



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS
ASOCIADOS AL GUSANO ROJO DE MAGUEY (*Comadia
redtenbacheri H.*)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA:

MANUEL OCTAVIO ALCANTARA MORALES

MEXICO, D. F

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE PROF. GUADALUPE VELEZ PRATT

VOCAL PROF. RAQUEL ORTEGA MUÑOZ

SECRETARIO PROF. LUCIANO HERNANDEZ GOMEZ

1er. SUPLENTE PROF. MA. DE LOS ANGELES GRANADOS SILVESTRE

2do.SUPLENTE PROF. ROSALBA ESQUIVEL COTE

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

FACULTAD DE QUIMICA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

ASESOR DEL TEMA:

BIOL. LUCIANO HERNANDEZ GOMEZ

SUPERVISORA TECNICA:

Q. F. B. MA. ANTONIETA SILVA CHAVEZ

SUSTENTANTE:

MANUEL OCTAVIO ALCANTARA MORALES

El mundo al revés nos enseña a mirar al prójimo como una amenaza y no como una promesa; nos reduce a la soledad y nos consuela con drogas químicas y con amigos cibernéticos: Estamos condenados a moriros de hambre, moriros de miedo o moriros de aburrimiento.

¿Será esta libertad de elegir entre estas desdichas amenazadoras nuestra única libertad posible?

El mundo al revés nos enseña a padecer la realidad en lugar de cambiarla, a olvidar el pasado en lugar de escucharlo, y aceptar el futuro en lugar de imaginarlo.

*Eduardo Galeano
"Patas arriba"*

Este trabajo es dedicado a mis hermanos:

José Luís, Marco Antonio, Guadalupe, Lourdes,
Fernando, Alejandro, Ma. Isabel y Adriana.

A mis sobrinos y nietos.....

Por que han influido totalmente en mí.

A Chabela, mi madre... Por su gran apoyo y
comprensión.

Y sobre todo a la memoria de Don Luis...

Agradezco a:

- El departamento de microbiología, en especial al personal del Cepario por permitirme realizar este proyecto en un fraternal ambiente de colaboración y apoyo.
- A la Facultad de Química, por brindarme la formación que he asimilado gozoso.
- A la UNAM, por ser la máxima casa de estudios con compromiso social.
- A mis compañeros y profesores, que contribuyeron de manera directa e indirecta, en la realización de este trabajo.
- Al Dr. Alejandro D. Camacho Vera de la ENCB del IPN, por su aportación en material y conocimientos.
- Al M. en C. Filiberto Rivera Torres por sus acertados comentarios, apoyo material y técnico y por su compromiso solidario.
- A la profesora Ma. Antonieta Silva Chávez, por su paciencia y por sus certeros consejos.
- Muy especialmente agradezco al profesor Luciano Hernández Gómez por su paciente, atenta y esmerada orientación durante el desarrollo de este trabajo.

Agradezco también:

- A la Sra. Alma Rosa García Franco. por ser ejemplo de amistad, carácter, solidaridad y entereza.
- Al profesor Martín Urquiza Almanza, por sus emotivas palabras de apoyo, y su espíritu jovial y animoso que contagia.
- A la familia Cruz Sánchez, mi segunda familia, en especial a mi compadre y a Doña Agustina, por obsequiarme su amistad, cariño y apoyo.
- A Lulú Zatto, porque es amiga sincera y mira al mundo con entusiasmo.
- A Lulú Romero, porque es amistad de ley, espíritu de acero, y corazón de oro.
- A los compas de la Mesita del Chopo, porque saben escuchar el pasado, cambiar el presente e imaginar el futuro.
- A los integrantes de la Organización Ambientalista Tlaxcalteca Ometeotl A. C., por su noble compromiso con la naturaleza, en especial los miembros activos de los poblados de Santiago Cuauila y San Felipe Sultepec del municipio de Calpulalpan Tlaxcala en el Altiplano Central Mexicano.
- Pero sobre todo, la parte más importante, que es la que, sin su presencia, no sería posible lograr materializar este proyecto, gracias de todo corazón al Pueblo Mexicano.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	3
1 ANTECEDENTES.....	5
1.1. IMPACTO ECOLÓGICO E IMPORTANCIA DEL MAGUEY PULQUERO.....	6
1.2. CONDICIONES EDÁFICAS Y CLIMÁTICAS DEL CULTIVO DEL MAGUEY	11
1.3. PLAGAS Y ENFERMADADES DEL MAGUEY.....	15
1.4. IMPORTANCIA DEL GUSANO ROJO	15
2.4.1 LOS INSECTOS COMO ALTERNATIVA ALIMENTICIA	22
2.4.2 GUSANO ROJO DEL MAGUEY	24
1.5. ORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS	30
1.5.1.BACTERIAS ENTOMOPATÓGENAS	30
1.5.2.HONGOS ENTOMOPATÓGENOS	36
1.6. IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS	40
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	44
JUSTIFICACIÓN.....	46
2. HIPÓTESIS	48
3. OBJETIVOS	50
3.1 OBJETIVO GENERAL	50
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES	50

4.	PARTE EXPERIMENTAL	52
4.1.	DESARROLLO EXPERIMENTAL	53
4.2.	METODOLOGIA	54
5.	RESULTADOS	57
	ANALISIS DE RESULTADOS	68
	CONCLUSIONES	72
	APÉNDICE	75
	BIBLIOGRAFÍA	87

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El gusano rojo del maguey (*Comadia redtenbacheri*), es un gusano utilizado como alimento en algunas regiones del país. Se desarrolla dentro de la raíz del maguey pulquero conocido como maguey manso. Debido a cuestiones de tipo económicas y culturales el maguey (hábitat del gusano rojo), ha sufrido severos desplazamientos en cuanto a su utilización, provocando con ello un impacto ambiental tremendo en las zonas donde se establecía dicha planta.

En el Altiplano Central Mexicano; que comprende los siguientes estados: Estado de México, Puebla, Tlaxcala e Hidalgo, se vienen realizando esfuerzos para la reforestación de dicha zona mediante la reutilización del maguey manso. Para ello se está buscando diversificar la utilidad y aprovechamiento del maguey. Uno de estos usos es la producción controlada de gusano rojo de maguey como alternativa atractiva para el campesino de la región.

El gusano rojo de maguey se ve afectado entre otros factores por microorganismos nocivos, que en la mayoría de los casos, provoca su muerte y esto es una merma importante para la producción controlada de éste.

El objetivo principal del presente trabajo es realizar un estudio microbiológico para aislar e identificar las bacterias y hongos asociados al gusano rojo de maguey en su último estadio larvario.

ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

1.1 IMPACTO ECOLÓGICO E IMPORTANCIA DEL MAGUEY PULQUERO

El maguey (Figura No. 1) ha sido históricamente una planta importante para la vida cultural y económica del país, hoy en día, se tiene conocimiento de códices prehispánicos y narraciones del tratamiento místico que se le brindaba a esa planta, así como de su presencia en los rituales de las diversas culturas establecidas en mesoamérica. Ha sido también objeto de estudio por diversos científicos a lo largo de la historia como el Doctor Eligio Ancona.



Figura No.1. Fotografía de un maguey (*agave atrovirens*) en el municipio de Calpulalpan Tlaxcala. Fotografía cortesía del M. en C. Filiberto Rivera.

Su conocimiento y utilización se remonta a las diversas culturas prehispánicas que se asentaron en el territorio nacional (Figura No. 2), como lo mencionan diferentes historiadores, Prescott en su libro "Historia de la conquista en México" destaca la importancia del maguey de la siguiente manera; "...Cuyas imbricadas pirámides de flores sobresalieron de entre una espinosa corona formada por las hojas, se veía donde quiera que había un palmo de terreno plano, esas hojas servían para la fabricación del papel, con el zumo se hacía una bebida fermentada llamada pulque de la cual gustan los naturales; con las hojas se fabrica un tejido impermeable que servía para los vestidos ordinarios, de su fibra rígida y torcida se sacaba un hilo con el cual se hacían sogas, cuerdas y estofas muy tupidas; con las puntas hacían agujas y alfileres y la raíz cocida se usaba como alimento grato y nutritivo. El maguey era en suma para los mexicanos, alimento, bebida, vestido y material para escribir." (Prescott 1978).



Figura No. 2. Diferentes usos que le daban al maguey en la época precolonial.
Fotografía cortesía de Ometeotl.

En la época colonial la utilización del maguey básicamente fue para producción de pulque que era consumido en su mayoría por los nativos. Esta bebida no logró impactar en el gusto de los españoles, y como la venta de licores en tierras indias era de enormes utilidades económicas, con argumentos religiosos fue penalizado su consumo, sin embargo, los encomenderos lograron grandes riquezas al explotar el cultivo del maguey (Brunner 1963).

Durante la época prerevolucionaria las haciendas alcanzan su máximo esplendor y por ende, la explotación del pulque, tan es así que se construyeron líneas de ferrocarril que conectaban directamente a las haciendas con los centros de comercialización pulquero (Figura No.3). A pesar de que la industria magueyera se colapsó durante la época revolucionaria, a partir de la década de los cuarenta, experimenta un resurgimiento que al parecer marcaría la consolidación de dicha industria (Chen 1984).



Figura No. 3. Vista de una estación de tren en una hacienda pulquera, la cercanía de la línea de ferrocarril es para facilitar su comercialización a distancia.

A finales del siglo XX, propiamente en la década de los setenta, el maguey comienza a tener una crisis, debido a las políticas económicas mal diseñadas conocidas como revolución verde, dejando de ser atractivo económicamente

para los campesinos. La diversificación y el aumento en el consumo de bebidas alcohólicas hacen poco costeaable la producción del pulque; Las fibras del agave dejan de ser utilizadas, y la práctica descontrolada del saqueo de la epidermis del maguey (mixiote) ponen en alto riesgo la existencia del mismo, con la consecuente alteración del equilibrio en la zona (Chen 1984).

Al ir desapareciendo paulatinamente el maguey , los suelos se erosionan ya que esta planta funciona como barrera natural contra deslaves provocados por la lluvia y la acción del viento. Un factor de desplazamiento del maguey de su hábitat natural, es el uso de tecnología sin un adecuado estudio de las repercusiones específicas para cada zona. El M. en C. Filiberto Rivera lo ejemplifica de la siguiente manera; “La frontera agrícola, avanza en todos los bosques del Altiplano Central Mexicano, la maquinaria agrícola (Figura No. 4) importada de EUA, diseñada ex profeso para las planicies de Texas llega al altiplano y exige mayor terreno para su maniobrabilidad, se destruyen tanto en las laderas, como en las planicies los surcos hechos de maguey. De esta forma, en tan sólo 25 años se destruyó en aras de la modernización lo que el planeta había creado a través de millones de años.”¹



Figura No. 4. Implementación de maquinaria de exportación en la zona de Calpulalpan Tlaxcala. Fotografía cortesía del M. en C. Filiberto Rivera.

¹ Rivera Torres Filiberto. El maguey en la historia de Calpulalpan. Ponencia presentada durante el primer ciclo de conferencias “Calpulalpan en la historia” del 20 al 28 de Junio del 2002. pp 27-28.

En México existen alrededor de 250 especies diferentes de agaves (Brunner 1963), el maguey pulquero es el más utilizado, se le conoce también como maguey manso (*Agave atrovirens*), es una planta roseófito grande simple de la familia *agaveceae* variedad *amarillaceae*, se produce en zonas frías y se desarrolla entre 2200 y 2700 metros sobre el nivel del mar (msnm), resiste prolongadas sequías e inclemencias de las zonas semiáridas de los estados de Hidalgo, Tlaxcala, México y Puebla en donde el periodo de lluvias al año es corto y las heladas son intensas en invierno.

Presenta la siguiente anatomía (Figura No. 5) y fisiología:

Consta de una raíz fibrosa de tallo grueso y corto (llamado metzotlitel) del que salen las hojas conocidas como pencas, que son verdes, gruesas, sésiles, cóncavas y con púas en el extremo; tienen un revestimiento de tela apergaminada muy resistente (mixiote) que sirve para impedir la evaporación de los jugos de la planta, todas sus hojas se encuentran colocadas alrededor del tallo formando una roseta. Florece una sola ocasión en la vida, del centro de la planta crece un tallo floral conocido como quiote y se eleva de 5 a 6 metros, brotando en la parte superior la flor en forma de racimos (Cisneros 1980).

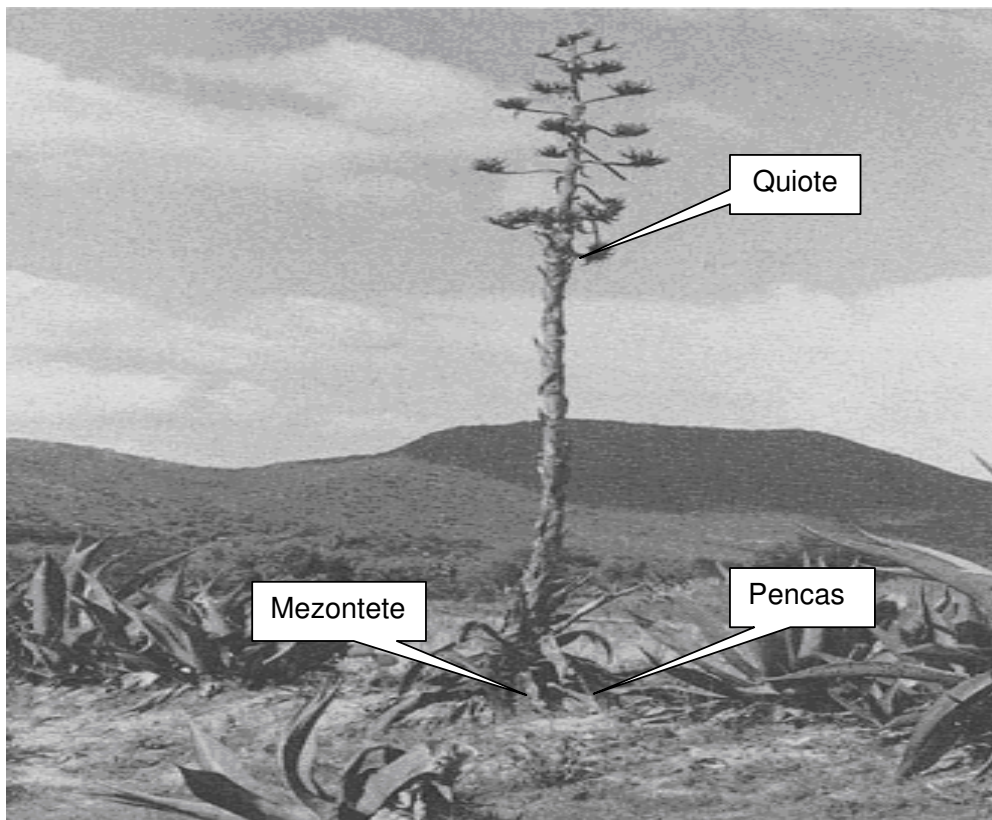


Figura No. 5. Fotografía de *Agave atrovirens* donde se pueden apreciar sus principales estructuras. Fotografía cortesía de Omoteotl.

1.2 CONDICIONES CLIMÁTICAS Y EDÁFICAS DEL CULTIVO DEL MAGUEY

Para asegurar un buen desarrollo de la planta del maguey, se recomienda tomar en cuenta las siguientes condiciones (Granados 1993):

Temperatura: Prospera en temperaturas que oscilan entre 13.6 °C y 17.8°C, que son las temperaturas medias en el Altiplano Central Mexicano.

Precipitación: El maguey subsiste en precipitaciones anuales que van desde los 335 hasta los 924 mm.

Iluminación: la mayoría de los agaves del desierto necesitan la luz solar, si no existe, se convierten en plantas enfermizas. El maguey pulquero en el Altiplano Central Mexicano, aunque requiere de luz solar, puede crecer en la sombra.

Altitud: *Agave atrovirens*, natural del Altiplano Central Mexicano, se desarrolla desde los 1 230 hasta los 2 750 msnm.

Suelo y textura: El agave pulquero prospera en suelos calcáreos, rojos (alfisoles) y áridos, las texturas predominantes de los lugares donde se desarrollan los agaves son: franco-arenoso, franco-arcilloso y areno limoso. Requieren suelos bien drenados, en general son suelos pobres con una capa arable muy delgada (30 a 90 cm), o terrenos pedregosos y de ondulaciones con poca pendiente.

pH: El pH encontrado en sitios donde se desarrollan los magueyes va desde 6.3 a 7.8; sin embargo se han encontrado valores de pH entre 4.9 y 9.4 con crecimiento anormal.

Aunque existen tres procedimientos para la reproducción del maguey; por semillas, por bulbillos y por retoños que brotan de la raíces (hijuelos), es éste último el método más usado (Aguilar 1995). Se emplean plantas de 5 a 6 meses de edad con una altura de entre 30 y 90 centímetros, y se siembran a una distancia de 1.5 a 2 metros para tener libertad en las labores posteriores.

Cuando el terreno a cultivar se encuentra aún virgen, se recomiendan las siguientes prácticas (Granados 1993) para preparar el suelo:

- a) **Desmonte.**- Consiste en quitar las hierbas que crecen en el terreno de manera natural para permitir la implantación del nuevo cultivo.
- b) **Subsueleo.**- Práctica utilizada para remover la tierra con el objetivo de quitarle la consistencia compacta al suelo, provocar que las sales minerales y nutrientes se distribuyan de manera homogénea y, se generen espacios de ventilación por donde pueda asimilarse el oxígeno.
- c) **Barbecho profundo.**- Es hacer el surco profundo para asegurar el establecimiento de la raíz de la planta sembrada.

- d) **Rastra cruzada.**- Este evento se efectúa utilizando el arado con el fin de desmoronar los aglomerados de tierra y obtener un tamaño más o menos homogéneo de la misma.

Estas prácticas son importantes para establecer el maguey, ya que se necesita un suelo mullido para facilitar la expansión del sistema radical, así como para asegurar la emergencia de nuevos hijuelos. Si el suelo donde se sembró el maguey estuviera compacto por omitir las prácticas antes mencionadas, la planta no se desarrollaría en plenitud y se observarían; pérdida de altura, coloración rojiza en las puntas de las pencas y resequedad en los márgenes (Granados 1993).

El desarrollo biológico del maguey es muy lento, tarda de 8 a 12 años para proporcionar el aguamiel, y en ocasiones hasta 20. Su ciclo biológico está condicionado a los factores naturales de la zona en que se localice; tipo de suelo, clima, cultivos vecinos y diversidad de la microflora de la región (Granados 1993).

El aguamiel (savia del maguey) es un líquido incoloro transparente, con sabor dulce y agradable (Figura No. 6).



Figura No. 6. Don Esteban, campesino de Santiago Cuauila, Municipio de Calpulalpan Tlaxcala. Transportando aguamiel recién extraído del maguey. Fotografía cortesía de Ometeotl.

Se extrae del maguey mediante un procedimiento que consta fundamentalmente de tres pasos (Juárez 1992):

Castración.- Consiste en destruir el tallo floral (meyolotl).

Picazón.- Tiene como finalidad formar una cavidad donde se depositará el aguamiel o savia y provocar una irritación para que emane dicha sustancia.

Raspa Tiene como objetivo mantener la fluencia de la savia removiendo la escarra o sarro de los vasos saviosos (mezatl) que se forman a manera de cicatrización después de cada operación.

La microflora del aguamiel se clasifica principalmente en dos grupos: bacterias y levaduras, se ha calculado que las bacterias existentes son del orden de entre $8 \text{ y } 15 \times 10^5$ Unidades Formadoras de Colonias (UFC), y las levaduras están en proporción de $3 \text{ a } 6 \times 10^3$ UFC (Juárez 1992).

La composición química y algunas propiedades físicas del aguamiel se dan en la tabla No. 1.

Comentario [MA1]:

Comentario [MA2]:

Comentario [MA3]:

Comentario [MA4]:

Comentario [MA5]:

Tabla No 1. Análisis bromatológico del aguamiel. Donde se destaca la composición química y propiedades físicas del aguamiel

Características físicas	
pH	6.30 (en escala de pH)
Densidad a 20 °C	1.032 g/mL
Grados Brix	8.00 (en escala Brix)
Indice de refracción a 20 °C	1.335
Composición química	
Reductores totales (en glucosa)	7.370 g% mínimo
Reductores directos (en glucosa)	2.400 g%
Goma (en glucosa)	0.580 g%
Proteínas	1.080 g%
Sólidos totales	7.210 g%
Cenizas	0.280 g%
Calcio	10.000 mg%
Fósforo	0.400 mg%
Tiamina	0.100 mg%
Riboflavina	0.010 mg%
Niacina	0.500 mg%
Acido ascórbico	11.300 mg%

Tomado de Juárez Rodríguez M. A. p13.

