objective:** Determine the presence of EF in soil in commercial avocado orchards in the state of Colima, Mexico. **Methodology:** Sampling was carried out in three avocado orchards (Piedra rajada, El Guardián, and Montitlán) located in Comala and Cuauhtémoc in the state of Colima, Mexico, from July 2016 to June 2017. Soil samples were collected around avocado trees. Isolation of entomopathogenic fungi was performed using the *Galleria mellonella* Linnaeus insect trap technique. The isolates were identified considering their micro- and macroscopic characteristics with the taxonomic keys of Humber (2012). **Results:** A total of 108 samples were collected, of those, 120 isolates were obtained, of which 112 belong to the genus *Metarhizium* and eight to *Beauveria*. **Implications:** The recovered fungi have a great value for the avocado-growing areas of the state of Colima, either for the conservation of natural enemies of soil pests or for their potential use as an alternative to synthetic insecticides. **Conclusion:** Knowing the native micro-biota of the soil should be considered within biological pest control strategies, since it allows selecting the best adapted species, and including sustainable alternatives for the environment.

**Keywords:** Avocado; Agroecosystem; *Metarhizium*; *Beauveria*; *Galleria mellonella*.

## RESUMEN

**Antecedentes:** Los hongos entomopatógenos (HE) desempeñan un papel clave en la regulación de las poblaciones de artrópodos y la transformación en los sistemas naturales, así como agentes de control biológico de plagas en diferentes agroecosistemas, entre ellos el cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill.), en donde México es líder en la producción y exportación a nivel mundial. **Objetivo:** Determinar la presencia de HE en suelo de huertos comerciales de aguacate del estado de Colima, México. **Metodología:** El muestreo se llevó a cabo en tres huertas de aguacate (Piedra rajada, el Guardián y Montitlán) ubicadas en Comala y Cuauhtémoc en el estado de Colima, México, de julio 2016 a junio 2017. Las muestras de suelo fueron recolectadas alrededor de los árboles de aguacate. El aislamiento de los hongos entomopatógenos se realizó por la técnica del insecto trampa con *Galleria mellonella* Linnaeus. Los aislados fueron identificados considerando sus características micro- y macroscópicas con apoyo de claves taxonómicas. **Resultados:** Un total de 108 muestras fueron recolectadas, de estas, se obtuvieron 120 aislados, de los cuales, 112 pertenecen al género *Metarhizium* y ocho a *Beauveria*. **Implicaciones:** Los hongos recuperados poseen un gran valor para las zonas aguacateras del estado de Colima, ya sea por la conservación de enemigos naturales de plagas de suelo o por su uso

† Submitted October 27, 2022 – Accepted March 15, 2023. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4592>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = J.C. Rodríguez-Rodríguez: <http://orcid.org/0000-0001-5941-2905>; J.P. Castruita-Domínguez: <http://orcid.org/0000-0002-7350-2314>; B. Rodríguez-Vélez: <http://orcid.org/0000-0003-1950-3487>; C. Neri-Luna: <http://orcid.org/0000-0002-8941-2305>; M.A. Ayala-Zermeño: <http://orcid.org/0000-0003-0172-7124>

potencial como una alternativa a los insecticidas sintéticos. **Conclusión:** Conocer la micro-biota nativa del suelo debe ser considerado dentro de las estrategias de control biológico de plagas, ya que permite seleccionar a las especies mejor adaptadas, e incluir alternativas sustentables para el ambiente en un manejo integrado de plagas.

**Palabras clave:** Agroecosistema; Aguacate; *Beauveria*; Insecto trampa; *Metarhizium*.

## INTRODUCCIÓN

Los hongos entomopatógenos (HE) son organismos que producen una patogénesis letal en diferentes grupos de insectos. A nivel mundial las especies de hongos patógenos de insectos que se han registrado son, 65 de Chytridiomycota, 474 de Entomophthoromycota, 238 de Basidiomycota, y 476 de Ascomycota en ecosistemas, agroecosistemas y zonas urbanas (Chandler *et al.*, 1997; Onofre *et al.*, 2001; Meyling y Eilenberg, 2007; Araújo y Hughes, 2016). Los HE desempeñan un papel clave en la regulación de las poblaciones de artrópodos y la transformación en los sistemas naturales (Chandler *et al.*, 1997; Barelli *et al.*, 2020; Gebremariam *et al.*, 2021), lo que ha incrementado el interés por el estudio de la presencia, abundancia y distribución de éstos en diferentes partes del mundo (Meyling y Eilenberg 2007; Botelho *et al.*, 2019; Gutiérrez *et al.*, 2019).

Uno de los mayores beneficios de los HE, es su potencial uso como agentes de control biológico de insectos plaga en diferentes sistemas agrícolas (Zuluaga-Cárdenas *et al.*, 2015; Botelho *et al.*, 2019; Gutiérrez *et al.*, 2019), entre ellos el cultivo del aguacate (*Persea americana* Mill.) que se ha convertido en uno de los más importantes en México (Maldonado-Zamora *et al.*, 2016), con un crecimiento acelerado de la superficie cultivada en los últimos años (Nataren-Velázquez *et al.*, 2020; SIAP, 2021), consolidándose como el principal productor y exportador de aguacate a nivel mundial (Araújo *et al.*, 2018; Velázquez *et al.*, 2020; Cruz-López *et al.*, 2022), cubriendo el 45% de la demanda global (Cruz-López *et al.*, 2022), con un valor en sus exportaciones en el 2019 por 2,913 millones de dólares (FAO, 2021), destacando el estado de Michoacán como el mayor productor a nivel nacional, mientras que, en el estado de Colima, la superficie cultivada se ha incrementado en los últimos años, llegando a las 750.5 ha (SIAP, 2021), todo esto, debido a la gran demanda de este fruto en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética (Dreher y Davenport, 2013, Caro *et al.*, 2021).

