

# Extractos crudos producidos por fermentación de hongos entomopatógenos para el control de *Macrodactylus Infuscatus* Bates (Coleoptera: Melolonthidae): Una alternativa hacia la sustentabilidad

Silvia Rodríguez Navarro,<sup>1</sup> Juan Esteban Barranco Florido,<sup>2</sup> Roberto Alejandro Terrón Sierra<sup>1</sup> y Víctor H. Marín Cruz<sup>3</sup>

**Resumen:** Con el propósito de proponer alternativas para el control de *Macrodactylus* en zonas de agricultura urbana, se evaluó la acción bioinsecticida de los extractos enzimáticos de *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* y *Metarhizium anisopliae* sobre *Macrodactylus infuscatus*, insectos considerados de importancia económica. Los extractos fermentativos de los hongos entomopatógenos presentaron actividad quitinolítica y proteolítica, enzimas que degradan la cutícula del insecto; estos extractos causaron mortalidad de *M. infuscatus*, teniendo el menor porcentaje de sobrevivencia (20%) con los extractos de *I. fumosoroseae* después de 12 días, con los extractos de *B. bassiana* (25%); con los extractos de *M. anisopliae* presentaron una sobrevivencia de 38% y el testigo de 48%. En relación a la sobrevivencia, con los datos transformados el extracto de *I. fumosoroseae* tuvo la menor sobrevivencia (10%), seguida del extracto de *B. bassiana* con una sobrevivencia

<sup>1</sup> Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, e-mail: snavarro@correo.xoc.uam.mx.

<sup>2</sup> Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

<sup>3</sup> Doctorado en Ciencias agropecuarias.

de 18%, y en mayor supervivencia (31%) con el extracto de *M. anisopliae* ( $p < 0.0026$ ). Respecto al tiempo medio de muerte, *I. fumosroseae* presentó el menor tiempo de muerte con cinco días, *B. bassiana* con 7 días y *M. anisopliae* con 9.5 días, con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) respecto al testigo. Éste es el primer estudio relacionado con la aplicación de agentes de control biológico como las enzimas para *M. infuscatus*; con los tratamientos se observó una disminución en el consumo de alimento y en la movilidad de los insectos, lo cual, aparentemente, es debido al efecto de los metabolitos de los hongos entomopatógenos.

**Palabras clave:** Extractos enzimáticos, Hongos entomopatógenos, *Macroductylus infuscatus*.

**Abstract.** With on the objective of proposing alternatives for the control of *Macroductylus* in zones of urban agriculture; the biopesticide action of the enzymatic extracts of *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosrosea* and *Metarhizium anisopliae* on *Macroductylus infuscatus*, insects considered of economic importance, was evaluated. The fermentative extracts of the entomopathogenic fungi presented chitinolytic and proteolytic activity, these enzymes degrade the insect cuticle and caused mortality of *M. infuscatus*, having the lowest percentage of survival (20%) with extracts of *I. fumosroseae* after 12 days, in extracts of *B. bassiana* (25%), in extracts of *M. anisopliae* showed a survival of 38% and the control of 48%. In relation to the survival with the transformed data the extract of *I. fumosroseae* had the lowest survival (10%), followed by the *B. bassiana* extract with a survival of 18% and in greater survival (31%) with the extract of *M. anisopliae* ( $p 0.0026$ ); with respect to the mean time of death, *I. fumosroseae* presented the shortest time of death with five days, *B. bassiana* with 7 days and *M. anisopliae* with 9.5 days with a significant difference ( $p < 0.05$ ) with respect to the control. This is the first study related to the application of biological control agents as the enzymes in *M. infuscatus*; with the treatments were observed a decrease in food consumption and insect mobility, which apparently is due to the effect of metabolites of entomopathogenic fungi.