Los valores dados en porcentaje están calculados sobre 100 g. de producto.

El aguamiel fermentado por la acción de numerosas bacterias y levaduras, mediante un proceso rudimentario, muchas veces poco cuidadoso, da lugar al pulque (Figura No. 7), bebida viscosa de color blanco, olor particular y de diferentes densidades, que contiene diversos microorganismos saprófitos, sustancias nutritivas como carbohidratos y vitaminas.



Figura No. 7. La clásica fotografía de Casasola donde se observan tres personajes ingiriendo pulque.

La microflora que posee esta bebida puede dividirse en dos grupos; la que contribuye en gran medida en la fermentación de aguamiel a pulque, se citan (Juárez 1992) los siguientes ejemplos entre otros:

Levaduras del tipo *Saccharomyces cerevisiae*
Levaduras del género *Pichia*
Bacterium aceti
Bacterium acidificans longissimus
Leuconostoc mesenteroides

Entre la microflora que no contribuye a la fermentación se encuentran las siguientes especies:

Tórua mucilaginoso
Bacillus subtilis

1.3 PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL MAGUEY

El maguey, como todo organismo viviente, se ve afectado por plagas y enfermedades. Entre las principales plagas están los distintos grupos de roedores como:

Las tuzas (*Geomyces mexicanus* y *G. hispíduo*) que dañan los tallos, troncos y raíces del maguey. Los ratones de campo (*Sigmodon hispíduo*), y los metéoros (*Arvícola mexicana*) que roen las raíces.

Dentro del grupo de los insectos se mencionan:

Los gusanos barrenadores como el “gusano rojo” (*Hypopta agavis*), “chilocuil” o “tecol” cuya larva se alimenta de la pulpa de los tallos y raíces. El “mecuil” o “gusano blanco” (*Acentronecme hesperiaris*). También se menciona a los “pinacates” (*Sphenophorus spinnolae*); el “cerambícido del maguey” (*Acanthoderes funerarius*) que causa daños serios a la raíz de la planta barrenándola. Las “escamas del maguey” son producidas por pequeños insectos pertenecientes a la familia de los Cócidos (*Aspidiotus perniciosus*) que al alimentarse de la savia de las pencas, causan lesiones a los tejidos.

La “mancha circular del maguey” es ocasionada por el hongo *Conyiothyrium concentricum* de la familia de las *Mucedinias* (Brunner 1963).

1.4 IMPORTANCIA DEL GUSANO ROJO

Los gusanos del maguey son un estadio intermedio de la transformación a palomillas que pertenecen a la clase *Insecta*, por lo que a continuación se destacan algunos aspectos relevantes de dicha clase.

Los insectos son animales invertebrados que pertenecen al phylum *Artrópoda*; clase *Insecta* o *Hexapoda*. Se caracterizan por tener tres pares de patas y respiración traqueal. El cuerpo se divide generalmente en tres porciones; cabeza, tórax y abdomen. Aunque todos son alados, existen especies que sus alas ya no son funcionales como la chinche (Welch 1982).

Los insectos son organismos desarrollados y perfectamente extendidos en la

naturaleza; se les puede encontrar en el agua , en el aire y en el suelo, pueden vivir sobre animales y plantas o en el interior de ellos, se desarrollan en casi toda clase de sustancias orgánicas e inorgánicas (Tovar 1992).

La abundancia de los insectos se debe en gran medida a su alta reproductibilidad y a su capacidad de “mutar” para adaptarse de mejor manera a las condiciones de vida que le ofrece el medio ambiente en donde se desarrollan.

La mayoría de las especies de insectos son ovíparas. Los huevos presentan características típicas a la especie pero varían de color tamaño, forma y cantidad entre una especie y otra.

La estructura general (figura No. 8) se constituye de una cubierta protectora reticulada o esculpida denominada corion o cascarón, es desprendible total o parcialmente. En uno de los extremos del cascarón se encuentra uno o varios poros denominados micropilos que permiten la penetración de espermatozoos para efectuar la fecundación.

En la parte interna del cascarón hay una segunda cubierta membranosa, llamada membrana vitelina.

En el interior de estas dos cubiertas se encuentra una segunda capa protoplásmica o periplásmica y la yema o retícula protoplásmica que constituye la reserva de alimento para el embrión; la vesícula germinativa corresponde al núcleo fertilizado. (Gallo 1978).

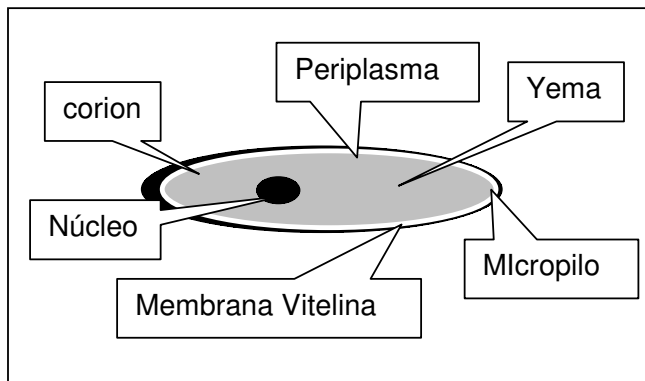


Figura No. 8. Muestra esquematizada de la estructura general del huevo de un insecto. Tomado de Gallo Op. cit.

En los insectos de metamorfosis incompleta. Los jóvenes son semejantes a los adultos en su morfología externa, diferenciándose sólo por el poco desarrollo de las alas y la inmadurez de los órganos sexuales. A esta característica se debe el nombre de Ninfas (Coronado 1990).

La larva es el primer estadio biológico de los insectos. Aunque presentan grandes modificaciones en su forma; en general se puede decir que su cuerpo se divide en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen (Figura No. 9).

En la cabeza se localizan el aparato bucal, los ojos que se denominan ocelos y las antenas, de acuerdo a sus características sirven para identificar a las especies.

El tórax está formado de tres segmentos, una cantidad de patas de acuerdo a la especie. Cada pata está compuesta por varias piezas que reciben el nombre de: coxa, fémur, tibia, tarso y uña (Coronado 1990).

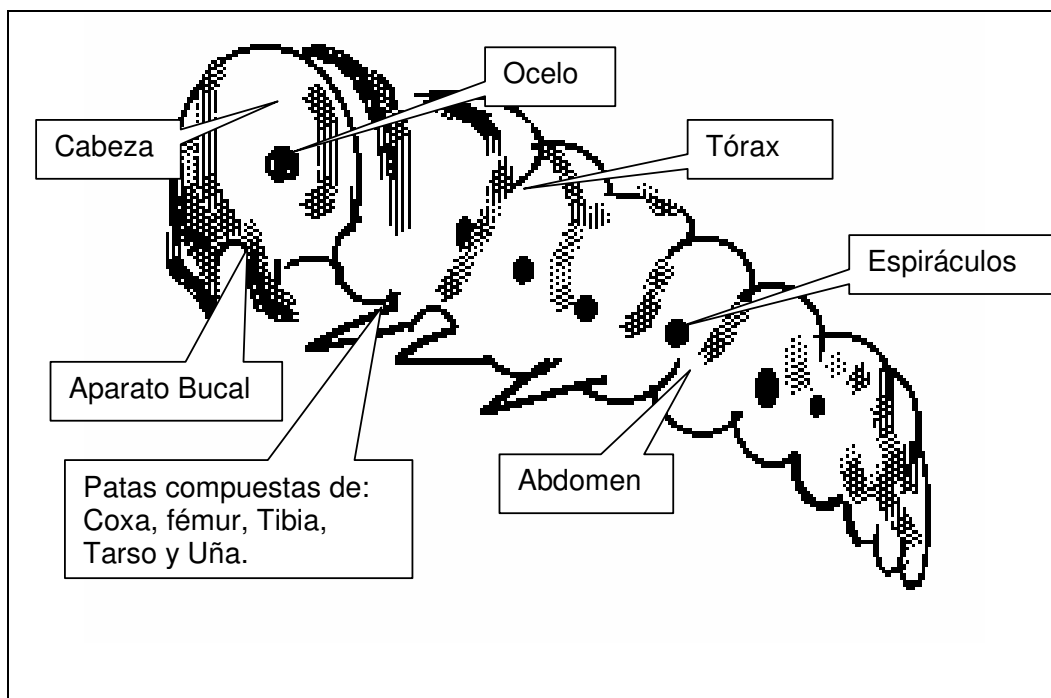


Figura No. 9. Dibujo esquematizado de una larva

El abdomen lo conforman varios segmentos, generalmente de 10 a 12. Es ésta parte corporal en donde se realizan las funciones respiratorias, por lo que se localizan de 7 a 8 pares de estructuras denominadas espiráculos. En algunas especies se localizan, en la región abdominal, una serie de falsas patas, a las que se les llama pseudópodos, mientras que otras especies carecen de ellas.

Por la forma del abdomen se clasifican como Carabiformes, Elateriforme, Escarabioforme, Campodeiforme, Eruciforme, Platiforme, Vermiforme, Naupliforme, Moluscoidea y Onicioforme (Gallo 1978).

La morfología interna de las larvas se compone de diversos sistemas de órganos que desempeñan funciones definidas.

El esquema más simple del sistema digestivo (Figura No. 10), es un tubo conformado por tres secciones que reciben los nombres de: estomodeo, mesenterón y proctodeo. La primera sección comienza en la faringe; el primer tramo en forma de tubo es el esófago, en cierto caso presenta una dilatación, buche, que puede unirse al esófago por medio de un cuello corto. Le sigue un proventrículo, provisto en ocasiones de dientes esclerosados y bandas gruesas de músculos constrictores, esto le da función trituradora del alimento ingerido. Al final está la válvula cardiaca que conduce el alimento hacia el interior de la membrana peritónica y evita su regreso al intestino anterior. El mesenteron o ventrículo es el estómago de las larvas e insectos, en él se realiza la absorción de los alimentos para lo cual lleva en su parte anterior las glándulas gástricas. Su conexión con el proctodeo o intestino posterior lo hace a través de la válvula pilórica que impide el retroceso del alimento. En la última sección se localizan tres partes bien definidas que son: íleon, colon y recto. En el íleon nacen los tubos de Malpigio que desempeña funciones de excreción (Coronado 1990).

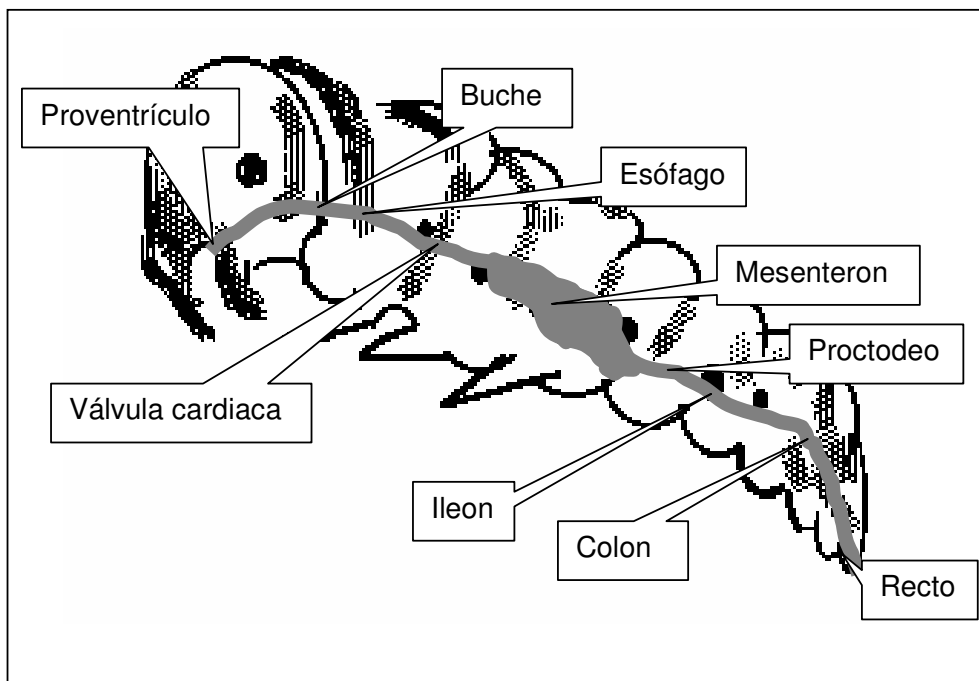


Figura No. 10. Esquema del Sistema digestivo de una larva

La sangre de los insectos está compuesta de células sanguíneas llamadas hemocitos que flotan libremente en el plasma sanguíneo o hemolinfa. En ella se encuentran principalmente albúmina, fibrina y materias grasas (Coronado 1990).

El sistema circulatorio lo forma el corazón o vaso dorsal sanguíneo, que consiste de un cilindro hueco con pared muscular de células gruesas constituido por una serie de cámaras que llevan a una cámara lateral denominada hostia, la cámara posterior es cerrada, en cambio las demás están provistas de una válvula a través de la cual pasa la sangre hacia la aorta, que es una vena que se bifurca para irrigar la sangre en la cabeza.

El espacio que ocupa la sangre se divide mediante diafragmas en espacios parciales o cámaras que rodean algunos de los principales sistemas. La cámara ventral rodea a la cadena ventral de ganglios por lo cual recibe el nombre de sinus perineural; el espacio medio envuelve el tubo digestivo y por ello se denomina sinus visceral. Finalmente, se conoce como sinus pericardial, que recibe este nombre por rodear el vaso dorsal sanguíneo (Coronado 1990).

La distribución de la sangre es propiciada por los movimientos de expansión y contracción de los músculos (Gallo 1978).

La respiración se realiza mediante un sistema de tráqueas que se abren al exterior en los espiráculos. A través de éstos se introduce el aire que después es conducido a los traqueolos y tejidos donde se absorbe el oxígeno y se recoge el bióxido de carbono que posteriormente es expelido por los mismos conductos.

Hay dos tráqueas principales que corren a lo largo del cuerpo y se dividen en tres ramas; dorsal, visceral y ventral. La primera provee el oxígeno al vaso dorsal sanguíneo y a los músculos dorsales; la segunda a los sistemas respiratorio y digestivo, mientras que la tercera lo hace a los músculos ventrales y a la cadena de ganglios que forma el sistema nervioso (Coronado 1990).

El sistema nervioso central está formado por el ganglio supraesofágico o cerebro, el ganglio subesofágico y una cadena de ganglios colocados a lo largo de la región ventral del cuerpo unidos por comisuras.

El cerebro se integra de tres ganglios fusionados: protocerebro, deutocerebro y tritocerebro que inervan los órganos y piezas de la cabeza. El ganglio subesofágico se une al cuerpo por medio de las comisuras esofágicas y los forman de tres a cuatro ganglios: labial, mandibular, maxilar y superlingual.

Los músculos forman un sistema complejo discontinuo de tres grupos principales: músculos del apéndice, músculos viscerales y bandas segmentales. Los principales músculos del tórax tienen forma de cordón y están desarrollados, éstos controlan el movimiento de alas. Los músculos viscerales pueden ser longitudinales, circulares o bandas oblicuas que cubren el sistema digestivo y órganos del sistema reproductor, otros abren y cierran los espículos y el sistema circulatorio es accionado por bandas musculares, cuyo movimiento origina las pulsaciones (Gallo 1978).

Existen dos capas que forman la pared del cuerpo; la epidermis y la cutícula. La primera es una capa basal de células simples unidas con una membrana y con un núcleo de tamaño más o menos grande en relación con el tamaño celular. Cuenta con diversas formas especializadas sensorialmente (pelos y cerdas, entre otros).

La capa externa es la cutícula y se divide en tres secciones: endocutícula, exocutícula y epicutícula. La endocutícula tiene alto contenido de quitina, es permeable al agua y a sustancias en solución, flexible y blanda. La exocutícula es una capa más delgada, contiene cuticulina y quitina que le proporcionan su rigidez, carotina y melanina que le confieren dureza, color e impermeabilidad a esta capa.

La epicutícula es la capa más delgada y superficial, está formada de dos lechos visibles, uno interno de cuticulina y el exterior más resistente a solventes. Las ceras y grasas de este lecho lo hacen esencialmente impermeable. Al aumentar el tamaño de la larva, se lleva a cabo el cambio de piel conocido como ecdycis (Coronado 1990).

El estado intermedio entre larva y adulto se denomina pupa (Figura No. 11), en este periodo no se observa actividad biológica aparentemente, pero ocurren cambios muy notorios en su morfología, de tal forma que el adulto es totalmente diferente a los estadios anteriores (Coronado 1990).



Figura No. 11. Fotografía de una pupa de *Comadia redtenbacheri*, se puede observar que su morfología cambia evidentemente. Fotografía cortesía del Dr. A. Camacho.

El adulto tiene como función principal el reproducirse para conservar la especie, un gran número de ellos tiene la vida suficiente para aparearse y efectuar la ovoposición, es por ello que no necesitan alimentarse.

En los adultos (Figura No. 12), se distinguen generalmente tres regiones bien definidas: cabeza, tórax y abdomen (Coronado 1990).

La cabeza es la primera parte del cuerpo, ahí se localiza el aparato bucal, los ocelos y las antenas. Se forma de siete segmentos; vértex, frente, clypeo, gena postgena, occipucio y tentorio (Tovar 1992).



Figura No. 12. *Comadia redtenbacheri* en su último estadio biológico (Palomilla), se puede observar el dimorfismo sexual. Fotografía cortesía del Dr. A. Camacho.

La segunda región del cuerpo, llamado tórax, se encuentra formado por tres segmentos: protórax, mesentórax y metatórax. Cada segmento se divide a su vez en tres secciones; una superior, una media y otra inferior, y se denominan tergito, pleura y externo respectivamente. Es en esta región donde se localizan las alas. Las variaciones existentes entre las alas en los diferentes insectos, sirven para clasificarlos. Generalmente se aprecian cuatro alas pero se dan casos en que hay menos o completamente ausentes (Tovar 1992).

El abdomen es la tercera sección del cuerpo y en ella se encuentra un número variable de segmentos, no hay patas en esta sección, se pueden presentar algunos apéndices que utiliza el adulto para brincar y pueden considerarse como vestigios de patas abdominales que evolucionaron para efectuar dicha función (Tovar 1992).

1.4.1 LOS INSECTOS COMO ALTERNATIVA ALIMENTICIA

La entomofauna del maguey pulquero merece especial atención debido a dos variedades de gusanos que constituyen una opción alimenticia de gran potencial tanto para proporcionar la cantidad y calidad nutricional requerida, como para generar expectativas económicas en las comunidades rurales.

Los hábitos alimenticios de un país están influidos en gran medida por la cultura y las costumbres ancestrales. Particularmente en México existen diversos patrones dietéticos que según Bourges (Citado por Elourduy 2001) pueden clasificarse en tres grupos: a) Población marginada, que es predominantemente rural y representa el 30% del total de la población; b) la clase proletaria, ubicada tanto en zonas rurales como urbanas y abarcan el 50% de los mexicanos, y c) la clase media y alta, cuya dieta es más variada (Ramos-Elorduy y Pino 2001).

A veinte años de distancia y con los cambios socioeconómicos que ha padecido el país la distribución social se ha modificado de manera drástica reduciendo la proporción del grupo C, esto conlleva a estimar que el problema de alimentación se ha recrudecido y necesariamente se debe explorar alternativas para enfrentar este problema.

En el devenir histórico de la humanidad las diversas culturas han practicado la entomofagia, (figura No. 13) en ciertas regiones, principalmente rurales, esta práctica continúa vigente vinculada a tradiciones y misticismos (Chen, 1984).



Figura No. 13. Muestra de platillos a base de gusano rojo del maguey. En la elaboración de la salsa que se observa en la parte superior derecha se agrega el gusano molido. Fotografía cortesía de Ometeotl

Debido a su alto valor nutritivo, en varias ciudades cosmopolitas han asimilado a los insectos en sus dietas, convirtiéndolos en platillos de alta cocina y con costos elevados.

Los insectos comestibles son de gran aceptación en varias regiones del país. Algunos de ellos son más apreciados que otros, dependiendo de la localidad. Los insectos se comercializan vivos o preservados, incluso preparados para ingerirse de inmediato (Chen 1984). En la tabla 2 se presenta una lista de insectos comestibles en México, así como el nivel nutritivo en cada caso.

