

Potencial de hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plagas agrícolas

J.A. Palomino-Martínez¹, D.R. Martínez-Sánchez¹, N. Torres-Cruz¹, P.B. Sandoval-Gasca¹, A.M. Cruz-Avalos¹.

¹División de Ciencias de la Vida Campus Irapuato-Salamanca

am.cruz@ugto.mx¹

Resumen

En el estado de Guanajuato se conoce poco sobre la presencia y abundancia de enemigos naturales de plagas, por ejemplo, los hongos entomopatógenos, *Bauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, microorganismos capaces de causar enfermedad a importantes plagas agrícolas. En la actualidad, el control de plagas agrícolas se basa principalmente en el control químico, no obstante, este método no siempre resulta eficaz, además de causar daño a microorganismos benéficos, ocasionando problemas de infertilidad al suelo y también causando daños en el medio ambiente. Por tal motivo se llevó a cabo este trabajo, con el objetivo de evaluar la efectividad de dos aislados, uno de (*Bauveria bassiana* (Bb4) y otro de *Metarhizium anisopliae* (Ma22), de hongos entomopatógenos nativos de suelos agrícolas del estado de Guanajuato, sobre el insecto-plaga *Plutella xylostella*. Asimismo, se realizó el mantenimiento de la cría de *P. xylostella* bajo condiciones de laboratorio, para posteriormente realizar los bioensayos sobre el mismo.

Se encontró que ambas cepas evaluadas (Bb4 y Ma22), presentaron actividad patógena sobre el estadio de larvas neonatas; sólo que, en ambas cepas se observaron diferencias de patogenicidad. La cepa Ma22 fue la que ocasionó mayor infección, con una mortalidad de 100%, seguida de la cepa Bb4 causando mortalidad del 86% en larvas neonatas de *P. xylostella*, realizando los bioensayos a una única concentración de 1×10^8 conidios/mL. Es importante continuar investigando la virulencia de cada una de las cepas, con la finalidad de establecer su uso como agente de control biológico en larvas y huevecillos de *P. xylostella*.

Palabras clave: Control biológico, *Plutella xylostella*, *Bauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*,

Introducción

La presencia de insectos, tanto beneficiosos como perjudiciales, es un factor importante en la seguridad alimentaria y producción agropecuaria a nivel mundial (Brady et al., 2021). La palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella*), conocida también como polilla de la col o polilla del repollo, es una especie de insecto lepidóptero que ha llegado a ser verdaderamente cosmopolita y plaga clave de Brassicaceae en todo el mundo. Este mismo insecto plaga se ha reportado como resistente a varios insecticidas (Lima-Neto et al., 2021).

El riesgo que representan los insecticidas de síntesis química para la salud de los seres humanos, el animal y el medio ambiente ha generado un creciente interés en nuevas técnicas de control de plagas, por ejemplo, en la agricultura las técnicas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), siendo el control biológico la primera alternativa para el manejo contra las plagas en los cultivos de brassicaceas, incluyendo *P. xylostella* (Srinivasan et al., 2011). El desarrollo de la resistencia de *P. xylostella* a plaguicidas se ve influenciado por la muy repetitiva aplicación de estos, por la utilización repetida de cultivos de Brassicaceae en el mismo terreno y por la gran capacidad de variación genética de las poblaciones de la plaga (Rodríguez et al., 2020).

Los productores agrícolas actualmente utilizan grandes cantidades de insecticidas para el manejo de la plaga, lo cual incrementa los costos de producción y causando gran preocupación (Devine et al., 2008). Es por ello, la importancia de desarrollar esquemas efectivos de un control biológico mediante un manejo integrado de plagas con la implementación de hongos entomopatógenos (Banks et al., 2017), para reducir costos de producción a los agricultores y evitar el uso excesivo de plaguicidas. Este tipo de control biológico puede ser efectivamente integrado en programas modernos de MIP contra Palomilla Dorso de Diamante (PDD) (Lietti et al., 2020), contando con un gran número de especies de hongos entomopatógenos que han sido reportado como controladores biológicos, entre ellos *Bauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Vela et al., 2013). Estos hongos han sido reconocidos como importantes agentes de control para diversas plagas agrícolas. Sin embargo, es escasa la literatura con respecto al efecto potencial de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre *P. xylostella*. Dos Santos et al., (2006) evaluaron la efectividad de las cepas *B. bassiana* y *M. anisopliae* en larvas de 3° instar de *P. xylostella* obteniendo mortalidades de 96,7% y el 93,3%, con los aislados de *M. anisopliae* y *B. bassiana*, respectivamente. En otro trabajo realizado por Zafar et al., (2020) demostraron que el hongo *M. anisopliae* provoca un alto porcentaje de mortalidad en el insecto plaga *P. xylostella*, reportando el 93% de las larvas muertas, así mismo reportando una alteración en el ciclo biológico, y vida más corta en la etapa de adulto.