**Keywords:** Enzymatic extracts, Entomopathogenic fungi, *Macroductylus infuscatus*.

## INTRODUCCIÓN

En la Ciudad de México, la producción de cultivos se realiza principalmente en las delegaciones Tlalpan, Milpa Alta, Tláhuac y Xochimilco; se produce: maíz, frutales y hortalizas para autoconsumo familiar y venta local, también existe producción a mayor escala de nopal, amaranto, hortalizas y plantas ornamentales (Sánchez *et al.*, 2014a). El sistema regional de producción agrícola predominante en la Ciudad de México es de tipo convencional, es decir que 49% de los productores usan fertilizantes químicos y 29% plaguicidas. Particularmente, el amplio uso de plaguicidas se relaciona con la presencia crítica de plagas y enfermedades, reportadas por 55% de los productores (Torres y Rodríguez, 2006). Con la finalidad fomentar el desarrollo de la agricultura sustentable a pequeña escala con huertos familiares y urbanos, libres de agroquímicos y disminuir con ello riesgos a la salud, se propone el uso de hongos entomopatógenos (HE), los cuales son ampliamente utilizados como agentes de biocontrol para un gran número de plagas, además de ser competitivos y seguros (Hajek y Delalibera, 2010; Freed *et al.*, 2012).

Al respecto, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* y *Nomurae rileyi* producen enzimas extracelulares que degradan las proteínas, lípidos y quitina presente en la cutícula de insectos, lo que permite la penetración e invasión del hongo a través de ella (Ramzi y Zibae, 2014). Las especies del género *Macrodactylus* (Coleoptera: Melolonthidae) son insectos de importancia agrícola que pueden defoliar por completo a sus huéspedes. Existen registros de pérdidas hasta de 77% en el cultivo de maíz en Tlaxcala y Puebla (Serapio *et al.*, 2014); en cultivo de amaranto, en Puebla y Edo. de México (Aragón-García *et al.*, 2010). *M. nigripes* Bates se ha encontrado alimentándose de maíz y haba, en Ixtlahuaca, Edo. de México. Los métodos de control para las especies de *Macrodactylus*, de importancia económica, involucran la aplicación de insecticidas, que son poco recomendables en áreas urbanas por los daños que ocasionan a los aplicadores, a los productos vegetales y al ambiente (Serapio *et al.*, 2014).

Por lo anterior, se hace necesario el desarrollo de nuevas tecnologías para el control de insectos, como las enzimas degradadoras de la cutícula (quitinasas, proteasas y lipasas), así como micotoxinas o metabolitos de bajo peso molecular de HE, que juegan un papel importante en la infección, ya que pueden generar una respuesta tóxica en diferentes órdenes de la clase Insecta (Hasan *et al.*, 2013; Fan *et al.*, 2013), convirtiendo con ello a las enzimas y los metabolitos de HE en agentes potenciales de control, por lo que es necesario el desarrollo de nuevas tecnologías para el control de insectos. De acuerdo con esto, el objetivo del trabajo fue evaluar la acción bioinsecticida de los extractos enzimáticos de: *B. bassiana*, *I. fumosorosea* y *M. anisopliae*, obtenidos por fermentación sólida en diferentes tiempos; sobre *M. infuscatu*s, como una propuesta de control biológico para su aplicación a nivel urbano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material entomológico

Se recolectaron, de forma manual, 700 adultos de *M. infuscatu*s (“frailecillos”), en una parcela con haba (*Vicia faba* L.), calabaza (*Cucurbita pepo* L.) y maíz (*Zea mays* L.), en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta, en la Ciudad de México (Coordenadas: 19° 11' 9.6" N, 99° 4' 0.84" W) a 2700 msnm (INEGI, 2012), el 23 de junio del 2015. Posteriormente, se llevaron al Insectario de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X); se colocaron 10 individuos por bote de plástico con un litro de capacidad; los insectos se alimentaron con flor de calabaza o follaje de quelite (*Chenopodium album* L.) y quintonil (*Amaranthus hybridus* L.) frescos, a razón de una flor por bote o 10 hojas. Se mantuvieron a 25 °C y 65% HR durante siete días.