Tabla 2. Análisis bromatológico de algunos insectos comestibles de México

Nombre científico	Nombre vulgar	Proteínas	Extracto etéreo	Sales minerales	Fibra cruda	Extracto libre de N
<i>Pachitis qiqas</i>	Chamoes adulto	65.39	19.43	3.30	9.61	2.25
<i>Pachitis qiqas</i>	Chamoes ninfas	62.95	26.31	3.75	4.64	2.34
<i>Aegiale hesperiaris</i>	Gusano blanco de maguey	30.88	58.55	2.29	3.45	4.85
<i>Cossus redtenbanchi</i>	Gusano rojo del maguey	32.16	56.82	2.76	8.61	2.64
<i>Laniifera cyclades</i>	Gusano del nopal	45.83	30.34	4.62	4.97	14.24
<i>Heliothis zea</i>	Gusano del maíz	41.98	29.00	3.86	4.14	20.99
<i>Atta sp.</i>	Hormiga arriera	42.59	31.07	2.40	9.90	14.02
<i>Myrmecisitus melliqer</i>	Hormiga mielera	9.25	5.80	4.12	2.92	77.67
<i>Liometopum apiculatum</i>	Escamol	67.00	12.08	5.05	0.99	14.85
<i>Metamasius spinolae</i>	Picudo del nopal	69.05	7.94	0.62	3.65	19.21
<i>Eucheria</i>	Gusano del Madroño	50.88	17.32	6.12	6.16	19.94

Los datos están dados en g/1000 g de producto seco
Tomada de Chen Escamilla, Op. cit. pp 5

1.4.2 GUSANO ROJO DEL MAGUEY

Clase: *Insecta*.

Familia: *Cossidae*.

Orden: *Lepidóptera*.

Nombre científico: *Comadia redtenbacheri* H.

Sinonimias: *Cossus redtenbanchi* Ham, *Hypoapta agavis* Blázquez,
H. redtenbachi Ham, *H. chilodo* Dyar.

El gusano rojo del maguey (*Comadia redtenbacheri* o *Hypoapta agavis*) es un gusano barrenador que ataca las raíces y corona del maguey (Figura No. 14), se le consideró plaga y fue combatido arrancando las plantas donde se hospedaba. Para su erradicación fueron utilizados algunos insecticidas como el paradiclorobenceno (Chen 19884).

Estos gusanos se comen fritos en manteca o asados en su propia grasa, envueltos en tortilla, asados en sopa de arroz o en salsa de jitomate, tostados o molidos con sal y chile rojo, se usa también para ingerir bebidas embriagantes fuertes como el mezcal, agregando un gusano por litro el cual le confiere un peculiar aroma y sabor, o bien las bebidas y el gusano se mezclan con naranjas. (Ramos-Elorduy J., J.M. Pino 2001).



Figura No.14. Gusano rojo de maguey *Comadia redtenbacheri* H. Fotografía cortesía de Ometeotl.

El gusano rojo es muy común en la región del Altiplano Central Mexicano, Es recolectado por los campesinos en los meses de Julio y Agosto. Cuando llueve los gusanos salen de sus galerías y esto facilita su colecta. Los campesinos detectan las larvas en los magueyes que presentan una coloración amarilla en las puntas de las pencas del maguey, se llegan a encontrar de 15 a 30 gusanos por maguey. Las larvas colectadas y asadas pueden conservarse hasta tres años . (Ramos-Elorduy J., J.M. Pino 2001).

Las larvas desarrolladas miden 4 cm de largo, presentan doce segmentos transversales con un surco ligero en medio de cada uno, su color es rojo en la parte superior y amarillento en la parte inferior, la cabeza es de color pardo, las mandíbulas son de color negro (Dampf 1927).

Ciclo de vida del gusano rojo

Se efectúa (según Ancona, 1931), cuando la mariposa deposita en los primeros meses del año, sobre las pencas del maguey huevos (Figura No. 15) de color blanquecino, alargados cilíndricos de 1.5 mm; en grupos de 5 a 12 huevecillos, están recubiertos por una sustancia gomosa.

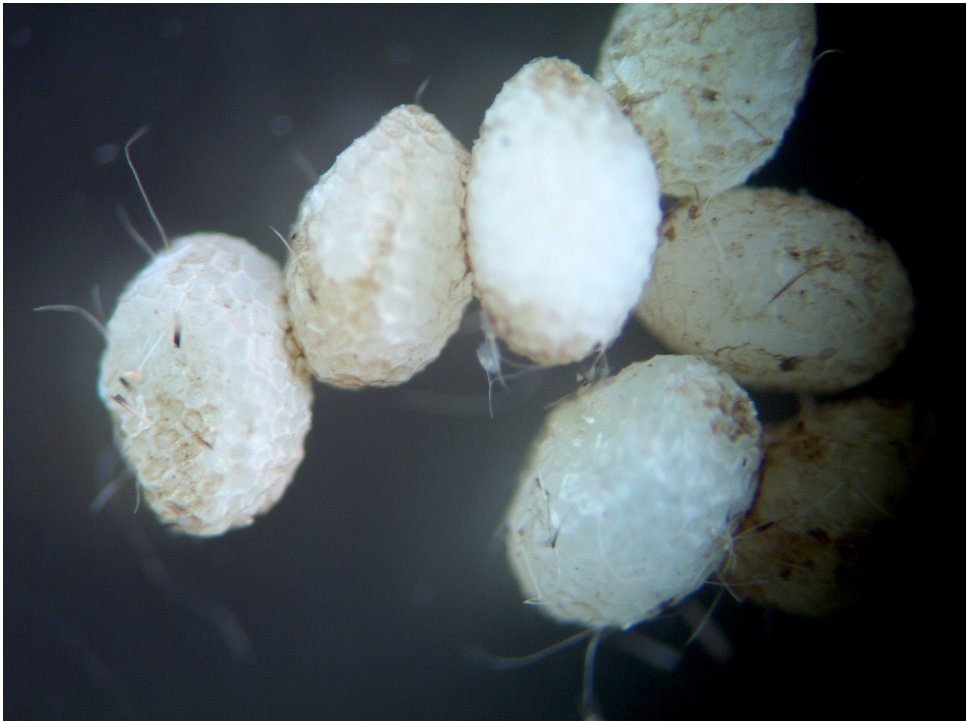


Figura No. 15. Huevecillos de *Comadia redtenbacheri*. Fotografía cortesía del Dr. A. Camacho

La oruga tarda en desarrollarse y eclosionar de 10 a 12 días, se introduce en la base de las pencas del maguey, de preferencia en el “meyolote”. Se alimentan destruyendo los tejidos internos desechando un residuo ocre de células trituradas y materia digerida.

Cada determinado tiempo en el estadio larvario se efectúa una muda, aumentando de modo progresivo su tamaño y coloración; diferentes autores han descrito tres o cuatro estadios larvarios, sin embargo, en estudios realizados por el Dr. Camacho, menciona la presencia de siete estadios, basado en la medición de la cápsula cefálica (Figura No. 16) y la longitud de la larva, hasta completar las mudas y estar listas para formar el capullo. (Camacho 2003). En la tabla No. 3 se observan los estadios determinados por el Dr. Camacho y el tiempo en que suceden dichos eventos.

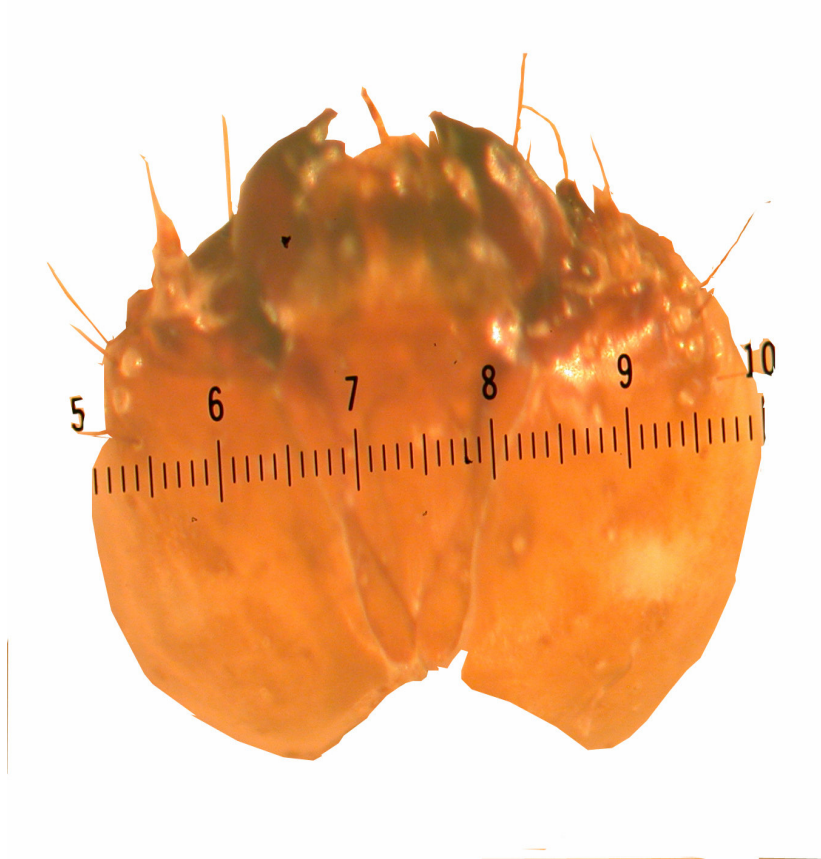


Figura No. 16. Medición de la cápsula cefálica de *Comadia redtenbacheri* para determinar su estadio larval. Fotografía cortesía del Dr. A. Camacho.

Tabla No. 3 Tamaños de cápsulas cefálicas y duración de los estadios larvarios de *Comadia redtenbacheri*.

Estadio	Tamaño de la cápsula cefálica (mm)		Duración (Días)
	Intervalo	Marca de clase	
I	0.45-0.66	0.55	38
II	0.67-0.92	0.77	34
III	0.93-1.28	1.08	43
IV	1.29-1.80	1.51	33-116
V	1.81-2.53	2.11	74-106
VI	2.54-3.55	2.97	106-113
VII*	3.56-4.14.	3.75-4.14**	ND

Tomado de Camacho Op. Cit. pp 284.

*Estadio probable.

**Anchura máxima registrada y valor por la ley de Dyhar.

ND: No Determinado.

Las orugas adultas del maguey se congregan en grupos de 6 a 17 ejemplares en las cavidades que han realizado; durante los meses de Septiembre y Octubre emigran hacia la tierra y elaboran un capullo (Figura No. 17) con hilos resistentes impregnados de arenilla y que permanece adherido a las raíces superficiales (Ancona 1931).



Figura No. 17. Capullos de *Comadia redtenbacheri*. Se puede observar que están recubiertos de arenilla. Fotografía cortesía del Dr. A. Camacho.

Las ninfas son negruzcas, las antenas y el borde costal de las alas anteriores, 17 días después de formado el capullo, tienen un color amarillento.

Cuarenta días después se transforman en mariposas completas. Su ciclo completo es de un año aproximadamente. En la figura No. 18 se presenta un resumen esquematizado del ciclo biológico de *Comadia redtenbacheri*.

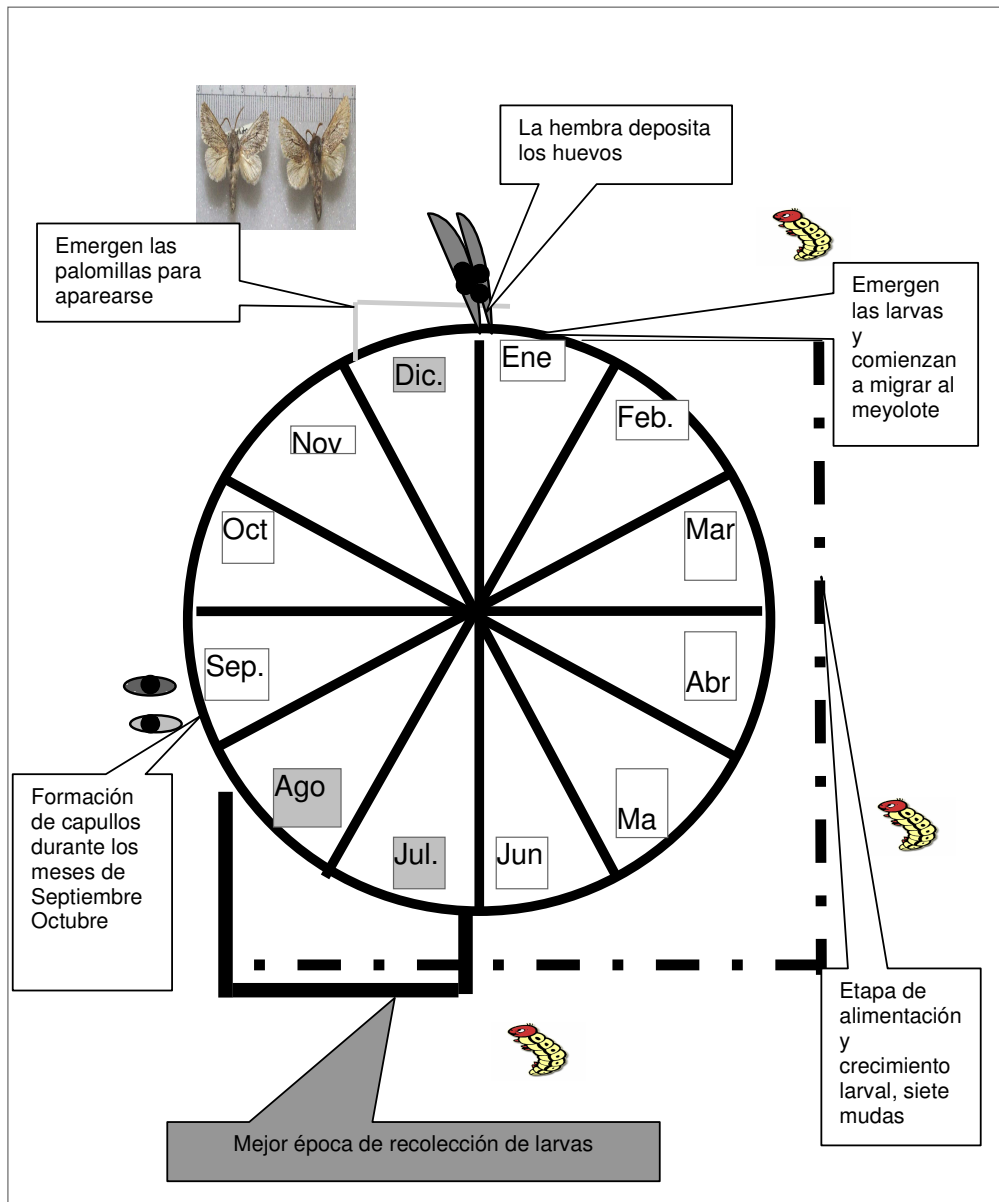


Figura No. 18. Ciclo de vida del gusano rojo del maguey *Comadia redtenbacheri* Con la colaboración del M en C. Filiberto Rivera Torres.

La información acerca de depredadores y parásitos para esta especie no está reportada, el propósito de este estudio es determinar los microorganismos que asociados al gusano rojo del maguey en el municipio de Calpulalpan Tlaxcala.

En el laboratorio de entomopatología de la Escuela Nacional de ciencias Biológicas del IPN, y en el CBT de Hueypoxtla, Estado de México se están realizando estudios experimentales de la pupación y colonización de *Comadia redtenbacheri*, Parte de estos estudios se reproducen en Santiago Cuauila y San Felipe Sultepec del municipio de Calpulalpan Tlaxcala impulsados por la Organización Ambientalista Tlaxcalteca Ometeotl, A.C.

Para inducir la pupación, se prepararon terrarios que consisten en charolas de plástico previamente lavadas a las cuales se le coloca una capa de 5 cm de tierra de tepetate cernida con una criba de 0.5 cm, la tierra es esterilizada por calor húmedo antes de colocarla en las charolas. Se colocaron las larvas previamente seleccionadas y se cubren con malla para protegerlos de contaminaciones. En base a un estudio previo, donde se probaron tres tratamientos con diferentes temperatura (tabla 4) se establece que la temperatura óptima para la pupación es de 27°C. (Camacho 2003).

Tabla No. 4 Días de desarrollo y unidades de calor de *Comadia redtenbacheri*.

Tratamiento	Temperatura promedio °C	Días de desarrollo			Unidades de calor		
		Inicio	Pico	Final	Inicio	Pico	Final
Estufa	30	43	48,71	110	1075	1200,1775	2750
Insectario	27	45	65,73	73	990	1430,1606	1606
Intemperie*	18.5	74	96	110	1369	1776	2035

Tomada de Camacho op.Cit.

*para comparación

**Temperatura del suelo

Inicio: Días de desarrollo transcurridos hasta el inicio de la emergencia de las palomillas.

Pico: Días de desarrollo transcurridos hasta alcanzar picos en la frecuencia de emergencias.

Final: Días de desarrollo transcurridos hasta la fecha de última emergencia observada.

1.5 ORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS

Se denominan organismos entomopatógenos a todos aquellos que son capaces de provocar una enfermedad, generalmente letal, a los insectos en algún estadio de su ciclo vital. Dentro de los agentes entomopatógenos se incluyen bacterias, hongos, virus, nemátodos y protozoos fundamentalmente. Se caracterizan por su escasa toxicidad sobre otros organismos del ambiente (Gallegos 2003).

1.5.1 BACTERIAS ENTOMOPATÓGENAS

La mayoría de las bacterias entomopatógenas son oportunistas, es decir, sólo causan enfermedad cuando existan condiciones específicas o de estrés en los individuos infectados. Infectan al insecto por vía oral (*per os*), aunque existen casos en que la bacteria penetra al insecto a través de los espiráculos, por medio del ovopositor de los parasitoides a través de las heridas (Ibarra 2002).

Cuando una bacteria logra penetrar al hemocele del insecto, normalmente origina una septicemia que, por el hecho de ser causadas por bacterias, se le denomina bacteremia. En estos casos, las bacterias se alimentan de la hemolinfa y posteriormente de los tejidos del insecto, hasta deshacerlos por completo, en la figura No. 19 se ilustra la acción de *Bacillus thuringiensis* después de romper la pared intestinal.

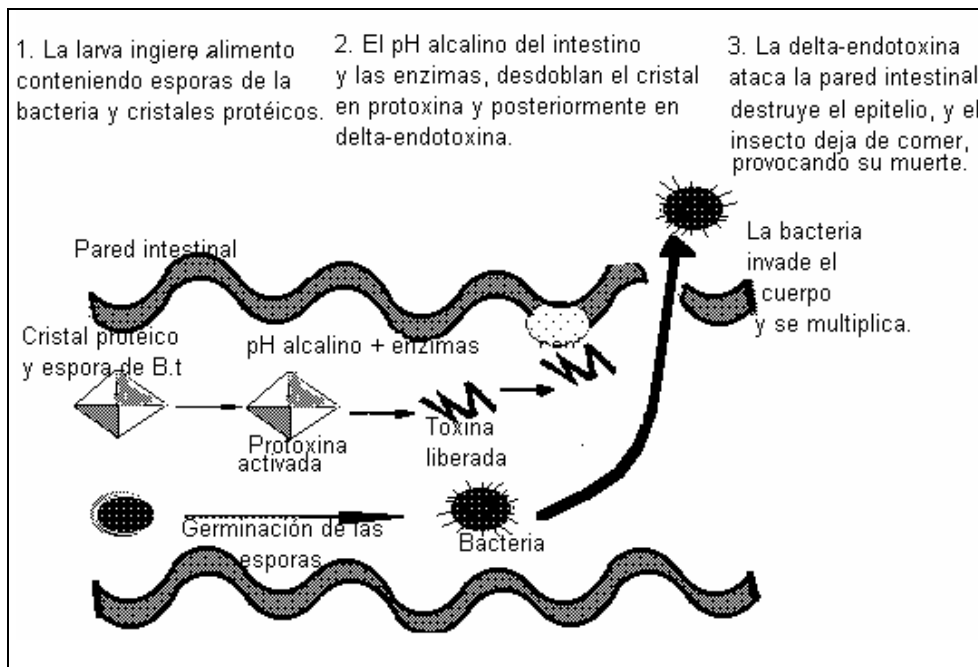


Figura No. 19. Mecanismo de acción de *Bacillus thuringiensis* en larvas de lepidópteros. Tomado de Gallegos Op. Cit. pp 33.