El cultivo de aguacate es afectado por diferentes plagas y enfermedades (Wysoki *et al.*, 2002) por lo que se han desarrollado estrategias para el manejo integrado de las mismas, entre las que destaca el control biológico con HE. Algunas de las principales plagas del cultivo del aguacate son los trips de la especie *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera) (Maldonado-Zamora *et al.*, 2016); los coleópteros *Heilipus lauri* Boheman, *Conotrachelus aguacatae* Barber, *C.*

*perseae* Barber y *Copturus aguacatae* Kissinger, todos ellos barrenadores de la semilla, tronco y ramas del aguacate; el lepidóptero, *Stenoma catenifer* Walsingham barrenador de la semilla del aguacate (Luna *et al.*, 2017); y potencialmente las plagas reglamentadas de escarabajos ambrosiales, *Euwallacea fornicatus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae) (García-Avila *et al.*, 2016) y *Xyleborus glabratus* Eichhoff (Carrillo *et al.*, 2015). Recientemente en un estudio realizado en huertos comerciales de aguacate con presencia de *C. aguacatae* en el estado de Nayarit, México, se obtuvieron aislados de los hongos entomopatógenos *Metarhizium pingshaense* (Q. T. Chen y H. L. Guo) y *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin, además, del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, a partir de insectos infectados (De Dios-Avila *et al.*, 2021). De ahí la importancia de conocer a los HE que están presentes en los diferentes agroecosistemas y regiones de México para analizar su efecto sobre las plagas presentes en el cultivo y su potencial para el control de éstas. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de HE en suelo de huertos comerciales de aguacate del estado de Colima, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio de estudio

El área de estudio está ubicada en el Estado de Colima, México, donde se realizaron recolectas de muestras de suelo en tres huertas de aguacate Hass (*Persea americana* Mill.), con diferente edad, localizadas en los municipios de Comala y Cuahtémoc (Tabla 1).

### Recolecta de muestras

Se realizaron recolectas de suelo en las tres huertas de aguacate durante 12 meses (julio 2016 - junio 2017), las cuales fueron sistemáticas (un día por mes). El área de cada huerta se dividió en 12 secciones similares donde mensualmente se realizaron recolectas en una sección diferente con el fin de muestrear la superficie total de las huertas y conocer cómo se distribuyen los HE en cada huerto. En cada sección se tomaron muestras en los extremos y en la parte media (tres muestras por cada huerta por mes, nueve muestras mensuales en total). En cada punto se recolectaron cuatro muestras de suelo alrededor de cada árbol (norte, sur, este y oeste), aproximadamente de 10 - 15 cm de profundidad (alrededor de 500 g), se colocaron en una bolsa de polipapel, fueron homogenizadas, etiquetadas y se depositaron en una hielera de poliestireno con geles refrigerantes para ser trasladadas

**Tabla 1. Descripción de los sitios de estudio en el estado de Colima, México, de los cuales se aislaron HE del suelo asociados al cultivo de aguacate.**

Municipio	Localidad	Huerta/ha	Edad huerta años	Coordenadas		m s.n.m.
				LN	LO	
Comala	La Piedra rajada (La Aguacatera)	Piedra rajada/17.5600 ha	34	19° 24' 82"	103° 43' 93"	1218
	La Yerbabuena	El Guardián/18.6000 ha	6	19° 28' 97"	103° 40' 98"	1620
Cuauhtémoc	Montitlán	Montitlán/3.3300 ha	8	19° 24' 82"	103° 36' 99"	1532

m s.n.m. = metros sobre el nivel del mar; LN = latitud norte; LO = longitud oeste.

al Laboratorio de la Colección de Hongos Entomopatógenos (CHE) del Departamento de Control Biológico (Tecomán, Colima) del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF).

### Cría de *Galleria mellonella* Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae)

Para el aislamiento de los HE que habitan en el suelo, se utilizó el método de insecto trampa, para lo cual se contó con una cría de *G. mellonella* perteneciente a la CHE, que se utilizó como carnada, la cual se crió con una dieta artificial compuesta de 300 g de cereal de arroz (etapa + 6 meses, marca Gerber®), 37.5 g de salvado de trigo (esterilizado), 75 g de levadura, 77.5 mL de miel de abeja y 150 mL de glicerina. El salvado se mezcló con la harina de arroz y la levadura, posteriormente se adicionó la miel y glicerina en un vaso de precipitado (300 mL), y se colocó en una placa de calentamiento de 3 a 5 min, a 70°C hasta su homogenización, la dieta fue refrigerada a 4°C (Berlanga-Padilla *et al.*, 2016).