En el estado de Guanajuato son escasos los reportes potenciales de hongos entomopatógenos en el control biológico en el insecto plaga *P. xylostella*, por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar y obtener el mejor aislado patogénico en el insecto plaga *P. xylostella*.

Materiales y Métodos

Sitio experimental

El presente estudio se llevó a cabo en dos etapas, la primera fue en campos agrícolas, donde se realizó un muestreo-colecta de larvas, pupas y adulto del insecto *P. xylosteella*. La segunda etapa fue realizada en los laboratorios de la División Ciencias de la Vida, del Campus Irapuato – Salamanca, de la Universidad de Guanajuato, ubicada en Irapuato-Guanajuato, 36500 Irapuato, Guanajuato.

Establecimiento del insectario *Plutella xylostella* bajo condiciones de laboratorio para bioensayos.

En el Laboratorio se estableció un insectario de la palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella*), conocida también como polilla de la col o polilla del repollo, con el fin de contar con larvas suficientes y realizar los diferentes bioensayos con hongos entomopatógenos. Las larvas y pupas inicialmente fueron obtenidas de muestreos en campos agrícolas específicamente del cultivo de repollo (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) de diferentes municipios del estado de Guanajuato (Valle de Santiago, Romita e Irapuato). Las pupas colectadas en campo se colocaron dentro de una jaula de una dimensión de 40 x 30 cm (alto y ancho, respectivamente), una vez que las pupas fueron emergidas al estado de insecto adulto se colocó hoja de repollo sobre el piso y colgantes dentro de la jaula para la ovoposición del huevecillo que deja el insecto adulto sobre la hoja de repollo, cada 48 horas las hojas de repollo con las oviposuras fueron retiradas de la jaula de oviposición y colocadas en recipientes de plástico hasta la emergencia de larvas neonatas y sus diferentes estadios (4 estadios) de larvas. Los recipientes con las hojas de repollo con ovipostura fueron incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta la emergencia del ciclo de vida del insecto (huevo, larva - 4 estadios -, pupa y adulto), esto mismo se repitió para el mantenimiento del insectario y con el fin de contar con larvas y huevecillos suficientes en laboratorio para utilizarlos en el momento necesario y realizar los bioensayos en laboratorio.

Aislamiento de hongos entomopatógenos (*Bauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*)

Para la obtención de los aislamientos de hongos entomopatógenos, se partió de las cepas que se tienen en mantenimiento y reactivación en el laboratorio de la División Ciencias de la Vida, en el cual cada cepa fue reactivada con larvas de *Galleria mellonella*, inoculando estas mismas con las esporas de los hongos. Cuando el hongo micósó las larvas, se tomó una pequeña parte del mismo y se sembró en cajas de Petri con medio de cultivo Sabouraud dextrosa agar, más 1% de extracto de levadura con 500 ppm de cloranfenicol incubando a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (Hatting et al., 1999). Lo anterior se repitió para tener cultivos puros y viables de cada uno de los hongos utilizados en los bioensayos.

Evaluación de la patogenicidad de hongos entomopatógenos en *P. xylostella*

La evaluación de la patogenicidad de los aislados de hongos (Bb4 y Ma22) se realizó en larvas de *P. xylostella* de 3 días de edad (Kaaya et al., 1996). Se formaron grupos de 20 larvas cada uno que fueron colocadas sobre trozos de hojas de repollo, inoculándose cada trozo mediante la técnica de inmersión utilizada por Kaaya et al. (1996); con cada hongo, cinco grupos de 20 larvas fueron inoculadas a la concentración de 1×10^8 conidios/ml, durante cinco segundos (para realizar la concentración 1×10^8 se obtuvieron conidias de 21 días de edad, se colocaron en agua destilada estéril con Tween 80 para romper la tensión superficial de las conidias, previa agitación en vortex, y por dilución se ajustó a la concentración de 1×10^8 conidios/ml). En el tratamiento testigo el grupo se inoculó solamente en agua con Tween. Cada trozo de hoja con repollo y larvas inoculadas por los hongos fueron colocadas en cajas Petri con papel filtro húmedo y se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y 12 horas de luz/oscuridad; se registró la mortalidad cada dos días; a partir de las 48 horas de realizada la inoculación inicial con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

Análisis estadístico

La variable a cuantificar fue la micosis presente en el cuerpo de las larvas y los porcentajes de mortalidad de las larvas por hongos entomopatógenos, los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza, previa transformación angular de las proporciones ($Y = \arcsin \sqrt{p}$) y prueba de comparación de medias de Tukey al 95% de confianza utilizando el paquete estadístico STATGRAPHICS.

Resultados

Evaluación de la patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre *P. xylostella*

Se comprueba que los dos aislados (*B. bassiana* (Bb4) y *M. anisopliae* (Ma22)) fueron patógenos sobre larvas de *P. xylostella* a la concentración de 1×10^8 conidios/mL (Figura a y b) en condiciones de laboratorio.