La muerte ocurre mucho antes de la degradación de los tejidos ya que el sistema de defensa del insecto, sea por macrofagia o por melanización, ha sido superado por la infección (Gallegos 2003).

Debido a que muchas bacterias, incluyendo a aquellas propias del tracto digestivo del insecto, pueden causar bacteremias letales en los insectos, sólo por el hecho de penetrar al hemocele, es difícil clasificar a las que son estrictamente patógenas de aquellas oportunistas. En estos casos, es importante determinar la dependencia de la bacteria hacia el hospedero, ya que las bacterias entomopatógenas obligadas normalmente no pueden crecer si no es en el ambiente del hospedero (Gallegos 2003).

Existen bacterias que utilizan toxinas para penetrar o aniquilar más eficientemente al hospedero. Estas bacterias forman una o varias toxinas que intoxican al hospedero, ya sea al invadir el hemocele o cuando esta es ingerida. En el primer caso la presencia de la toxina en la hemolinfa del hospedero se conoce como toxemia (Ibarra 2002).

Independientemente de la forma en que la bacteria penetra al insecto, éste eventualmente muere y, dependiendo de la bacteria entomopatógena, puede ser consumido por bacterias saprófitas propias del intestino del insecto, produciéndose una coloración oscura en el cadáver; o bien exclusivamente por la bacteria entomopatógena, para lo cual comúnmente produce sustancias antibióticas que previenen el crecimiento de otras bacterias. (Gallegos 2003).

Mecanismos de transmisión bacteriana

La transmisión vertical ocurre cuando las bacterias de un individuo infectado se transmiten transováricamente, al penetrar al huevecillo durante la formación de los óvulos; o transovum, cuando el inóculo bacteriano se limita a cubrir externamente el huevecillo. De ambas formas, los individuos neonatos se inoculan y continúan el ciclo de infección (Gallegos 2003).

La transmisión horizontal (Figura No. 20) aparece cuando otros individuos son expuestos al material infectado por las heces o desechos de un cadáver contaminado (Gallegos 2003).

Las bacterias que se encuentran en el material infectado, pueden formar esporas (Ibarra 2002) para mantener su viabilidad por largos periodos de tiempo (hasta de diez años).

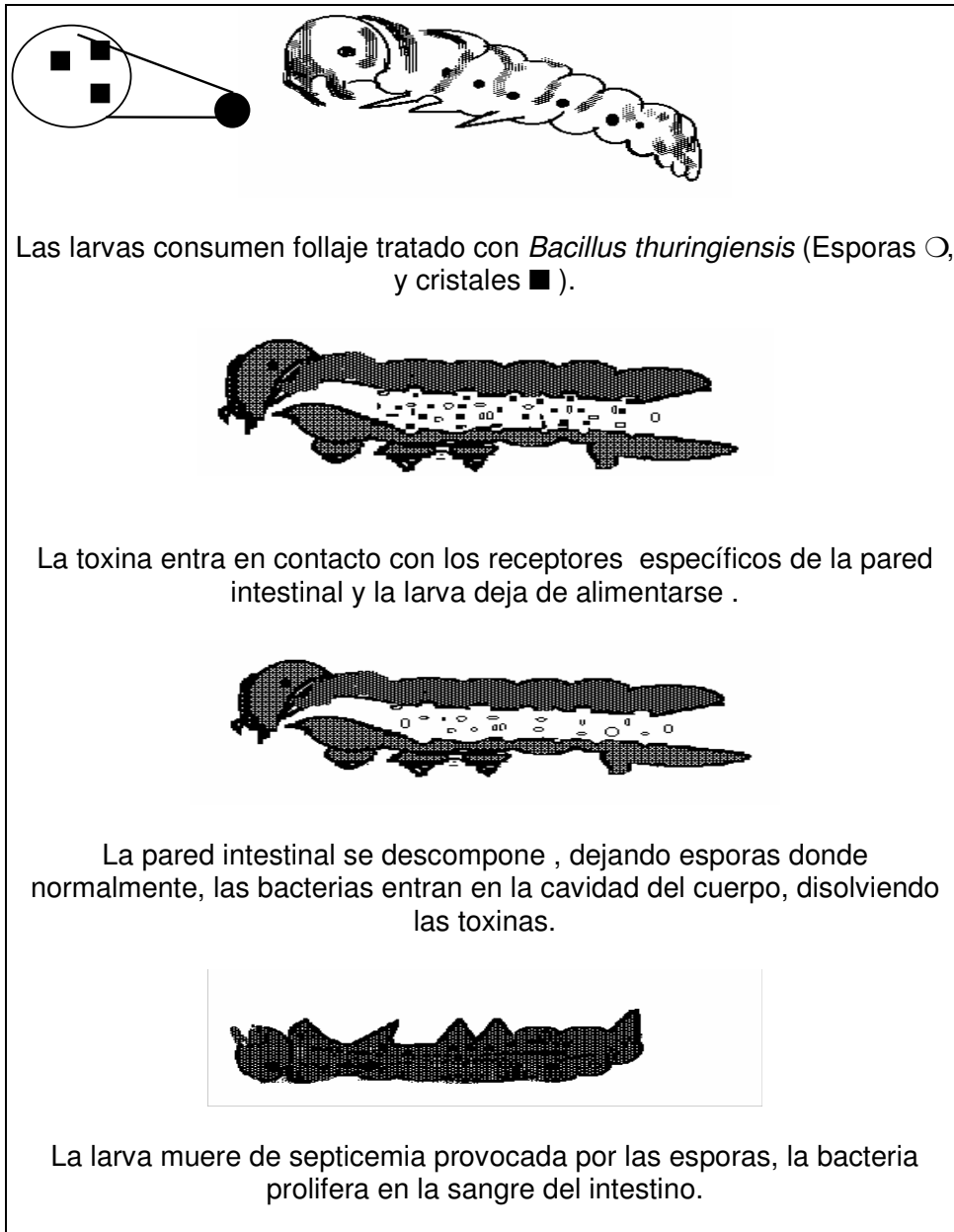


Figura No. 20. Ciclo de infección de *Bacillus thuringiensis* en lepidópteros. Tomado de Gallegos. Op. cit. pp. 32.

Aunque existen muchas familias bacterianas que contienen especies entomopatógenas, son sólo unas pocas las que presentan especies altamente virulentas. (Ibarra 2002). En la tabla 5 se enlistan estas familias siendo la más estudiada la *Bacillaceae*.

Tabla No. 5. Principales familias bacterianas con especies entomopatógenas

- *Bacillaceae*
- *Enterobacteriaceae*
- *Pseudomonadaceae*
- *Micrococaceae*
- *Streptococaceae*
- *Rickettsias*

Tomado de Ibarra Op. Cit. pp. 82

Bacterias Bacilares

Los miembros de la familia Bacillaceae se caracterizan por formar esporas, son Gram positivos y las células vegetativas presentan formas alargadas como de bastón o báculo (Ibarra 2002).

Los principales géneros con especies entomopatógenas son *Bacillus*, *Paenbacillus* y *Clostridium*. Estos tres géneros se pueden diferenciar fácilmente porque el segundo es patógeno obligado y el tercero es anaerobio obligado. Muchas especies son móviles por medio de flagelos, a pesar de que pueden formar largas cadenas de células.

La esporulación ocurre cuando se agotan los nutrientes del medio donde crecen, en ocasiones, junto a la espora, se forma un cuerpo proteico (unido o libre de ésta) al cual se le llama cuerpo paraesporal o, simplemente, cristal (Figura 21).

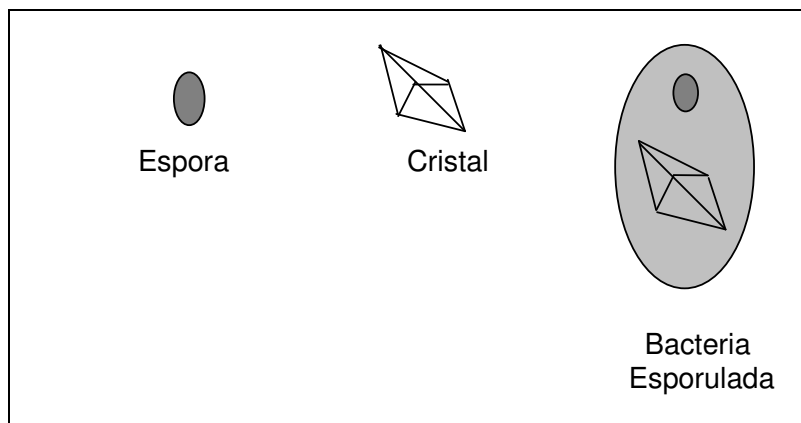


Figura No. 21. Esquema general de una bacteria esporulada. Tomado de Ibarra Op. Cit. P. 82

Las bacterias de mayor importancia entomopatógena son:

A) *Bacillus sphaericus*. Es una bacteria anaerobia estricta cuya forma es típicamente bacilar, excepto que presenta un ensanchamiento en el sitio donde se formará la espora, la cual es completamente esférica (de ahí su nombre). En 1965 se aisló del mosquito *Culiseta incidens*. Su capacidad entomopatógena se limita a las larvas de los mosquitos; sin embargo, al haberse descubierto nuevas cepas tóxicas se considera una alternativa para el control de mosquitos. Comúnmente es encontrada en suelo, agua contaminada orgánicamente, y otros tipos de hábitat (Ibarra 2002).

Esta bacteria produce una protoxina de naturaleza proteica, cuyos monómeros están arreglados en látice, formando matrices cristalinas de diferente forma y tamaño, de ahí que se le llame cristal a la estructura tóxica, la cual está unida fuertemente al exosporium. Se sabe que este cristal está formado por dos péptidos de aproximadamente 42 y 51 Kilodalton (Kdal), los cuales se disuelven en el interior alcalino del mesenterón de las larvas y se digieren proteolíticamente en forma parcial, para liberar fragmentos de 39 y 43 Kdal respectivamente. Estas son las verdaderas toxinas cuya acción se dirige hacia las membranas del epitelio del mesenterón aunque los detalles de dicha interacción se desconocen. Únicamente se sabe que el péptido de 43 Kdal no presenta toxicidad por sí solo sino en combinación con la toxina de 39 Kdal que sí presenta toxicidad por sí misma pero se acentúa al actuar en conjunto con la de 43 Kdal, este efecto recibe el nombre de toxina binaria (Ibarra 2002).

Al ser ingerida por la larva, las células epiteliales se ensanchan, estallan y se abren huecos intercelulares, perdiéndose la unidad tisular; además de detenerse la peristalsis y necrosarse los músculos y los nervios (Ibarra, 2002).

El cadáver de la larva proporciona los nutrientes necesarios para promover la proliferación de la bacteria, lo cual permite reciclarse (Ibarra 2002).

B) *Paenbacillus (Bacillus) popilliae*. Fue la primera bacteria entomopatógena registrada como bioinsecticida en los Estados Unidos en la década de los 40. Es un patógeno obligado y específico. Las diversas cepas de *P. popilliae* atacan a más de 70 especies de gallinas ciegas causando la llamada "enfermedad lechosa", porque su sintomatología es el aspecto lechoso de la hemolinfa de las larvas infectadas. Esto se debe a la gran cantidad de esporas propias de la bacteremia producida por el patógeno en la hemolinfa que, en condiciones normales debería presentar un aspecto translúcido (Ibarra 2002).

La infección de las larvas de escarabajo es por vía oral, una vez en el intestino medio, las esporas germinan, y los bacilos penetran por fagocitosis a las células del intestino medio iniciando la infección a través del epitelio intestinal. Normalmente, la larva utiliza un mecanismo de defensa conocido como "cápsula melanótica", por su aspecto oscuro. Esta es una capa de endocitos que se forman alrededor de la pared intestinal, como una barrera a la ulterior infección de la hemolinfa. Una infección aguda no se detiene por dicha cápsula y las bacterias que invadieron el intersticio entre el epitelio intestinal y la capa basal, eventualmente pasan a la hemolinfa, causando una bacteremia. Aquí las bacterias se reproducen profusamente hasta inducir el aspecto lechoso de la

hemolinfa, cuando las células vegetativas esporulan (Ibarra 2002).

Se desconoce la causa letal específica de la infección, pero se especula que se debe a la reducción de nutrientes esenciales en la hemolinfa, o a la presencia de toxinas termolábiles, o al deterioro de enzimas oxidativas, o una combinación de éstas (Ibarra 2002).

C) *Bacillus thuringiensis*. Es el entomopatógeno más conocido, más estudiado y más extensamente utilizado como agente de control microbiano. Es una bacteria Gram positiva, aeróbica que forma esporas subterminales, las células vegetativas tienen forma de bastón de 2 a 5 μm , y presentan flagelos periféricos. Se dividen por fisión binaria y frecuentemente se encuentra creciendo en cadena. Es un microorganismo ubicuo del suelo, del cual se aísla con bastante frecuencia y presenta una distribución cosmopolita (Ibarra 2002).

La característica principal de *Bacillus thuringiensis* es que, simultáneo a la formación de la espora produce un cuerpo de naturaleza proteica denominado cristal o cuerpo paraesporal. Su denominación obedece a la conformación en látxice (red) de las moléculas. A diferencia de las especies mencionadas anteriormente esta bacteria forma un cristal mucho más notorio y separado de la espora. Estas proteínas cristalizadas separadas de la espora son liberadas al medio ambiente cuando se degrada la pared celular (autólisis) al final de la esporulación (Ibarra 2002).

Otras bacterias

Se encuentran dos especies del Género *Clostridium*, pertenecientes a la misma familia *Bacillaceae*: *C. brevifasciens* y *C. malacosomae*, ambas anaerobias y causantes de enfermedades infecciosas sobre el gusano telarañero, *Malacosoma pluviale*. Estas crecen en el mesenterón; paralizando a la larva, la cual muere por inanición y su cuerpo adquiere una apariencia distendida en forma de telescopio, llamada braquitosis. En Malasia se descubrió una nueva cepa de *C. bifermentans* con alta actividad mosquitocida (Ibarra 2002).

Dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, existen dos especies de conocida capacidad entomopatógena: *Serratia marcescens* y *S. entomophila*.

La primera es más conocida como modelo de estudio en laboratorios de genética molecular. Eventualmente se le encuentra causando altas mortalidades en los insectarios, donde las condiciones para su transmisión son favorables. Por lo tanto se le puede considerar un patógeno oportunista. Su rango de hospederos es muy amplio, y se le reconoce por formar colonias de un rojo brillante en placas de agar (Gallegos 2003).

La segunda especie es importante por ser la única bacteria, fuera de las *Bacillaceas*, que está comercializada como bioinsecticida. Esta bacteria al igual que *P. popilliae*, ataca a las gallinas ciegas de los pastizales. Como todas las bacterias entomopatógenas debe ser ingerida; Sin embargo, a diferencia de las

otras, su ataque no se dirige hacia el mesenterón sino hacia el proventrículo o “molleja” donde, debido a su producción de quitinasas, degrada la cubierta ectodérmica, adhiriéndose fuertemente a las células epiteliales. Es aquí donde al parecer, la presencia de pilli en la pared de las bacterias, determina su capacidad infectiva (Gallegos 2003).

Esta degradación seguida de la adhesión de las bacterias al epitelio, puede durar semanas y, en ocasiones, hasta meses; sin embargo, un ataque agudo puede impedir la alimentación de la larva en los siguientes dos a cinco días posteriores a la infección ocasionando la muerte por inanición en dos semanas (Gallegos 2003).

1.5.2 HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Los hongos causantes de enfermedades en insectos se encuentran virtualmente en todos los grupos taxonómicos a excepción de los *Basidiomycetes*. (Ver tabla No. 6, Alatorre 2002).

Se clasifican de acuerdo a su grado de virulencia como patógenos obligados, facultativos, que atacan a hospederos debilitados a comensales o simbióticos.

Las especies patógenas para los insectos se localizan principalmente en las familias:

Entomophthoraceae

Metharizium

Baauveria

Aschersonia

Zoophtora

Erynia

Erypniosis

Akanthomyces

Fusarium

Hirsutilla

Hymenostilbe

Paecilomyces

Verticillum.

El orden de los *Entomophthorales* presenta un elevado grado de adaptabilidad debido a sus características patológicas, biológicas y ecológicas, manifestando gran variabilidad de formas y estructuras entre las familias, y dentro de éstas, los diferentes géneros y familias existentes (Méndez 2001).

Tabla No. 6. Clasificación de algunos hongos entomopatógenos

División <i>Eumycota</i>	
Clase <i>Chytridiomycetes</i>	
Orden <i>Blastocladales</i>	<i>Coelomomyces</i>
Familia <i>Copelomomycetaceae</i>	
Clase <i>Oomycetes</i>	
Orden <i>Lagenidiales</i>	<i>Lagenidium</i>
Familia <i>Laegenidiceae</i>	
Orden <i>Saprolegniales</i>	<i>Leptolegnia</i>
Subdivisión <i>Zygomycota</i>	
Clase <i>Zygomycetes</i>	
Orden <i>Entomophthorales</i>	<i>Conidiobulus</i>
	<i>Entomophaga</i>
	<i>Entomophthora</i>
	<i>Erynia</i>
	<i>Furia</i>
	<i>Massospora</i>
	<i>Neozygites</i>
	<i>Pandora</i>
	<i>Stronwellsea</i>
	<i>Zoopthora</i>
Subdivisión <i>Ascomycota</i> (Telemorfos)	
Clase <i>Ascospaeromycetes</i>	<i>Tetranacrium</i>
Clase <i>Hyphomycetes</i>	<i>Acremonium</i>
Orden <i>Ascospherariales</i>	<i>Ascosphaera</i>
Clase <i>pyrnomycetes</i>	<i>Aegeritella</i>
	<i>Akantomycce</i>
Orden <i>Claviceptales</i>	<i>Eurotrium</i>
	<i>Beauveria</i>
	<i>Culcinomyces</i>
	<i>Cordyceps</i>
	<i>Torrubiella</i>
	<i>Fusarium</i>
	<i>Giberella</i>
Orden <i>Hypocreales</i>	<i>Nectria</i>
	<i>Hirsutella</i>
	<i>Hymenostilbe</i>
Clase <i>Loculasomycetes</i>	<i>Metarhizium</i>
	<i>Paecilomyces</i>
	<i>Verticillium</i>
Orden <i>Myriaginales</i>	<i>Myriangium</i>
Clase <i>Laboulbenomycetes</i>	
Orden <i>Laboulbeniales</i>	115 especies ectoparásitos
Subdivisión <i>Basidiomycota</i>	
Clase <i>Teliomycetes</i>	
Orden <i>Septobasidiales</i>	<i>Septobasidium</i>
Subdivisión <i>Deuteromycota</i> (amorfos)	
Clase <i>Coleomycetes</i>	<i>Aschersonia</i>

Tomada de Alatorre Op. Cit. P 96

En general, las fases que desarrollan los hongos sobre sus hospederos son; germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción (Gallegos 2003).

La unidad de infección está constituida por las estructuras de reproducción sexual y asexual, esporas y conidias.

El proceso comienza cuando la espора se adhiere a la cutícula del insecto; se produce un tubo germinativo (hifa de penetración) y un apresorio que se fija a la cutícula para penetrar al interior del insecto (Gallegos 2003).

La penetración se lleva a cabo por dos mecanismos; uno mecánico que consiste en presión ejercida por la estructura de penetración, ocasionando que se rompan las áreas membranosas y esclerosadas de la cutícula; el segundo es químico, y consiste en la acción enzimática de proteasas, lipasas y quitinasas, que degradan la cutícula (St. Leger 1991).

Después de la penetración, la hifa se ensancha y ramifica dentro del tejido del insecto, colonizando completamente la cavidad del cuerpo del insecto por medio de esporas y micelio (Figura 22).