### Método de insecto trampa

Se siguió la metodología descrita por Zimmermann (1986) y Ali-Shtayeh *et al.* (2003) con algunas modificaciones. Previo a los ensayos con los insectos, larvas de *G. mellonella* del cuarto estadio fueron sometidas a un tratamiento para reducir su producción de cera, lo cual consistió en sumergir las larvas en agua a 56 °C durante 10 a 15 s, después en agua a 25 ± 2 °C durante 10 s, enseguida se colocaron en papel absorbente para retirar el exceso de humedad. Posteriormente, se depositaron en una caja de plástico con papel absorbente y se colocaron durante 5 h en oscuridad antes de ser empleadas como carnada (Meyling, 2007). Para el ensayo se colocaron muestras de suelo de 300 g en recipientes plásticos de 500 mL con tapa. Cuando el suelo se mostró polvoso o muy seco, se asperjó agua destilada estéril con un atomizador, sin llegar a un punto de sobresaturación, enseguida se colocaron 10 larvas por muestra, y fueron agitadas suavemente para favorecer el contacto con el suelo, el recipiente se colocó boca abajo y se incubó a 25 ± 2 °C. Los recipientes se revisaron cada dos días

por un período de dos semanas con la finalidad de recuperar las larvas que iban muriendo. Enseguida, los cadáveres se colocaron en cajas de Petri dentro de una cámara húmeda mantenida a una humedad relativa (HR) de 97% con K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 11% (Goettel e Inglis, 1997) a 25 ± 2 °C. Una vez que los conidios de los hongos fueron visibles sobre la superficie de las larvas, se aislaron con un micro-manipulador y/o aguja de disección y se sembraron en medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud (ADS) (Sabouraud, 1910), adicionado con extracto de levadura 1% (ADSY) [g L<sup>-1</sup>: 40 dextrosa, 10 poli-peptona, 10 extracto de levadura, 15 agar], esterilizado 15 min a 121°C, posterior a la esterilización se adicionaron 500 ppm de cloranfenicol.

### Identificación de hongos entomopatógenos

La identificación morfológica de los HE se realizó mediante preparaciones en laminillas a partir de la micosis observada sobre los insectos, las cuales se tiñeron con una mezcla de lactofenol y azul de algodón (10:1 v/v), y se observaron en un microscopio óptico AXIO Scope A1 (Carl Zeiss, Microscopy GmbH, Göttingen, Germany), utilizando el objetivo 40× y 100×. Se tomaron fotografías con una cámara digital AxioCamICc 1 (Carl Zeiss) utilizando el software AxionVision Release 4.8.2 (06 - 2010). Los aislados obtenidos fueron identificados considerando sus características macro (Mier *et al.*, 2002) y micro-morfológicas utilizando las claves taxonómicas de Humber (2012). Los aislados de *Beauveria* sp. se propagaron en tubos de cultivo con (ADSY) y los aislados de *Metarhizium* spp. se mantuvieron en un medio con cutícula de chapulín (MCC) [g L<sup>-1</sup>: 7 dextrosa, 2.5 polipeptona, 1 extracto de levadura, 10 cutícula de chapulín SPHEQUIT® (San Hipólito Xochilténango, Tepeaca, Puebla, México), 15 agar] (Montesinos-Matías *et al.*, 2021), y se incubaron a 25 ± 2 °C. Una vez que los cultivos maduraron (15 - 20 días), se almacenaron a 4 °C.

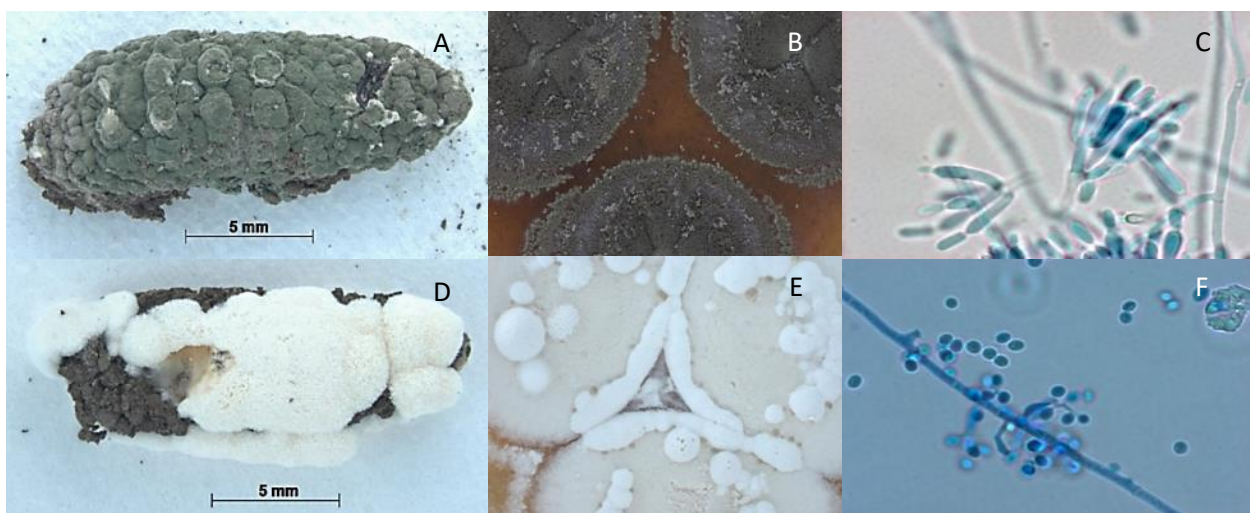
Todos los aislados obtenidos fueron conservados mediante el método de liofilización siguiendo los procedimientos según Ayala-Zermeño *et al.* (2017), y se depositaron en la CHE del Departamento de Control

Biológico (DCB) en Tecomán, Colima, México. Se les asignó el acrónimo CHE-CNRCB seguido de un número.