## Hongos entomopatógenos

Las cepas de *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* y *Metarhizium anisopliae* que se utilizaron para la producción de los extractos fermentativos pertenecen al cepario del laboratorio de Biotecnología de la UAM-X. Para la obtención del inóculo los extractos se crecieron en agar dextrosa sabourand a 25° C durante siete días. Los conidios se recolectaron con 50 mL de Tween 80 a 0.05% y se conservaron a 4° C para su utilización en el cultivo sólido.

## Fermentación sólida (FS)

El cultivo sólido se llevó a cabo en matraces Erlenmeyer de 250 ml, utilizando como soporte bagazo de caña, un medio cuya composición química fue:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 6 g l<sup>-1</sup>;  $\text{MgSO}_4$ , 1.2 g l<sup>-1</sup>; NaCl, 1 g l<sup>-1</sup>,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 15 g l<sup>-1</sup>;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 g l<sup>-1</sup>;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.028 g l<sup>-1</sup> y  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.032 g l<sup>-1</sup> y caparazón de camarón 60 g l<sup>-1</sup>. Contenido de los matraces: 35g de materia húmeda, las condiciones del cultivo sólido fueron: humedad inicial de 65%, pH 5 y temperatura de 25° C. Se inocularon con 10<sup>7</sup> conidios (g Peso húmedo)<sup>-1</sup> (Barranco *et al.*, 2002).

## Extractos fermentativos

Después de 5 días del cultivo sólido, el contenido fue mezclado con agua destilada en una proporción de 1:1 (v/v). Posteriormente, fue prensado para obtener el extracto crudo que se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos (Sorvall® modelo RC-5B). Finalmente, se filtró a través de una membrana MF-Millipore de 0.45 μm (Merck®) para eliminar restos de micelio y conidios; el contenido de proteína se determinó por el método de Lowry y la actividad proteolítica y quitinolítica fue determinada de acuerdo a lo descrito por Barranco *et al.* (2009).

## Bioensayo

Se usó un diseño por bloques completamente al azar, cada uno tenía 4 tratamientos, incluyendo un control (10 individuos), con 3 repeticiones; los bloques corresponden a distintos días. Los insectos fueron inoculados con el extracto enzimático mediante el método de inmersión durante 10 segundos, el exceso de humedad se eliminó colocándolos sobre papel absorbente por 10 segundos (Sánchez *et al.*, 2014b). Posteriormente, se introdujeron 10 individuos en botes de plástico transparente de 1 L de capacidad, rotulado con el nombre del tratamiento, repetición y fecha de inoculación. Dieta: flor de calabaza, quelite y quintonil. La revisión de los insectos y del alimento se realizó cada 24 horas, durante 12 días.

## Análisis Estadístico:

Las variables evaluadas fueron: sobrevivencia (%) a partir de la ecuación

$$\% \text{ sobrevivencia} = \left( \frac{\text{Individuos vivos}}{\text{Individuos tratados}} \right) * 100$$

El tiempo de muerte (días) calculado a partir de la ecuación exponencial natural:

$$N(t) = a \cdot e^{-rt}$$

Donde  $N(t)$  es el número de individuos al tiempo  $t$ ,  $a$  es el número de individuos en  $t = 0$  y  $r$  es la tasa de sobrevivencia considerando  $r < 0$ .

Los datos de porcentaje de mortalidad corregida fueron normalizados con la fórmula de transformación angular o arcoseno (Marín *et al.*, 2017).

$$\text{Arcoseno} \sqrt{\text{Porcentaje}/100}$$

Los datos transformados y los demás datos fueron analizados por una ANDEVA, seguida por una prueba de Tukey con el programa JMP. Se consideraron la variación por bloque y por tratamiento.

## RESULTADOS

### Extractos fermentativos

Antes de evaluar la actividad insecticida de los extractos crudos de fermentación, se determinaron los contenidos de proteína y de actividad enzimática: el contenido de proteína de los extractos fue de  $0.13 \text{ mg L}^{-1}$ , aproximadamente, sin tener diferencia significativa entre los mismos. Sin embargo, las actividades enzimáticas sí tuvieron diferencias significativas entre los extractos respecto a la actividad quitinolítica, la cual fue casi 30% mayor en el extracto fermentativo de *I. fumorosea*, con respecto al extracto de *B. bassiana* y 5 veces mayor al extracto de *M. anisopliae*. Por lo que se refiere a la actividad proteolítica, no hubo diferencias significativas entre los extractos de *B. bassiana* e *I. fumorosea*, pero sí dos veces mayor respecto a la actividad proteolítica del extracto de *M. anisopliae* (Tabla 1).