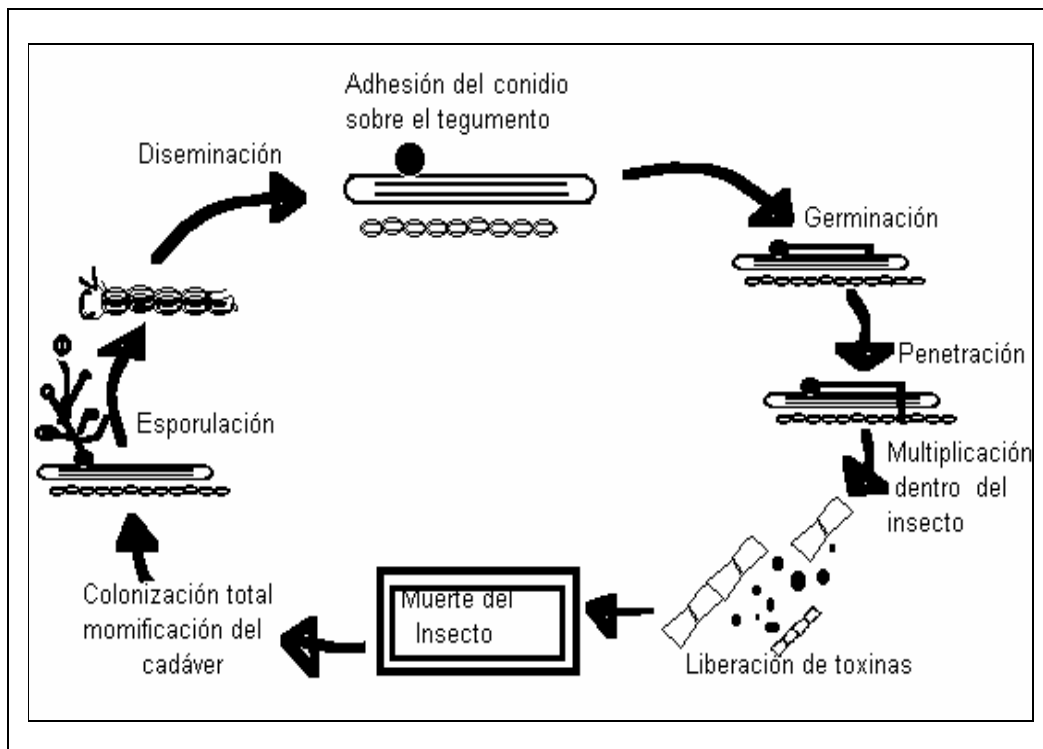


Figura No. 22. Ciclo y modo de infección de los hongos entomopatógenos. Tomado de Gallegos Op. Cit. pp. 63.

Los hongos entomopatógenos tienen la capacidad de sintetizar toxinas, que provocan alteraciones en varios organelos, paralizan las células o provocan disfunción en el intestino medio, los tubos de malpigio, el tejido muscular o los hemocitos (St. Leger 1991).

El efecto inhibitorio sobre los componentes celulares de la Hemolinfa, impide la actividad fagocítica de los plasmocitos y permite la rápida multiplicación del hongo reduciendo la capacidad del insecto hospedero para defenderse del ataque del hongo (St. Leger 1991).

La muerte del insecto se produce por tres tipos de daños; mecánico, al crecer el hongo oprime las estructuras vitales del insecto; desnutrición, el hongo utiliza los azúcares y proteínas presentes en la hemolinfa, y por la producción de metabolitos y toxinas (St. Leger 1991).

Los hongos entomopatógenos más conocidos son (Alatorre 2002):

a) *Beauveria bassiana*. Pertenece a la clase Deuteromycetes, orden Moniliales, Familia Moniliaceae. Entre las plagas de insectos más importantes atacadas por este hongo están la broca del café, la palomilla del repollo y el picudo del plátano. Los insectos muertos por este hongo presentan una cubierta blanca algodonosa sobre el cuerpo, la cual está formada por el micelio y esporas del hongo.

b) *Metarhizium anisopliae*. Al igual que *B. bassiana* Pertenece a la clase Deuteromycetes, orden Moniliales, Familia Moniliaceae. Algunas plagas que son infectadas por este hongo son la salivita de la caña de azúcar (*Aeneolamia varia*), y chinches plagas en diferentes cultivos. Los insectos muertos por este hongo son cubiertos por micelio, que inicialmente es de color blanco y se torna a verde cuando el hongo esporula.

c) *Verticillium lecanii*. Pertenece al mismo grupo que los anteriores, ataca áfidos y escamas en zonas tropicales y subtropicales. Ha sido encontrado además sobre insectos del orden *Coleoptera*, *Diptera*, *Hymenoptera* y sobre ácaros. Los insectos afectados por este hongo presentan un micelio blanco, que puede tornarse verde con la esporulación.

d) *Nomureae rileyi*. Este hongo ataca a más de treinta y dos especies de insectos de los órdenes *Coleoptera*, *Lepidoptera* y *Orthoptera*. El cuerpo de los insectos por este hongo presenta un micelio blanco, que puede tornarse verde con la esporulación.

1.6 IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS

La identificación de una bacteria consiste en la determinación de las características fenotípicas y/o genotípicas y la comparación de éstas con los diferentes taxones de clasificación considerados (Guerci 1988, y Lennette 1985). Las características a determinar y su número depende principalmente del tipo de bacteria.

La identificación de un aislamiento bacteriano puede realizarse utilizando diferentes combinaciones de características y diferentes criterios en la evaluación de similitudes (Guerci 1988).

Los ensayos bioquímicos tradicionalmente utilizados, generalmente determinan la actividad de una vía metabólica (conjunto de reacciones químicas) a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer transforma o no (Guerci 1988).

Las pruebas o ensayos bioquímicos, son pruebas simples que se han desarrollado para demostrar en forma clara una determinada característica bioquímica como presencia o ausencia de una determinada actividad enzimática, grupo de enzimas o determinada vía metabólica, crecimiento a una determinada temperatura, crecimiento en presencia de inhibidores, etc. No significan de ninguna manera un estudio profundo del metabolismo bacteriano.

Para llevarlas a cabo, se pueden utilizar diferentes sistemas de trabajo (medio de cultivo, indicador, revelador, etc.) que puede ser diferente aún para el mismo ensayo si se trata de diferentes microorganismos. Por ejemplo se debe suplir con factores de crecimiento el medio de cultivo para estudiar la fermentación de distintos azúcares cuando se sabe que el microorganismo en estudio es exigente (Baca 2005).

Para ello se debe realizar un esquema de trabajo para la identificación de una cepa bacteriana desde el punto de vista bioquímico (Biotipo) que consta de los siguientes pasos (Guerci 1988, y Lennette 1985):

- 1) Obtención de un cultivo puro con el fin de tener un solo tipo de microorganismo y determinar sus características.
- 2) Examen microscópico de células vivas y de frotis teñido por coloración de Gram, para determinar así la forma y su capacidad tintorial del microorganismo en estudio. Otras características importantes a determinar por microscopía son: la agrupación, presencia de esporas y cápsula entre otras (Guerci 1988).
- 3) Determinación de las características nutricionales (Baca 2002); para establecer como adquieren la fuente de carbono, ya sea utilizando CO₂ (quimioautótrofos) o compuestos orgánicos (quimioheterótrofos).
- 4) Realización de pruebas primarias (Baca 2003): Se utilizan un grupo de pruebas, denominadas pruebas primarias, con las cuales se puede determinar

el género y familia a la que pertenece un aislamiento. Las pruebas primarias son: Gram, morfología, catalasa, oxidasa, Oxidación Fermentación (O/F), formación de esporas, crecimiento en anaerobiosis y aerobiosis, y movilidad.

5) Elaboración de pruebas secundarias y terciarias a efectos de llegar a especie. Estas dependerán del género o familia determinado. (ej: producción de pigmentos, producción de indol a partir de triptofano, producción de coagulasa, de fenil amilasa, etc.)

Para realizar identificaciones más rápidas, o cuando las pruebas bioquímicas no son concluyentes, se recurre al uso de sueros que contienen anticuerpos específicos del microorganismo (Baca 2005). Los antígenos bacterianos pueden ser capsulares, somáticos (O) que corresponden al lipopolisacárido de la pared de los Gram negativos, flagelares (H), y los sueros se identifican con esas letras y el número o letra del antígeno correspondiente (Baca 2005).

En una primera identificación se usan sueros polivalentes, que son sueros que contienen varios tipos de anticuerpos, y para la caracterización serológica se usan sueros monovalentes dentro de cada tipo de antígeno (Baca 2005). Existen en el comercio sueros para caracterización de: *Salmonella*, *Shigella*, *E.coli*, *Haemophilus*, etc.

También se pueden utilizar métodos de cromatografía gaseosa, que es una técnica que determina los componentes químicos de una sustancia arrastradas por una sustancia eluyente en fase gaseosa (Baca 2005), para identificar productos metabólicos, en particular para la identificación de bacterias anaerobias no esporuladas como son *Bacteroides* y *Fusobacterium* entre otros

Existen diferentes sistemas que facilitan la realización de tales ensayos, porque proponen el mejor conjunto de pruebas bioquímicas para la identificación de un grupo bacteriano, porque simplifican la interpretación de un resultado utilizando un valor numérico, porque proveen los reactivos listos para su uso o porque son totalmente automatizables (Martínez-Romero 2004).

A la determinación de la especie se puede llegar según diversos sistemas (manuales de identificación, comerciales, métodos fisicoquímicos etc.). Los sistemas comerciales utilizan modificaciones de las pruebas bioquímicas convencionales, ya sea sustratos deshidratados, tiras de papel de filtro impregnadas en reactivos o pequeños compartimentos con medios listos para sembrar. En todos los casos se emplean códigos numéricos para la interpretación de resultados (Guerci 1988, Martínez-Romero 2004). Los sistemas comerciales más comúnmente usados son :

•BBL, ENTEROTUBE II (Becton Dickinson). Es un sistema para usar en la identificación de Enterobacterias, definida como bacilos gram (-), aerobios o anaerobios facultativos, oxidasa (-). Consiste en un tubo de plástico con 12 medios de cultivo contenidos en compartimentos individuales que se inoculan simultáneamente en una etapa y permiten la detección de 15 características bioquímicas.

•OXI/FERM TUBE II, (Becton Dickinson). Es un sistema listo para usar para la identificación de bastones gram (-), aerobios o anaerobios facultativos, oxidasa (+). Consiste en un tubo de plástico de 12 medios de cultivo que permite la realización simultánea de 14 pruebas bioquímicas.

•API 20 E. Es un sistema estandarizado para la identificación de Bacterias gram (-). Consiste en una plantilla con microtubos conteniendo medios de cultivo deshidratados que se reconstituyen al agregar una suspensión bacteriana. Permite la realización de 20 pruebas bioquímicas a partir de una única colonia bacteriana.

Otros sistemas:

Quintet 3H de Diagnostics Pasteur para Enterobacterias.

API 10S, versión miniaturizada del API 20 E

API Listeria

API NH (Neisseria - Haemophilus)

Existen también sistemas de identificación comerciales para levaduras:

API 20 C (Para levaduras de importancia clínica)

Auxacolor de Diagnostics Pasteur

Fongiscreen 4H de Diagnostics Pasteur (Para identificación de levaduras de interés médico)

En todos los casos se debe tener un cultivo fresco (18-24 hrs. de incubación) en un medio en que el microorganismo se desarrolla en forma óptima, a pH, fuerza iónica, atmósfera y temperatura adecuados (Guerci 1988).

Siempre que se prepara un nuevo lote de medio de cultivo para una prueba, deben llevarse a cabo los correspondientes controles de calidad, sembrando en dicho medio una cepa positiva y otra negativa para ese test (Gueci 1988).

Existe una gran variedad de pruebas bioquímicas utilizadas con fines de identificación, se mencionarán a continuación las que son utilizadas con mayor frecuencia, agrupadas según el tipo de ensayo y se denominan conforme a su nombre corriente (Guerci 1988, Lennette 1985, Martínez-Romero 2004).

1. Enzimas vinculadas con la respiración:

- a) Oxidasa
- b) Catalasa

2. Descomposición de azúcares simples, ácidos orgánicos y otros:

2.1 Con requerimiento de oxígeno

- a) O/F (óxido- fermentación).
- b) Crecimiento en caldo tioglicolato.

2.2 Producción de ácido, o ácido y gas:

Fermentación de carbohidratos.

- 2.3 Detección de enzimas y vías metabólicas
 - a) RM-VP (Rojo de Metilo- Voges Poskawer).
 - b) Gluconato.
 - c) ONPG (Orto Nitro β -D- Galactopiranosico).
 - d) Esculina.
 - e) Hipurato.

- 3. Fuente única de Carbono:
 - a) Citrato.
 - b) Malonato.
 - c) Hipurato para coniformes.

- 4. Utilización de compuestos Nitrogenados:
 - 4.1 Reducción de Nitrato.
 - a) Asimilación.
 - b) Denitrificación.

 - 4.2 Descomposición de Carbohidratos, Aminoácidos y otros.
 - a) Indol.
 - b) H₂S.
 - c) Fenilalanina.
 - d) Lisina, Arginina, Ornitina.
 - e) Urea.

- 5. Ensayos combinados:
 - a) TSI (Triple Azúcar Hierro).
 - b) LIA (Agar Hierro Lisina).
 - c) Bilis esculina.

- 6. Detección de coenzimas:
 - a) Lecitinasa.
 - b) Proteasas, Coagulasa.
 - c) Amilasas.
 - d) Celulasas.
 - e) Desoxirribonucleasas.
 - f) Acción de microorganismos sobre la sangre.

- 7. Misceláneos:
 - a) KCN.
 - b) Billis.
 - c) Producción de pigmentos.

- 8. Test de crecimiento o inhibición:
 - a) Temperatura.
 - b) NaCl.
 - d) Antibióticos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los problemas más frecuentes que afecta a la población de *Comadia redtenbacheri* en su estadio larvario, es la elevada mortalidad que se presenta cuando se intenta inducir la pupación en los puparios. Al revisar estudios que se han realizado con anterioridad sobre esta especie, nos damos cuenta que no existe información reportada acerca de los microorganismos asociados al gusano rojo de maguey.

En ese sentido, el problema a resolver consiste en determinar las bacterias y hongos asociados a *Comadia redtenbacheri* en su estado larval, como un primer paso, en el conocimiento para futuros estudios entomopatológicos que se puedan efectuar.

JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN

Como se menciona anteriormente, los gusanos del maguey pueden ser una alternativa eficiente para la alimentación de la población, y generar recursos económicos para las comunidades rurales.

La importancia de este estudio es aportar mas datos sobre la microbiología del gusano rojo del maguey, y contribuir de algún modo a la implementación de técnicas eficaces que permitan un manejo y utilización racional, procurando la preservación de esta especie y su entorno ecológico.

2. HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

La hipótesis planteada en este proyecto es que los microorganismos aislados en el gusano rojo del maguey, pertenecen a especies que se reportan como microorganismos inocuos.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

El objetivo general del presente trabajo es determinar microorganismos asociados al gusano rojo del maguey (*Comadia redtenbacheri*)

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Aislar microorganismos procedentes del intestino de la larva del gusano rojo de maguey.
- b) Utilizar equipos miniaturizados comerciales para la identificación de los microorganismos asociados al gusano rojo de maguey.
- c) Observar si las especies aisladas del gusano rojo de maguey son reportadas como oportunistas.
- d) Proponer algunos lineamientos de control y prevención microbiológico en la manipulación del gusano rojo del maguey.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4. PARTE EXPERIMENTAL.

La metodología se dividirá en dos etapas:

La primera consiste en reunir toda la información posible referente al tema mediante consultas bibliográficas o con especialistas en la materia.

La segunda es el desarrollo experimental. Obtenidas las muestras proporcionadas por la Organización Ambientalista Tlaxcalteca Ometeotl, A.C., se realizará el estudio microbiológico siguiente:

4.1. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

↘ **Equipo:**

- Autoclave
- Campana de Flujo laminar
- Incubadora ajustada a 28°C
- Incubadora ajustada a 37°C
- Microscopio estereoscópico
- Microscopio óptico
- Refrigerador ajustado a 4°C

↘ **Materiales varios de uso en el laboratorio de microbiología:**

- Asa Bacteriológica
- Asa Micológica
- Cajas Petri desechables de 15 X 100
- Equipo de Disección
- Mechero Bunsen
- Mortero con pistilo
- Pipetas Pasteur
- Portaobjetos
- Tubos de ensaye

↘ **Reactivos:**

- Aceite de inmersión
- Alcohol acetona
- Azul de Lactofenol
- Cristal violeta
- Lugol
- Safranina
- Solución Buffer de Fosfatos a pH 7
- Solución Buffer de Fosfatos a pH 7 estéril

➤ **Medios de cultivo**

Caldo Sabouraud
Caldo Tioglicolato
Agar Sabouraud
Agar Mac Conkey
Agar Gelosa Chocolate
Agar Tioglicolato

➤ **Sistemas comerciales de identificación utilizados**

API 20E
API STAPH
API 20 AUX

➤ **Material biológico:**

Larvas de gusano rojo de maguey (*Comadia redtenbacheri*) colectados del municipio de Calpulalpan, Tlaxcala durante los meses de Septiembre y Octubre del año 2003.

4.2 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

1. Inspección ocular para separar las larvas sanas de las enfermas.

El criterio de selección será por su color, tamaño y movilidad, contando con la asesoría del Doctor Alejandro Camacho del departamento de entomología de la ENCB.

2. Con ayuda del microscopio estereoscópico se observan características morfológicas, tanto de larvas sanas como de larvas enfermas, a las larvas enfermas se les busca posibles lesiones cutáneas.

3. Las larvas seleccionadas se registran con un código para cada una. Dicho código constará de dos letras mayúsculas que indicarán el origen del municipio donde proviene la muestra, y dos cifras que pertenecerán al número proporcionado a la muestra.

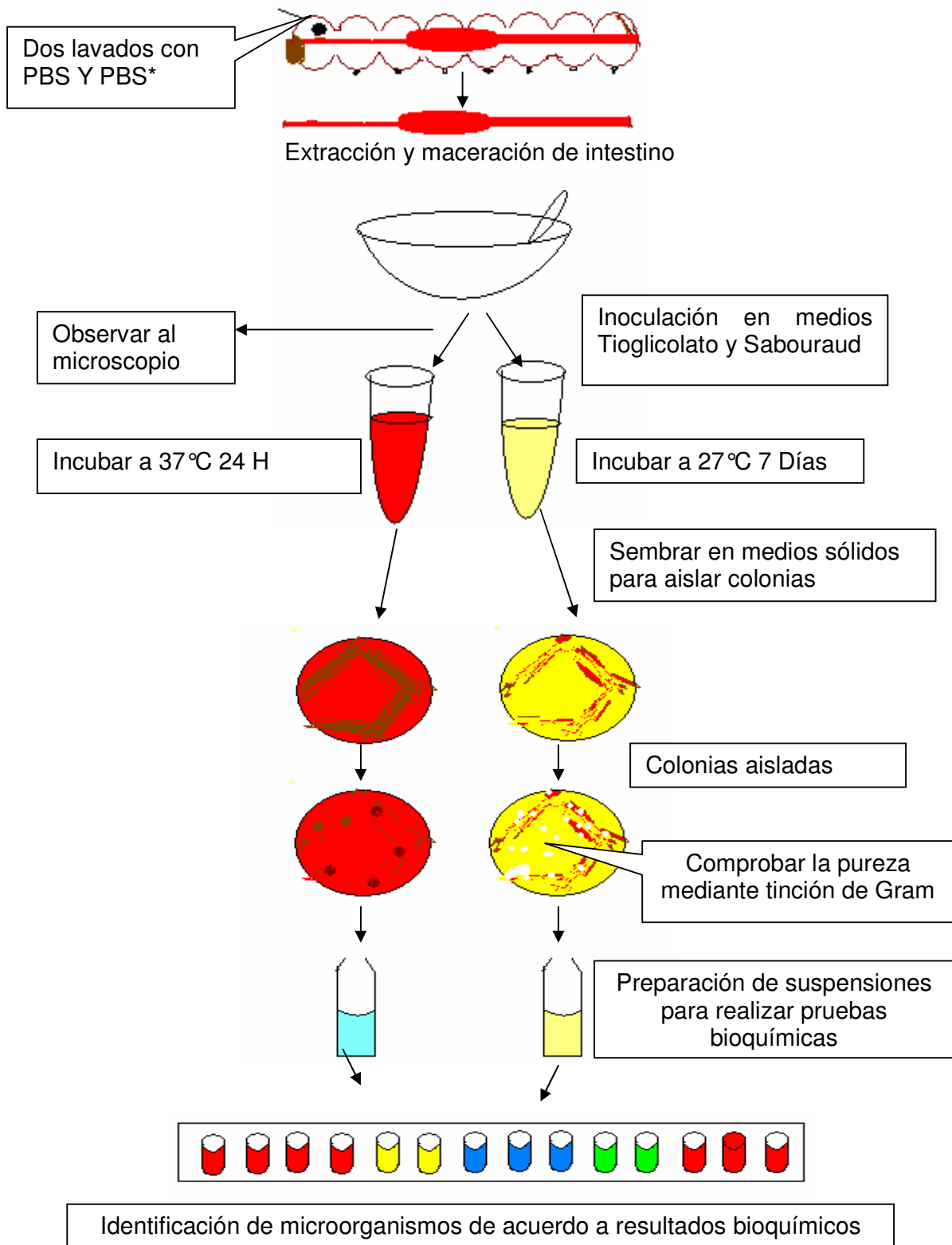
Por ejemplo; CU01 corresponde a *Comadia redtenbacheri*, Proveniente de Santiago Cuauila, siendo la primera muestra seleccionada.