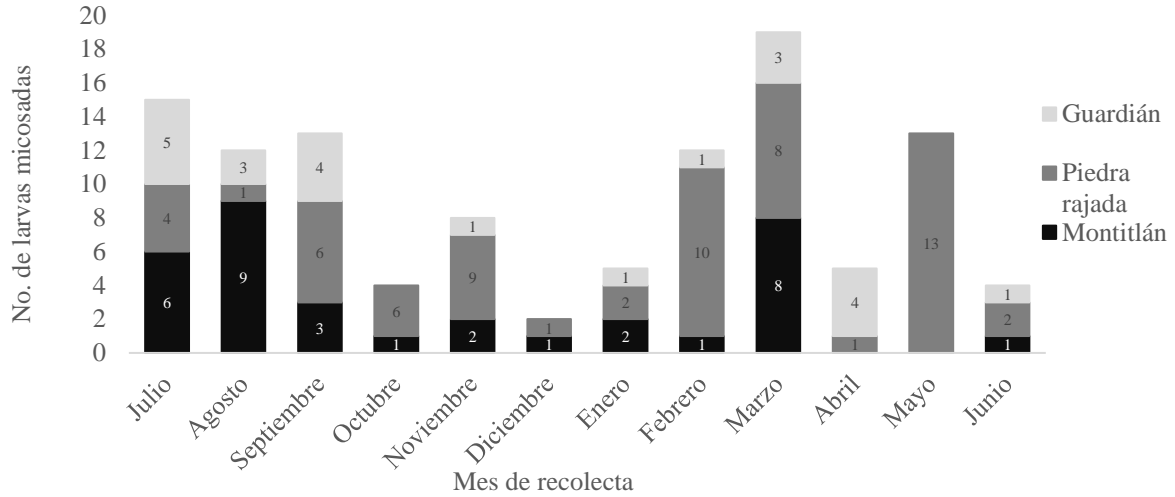
## RESULTADOS

La identificación morfológica de conidios y conidióforos de los aislados de HE mediante el uso de las claves taxonómicas, mostró que, de un total de 108 muestras de suelo de cultivo de aguacate, se obtuvieron 120 aislados pertenecientes a *Metarhizium* sp. y *Beauveria* sp. Para el género *Metarhizium*, Zimmermann (2007) y Bischoff *et al.* (2009) afirman que presentan conidióforos ramificados que en su parte distal forman cadenas o columnas de conidios cilíndricos a ligeramente ovoides de color verde seco, con un tamaño que varía entre  $4.0 - 14.5 \times 2.0 - 5.0 \mu\text{m}$ , lo cual coincide con las observaciones del presente estudio (Figuras 1 A, B y C). Por otro lado, *Beauveria* Vuillemin de acuerdo con Humber (2012) forma un revestimiento de color blanco denso en el cuerpo del huésped, el cual es ocasionalmente sinematosa (formando conjuntos erectos de hifas), las células conidiógenas pueden ser conglomeradas (o verticilada o solitaria), sin color, con la base globosa o forma de matraz que se extiende apicalmente (dentada o raquis) con un conidio por dentículo y los conidios no tienen septos, descripción que coincide con la micro-morfología de los aislados recuperados en este estudio (Figura 1 D, E, F). La identificación morfométrica de los HE, nos hace pensar que los aislados de *Metarhizium* corresponden a una misma especie al igual que los de *Beauveria*, por lo que se tratarán como una sola especie, posteriormente se realizará la identificación molecular de los aislados. En la presente investigación, el género *Metarhizium* fue el más

abundante y se obtuvieron 112 aislados (Figura 2), mientras que solo ocho aislados pertenecen al género *Beauveria* sp. (Figura 2). En las tres huertas estudiadas se aislaron HE, en Piedra rajada fue donde se recobró la mayor cantidad con 56 aislamientos de *Metarhizium* sp., mientras que en las localidades de Montitlán y El Guardián, se obtuvieron 34 y 22 aislados, respectivamente (Tabla 3). El hongo *Beauveria* sp. solo se recuperó en los huertos de Piedra rajada y El Guardián con siete y un aislado respectivamente, en Montitlán no se detectó la presencia de *Beauveria* sp. (Tabla 2). Considerando todos los sitios de recolecta de muestras en el año de estudio, el hongo *Metarhizium* sp. se aisló con una frecuencia de 48.15% y *Beauveria* sp. solo 2.78%, mientras que en el 49% de las muestras no se encontraron HE. En las muestras recolectadas en Montitlán en los meses de abril y mayo de 2017, no se contabilizó ninguna larva de *G. mellonella* infectada por HE (Tabla 2) y lo mismo se observó en el Guardián en los meses de octubre y diciembre de 2016, y mayo de 2017. Los resultados muestran que *Metarhizium* fue el género más común y abundante en los suelos de cultivo del aguacate en huerto de Colima, México; que representó el 93.4% de los aislados, mientras que el género *Beauveria* solo en 6.6%. Por otro lado, se observó que la huerta Piedra rajada de 34 años (de mayor edad) mostró una mayor cantidad (52.5%) de los aislados, seguida por Montitlán de 8 años (28.3%), y El Guardián de 6 años (19.1%). Además, se observó un decremento en el número de aislados recuperados conforme se incrementa la altitud de las huertas. En la huerta con mayor tiempo de establecimiento (Piedra rajada), *Metarhizium* se encontró distribuido en casi toda la huerta y *Beauveria* en puntos específicos.



**Figura 1.** Hongos entomopatógenos aislados en tres localidades de Colima. *Metarhizium* sp. sobre larvas de *G. mellonella* (A), características de desarrollo en cultivo sólido (B) y micro-morfología de fiáldes y conidios (C). Desarrollo de *Beauveria* sp. sobre larvas de *G. mellonella* (D), características de desarrollo en cultivo sólido (E) y morfología microscópica raquis en zigzag y conidios globosos a subglobosos (F).