**Tabla 1. Contenido de proteína y de actividad enzimática de los extractos fermentativos**

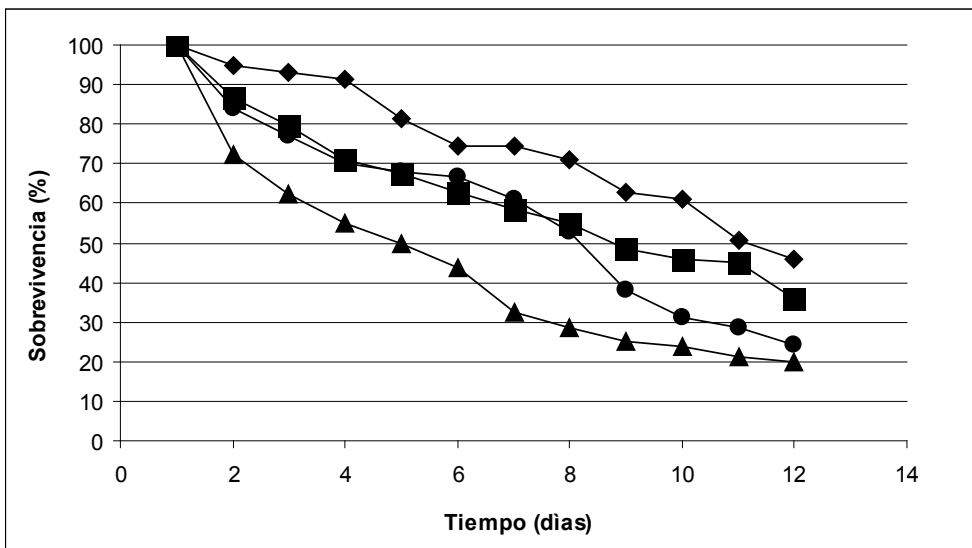
Tratamiento	Proteína ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	Actividad Quitinolítica (U.I.)	Actividad Proteolítica (U.I.)
Extracto de <i>B. bassiana</i>	$0.1301 \pm 0.082^A$	$65.89 \pm 5.2^B$	$7.9 \pm 0.6^A$
Extracto de <i>I. fumorosea</i>	$0.1271 \pm 0.052^A$	$84.42 \pm 6.7^A$	$8.2 \pm 2.7^A$
Extracto de <i>M. anisopliae</i>	$0.1307 \pm 0.042^A$	$16.62 \pm 3.1^C$	$4.2 \pm 1.3^B$

Los resultados son las medias de cada determinación  $\pm$  error estándar. Diferentes letras fueron significativamente diferentes, (Prueba de Tukey,  $p < 0.05$ ).

## Sobrevivencia

En el transcurso del bioensayo en que se determinó el efecto insecticida de los extractos fermentativos de los hongos entomopatógenos, éstos causaron mortalidad de *M. infuscatius*, teniendo el menor porcentaje de sobrevivencia (20%) con los extractos de *I. fumorosea*, después de 12 días de los tratamientos; los porcentajes de sobrevivencia fueron semejantes con los extractos de *B. bassiana* (25%), sin embargo, los extractos de *M. anisopliae* presentaron una sobrevivencia de 38% y el testigo de 48% (Figura 1).