4. Se introduce la larva en una cámara de éter

5. Cada larva seleccionada es lavada con solución Buffer de Fosfatos (PBS) a pH 7 en dos ocasiones. Se efectúa un tercer lavado a cada larva con solución Buffer de Fosfatos a pH 7 estéril (PBS*).

- 6.** Se extrae el aparato digestivo por separado a cada larva, sana o enferma.
- 7.** Se macera en un vidrio de reloj procurando obtener una consistencia uniforme.
- 8.** Se observan al microscopio óptico, una muestra del macerado buscando posibles microorganismos asociados a infección.
- 9.** Se siembra una muestra de cada uno de los macerados en Caldo Tioglicolato (CT) y Sabouraud (CS). También se siembra una larva completa en ambos caldos.
- 10.** Las muestras sembradas en Caldo Tioglicolato se incuban a 37°C durante 24 horas, las de Sabouraud se incuban a 28°C por 7 días.
- 11.** Transcurrido el tiempo de incubación para el medio Tioglicolato, se procede a sembrar en Agar sangre de Carnero (ASC), Agar Mac Conkey (McC) y Gelosa Chocolate (GC), se incuba por 24 horas a 37°C para ver si hay crecimiento bacteriano.
- 12.** Cumplido el tiempo de incubación para el medio Sabouraud, se observa al microscopio óptico buscando crecimiento de hongos y se siembra en agar Sabouraud.
- 13.** Se observan y reportan características culturales.
- 14.** Se procede a la separación e identificación de los microorganismos aislados. La identificación se realiza con equipos miniaturizados API; para bacilos gram negativos se efectuarán utilizando API 20E, para estafilococos gram positivos STHAP y para levaduras API 20 AUX.

DIAGRAMA DE FLUJO DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA



Con la colaboración de los profesores; Luciano Hernández y Ma. Antonieta Silva.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

Se usaron veintitrés larvas proporcionadas por la Organización Ambientalista Tlaxcalteca Omoteotl A.C., y el departamento de entomología de la ENCB del IPN de cuatro diferentes zonas geográficas, que se pueden observar en la tabla No. 7, además se muestran las características de lesión, movilidad y talla identificadas en cada una de las larvas.

Tabla No. 7. Características observadas en las larvas sacrificadas para su estudio microbiológico.

Clave	Procedencia	Observaciones	Movi- lidad	Largo aprox. (cm)
CU01	Santiago Cuauila	Lesión blanquecina en la 8ª. div. del dorso	+	3.5
CU02	Santiago Cuauila	2 lesiones aparentes oscuras en las div. 6 y 7	+	4.0
CU03	Santiago Cuauila	No se observa lesión.	-	4.0
CU04	Santiago Cuauila	Coloración oscura en la parte dorsal y ventral.	-	4.0
CU05	Santiago Cuauila	Lesión blanquecina dorsal entre 7ª. y 8ª. div.	+	3.5
CU06	Santiago Cuauila	No se observa lesión.	-	4.0
SU01	Sn Felipe Sultepec	2 lesiones oscuras en la parte dorsal 8ª. div.	+	3.5
SU02	Sn Felipe Sultepec	Una lesión oscura en la parte ventral, 4ª. div..	+	4.0
SU03	Sn Felipe Sultepec	Dos lesiones: 7ª. div.. parte dorsal, y 4ª. div. parte ventral.	+	4.0
SU04	Sn Felipe Sultepec	Una lesión oscura, abarca casi toda la parte dorsal	+	4.0
SU05	Sn Felipe Sultepec	Una lesión oscura que abarca toda la parte dorsal.	+	4.0
SU06	Sn Felipe Sultepec	Una lesión oscura en la parte ventral 4ª. div.	+	4.0
SU07	Sn Felipe Sultepec	Sin lesión aparente, coloración pálida	+	4.0
SM01	San Mateo Actipac	Ennegrecimiento parte dorsal div.. 3 y 4.	+	4.0
SM02	San Mateo Actipac	Ennegrecimiento toda la parte dorsal y en la parte ventral, div. 3 y 5.	+	3.5
SM03	San Mateo Actipac	Ennegrecimiento parte dorsal 3ª. a 5ª. div. , y 5ª. div. ventral	+	4.0
SM04	San Mateo Actipac	Lesión blanquecina 8ª. div.	+	3.5
SM05	San Mateo Actipac	Sin lesión aparente.	-	4.0
PE01	San Pedro Ahuatepac	Lesiones blanquecinas en todo el cuerpo	+	4.0
PE02	San Pedro Ahuatepac	Lesión oscura en el dorso divisiones 5 y 6.	+	3.5
PE03	San Pedro Ahuatepac	Ennegrecimiento en toda la parte dorsal.	-	4.0
PE04	San Pedro Ahuatepac	Dos lesiones blanquecinas dorsales entre las div. 7 y 8.	-	4.0
PE05	San Pedro Ahuatepac	No hay lesión aparente	-	4.0

De los intestinos procesados se recuperaron 51 microorganismos que corresponden a 43 bacterias (13 cocos y 30 bacilos), 7 hongos levaduriformes y un hongo filamentososo. Sus características macroscópicas en los medios se resumen en la tabla No. 8. En las figuras 23 y 24 se observan los crecimientos en los microorganismos aislados en los diferentes medios.

Tabla No. 8. Características macroscópicas observadas en los medios de aislamiento.

Medio	Tipo de colonia
Agar Sangre	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias blanquecinas, redondas, aspecto brillante. • Colonias grisáceas, redondas brillosas, no hemolíticas.
Mc Conkey	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias blancas, de aspecto mucoso. • Colonias amarillentas, redondas de aspecto brillante. • Colonias grisáceas, redondas brillosas. • Colonias rojas, redondas de aspecto mucoso.
Agar Sabouraud	<ul style="list-style-type: none"> • Colonias blancas, redondas de aspecto mucoso. • Colonia blanca, vellosa, húmeda.

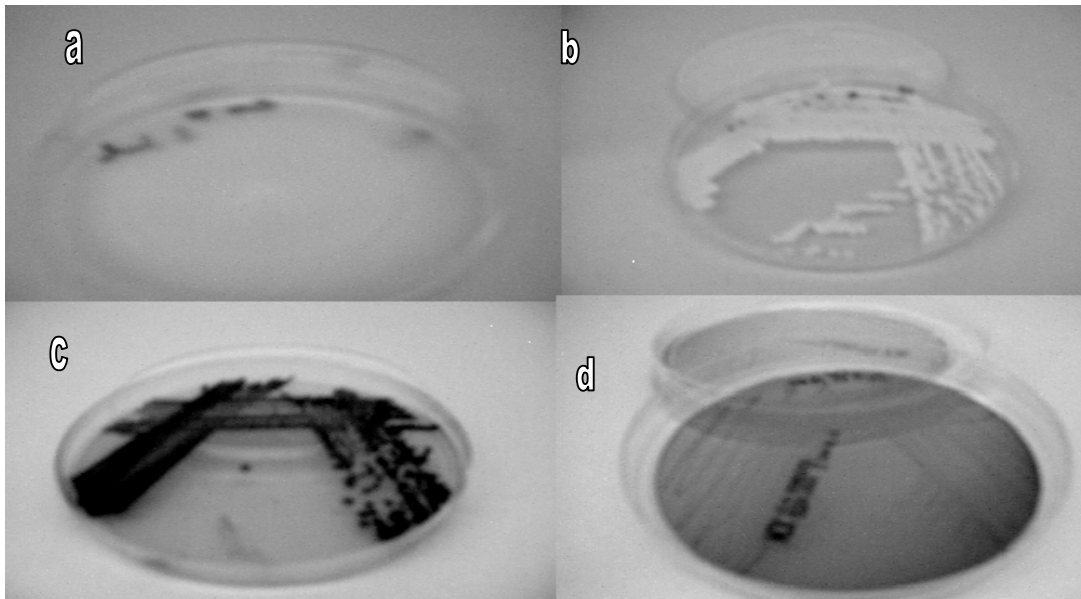


Figura No. 23. Microorganismos aislados en diversos medios de cultivo; a). Hongo filamentososo en Agar Sabouraud, b). Levadura en el mismo medio, c). Bacterias en Agar Mc Conkey, d). Crecimiento en Agar Sangre de Carnero. Fotografías cortesía del Prof. Martín Urquiza.

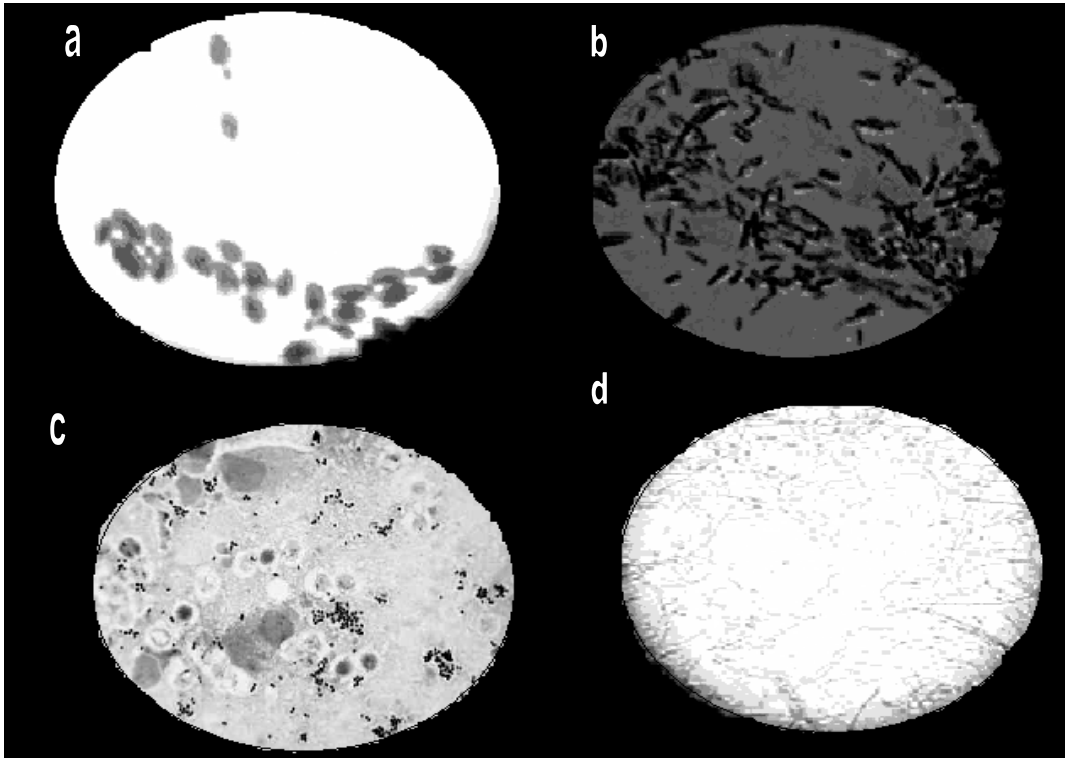


Figura No. 24. Observaciones microscópicas de las colonias aisladas. a). Levaduras teñidas con azul de lactofenol. b). Bacilos gram negativos. c). Cocos gram positivos. d), Observación de hifas y arthroconidios de *un Hongo*. Fotografías cortesía del Prof. Martín Urquiza.

Los resultados bioquímicos para los bacilos gram negativo, arrojaron que en 27 ocasiones se identificó el género *Alcaligenes faecalis*, en dos a *Citrobacter freundii*, y una a *Serratia marcescens* y *Acinetobacter calcoaceticus variedad anitratus*. En las tablas 9 y 10 se muestran los resultados.

Tabla No. 9. Perfil bioquímico para bacilos gram negativos con api 20E.

Mtra:	P B A	L A C *	O N P G	A N D H	L D C	O D C	C Y T	H ₂ S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	O X * 2	N 2		
CU01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	
CU02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
CU02 ^º	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-
CU03	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
CU03 ^º	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
CU04	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
CU05	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
CU06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU04 ^º	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU04 ^{ºº}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SU07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SM01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SMO1 ^º	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SMO1 ^{ºº}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SM02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SM03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SMO3 ^º	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SMO4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SM05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
PE01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
PE02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
PE03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
PE04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
PE05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-

*La lectura de Lactosa (LAC), se observó directamente del cultivo en medio Mc Conkey.

** La prueba de Oxidasa (OX), se realizó por el método de Kovac.

º Hubo muestras donde se apreciaba más de una colonia diferente.

Tabla No. 10. Relación del perfil numérico y el nombre del microorganismo

Muestra	Perfil numérico	Microorganismo Tabla api 20	Microorganismo Según Lennette
CU01	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
CU02	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
CU02°	73475254	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
CU03	41010044	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus var. anitratus</i>
CU03°	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
CU04	17067734	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
CU05	17067734	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
CU06	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU01	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU02	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU03	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU04	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU04°	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU04°°	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU05	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU06	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SU07	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM01	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM01°	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM01°°	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM02	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM03	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM03°	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM04	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM05	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
SM06	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
PE01	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
PE02	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
PE03	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
PE04	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
PE05	00000044	<i>Alcaligenes sp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>

Para los cocos gram positivos, 2 correspondieron a *Staphylococcus xylosus*, 2 a *Streptococcus del grupo D*, 9 *Enterococcus* y 2 no *Enterococcus*. Los resultados se pueden apreciar en las tablas 11, 12, 13 y 14.

Tabla No. 11. Perfil bioquímico para *Streptococcus* gram positivos.

Mtra:	P B A	G L U	F R U	M N E	M A L	L A C	T R E	M A N	X L T	M E L	N Y T	P A L	V P	R A F	X Y L	S A C	M D G	N A G	A D H	N O ₂	N O ₂	N a C l %	C A T *	B I L I S	E S C **	H E M ***	C O A G .
CU02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
CU04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
CU05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
SU01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
SU02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
SU03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
SU05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
SM01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
SM02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
SM03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
PE04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-

*La prueba de catalasa se realizó por el método de peróxido de Hidrógeno (H₂O₂).

**Se realizó por siembra en medio bilis esculina.

*** Se Observó directamente de los aislados en medio agar sangre.

Tabla No. 12. Resultados de las pruebas bioquímicas para *Estreptococos*

Muestra	Microorganismo
CU02	<i>Streptococo grupo D</i>
CU04	<i>Enterococcus faecalis</i>
CU05	<i>Enterococcus faecalis</i>
SU01	<i>Enterococcus faecalis</i>
SU02	<i>Enterococcus faecalis</i>
SU03	<i>Streptococcus grupo D</i>
SU05	<i>Enterococcus faecalis</i>
SM01	<i>Enterococcus faecalis</i>
SM02	<i>Streptococcus grupo D</i>
SM03	<i>Enterococcus faecalis</i>
PE04	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tabla No. 13. Perfil bioquímico de los estafilococos gram positivos con api STAPH.

Mtra:	P B A	G L U	F R U	M N E	M A L	L A C	T R E	M A N	X L T	M E L	N Y T	P A L	V P	R A F	X Y L	S A C	M D G	N A G	A D H	N O ₂	N ₂	N a C I %	C A T *	B I L I S	E S C **	H E M ** *	C O A G
CU01	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-
CU03	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-

*La prueba de catalasa se realizó por el método de peróxido de Hidrógeno (H₂O₂).

**Se realizó por siembra en medio bilis esculina.

*** Se observó directamente de los aislados en medio agar sangre.

Tabla No. 14. relación del perfil numérico y los resultados de las pruebas bioquímicas para estafilococos gram positivos.

Muestra	Microorganismo
CU01	<i>Staphylococcus xylosus</i>
CU03	<i>Staphylococcus xylosus</i>

Los hongos levaduriformes pertenecieron al género *Candida*; tres de la especie *Candida boidinii*, una *Candida rugosa*, una *Candida famata* y una *Candida lusitaniae*. Los resultados se muestran en las tablas 15 y 16.

Tabla No. 15. Resultados de las pruebas bioquímicas realizadas en LEVADURAS con api 20 AUX.

Mtra:	P B A	G L U	G L Y	2 K G	A R A	X Y L	A D O	X L T	G A L	Y N O	S O R	M D G	N A G	C E L	L A C	M A L	S A C	T R E	M L Z	R A F	Pseudo hifas *
CU04	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SMO1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
SMO2	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
SMO4	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
PE02	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PE03	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-

*La observación de pseudohifa se realizó en muestras sembradas en medio Corn Meal mas 1 % de Tween 80.

Tabla No. 16. Relación del perfil numérico y los resultados de las pruebas bioquímicas para levaduras.

Muestra	Perfil numérico	Microorganismo
CU04	6632100	<i>Candida boidinii</i>
SM01	6732104	<i>Candida boidinii</i>
SM02	6662004	<i>Candida rugosa</i>
SM04	6556373	<i>Candida famata</i>
PE02	6432100	<i>Candida boidinii</i>
PE03	2556371	<i>Candida lusitaniae</i>

En lo correspondiente al aislamiento de hongos filamentosos, se aisló un solo tipo de hongo filamentoso en la muestra (PE02) que presentó las siguientes características macroscópicas en agar Sabouraud:

Anverso

Tamaño: Ilimitado
Color: Blanco-amarillento
Forma: Plana
Aspecto: Velloso, Húmedo

Reverso

No presenta pigmento.

Microscópicamente presentó las siguientes características:

Micelio macrosifonado, hialino, septado, se reproduce por arthroconidios.

De acuerdo a estas características macro y microscópicas, el hongo se identificó como *Geotrichum sp.*

En total se identificaron:

- Cuatro bacilos gram positivos; *Alcaligenes faecalis*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter calcoaceticus variedad anitratus* y *Serratia marcescens*.
- Tres cocos gram positivos; *Enterococcus faecalis*, *Streptococo del grupo D* y *Staphylococcus xylosus*.
- Cuatro levaduras; *Candida boidini*, *Candida rugosa*, *Candida famata* y *Candida lusitaniae*.
- Un hongo filamentoso; *Geotrichum sp.*

En la tabla No. 17 se mencionan todos los microorganismos aislados e identificados por cada muestra trabajada.

Tabla No. 17. Relación de microorganismos aislados en cada muestra.

Muestra	Bacilos G -	Cocos G +	Levaduras	Hongos
CU01	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Streptococo</i> grupo D <i>Staphylococcus xylosus</i> .		
CU02	<i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Serratia marcescens</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		
CU03	<i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> variedad <i>anitratu</i> s	<i>Streptococo</i> grupo D <i>Staphylococcus xylosus</i>		
CU04	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Candida boidinii</i>	
CU05	<i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		
CU06	<i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Citrobacter freundii</i>			
SU01	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		
SU02	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		
SU03	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Streptococo</i> grupo D		
SU04	<i>Alcaligenes faecalis</i>			
SU05	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		
SU06	<i>Alcaligenes faecalis</i>			
SU07	<i>Alcaligenes faecalis</i>			
SM01	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Candida boidinii</i>	
SM02	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Streptococo</i> grupo D	<i>Candida rugosa</i>	
SM03	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		
SM04	<i>Alcaligenes faecalis</i>		<i>Candida famata</i>	
SM05	<i>Alcaligenes faecalis</i>			
PE01	<i>Alcaligenes faecalis</i>			
PE02	<i>Alcaligenes faecalis</i>		<i>Candida boidinii</i>	<i>Geotrichum sp</i>
PE03	<i>Alcaligenes faecalis</i>		<i>Candida lusitaniae</i>	
PE04	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		
PE05	<i>Alcaligenes faecalis</i>			

ANÁLISIS DE RESULTADOS

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Todas las larvas fueron proporcionadas por la Organización Ambientalista Tlaxcalteca Ometeotl, A. C., y se seleccionaron de acuerdo a los criterios del Doctor Alejandro Camacho.