**Figura 2.** Número de aislamientos de *Metarhizium* sp. y *Beauveria* sp. recuperados en tres localidades de Colima. A partir del conteo total del número de aislados; un aislado de la huerta el Guardián en el mes de agosto corresponde a *Beauveria* sp., al igual que 3 y 4 aislados de octubre y noviembre, respectivamente de la huerta Piedra rajada.

## DISCUSIÓN

Hasta la fecha los registros de HE con mayor presencia en suelo son los Ascomycetes, *Beauveria* spp. (Hypocreales: Cordycipitacea) y *Metarhizium* spp. (Hypocreales: Clavicipitaceae) (Chandler *et al.*, 1997; Bidochka *et al.*, 1998; Klingen *et al.*, 2002; Vega *et al.*, 2009; Rudeen *et al.*, 2013; Zuluaga-Cárdenas *et al.*, 2015; Gebremariam *et al.*, 2021), los cuales utilizan el suelo como hábitat para la persistencia a largo plazo (Hajek y Leger, 1994; Qayyum *et al.*, 2021). En las huertas seleccionadas para este estudio no existen antecedentes de la introducción previa de agentes

microbianos de control biológico, de las muestras de suelo recolectadas en campo se logró detectar a las especies *Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp., siendo este último el más común y abundante (93.4%) y presente a través del año en los tres huertos estudiados. Resultados similares con base en la riqueza de especies fueron reportados por Yilma *et al.* (2019) en un estudio de dos años en suelo de diferentes regiones de Etiopía, donde obtuvieron un total de 96 aislados, de los cuales 50 (52.1%) corresponden a *B. bassiana* y 46 (47.9%) a *M. anisopliae*. A la fecha no existen estudios similares relacionados con la presencia de hongos en suelo del cultivo de aguacate en México. No obstante, en un

**Tabla 2.** Número de larvas infectadas por *Metarhizium* sp. y *Beauveria* sp. partir de muestras de suelo recolectadas en tres huertas de aguacate en el estado de Colima, México, durante julio de 2016 a junio de 2017.

Mes de recolecta	Larvas infectadas por muestra recolectada								
	Huerto								
	Montitlán			La Piedra rajada			El Guardián		
	EI	C	ED	EI	C	ED	EI	C	ED
Julio	5	1	0	0	3	1	4	0	1
Agosto	1	8	0	0	1	0	0	1	2***
Septiembre	0	0	3	0	1	5	0	1	3
Octubre	0	0	1	0	2	4*	0	0	0
Noviembre	0	2	0	0	2	7**	0	1	0
Diciembre	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Enero	0	0	2	0	1	1	0	1	0
Febrero	1	0	0	2	2	6	1	0	0
Marzo	1	3	4	3	4	1	0	1	2
Abril	0	0	0	0	1	0	1	2	1
Mayo	0	0	0	4	1	8	0	0	0
Junio	0	0	1	0	0	2	1	0	0

EI = extremo izquierda, C = centro y ED = extremo derecha

\*3 aislados de *Beauveria* sp., \*\*4 aislados de *Beauveria* sp., \*\*\* un aislado de *Beauveria* sp.

estudio en huertos comerciales de aguacate en Nayarit, México por De Dios-Avila *et al.* (2021), se obtuvieron 27 aislados de *Metarhizium pingshaense* (Q. T. Chen y H. L. Guo) y *M. anisopliae*, además, de 190 del hongo *B. bassiana*, a partir de 350 individuos de la especie *C. aguacatae*, infectados por el hongo.

Los factores abióticos presentes en los cultivos agrícolas pueden influir en la diversidad de especies de HE, entre esos factores podemos mencionar el contenido de agua en el suelo, materia orgánica (Carlile *et al.*, 2001), tipo de cultivo, altitud del nivel del mar (Trizelia *et al.*, 2015), patrón de siembra (policultivo, monocultivo y replantación) y la edad del cultivo (Guo, 2019) entre otros, en este trabajo, en los huertos de aguacate estudiados, se realizó un manejo tradicional, es decir, se llevaron a cabo aplicaciones de diversos agroquímicos para el mantenimiento del cultivo. Clifton *et al.* (2015) afirman que los factores abióticos y las prácticas de cultivo, como la labranza, pueden tener mayor impacto en la abundancia de HE. Klingen *et al.* (2002) utilizaron el método del insecto trampa, para comparar las áreas de cultivo con manejo orgánico y las tratadas de manera convencional, y encontraron que en las áreas con manejo orgánico es significativamente mayor la presencia de HE, lo cual puede explicar la baja presencia de especies de hongos entomopatógenos en las parcelas estudiadas. La presencia de *Metarhizium* sp. en las parcelas estudiadas se explica por el hecho de ser una especie adaptada a las condiciones de labranza en áreas cultivadas como refieren varios autores (Bidochka *et al.*, 1998; Bruck, 2004; Meyling y Eilenberg, 2006; Quesada-Moraga *et al.*, 2007; Fisher *et al.*, 2011; Wyrebek *et al.*, 2011); y su resistencia a las altas temperaturas y la luz ultravioleta (Couceiro *et al.*, 2021). Mientras que *Beauveria* solo se encontró en las áreas cercanas a los bordes, como se observó en los huertos la Piedra rajada y el Guardián, ya que es un hongo que prefiere los suelos no cultivados y ambientes forestales, y podría explicar los pocos aislados recuperados. Además, Klingen *et al.* (2002) afirman no haber observado diferencias significativas en la aparición de hongos patógenos de insectos que se encuentran en los márgenes del campo con manejo orgánico y tratado de manera convencional. Adicionalmente, otro factor que pudo influir en la diversidad de HE recuperados de los suelos es la elección del insecto trampa (Ali-Shtayeh *et al.*, 2003). Klingen *et al.* (2002) utilizaron a *G. mellonella* y recuperaron a *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp., adicionalmente utilizaron a *Delia floralis* (Fallén) (Diptera: Anthomyiidae) como carnada y registraron a otras especies como *Fusarium merismoides* Corda y *Tolypocladium cylindrosporium* Gams (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae).