**Figura 1. Sobrevivencia de *M. infuscatius* con la aplicación de extractos enzimáticos**

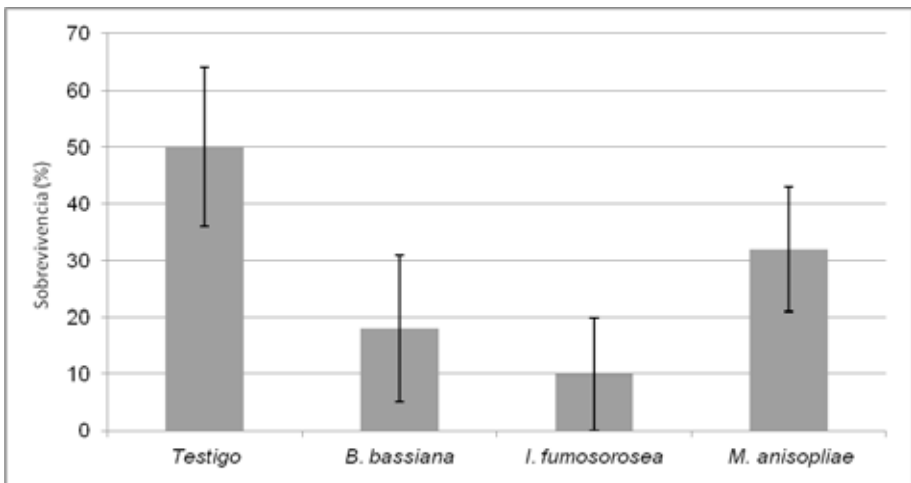


▲ *Isaria fumoroseae* • *Beauveria bassiana* ■ *Metarhizium anisopliae* ♦ Testigo.



La evaluación de la sobrevivencia fue determinada al décimo día con los datos transformados, resultando el extracto de *I. fumorosea* con la menor sobrevivencia (10%), seguida del extracto de *B. bassiana* (18%), y en mayor sobrevivencia (31%) con el extracto de *M. anisopliae* (Figura 2).

**Figura 2. Sobrevivencia en el décimo día de la aplicación de extractos enzimáticos de los hongos entomopatógenos (F = 7.33; p < 0.0026)**



### Tiempo medio de muerte

La determinación del tiempo medio de muerte a partir del ajuste con la ecuación exponencial natural se muestran en la tabla 2. Con la aplicación de los extractos de *I. fumorosea* se tiene el menor tiempo de muerte de *M. infuscatius*, que fue de alrededor de los 5 días, mientras que con los extractos de *B. bassiana* fue de 7 días y de *M. anisopliae* de 9.5 días, existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) respecto al testigo (Tabla 2).

**Tabla 2. Tiempo medio de muerte de *M. infuscatus* después de la aplicación de los extractos enzimáticos**

Tratamientos	Tiempo medio de muerte (días)
Testigo	11.57 ± 1.66 <sup>A</sup>
Extractos de <i>Beauveria bassiana</i>	7.14 ± 1.59 <sup>B</sup>
Extractos de <i>Isaria fumosoresea</i>	4.710 ± 0.86 <sup>B</sup>
Extractos de <i>Metarhizium anisopliae</i>	9.441 ± 4.19 <sup>A,B</sup>

\* Los resultados son las medias de los tres bloques ± error estándar. Diferentes letras fueron significativamente diferentes. (Prueba de Tukey,  $p < 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

Los resultados de los bioensayos con los extractos enzimáticos de *I. fumosoresea* muestran actividad insecticida sobre adultos de *M. infuscatus*, debido a la mayor actividad enzimática (Tabla 1); la utilización del caparazón del camarón como sustrato permite inducir la síntesis de las enzimas que degradan la cutícula del insecto, y se ha propuesto para desarrollar bioinsecticidas y fungicidas (Franco-Chávez *et al.*, 2011), además de que el cultivo sólido con el uso de este sustrato simula el proceso natural de infección (Barranco *et al.*, 2009). La toxicidad de los extractos enzimáticos depende de la actividad quitinolítica y proteolítica y está relacionada con la patogenicidad de los hongos entomopatógenos (Barranco *et al.*, 2002). Los resultados de la tabla 1 coinciden con los obtenidos por Freed *et al.*, (2012), quienes aplicaron extracto crudo de *I. fumosoresea* sobre larvas de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), con una disminución en la actividad de las larvas y con alta mortalidad, cercana a 92%, mientras que nuestros resultados alcanzan una sobrevivencia de 20% con *I. fumosoresea*, debido a que la dosis medida como concentración de proteína fue menor.