Del intestino de *Comadia redlenbacheri* se aislaron doce tipos diferentes de microorganismos (Tabla 18 y figura 25), al parecer son muy pocas para la gran cantidad de microorganismos que se encuentran en él (Lennette 1985, Martínez-Romero 2004). Algunos autores (Baca 2005, Eckburg 2005) reportan que solo se han podido cultivar menos del 1% de los microorganismos de los diferentes hábitats, asimismo mencionan que la flora bacteriana del intestino se divide en dos: Los que se asocian a la pared de la mucosa y los que se encuentran en heces. En este trabajo solamente se realizaron aislados de intestino, no separando las fases, lo que justifica el número reducido de microorganismos obtenidos. Otros factores que se deben considerar son; que los microorganismos no cultivables requieren nutrientes específicos que sólo se encuentran en condiciones naturales, o que los nutrientes requeridos sean proporcionados por microorganismos asociados (sintropismo), esta asociación se desarrolla entre microorganismos anaerobios y facultativos, instalados en la mucosa formando coagregados (Silva 1997).

Tabla No. 18. Frecuencia de microorganismos aislados en las muestras de *Comadia redlenbacheri*

No.	Microorganismo	Número de aislamientos obtenidos	Frecuencia con respecto al número de muestras tratadas (%)
1	<i>Alcaligenes faecalis</i>	27	100.00
2	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> var. <i>Anitratus</i>	1	4.34
3	<i>Citrobacter freundii</i>	2	8.69
4	<i>Serratia marcescens</i>	1	4.34
5	<i>Enterococcus faecalis</i>	9	39.13
6	<i>Streptococcus grupo D</i>	2	8.69
7	<i>Staphylococcus xylosus</i>	2	8.69
8	<i>Candida boidinii</i>	3	13.04
9	<i>Candida famata</i>	1	4.34
10	<i>Candida rugosa</i>	1	4.34
11	<i>Candida lusitaniae</i>	1	4.34
12	<i>Geotrichum sp</i>	1	4.34

En este estudio los microorganismos aislados se desarrollaron en un ambiente aerobio, aunque también se sembraron las muestras en ambiente anaerobio, en el cual no se obtuvo crecimiento alguno, y solo se pudieron aislar microorganismos aerobios y facultativos.

De los microorganismos aislados *Serratia marcescens*, (recuperado de la muestra CU02) es la única especie reportada como entomopatógena (Ibarra 2002), en este trabajo no se puede aseverar su patogenicidad en la larva estudiada, ya que las características de lesión y movilidad no difieren de las larvas en las que no se aisló. Por otro lado, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus del grupo D*, son microorganismos relacionados a mucosas intestinales y heces fecales tanto del hombre como animal. *Candida sp*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Geotrichum* y *Staphylococcus* son microorganismos relacionados con el medio ambiente por lo tanto no se consideran patógenos sino comensales (Lennette 1985).

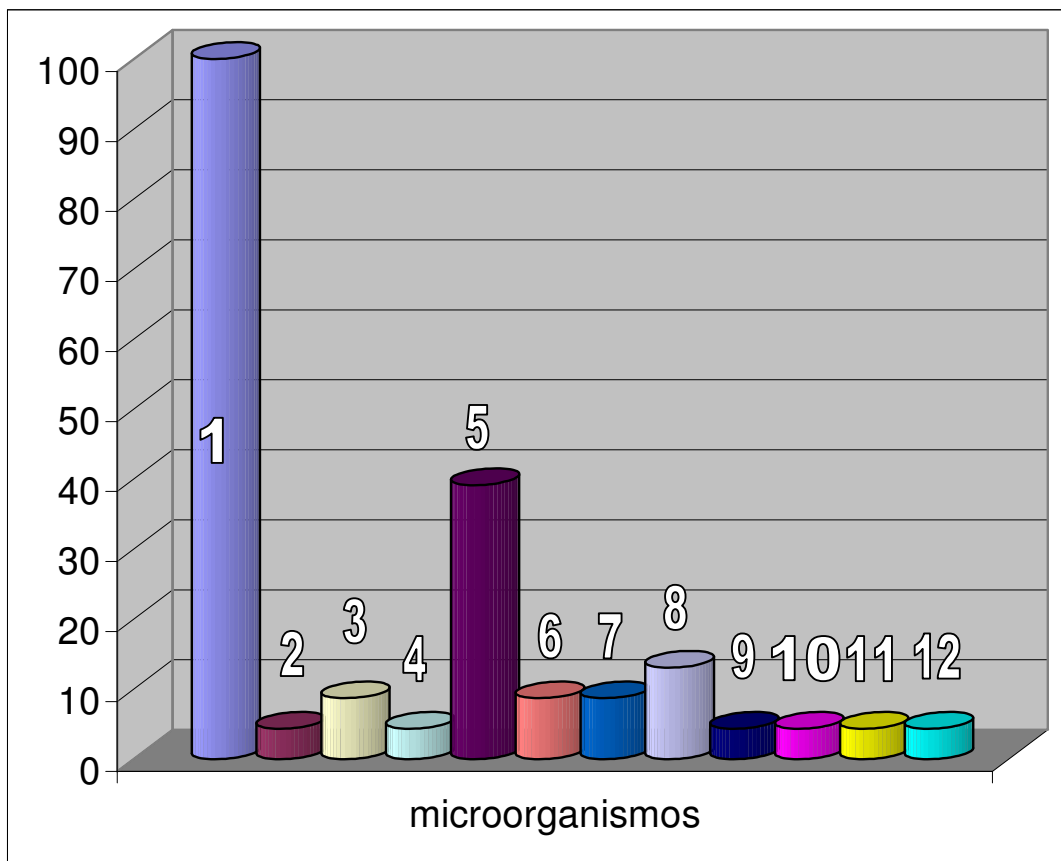


Figura No. 25. Gráfico de frecuencia de microorganismos en relación con el total de muestras estudiadas. El número indica el microorganismo que corresponde de la tabla No. 18.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar que en las cuatro zonas de procedencia de las larvas (Tablas 17 y 18, y figura 10), el microorganismo que predomina es el *Alcaligenes faecalis* con una frecuencia de 100% de las muestras tratadas y presente en todas las zonas. El segundo lugar lo ocupa *Enterococcus faecalis* con una incidencia de 39.13% también presente en las cuatro zonas. Mientras que las restantes sólo se recuperaron de determinadas zonas. Observando estos datos no se aprecia relación alguna entre los microorganismos aislados y la zona de procedencia de las larvas.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- Se aislaron e identificaron doce microorganismos del intestino del gusano rojo del maguey (*Comadia redtenbacheri* H) como se menciona en los resultados.
- Una de las mayores dificultades de este estudio fue el no contar con antecedentes bibliográficos referentes a la microbiología asociada al gusano rojo del maguey, por lo que los resultados obtenidos son de gran importancia para futuras investigaciones.
- *Alcaligenes faecalis* se recuperó en una proporción de 100% de las larvas muestreadas provenientes de las cuatro zonas. *Enterococcus faecalis* con un 39.13% presentes en las cuatro zonas. No se observó relación entre los microorganismos y la zona de procedencia.
- En este estudio se pretendió asociar a los microorganismos aislados de intestino y los criterios de enfermedad (movilidad, lesión, coloración, etc.) en las larvas de *Comadia redtenbacheri*, y se observó que no hay una relación directa entre los microorganismos y estas características.
- No se llegó a establecer con seguridad si los microorganismos aislados tienen relación con procesos de enfermedad en las larvas de *Comadia redtenbacheri* debido a estrés provocado por la manipulación del gusano rojo de maguey, por lo que se sugiere realizar un protocolo de patogenicidad en el que involucren a los microorganismos aislados con las larvas sanas.
- En cuanto a la manipulación de las larvas de gusano rojo de maguey se recomienda sea cuidadosa, en condiciones de higiene utilizando guantes y cubre bocas para evitar riesgos de contaminación.
- Se recomienda que los tiempos de traslado sean lo mas cortos posible, que los contenedores tengan la higiene suficiente, se revisen constantemente para detectar larvas sospechosas de infección o muertas y sean retiradas de inmediato.

Los datos aportados en este trabajo, deben considerarse como un pequeño paso en la gran odisea asumida por personas comprometidas con el entorno ecológico, como los integrantes de la Organización Ambientalista Tlaxcalteca

Ometeotl A., C., y colaboradores. De igual manera es menester extender un llamado a que volteemos la mirada hacia el aún horizonte campesino, nos contagiemos de entusiasmo, y asumamos una actitud de compromiso para imaginar el futuro propio, de nuestros hijos, y de nuestra madre tierra, la verdadera dadora de vida.

“Con estos pies caminaré esta tierra, y con estas
manos labraré nuestro futuro”

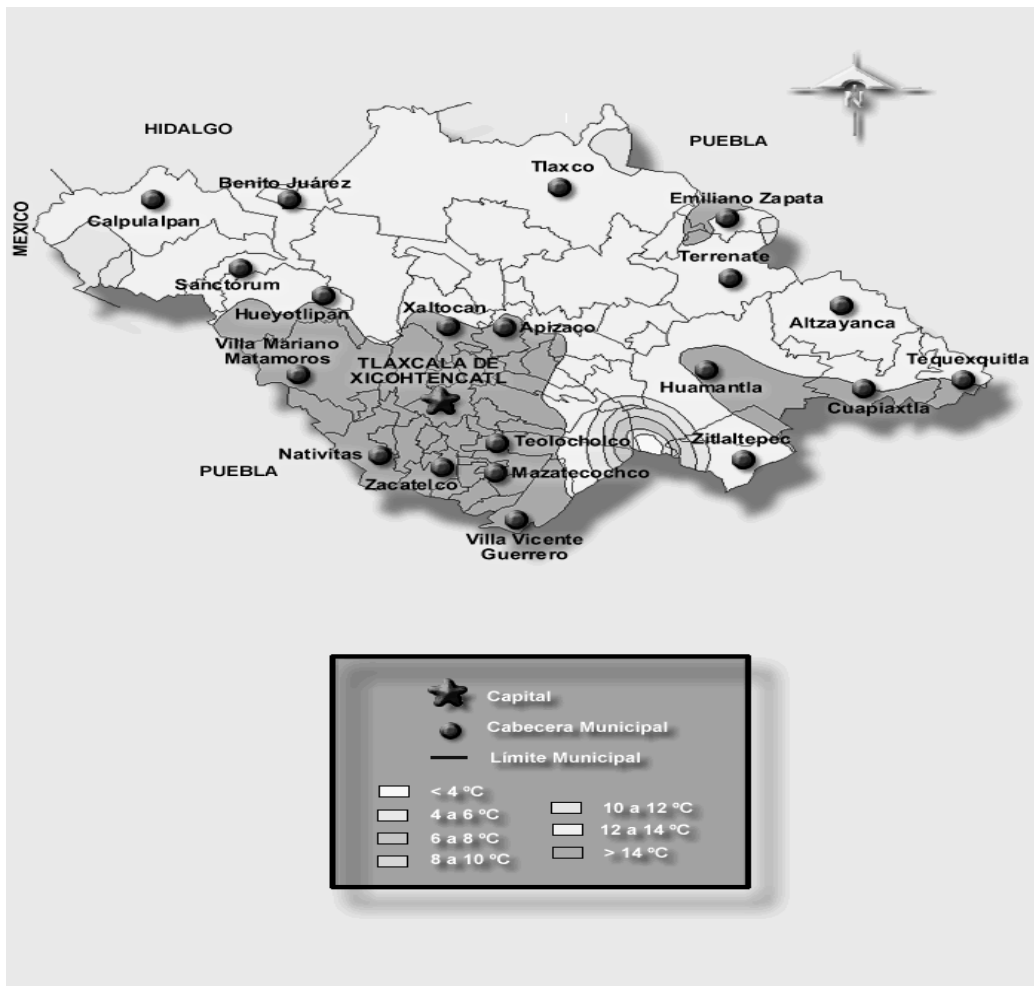
APÉNDICE

APÉNDICE 1.

CARACTERÍSTICAS CLIMATOLÓGICAS Y GEOGRÁFICAS DEL MUNICIPIO DE CALPULALPAN TLAXCALA

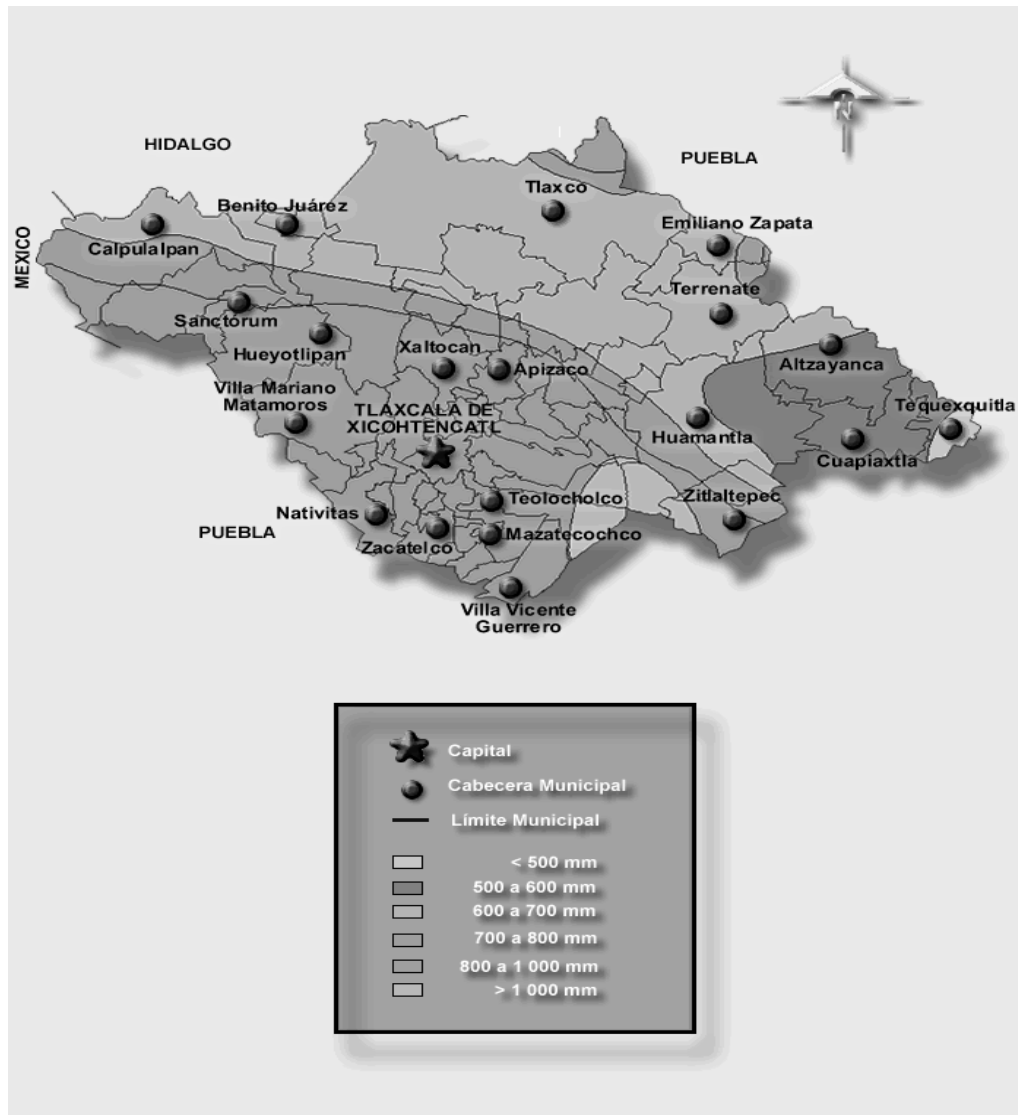
La zona donde principalmente se colectaron las larvas es el municipio de Calpulalpan, situado en la región noreste del estado de Tlaxcala, (Latitud Norte 19° 25', Longitud Oeste 98° 12'). Colindando al Norte con el estado de Hidalgo, hacia el este con el estado de México, y por el sur hace frontera con el estado de Puebla.

El municipio de Calpulalpan se encuentra a una altitud promedio de 2580 metros sobre el nivel del mar (msnm). Su clima es templado subhúmedo; la temperatura promedio anual es de 13.9° C.



Mapa de temperatura media anual.

La temporada de lluvias se presenta en los meses de Junio a Septiembre con un promedio de precipitación anual de 686.9 mm.



Mapa de precipitación promedio anual.

El tipo de agricultura que se practica es de temporal; se cultiva maíz, trigo, frijol, haba, papa, lechuga, chícharo, cilantro, espinaca, acelga, tomate, alfalfa, avena, cebada y maíz forrajero entre otros.

Características geográficas del estado de Tlaxcala.

Clave	Municipio	Superficie territorial (Km ²)	Temperatura media anual (°C)	Precipitación pluvial anual (mm)
001	Amaxac de Guerrero	12.87	15.4	789.5
002	Apetatitlán de Antonio Carvajal	7.27	15.4	789.5
003	Atlangatepec	124.067	13.0	669.7
004	Altzayanca	141.52	14.1	502.6
005	Apizaco	56.83	13.7	812.0
006	Calpulalpan	274.75	13.9	686.9
007	Carmen Tequexquitla, El	45.48	13.8	441.8
008	Cuapiaxtla	136.97	13.7	611.1
009	Cuaxomulco	15.64	15.4	789.5
010	Chiautempan	66.21	15.4	841.2
011	Muñoz de Domingo Arenas	68.28	13.7	812.0
012	Españita	139.76	14.6	1164.9
013	Huamantla	354.34	14.3	633.5
014	Hueyotlipan	173.44	14.6	1164.9
015	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	165.84	14.7	695.1
016	Ixtenco	46.61	14.3	633.5
017	Mazatecochco de José María Morelos	15.467	15.4	789.5
018	Contla de Juan Cuamatzi	21.27	15.4	789.5
019	Tepetitla de Lardizábal	28.709	14.4	701.2
020	Sanctórum de Lázaro Cárdenas	110.35	14.6	1164.9
021	Nanacamilpa de Mariano Arista	97.862	13.9	686.9
022	Acuamanala de Miguel Hidalgo	22.48	14.1	502.6
023	Nativitas	61.99	16.9	886.4
024	Panotla	59.74	15.9	841.2
025	San Pablo del Monte	63.76	14.1	502.6
026	Santa Cruz Tlaxcala	29.09	15.4	789.5
027	Tenancingo	17.34	15.4	894.2
028	Teolocholco	80.53	14.1	784.8
029	Tepeyanco	20.92	15.9	841.2
030	Terrenate	213.67	13.8	681.6
031	Tetla de la Solidaridad	145.48	13.7	812.0
032	Tetlatlahuca	19.23	16.9	886.4
033	Tlaxcala	41.61	15.9	841.2
034	Tlaxco	556.91	14.3	686.7
035	Tocatlán	10.94	14.8	730.3
036	Totolac	24.27	15.9	841.2
037	Zitlaltepec de Trinidad Sánchez Santos	65.95	13.8	788.3
038	Tzompantepec	23.24	13.7	812.0
039	Xaloztoc	49.03	14.8	730.3
040	Xaltocan	78.71	14.0	929.9

041	Papalotla de Xicohténcatl	18.9	15.4	789.5
042	Xicohtzingo	9.79	16.9	886.4
043	Yauhquemecan	30.59	13.7	812.0
044	Zacatelco	14.44	16.9	886.4
045	Benito Juárez	26.55	14.3	633.5
046	Emiliano Zapata	50.23	15.0	599.2
047	Lázaro Cárdenas	25.44	15.0	599.2
048	Magdalena Tlaltelulco, La	14.23	15.9	841.2
049	San Damián Texoloc	10.46	15.9	841.2
050	San Francisco Tetlanohcan	50.3	14.1	502.6
051	San Jerónimo Zacualpan	7.56	15.9	841.2
052	San José Teacalco	37.2	13.7	812.0
053	San Juan Huactzinco	4.44	16.9	886.4
054	San Lorenzo Axocomanitla	4.34	16.9	886.4
055	San Lucas Tecopilco	30.06	14.0	929.9
056	Santa Ana Nopalucan	9.37	14.4	701.2
057	Santa Apolonia Teacalco	7.91	14.4	701.2
058	Santa Catarina Ayometla	9.76	16.9	886.4
059	Santa Cruz Quilehtla	5.4	16.9	886.4
060	Santa Isabel Xiloxotla	5.45	15.4	789.5

Fuente: COPLADET-Gobierno del Estado de Tlaxcala *Los Municipios de Tlaxcala. Monografías, México 1999.*

CNA-Subgerencia de Ingeniería y Apoyo Técnico.

Nota: La información sobre temperatura media anual, tiene como referencia el periodo de enero de 1961 a diciembre del 2000.