Considerando que los HE han sido utilizados con éxito en diferentes programas de control biológico, de ahí

radica la importancia de conocer los HE autóctonos ya que representan una excelente opción para regular las poblaciones de insectos herbívoros (Vukicevich *et al.*, 2020), tanto en el cultivo del aguacate como de otros cultivos.

## CONCLUSIONES

A pesar del manejo convencional realizado en los huertos de aguacate estudiados, se observó la presencia de dos géneros de hongos entomopatógenos, *Metarhizium* y *Beauveria* en el ambiente del suelo. *Metarhizium* se obtuvo en mayor proporción, probablemente, porque se adapta mejor a las condiciones del manejo tradicional de los campos de cultivo, mientras que, *Beauveria* se encontró asociado a las márgenes del cultivo y en menor cantidad. Los aislados recolectados constituyen potenciales enemigos naturales con alta resiliencia ambiental para el control de diversas plagas que ocurren en el cultivo del aguacate, los cuales una vez caracterizados fenológica y genotípicamente, se seleccionarán para ser evaluados como candidatos para el control biológico de plagas de importancia económica.

### Agradecimientos

Al personal del Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Colima (CESAVECOL), particularmente al Ing. Celerino Rodríguez Arreola. Al Departamento de Control Biológico del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria por las facilidades otorgadas para la realización de este estudio.

Este artículo es parte de los requisitos para obtener el grado de Doctor en Ecofisiología y Recursos Genéticos (DERGE) del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara del primer autor, José Carlos Rodríguez Rodríguez.

**Funding.** There was no financial support.

**Conflict of interest.** The authors disclose that we have no conflicts of interest associated with this publication.

**Data availability.** All data is presented in the present paper.

**Compliance with ethical standards.** Do not apply due to the nature of the work.

**Author contribution statement (CRedit).** **J.C. Rodríguez-Rodríguez** – Conceptualization, Methodology, investigation, Data curation, Formal analysis, Writing – original draft, Visualization., **J.P. Castruita-Domínguez** – Conceptualization, Supervision, Writing – review & editing, Validation., **B. Rodríguez-Vélez** – Supervision, Writing – review & editing, Validation., **C. Neri-Luna** – Supervision,

Writing – review & editing, Validation., **M.A. Ayala-Zermeño** – Conceptualization, Supervision, Methodology, Formal analysis, Writing – review & editing, Validation.