Adicionalmente, en el bioensayo se mostró que los extractos enzimáticos de *B. bassiana* tienen un efecto nocivo sobre los adultos de *M. infuscatius*, coincidiendo con los resultados obtenidos por Romo *et al.* (2013), quienes aplicaron conidios y extracto crudo de *B. bassiana* sobre adultos de *Macrodactylus* spp., colectados en cultivo de tejocote; ellos obtuvieron una mortalidad de 98%, a cinco días con los conidios, y 96% de mortalidad a los 20 días. Además, el hongo se ha utilizado en el manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* F. (Coleoptera:Scolytidae), convirtiéndose así *B. bassiana* en un factor importante de mortalidad en un promedio de 45% (Delgado-Blandón *et al.*, 2001). Su-Kim *et al.* (2010) determinaron la actividad insecticida de los extractos de *B. bassiana* contra áfidos, por su parte, Chávez *et al.* (2014) mostraron que el extracto crudo de *B. bassiana* provocó la muerte de larvas de *Phyllophaga* sp. (Coleoptera: Melolonthidae), los insectos tratados tuvieron un cambio de pigmentación en la cutícula, que probablemente se debió a la respuesta del sistema inmune celular del insecto, fagocitando, encapsulando o melanizando estos biocompuestos extraños (Cerenius *et al.*, 2008). El efecto insecticida de estos compuestos en *M. infuscatius* coincide con lo señalado por Arboleda *et al.* (2011), quienes mencionan que el extracto crudo y metabolitos de *B. bassiana* provocaron un efecto citotóxico en líneas celulares de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Posiblemente en el extracto enzimático estén presentes otras toxinas que desempeñan un papel importante para debilitar el sistema inmune del hospedero, dañando el sistema muscular y los tubos de Malpighi, que afectan a la excreción y que provocan dificultades para la alimentación y movilidad (Pal *et al.*, 2007), aunque no se puede asegurar, pues no existen reportes de este efecto, debido a los extractos enzimáticos, sin embargo, se observó en *M. infuscatius*. *M. anisopliae*; aunque con un menor porcentaje de mortalidad pueden ser una alternativa para el control de *M. infuscatius*.

Estos resultados representan la primera propuesta para el control de *M. infuscatius* y manifiestan la capacidad insecticida de los extractos

enzimáticos de *B. bassiana*, *I. fumosorosea* y *M. anisopliae*, convirtiéndose en una alternativa como estrategia de control de plagas en agricultura urbana, ya que son biomoléculas producidas por hongos entomopatógenos con actividad insecticida, la cual ya ha sido extensamente demostrada en *Metamasius spinolae* Gyll (Coleoptera: Curculionidae) (Sánchez *et al.*, 2014b), sin embargo, es necesario realizar más investigaciones para generar tecnologías innovadoras para su aplicación a gran escala.

## AGRADECIMIENTO

Al Dr. Miguel Ángel Morón Ríos, del Instituto de Ecología A. C., Xalapa, Ver., por la determinación taxonómica del material entomológico. A la Ing. María Teresa Berrocal Martínez, por la recolección del material entomológico en San Pablo Oztotepec, Milpa Alta, Cd. de México. Este trabajo fue apoyado por la beca 466930 del Conacyt. Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aragón, A. *et al.*, 2010, "Description of the larvae of Three Species of *Macroductylus* Dejean (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthidae) from México, with Notes on the Reproductive Behavior of *Macroductylus ocreatus* Bates", en *Coleopterists Bulletin* 64 (3): 193-200.
- Arboleda, V., 2011, "Cytotoxic Activity of Fungal Metabolites from the Pathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: An Intraspecific Evaluation of Beauvericin Production", en *Current Microbiology* 63: 306-312.
- Barranco, E. *et al.*, 2002, "Criteria for the selection of strains of entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* for solid state cultivation", en *Enzyme and Microbial Technology* 30: 910-915.