La información sobre precipitación pluvial anual tiene como referencia el periodo de enero de 1961 a diciembre del 2000.

Coordenadas geográficas y altitud de las cabeceras municipales del estado de Tlaxcala.

Clave	Municipio	Cabecera municipal	Latitud norte		Longitud oeste		Altitud msnm ²
			Grados	Minutos	Grados	Minutos	
001	Amaxac de Guerrero	Amaxac de Guerrero	19	21	98	10	2 300
002	Apetatitlán de Antonio Carvajal	Apetatitlán	19	20	98	12	2 340
003	Atlangatepec	Atlangatepec	19	32	98	12	2 500
004	Altzayanca	Altzayanca	19	26	97	48	2 600
005	Apizaco	Apizaco	19	25	98	08	2 380
006	Calpulalpan	Calpulalpan	19	35	98	34	2 580
007	Carmen Tequexquitla, El	Tequexquitla	19	19	97	39	2 380
008	Cuapiaxtla	Cuapiaxtla	19	18	97	46	2 440
009	Cuaxomulco	Cuaxomulco	19	21	98	06	2 420
010	Chiautempan	Chiautempan	19	19	98	12	2 300
011	Muñoz de Domingo Arenas	Muñoz	19	28	98	12	2 480
012	Españita	Españita	19	27	98	25	2 640
013	Huamantla	Huamantla	19	19	97	55	2 500
014	Hueyotlipan	Hueyotlipan	19	28	98	21	2 560
015	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Villa Mariano Matamoros	19	20	98	23	2 240
016	Ixtenco	Ixtenco	19	15	97	53	2 500
017	Mazatecochco de José María Morelos	Mazatecochco	19	11	98	11	2 310
018	Contla de Juan Cuamatzi	Contla	19	20	98	10	2 320
019	Tepetitla de Lardizábal	Tepetitla	19	16	98	23	2 220
020	Sanctórum de Lázaro Cárdenas	Sanctórum	19	29	98	28	2 740
021	Nanacamilpa de Mariano Arista	Ciudad de Nanacamilpa	19	29	98	32	2 720
022	Acuamanala de Miguel Hidalgo	Acuamanala	19	13	98	12	2 300
023	Nativitas	Nativitas	19	14	98	19	2 200
024	Panotla	Panotla	19	19	98	16	2 220
025	San Pablo del Monte	Villa Vicente Guerrero	19	07	98	10	2,300
026	Santa Cruz Tlaxcala	Santa Cruz Tlaxcala	19	21	98	09	2 320
027	Tenancingo	Tenancingo	19	09	98	12	2 260
028	Teolochoico	Teolochoico	19	14	98	11	2 320
029	Tepeyanco	Tepeyanco	19	15	98	14	2 260
030	Terrenate	Terrenate	19	28	97	55	2 680
031	Tetla de la Solidaridad	Tetla	19	26	98	06	2 440
032	Tetlatlahuca	Tetlatlahuca	19	14	98	18	2 200
033	Tlaxcala	Tlaxcala de	19	19	98	14	2 240

		Xicohténcatl					
034	Tlaxco	Tlaxco	19	37	98	07	2 540
035	Tocatlán	Tocatlán	19	23	98	02	2 560
036	Totolac	Totolac	19	20	98	15	2 260
037	Zitlaltepec de Trinidad Sánchez Santos	Zitlaltepec	19	12	97	54	2 540
038	Tzompantepec	Tzompantepec	19	22	98	05	2 460
039	Xaloztoc	Xaloztoc	19	24	98	03	2 500
040	Xaltocan	Xaltocan	19	25	98	12	2 500
041	Papalotla de Xicohténcatl	Papalotla	19	10	98	12	2 220
042	Xicohtzingo	Xicohtzingo	19	11	98	14	2 200
043	Yauhquemecan	Yauhquemecan	19	24	98	11	2 420
044	Zacatelco	Zacatelco	19	13	98	14	2 210
045	Benito Juárez	Benito Juárez	19	35	98	26	2 530
046	Emiliano Zapata	Emiliano Zapata	19	34	97	55	2 900
047	Lázaro Cárdenas	Lázaro Cárdenas	19	32	97	59	2 520
048	Magdalena Tlaltelulco, La	Magdalena Tlaltelulco, La	19	17	98	12	2 320
049	San Damián Texoloc	San Damián Texoloc	19	17	98	17	2 260
050	San Francisco Tetlanohcan	San Francisco Tetlanohcan	19	16	98	10	2 420
051	San Jerónimo Zacualpan	San Jerónimo Zacualpan	19	14	98	16	2 200
052	San José Teacalco	San José Teacalco	19	20	98	4	2 600
053	San Juan Huactzingo	San Juan Huactzingo	19	14	98	15	2 200
054	San Lorenzo Axocomanitla	San Lorenzo Axocomanitla	19	14	98	15	2 200
055	San Lucas Tecopilco	San Lucas Tecopilco	19	29	98	15	2 580
056	Santa Ana Nopalucan	Santa Ana Nopalucan	19	18	98	20	2 200
057	Santa Apolonia Teacalco	Santa Apolonia Teacalco	19	14	98	19	2 200
058	Santa Catarina Ayometla	Santa Catarina Ayometla	19	12	98	13	2 240
059	Santa Cruz Quilehtla	Santa Cruz Quilehtla	19	13	98	13	2 240
060	Santa Isabel Xiloxotla	Santa Isabel Xiloxotla	19	16	98	13	2 280

Fuente: INEGI, *Anuario Estadístico del Estado de Tlaxcala*, México 1999.

APÉNDICE 2.

GLOSARIO

ADN Es la abreviatura del ácido desoxirribonucleico. Constituye el material genético de los organismos. Es el componente químico primario de los cromosomas y el material del que los genes están formados. En las bacterias y otros organismos unicelulares, el ADN está distribuido por la célula. En organismos más complejos, tales como plantas, animales y otros organismos multicelulares, la mayoría del ADN reside en el núcleo celular.

aerobio Organismos que necesitan del Oxígeno para poder desarrollarse.

aislamiento Utilización de técnicas en microbiología para cultivar una sola especie de microorganismo.

alfisoles Suelos ricos en hierro y aluminio.

anaerobio Organismos que crecen en ambiente donde no hay Oxígeno.

antígenos Sustancias que provocan la formación de anticuerpos.

artropoda Dícese de los invertebrados con apéndices provistos de piezas articuladas. En zoología es un tipo de clasificación.

bacteria Microorganismo microscópico carente de núcleo, perteneciente al reino monera. Algunas son parásitas e incluso patógenas para vegetales y animales.

bioinsecticida (biocida) Sustancia química de amplio espectro de acción capaz de eliminar organismos. Están considerados dentro de los biocidas los insecticidas, fungicidas, herbicidas. Pueden producir efectos negativos ya que los organismos como hongos, insectos y otros organismos que se intenta eliminar pueden desarrollar resistencia.

calcáreos Se dice de los suelos constituidos esencialmente por carbonatos de calcio y magnesio.

Carbohidrato También llamados azúcares; son moléculas compuestas por carbono, oxígeno e hidrógeno, es utilizado como fuente de energía.

catalasa Es una enzima presente en muchos tipos de células. Su función es proteger a las células del efecto tóxico del peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) producida en distintas reacciones redox. Cataliza la reacción:
$$2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$$

comensal En biología se dice a la especie que vive sobre un huésped sin producirle un beneficio ni daño alguno.

edáfica De edafología, es la ciencia que estudia lo concerniente a procesos del suelo; formación, clasificación y taxonomía, en especial la relación planta-suelo.

eluyente En cromatografía se utiliza este término a un disolvente utilizado para separar una sustancia química.

endospora Son estructuras (Localizadas en el interior de una bacteria) diferenciadas extraordinariamente resistentes al calor y difíciles de destruir incluso recurriendo a compuestos químicos muy agresivos. Las endosporas son resistentes igualmente a otros agentes nocivos como la desecación, radiación, ácidos y desinfectantes químicos, pueden además permanecer en estado latente durante períodos de tiempo muy largos.

entomofauna Relativo a los animales de la clase insecta.

entomopatógeno Que puede causar una enfermedad específicamente a los insectos.

enzimas Catalizador de naturaleza protéica que actúa sobre el metabolismo celular.

facultativo En biología, organismo que tiene el poder de utilizar un nutriente para su metabolismo.

fagocítico Que tiene la facultad de fagocitar, englobar una célula a otros microorganismos mediante la emisión de prolongaciones.

fenotípico Que manifiesta los caracteres hereditarios a nivel externo y que viene condicionados por el genotipo o conjunto de genes.

fermentación Degradación anaeróbica de los compuestos orgánicos realizada por las enzimas de ciertos microorganismos.

fotoautótrofo Consideramos fotoautótrofo a todo aquel organismo capaz de transformar la energía lumínica en química, en forma de compuestos que al oxidarse liberarán la energía necesaria para la actividad celular. La fotosíntesis depende de la luz absorbida fundamentalmente por las clorofilas, a través de los grupos magnesio que contienen.

fotoheterótrofo (photoheterotropho) Organismo que utiliza la luz como fuente de energía y materia orgánica como fuente de carbono.

fumigación Combatir las plagas de insectos y otros organismos nocivos por medio de humo, gas, vapores o líquidos adecuados, esta práctica puede ser riesgosa para el medio ambiente.

genotípico Que contiene los factores hereditarios recibidos de sus padres por medio de los gametos.

gram Es una técnica de tinción utilizada para diferenciar bacterias de acuerdo a la estructura de su pared celular, se clasifican en gram positivas, por que tienen gran cantidad de peptidoglucano, y gram negativas por que contienen menos del 20% de este compuesto.

hábitat Conjunto de factores ambientales en los que vive, de modo natural, una determinada especie animal o vegetal.

hexápoda Término utilizado en biología para describir a los animales que tienen seis patas.

hospedero En biología, órgano u organismo en donde se aloja un microorganismo.

inanición Carencia de alimento.

Kilodalton (Kdal) Un dalton es una unidad de masa que implica 1/16 de la masa del átomo de oxígeno o sea cerca de 1.65×10^{-24} gramos, al anteponer el prefijo kilo se multiplica por mil el valor.

látice arreglo en forma de red.

levadura Grupo hongos unicelulares, carentes de micelio que provocan la fermentación de los sustratos orgánicos sobre los que viven.

lípidos Compuesto principalmente por carbono, hidrógeno y oxígeno. Los lípidos funcionan a modo de sustancias energéticas de reserva. Comprenden las grasas, ceras y lipoides.

lipasas enzimas que degradan lípidos.

metamorfosis Conjunto de transformaciones que sufren ciertos animales hasta alcanzar la fase adulta.

mezontete Raíz fibrosa de tallo grueso y corto, de la planta del maguey del que salen las hojas conocidas como pencas.

microflora Conjunto de microorganismos presentes en animales, agua o suelo. Está formada principalmente por numerosas especies de bacterias y hongos y tiene una acción de gran importancia en los procesos de regeneración de nutrientes, descomposición de sustancias orgánicas, etc.

morfología En biología las características externas de los microorganismos.

necrosarse De necrosis, muerte de algunos elementos celulares en el interior de un cuerpo vivo.

nematodo En zoología dicese de los organismos que tienen aparato digestivo, cuerpo sin segmentación ni esqueleto, pero cubierto de una fuerte cutícula de quitina, en su mayoría son parásitos de otros animales.

Ometeotl es el nombre Náhuatl (Mexica o Azteca) para Dios. Ometeotl (Dios) es la dualidad del universo: Tiempo y Espacio. Ometeotl es el creador, creador de todas las dualidades de la naturaleza: Masculino y Femenino; Orden y Caos; Día y Noche; Materia y Espíritu.

ovíparo Un animal ovíparo es un animal cuya modalidad de reproducción incluye el depósito de los huevos en el medio externo. Algunos animales ovíparos son: los insectos, las aves, los peces, los anfibios y los reptiles.

oxidación En biología, proceso de degradación de un sustrato realizado por enzimas a temperatura constante.

paradiclorobenceno sustancia química utilizada como insecticida en fumigación de terrenos agrícolas, se le atribuyen propiedades cancerígenas.

patológica que causa enfermedad.

Pecíolo El pecíolo o pecíolo (del latín "petiolus", forma diminutiva de "pes" "pedis", pie, tronco de una planta) es el rabillo que une la lámina de una hoja a su base foliar o al tallo. Falta en las hojas sésiles.

Penca Hoja característica de las plantas agaváceas como el maguey y los agaves.

peristalsis de movimiento peristáltico, movimiento de contracción que hacen los intestinos para impulsar los materiales de la digestión y expulsar los excrementos.

plasmocito Célula derivada de los linfocitos, ausente de la sangre pero presente en el sistema linfático, que sintetiza las inmunoglobulinas, es decir, los anticuerpos.

proteolítico que disuelve o digiere proteínas.

pH (Potencial de hidrógeno) Magnitud que expresa el grado de acidez (pH menor que 7) o de alcalinidad (pH mayor que 7) de una solución.

phylum Grupo de organismos que presentan el mismo plan estructural. Grupo taxonómico que está formado por varias clases.

proteína Molécula orgánica rica en nitrógeno, compuesta esencialmente por aminoácidos. Todas las membranas celulares están formadas por proteínas, por lo que constituyen un compuesto fundamental.

proteasas enzimas que degradan proteínas.

protozoo Subdivisión del reino animal. Con categoría de subreino, que comprende animales unicelulares.

quimioautótrofo Organismo que puede sintetizar su propio alimento a partir de reacciones químicas simples utilizando CO₂ como fuente de carbono.

quimioheterótrofo Organismo que puede sintetizar su alimento a partir de reacciones químicas utilizando compuestos orgánicos como fuente de carbono.

quiote tallo floral del maguey.

quitina Polisacárido de sostén que forma parte de la cutícula de muchos invertebrados y de la membrana celular de los hongos.

quitinasas enzimas capaces de degradar la quitina.

roseófito planta cuyas hojas crecen alrededor del tallo formando una roseta.

sésiles Se refiere a una hoja que carece de pecíolo o a una flor o fruto que carece de pedicelo.

simbiótico Tipo de asociación entre dos individuos de diferente especie, beneficiosa para ambos (mutualismo) o para uno de ellos (comensalismo).

sinonimia Utilización de palabras que expresen el mismo significado, en biología se utiliza cuando un organismo es conocido con diferentes nombres.

sustrato Sustancia o molécula con la que interacciona un microorganismo (o alguna de sus enzimas) transformándose en productos.

taxón Clasificación biológica de una especie según sus afinidades morfológicas, fisiológicas, genéticas y filogenéticas.

termolábil Organismo que se altera fácilmente por la acción del calor.

toxina Sustancia generalmente de origen microbiano que daña o mata las células del organismo huésped.

virulento Grado de patogenicidad de un microorganismo determinado por el cuadro patológico que desencadena y por el grado de invasión de los tejidos del huésped.

vitamina Sustancia de acción enzimática, imprescindible en pequeñas cantidades para el funcionamiento normal de un organismo y que éste no puede sintetizar, y que debe adquirirse mediante la alimentación.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar Rosas Arturo, Contribución al estudio bioecotológico del gusano blanco del maguey *Aegiale (Acentronecme) hesperiaris* K. Tesis licenciatura Facultad de ciencias UNAM: 1995 pp 44-48.

Alatorre Rosas Raquel, Hongos Entomopatógenos. XII Curso Nacional de Control Biológico. Sociedad mexicana de Control Biológico 11 a 13 de Noviembre del 2002 Hermosillo Sonora México. D.F. pp 95-97

Alexópulos Constantine J., Introducción a la micología. Ediciones Omega S.A. Barcelona España. 1985.

Ancona H. Leopoldo, Los Chilocuilles o Gusonitos de sal de Oaxaca. Anales del Instituto de Biología Fac. de Ciencias UNAM Vol. 82. 1931 pp 265-277.

Baca, Beatriz Eugenia, La microbiología. de sus inicios a la genómica. Elementos No. 49, vol. 10, Marzo-Mayo, 2003. Puebla México, p 3.
www.Elementos.
buap.mx/num49/htm/3.htm

Brunner Liebhard, Palmira, Exploración Nematológica en el cultivo del Maguey Pulquero *Agave Atrovirens* Karw; en los estados de Hidalgo, México Y Tlaxcala. Tesis licenciatura Fac. de Ciencias UNAM. 1963.

Camacho A. D. Observaciones en condiciones de laboratorio de la biología del "gusano rojo del maguey" *Comadia Redtenbacheri* H. (Lepidóptera: Cossidae). Entomología Mexicana, Vol. 1, Sociedad Mexicana de Entomología. México D. F. 2003.
acamacho@encb.ipn.mx

Chen Escamilla N.P., Osorno Velázquez J.L., Estudio de la Biología y cría artificial del gusano Blanco del maguey. Tesis de Licenciatura ENEP Iztacala, UNAM 1984 pp 7-14.

Cisneros Araujo Luz Ma., Entomofauna del Maguey pulquero. Tesis Licenciatura Fac. de Ciencias UNAM 1980 pp 15-23.

COPLADET-Gobierno del Estado de Tlaxcala Los Municipios de Tlaxcala. Monografías, México 1999.
www.sedesol.gob.mx/delegaciones/tlaxcala

Coronado R. Márquez A. Introducción a la entomopatología. Editorial Limusa. México D.F., 1990 pp 8-36.

Dampf Alfonso, Contribución al conocimiento de la morfología de los primeros estados de Hypopta agavis BLAZQUEZ chilodora (DYAR) (Lepidoptera, Familia Coasidae), plaga de los magueyes de la Mesa Central de México. Secretaría de Agricultura y Fomento. México D.F. 1927

Eckburg, P.B., Bik, E. M., Diversity of the human Intestinal Microbial Flora. SCIENCE vol. 308 10 June 2005.
www. Science rnag.org

Gallo D. Nakano O, Manual de entomología Agrícola. Editora Agronómica Ceres. Sao Paulo Brasil 1978. pp 125-205.

Gallegos Morales Gabriel, Entomopatógenos. Editorial Trillas. México D.F., 2003 pp 21-96.

Granados S.D. Los agaves en México. UACH 1993. pp 166-175.

Guerci Aldo A., Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación. El Ateneo editorial, Cuarta edición B.A. Argentina. 1988. pp 367-389.

Ibarra E. Jorge Las bacterias entomopatógenas y el control biológico de Insectos. XII Curso Nacional de Control Biológico, Sociedad mexicana de Control Biológico 11 a 13 de Noviembre del 2002 Hermosillo Sonora México. pp 81-93
www. controlbiológico. org.mx

INEGI. Anuario estadístico del estado de Tlaxcala. México 1999.
www.inegi.gob.mx

Juárez Rodríguez M. A., Obtención de una bebida alcohólica a partir del aguamiel y comparada con bebidas comerciales. Tesis Licenciatura Fac. de Química UNAM. 1992 pp 12-25.

Lenete, E. Edwin et all, manual of clinical microbiology, forth edition, American Society for Microbiology, Washington D.C., USA. 1984.

Martínez-Romero Esperanza, Microbiología general, Centro de Investigación sobre fijación del Nitrógeno, UNAM. Cuernavaca, Morel. 2004 pp1-17.

Méndez Sánchez Saúl E. Detección de hongos entomopatógenos a insectos fitófagos, al sur de Bahía, Brasil. Entomotrópica/ formerly Boltín de Entomología Venezolana Vol. 16(3): Diciembre 2001.

Prescott, W., Historia de la conquista de México (Traducción español), Edit. Ignacio Cumplido Y., México D.F., 1978 pp 97-98.

Ramos-Eelorduy B. J. Pino M. J. M. Los insectos comestibles en el México antiguo (Estudio entomológico) AGT editor. México D.F. 1989 pp 108.

Ramos-Elorduy B. J., Pino Moreno J. M. Insectos comestibles en Hidalgo, México. Anales del Instituto de biología Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoología 72(1): 423-84 2001.

Silva Chávez Ma. A. Aspectos actuales sobre la flora de la cavidad oral, Tesis licenciatura Fac. de Química UNAM. 1997.

St. Leger, R. J. Gaetettel, M., Robertts, D. W., Pre-penetration events during infection of the host cuticle by Metarhizium anisopliae. J. Inverteb. Path. 58: 168-169. 1991.

Tovar Angeles Lilian, Control de Insectos en la Industria alimentaria. Tesis licenciatura Fac. de Química UNAM. 1992. pp 5-25.

Welch, Claude A., Ciencias biológicas, de los nemátodos al hombre. Cia. Editorial Continental. S. A. México D., F., 1982. pp 977.