## REFERENCIAS

- Ali-Shtayeh, M.S., Abdel-Basit, B.M.M. and Rana, M.J., 2003. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. *Mycopathologia*, 156, pp. 235–244. <https://doi.org/10.1023/a:1023339103522>
- Araújo, J.P.M. and Hughes, D.P., 2016. Diversity of Entomopathogenic Fungi Which groups conquered the insect body? In: Lovett, B., Leger, R.J.S. (eds.). *Advances in genetics*, vol 94. Elsevier, Amsterdam, pp. 1–39. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2016.01.001>
- Araújo, R.G., Rodríguez-Jasso, R.M., Ruíz, H.A., Pintado, M.M. E. and Aguilar, C.N., 2018. Avocado by-products: Nutritional and functional properties: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 80, pp. 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027>
- Ayala-Zermeño, M.A., Gallou, A., Berlanga-Padilla, A.M., Andrade-Michel, G.Y., Rodríguez-Rodríguez, J.C., Arredondo-Bernal, H.C. and Montesinos-Matías, R., 2017. Viability, purity, and genetic stability of entomopathogenic fungi species using different preservation methods. *Fungal Biology*, 121, pp. 920–928. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.07.007>
- Barelli, L., Waller, A.S., Behie, S.W. and Bidochka, M.J., 2020. Plant microbiome analysis after *Metarhizium* amendment reveals increases in abundance of plant growth-promoting organisms and maintenance of disease suppressive soil. *PLoS ONE*, 15, e0231150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231150>
- Berlanga-Padilla, A.M., Ayala-Zermeño, M.A., Montesinos-Matías, R. and Rodríguez-Rodríguez, J.C., 2016. *Manual de Exploración para la Colecta de Hongos Entomopatógenos*. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Dirección General de Sanidad Vegetal. SAGARPA. SENASICA. Tecomán, Colima, México. pp. 54.
- Bidochka, M.J., Kasperski, J.E. and Wild, G.A.M., 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitats. *Canadian Journal of Botany*, 76, pp. 1198–1204. <https://doi.org/10.1139/b98-115>
- Bischoff, J. F., Rehner, S. A. and Humber, R. A., 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*, 101, pp. 508–530. <https://doi.org/10.3852/07-202>
- Botelho, A.B., Alves-Pereira, A., Prado, R., Zucchi, M.I. and Delalibera, I., 2019. *Metarhizium* species in soil from Brazilian biomes: a study of diversity, distribution, and association with natural and agricultural environments. *Fungal Ecology*, 41, pp. 289–300. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.07.004>
- Bruck, D.J., 2004. Natural occurrence of entomopathogens in Pacific Northwest Nursery soils and their virulence to the Black Vine Weevil, *Otiorynchus sulcatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, 33, pp.1335–1343
- Carlile, M.J., Watkinson, S.C. and Goodday, G.W., 2001. *The Fungi*. Academy Press, New York; London. <https://doi.org/10.1017/S0953756203237679>
- Caro, D., Alessandrini, A., Sporchia, F. and Borghesi, S., 2021. Global virtual water trade of avocado. *Journal of Cleaner Production*, 285, pp. 124917. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124917>
- Carrillo, D., Dunlap, C.A., Avery, P.B., Navarrete, J., Duncan, R.E., Jackson, M.A., Behle, R.W., Cave, R.D., Crane, J., Rooney, A.P. and Peña, J.E., 2015. Entomopathogenic fungi as biological control agents for the vector of the laurel wilt disease, the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control*, 81, pp. 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.10.009>
- Clifton, E.H., Jaronski, S.T., Hodgson, E.W. and Gassmann, A.J., 2015. Abundance of Soil-Borne Entomopathogenic Fungi in Organic and Conventional Fields in the Midwestern USA with an Emphasis on the Effect of Herbicides and Fungicides on Fungal Persistence. *PLoS ONE*, 10, 7, pp. e0133613.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133613>
- Couceiro, J.C., Faretto, M.B., Demétrio, C.G.B., Meyling, N.V. and Delalibera, Í. Jr., 2021. UV-B Radiation Tolerance and Temperature-Dependent Activity Within the Entomopathogenic Fungal Genus *Metarhizium* Brazil. *Frontiers Fungal Biology*, 2, pp. 645737. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2021.645737>
- Cruz-López, D.F., Caamal-Cauich, I., Pat-Fernández, V.G. and Reza-Salgado, J., 2022. Competitiveness of Mexico's Hass avocado exports in the world market. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13, pp. 355-362. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i2.2885>
- Chandler, D., Hay, D. and Reid, A.P., 1997. Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils. *Applied Soil Ecology*, 5, pp. 133-141. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(96\)00144-8](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(96)00144-8)
- De Dios-Avila, N., Estrada-Virgen, O., Coronado-Blanco, J., Rios-Velasco, C., Bustillos-Rodríguez, C. and Cambero-Campos, J., 2021. Parasitoids and Entomopathogens Associated with the Avocado Stem, Weevil, *Copturus aguacatae* (Coleoptera: Curculionidae) in Nayarit, Mexico. *Entomological News*, 130, 1, 61-69. <https://doi.org/10.3157/021.130.0105>
- Dreher, M. L. and Davenport, A. J., 2013. Hass avocado composition and potential health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, pp. 738-750. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.556759>
- FAO. 2021. Recuperado el 5 noviembre, 2021 de: <https://www.fao.org/3/cb6196en/cb6196en.pdf>
- Fisher, J.J., Rehner, S.A. and Bruck, D.J., 2011. Diversity of rhizosphere associated entomopathogenic fungi of perennial herbs, shrubs and coniferous trees. *Journal Invertebrate Pathology*, 106, pp. 289-295. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.11.001>
- García-Ávila, C. De J., Trujillo-Arriaga, F.J., López-Buenfil, J.A., González-Gómez, R., Carrillo, D., Cruz, L.F., Ruiz-Galván, I., Quezada-Salinas, A. and Acevedo-Reyes, N., 2016. First Report of *Euwallacea* nr. *forficatus* (Coleoptera: Curculionidae) in Mexico. *Florida Entomologist*, 99(3), pp. 555-556. <https://doi.org/10.1653/024.099.0335>
- Gebremariam, A., Chekol, Y. and Assefa, F., 2021. Phenotypic, molecular, and virulence characterization of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) Vuillemin, and *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin from soil samples of Ethiopia for the development of mycoinsecticide. *Heliyon*, 7, e07091. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07091>
- Goettl, M.S. and Inglis, D., 1997. Fungi: Hyphomycetes. In: Lacey, L.A. (ed.). *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, Londres. pp. 213-248
- Guo, X.F., 2019. Diversity and community structure of fungi in the roots of *Machilus pauhoi* in different age groups. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17, pp. 2073-2083. [https://doi.org/10.15666/aeer/1702\\_20732083](https://doi.org/10.15666/aeer/1702_20732083)
- Gutiérrez, A., Leclerque, A., Manfrino, R.G., Luz, C., Ferrari, W., Barneche, J., García, J. and López-Lastra, C., 2019. Natural occurrence in Argentina of a new fungal pathogen of cockroaches, *Metarhizium argentinense* sp. nov. *Fungal Biology*, 123, pp. 364-372. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.02.005>
- Hajek, A.E. and Leger, R.J., 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39, pp. 293-322
- Humber, R.A., 2012. Chapter VI: Identification of entomopathogenic fungi. In: Lacey, L.A. (ed.). *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press, Londres. pp. 151-186
- Klingen, I., Eilenberg, J. and Meadow, R., 2002. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 91, pp. 191-198. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(01\)00227-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00227-4)
- Luna, A., López-Martínez, V., Bélgica Pérez-De la O, N.B., Jiménez-García, D., Jones, R. W., Castañeda-Vildozola, Á. and Ruiz-Montiel, C., 2017. Actual and potential distribution of