- Barranco, J, “ $\beta$ -N acetylglucosaminidase production by *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii* ATCC 26854 by solid-state fermentation utilizing shrimp shell”, en *Interciencia* 5: 356-360.
- Cerenius, L. *et al.*, 2008, “The proPO-system Pros and consforits role in invertebrate immunity”, en *Trends Immunology* 29: 263-271.
- Chávez, E. *et al.*, 2014, “Actividad insecticida in vitro de extracto crudo de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin sobre larvas de *Phyllophaga* spp. (Harris)”, en *Protección Vegetal* 29(3): 226-230.
- Delgado, F. *et al.*, 2001, “Actividad enzimática de hongos y su patogenicidad sobre *Hypothenemus hampei*”, en *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 60: 43-49.
- Fan, J. *et al.*, 2013, “The effect of *Beauveria brongniartti* and its secondary metabolites on the detoxification enzymes of the pine caterpillar, *Dendrolimus tabulaeformis*”, en *Journal Insect Science* 13: 44.
- Franco, K. *et al.*, 2011, “Enzimas y toxinas de hongos entomopatógenos, su aplicación potencial como insecticidas y fungicidas”, en *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente* 11: 143-160.
- Freed, S. *et al.*, 2012, “Toxicity of proteins secreted by entomopathogenic fungi against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)”, en *International Journal of Agriculture & Biology* 14: 291-295.
- Hajek, E. e I. Delalibera, 2010, “Fungal pathogens as classical biological control agents against arthropods”, en *BioControl* 55:147-158.
- Hasan, S. *et al.*, 2013, “Production of extracellular enzymes in the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*”, en *Bioinformation* 9(5): 238-242.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), 2012, XII Censo General de Población y Vivienda, México, en [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx), consultado 04/09/2015.
- Marín, V. *et al.*, 2017, “Actividad Insecticida e Insectistática de Conidios, Extractos Enzimáticos y Metabolitos de *Beauveria bassiana* en *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae)”, en *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 23(3): 329-340.

- Pal, S. *et al.*, 2007, "Fungal peptide destruxin a plays a specific role in suppressing the innate immune response in *Drosophila melanogaster*", en *Journal Biological Chemistry* 282(12): 8969-8977.
- Ramzi, S y A. Zibae, 2014, "Biochemical properties of different entomopathogenic fungi and their virulence against *Chilosupressalis* (Lepidoptera:Crambidae) larvae", en *Biocontrol Science and Technology* 24 (5): 597-610
- Romo, D. *et al.*, 2013, Actividad Insecticida de *Beauveria bassiana* Cultivada por Fermentación Sólida para el Control de *Macroductylus spp* en Tejocote. XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico.
- Sánchez, LL. *et al.*, 2014a, "Nuevas alternativas biotecnológicas con hongos entomopatógenos para el control biológico de plagas de importancia agronómica", en *Buenas Prácticas en la Producción Agropecuaria y de Alimentos de Calidad*, 183-199 pp., 1a ed., UAM Xochimilco, México.
- Sánchez, LL. *et al.*, 2014b, "Enzymes of entomopathogenic Fungi, advances and insights", en *Advances in Enzyme Research* 2: 65-76
- Serapio, J., 2014, "Ciclo de vida y comportamiento de *Macroductylus nigripes* Bates, 1887 (Coleoptera: Melolonthidae) en Ixtlahuaca, México", en *Entomología Mexicana* 1: 710-714.
- Su, J. *et al.*, 2010, "Roles of adjuvants in aphicidal activity of enzymes from *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) SFB-205 supernatant", en *Journal of Asia-Pacific Entomology* 13: 345-350.
- Torres, P. y L. Rodríguez, 2006, "Dinámica agroambiental en áreas periurbanas de México. Los casos de Guadalajara y Distrito Federal. Investigaciones Geográficas", en *Boletín. 60 Boletín del Instituto de Geografía*, UNAM, ISSN 0188-4611: 62-82.