- five regulated avocado pests across Mexico, using the maximum entropy algorithm. *Florida Entomologist*, 100, pp. 92–100. <https://doi.org/10.1653/024.100.0114>
- Maldonado-Zamora, F.I., Ramírez-Dávila, J.F., Rubí-Arriaga, M., Antonio-Némiga, X. and Lara-Díaz, A.V., 2016. Distribución espacial de trips en aguacate en Coatepec Harinas, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7, pp. 845–856. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i4.259>
- Meyling, N.V. and Eilenberg, J., 2006. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 113, pp. 336–341. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.10.011>
- Meyling, N.V. and Eilenberg, J., 2007. Ecology of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control*, 43, pp. 145–155. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.07.007>
- Meyling, N.V., 2007. Methods for isolation of entomopathogenic fungi from the soil environment. Laboratory manual. Department of Ecology, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen
- Mier, T., Toriello, C. and Ulloa, M., 2002. Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio. UAM-Xochimilco, UNAM-Instituto de Biología, México D.F.
- Montesinos-Matías, R., Ordaz-Hernández, A., Ángel-Cuapio, A., Colin-Bonifacio, Y., García-García, R.E., Ángel-Sahagún, C.A., and Arredondo-Bernal, H.C., 2021. Principal component analysis of the biological characteristics of entomopathogenic fungi in nutrient-limited and cuticle-based media. *Journal of Basic Microbiology*, 61, pp. 147–156. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000627>
- Nataren-Velázquez, J., Ángel-Pérez, A.L., Megchún-García, J.V., Ramírez-Herrera, E. and Meneses-Márquez, I., 2020. Caracterización productiva del aguacate (*Persea americana*) en la zona de alta montaña Veracruz, México. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 6, pp. 1406–1423. <https://doi.org/10.5377/ribcc.v6i12.9941>
- Onofre, S., Miniuk, C., Barros, N. and Azevedo, J., 2001. Pathogenicity of four strains of entomopathogenic fungi against the bovine tick *Boophilus microplus*. *American Journal of Veterinary Research*, 62, pp. 1478–1480. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.1478>
- Qayyum, M.A., Saeed, S., Wakil, W., Nawaz, A., Iqbal, N., Yasin, M., Chaurdhry, M.A., Bashir, M.A., Ahmed, N., Riaz, H., Bial, H., Hashem, M. and Alamri, S., 2021. Diversity and correlation of entomopathogenic and associated fungi with soil factors. *Journal of King Saud University – Science*, 33(6), pp. 101520. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101520>
- Quesada-Moraga, E., Navas-Cortés, J.A., Maranhao, E.A., Ortiz-Urquiza, A. and Santiago-Álvarez, C., 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research*, 111, pp. 947–966. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.06.006>
- Rudeen, M.L., Jaronski, S.T., Petzold-Maxwell, J.L. and Gassmann, A.J., 2013. Entomopathogenic fungi in cornfields and their potential to manage larval western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera*. *Journal Invertebrate Pathology*, 114, pp. 329–332. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2013.09.009>
- Sabouraud, R.J.A., 1910. Les teignes. Masson. Paris. P.p. 988. <https://archive.org/details/lestaignesOOsabo>. Consultado el 28/09/2015
- SIAP. 2021. Acciones y Programas. Producción mensual Agrícola. Recuperado el 14 septiembre, 2021 de: [https://nube.siap.gob.mx/avance\\_agricola/](https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/)
- Trizelia, T., Armon, N. and Jailani, H., 2015. The diversity of entomopathogenic fungi in the rizosphere of various vegetable crops. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1, pp. 998–1004. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010507>
- Vega, F.E., Goettel, M.S., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M.A. and Keller, S., 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*, 2, pp. 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2009.05.001>

- Velázquez, J.N., Ángel-Pérez, A., Megchún-García, J.V., Herrera, E. and Márquez, I., 2020. Caracterización productiva del aguacate (*Persea americana*) en la zona de alta montaña Veracruz, México. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 6, pp. 1406-1426. <https://doi.org/10.5377/ribcc.v6i12.9941>
- Vukicevich, E., MacDonald, M.D., Lowery, T. and Hart, M., 2020. The effect of vineyard groundcover on the abundance of naturally occurring entomopathogenic fungi isolated using a quantitative *Galleria* bait method. *Rhizosphere*, 15, pp. 100232. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100232>
- Wysoki, M., Van Den Berg, M.A., Ish-Am, G., Gazit, S., Peña, J.E. and Waite, G.K., 2002. Pests and pollinators of avocado. In: Peña, J. E., Sharp, J.L. and Wysoki, M. (eds.). *Tropical Fruits Pests and Pollinators: Biology, Economic Importance, Natural Enemies and Control*. CABI, Londres. pp. 223-293
- Wyrebek, M., Huber, C., Sasan, R.K. and Bidochka, M.J., 2011. Three sympatrically occurring species of *Metarhizium* show plant rhizosphere specificity. *Microbiology*, 157, pp. 2904-2911. <https://doi.org/10.1099/mic.0.051102-0>
- Yilma, S., Kebede, D. and Mihrete, T., 2019. Distribution and occurrences of Entomopathogenic fungi in southern and western zones of Ethiopia. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 7, pp. 8-17. <https://doi.org/10.20546/ijcrar.2019.710.002>
- Zimmermann, G., 1986. The *Galleria* bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal of Applied Entomology*, 102, pp. 213-215. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00912.x>
- Zimmermann, G., 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, pp. 879-920. <https://doi.org/10.1080/09583150701593963>
- Zuluaga-Cárdenas, P.A., Caicedo-Vallejo, A.M., Cardozo-Santamaría, N., Muñoz-Flórez, J.E. and Carabalí-Muñoz, A., 2015. Entomopatógenos asociados a cítricos y su patogenicidad sobre *Compsus viridivittatus* Guérin-Ménéville (Coleoptera: Curculionidae). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 16, pp. 293-305. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol16\\_num2\\_art:374](https://doi.org/10.21930/rcta.vol16_num2_art:374)