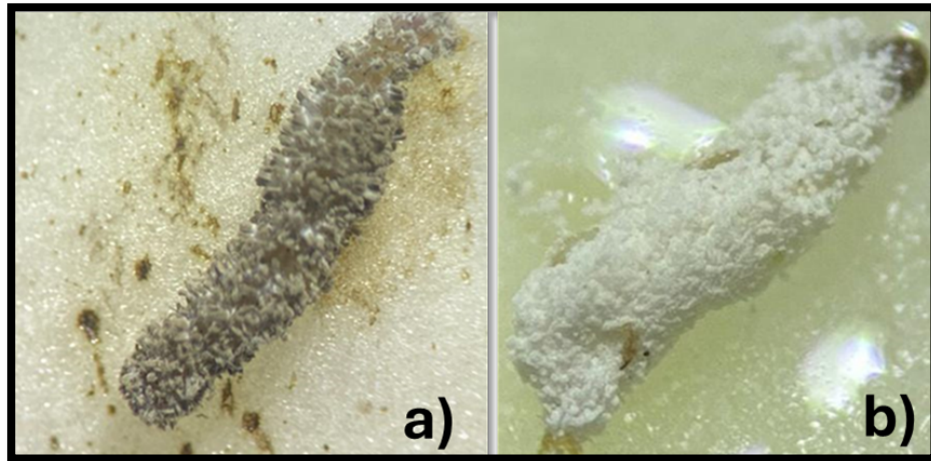


Figura 1. a) Larvas de *P. xylostella* micosada por el hongo *M. anisopliae*, y b) *B. bassiana*.

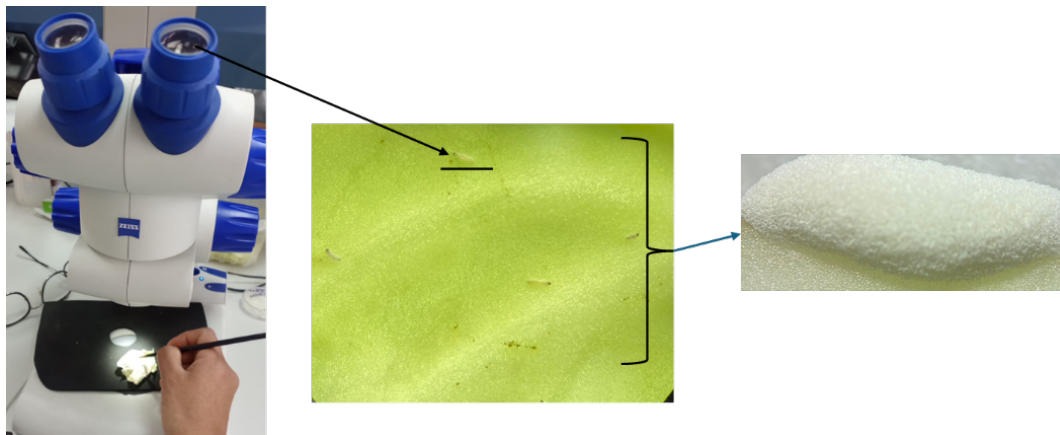


Figura 2. Larva neonata de *P. xylostella*, observada en el microscopio estereoscópico micosada por el hongo *B. bassiana*.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.0000$) y la prueba de comparación de media de Tukey separó a la cepa Ma.22 como la más sobresaliente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Patogenicidad de los hongos *M. anisopliae*, y *B. bassiana* sobre larvas de *P. xylostella*.

Aislado	Micosis (%) *	Prueba de Tukey*
Ma22	90 (100)	a
Bb4	68.54 (86.00)	b
Testigo	0.00	c

*Datos con letras diferentes son estadísticamente diferentes. ** Datos fuera de los paréntesis transformados mediante ($Y = \arcsin \sqrt{p}$)

Conclusión

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo y bajo las condiciones en que se llevó a cabo se puede concluir lo siguiente:

- 1.- Se encontraron diferencias significativas en la patogenicidad entre el aislado de Ma22 y Bb4 sobre larvas de *P. xylostella*.
- 2.- El aislado más patógeno sobre larvas de *P. xylostella* fue Ma22 con un 100% de mortalidad
- 3.- Los aislados de hongos entomopatógenos de *M. anisopliae*, y *B. bassiana* son candidatos para utilizarse como agentes de control biológico en larvas de *P. xylostella*.

Referencias bibliográficas

- Castro López, M. A., & Martínez Osorio, J. W. (2019). Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con *Chrysoperla externa* depredador de *Trialeurodes vaporariorum*. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 35(1), 38-48.
- Banks, J. E., Vargas, R. I., Ackleh, A. S., & Stark, J. D. (2017). Sublethal effects in pest management: a surrogate species perspective on fruit fly control. *Insects*, 8(3), 78.
- Brady, D., Saviane, A., Cappellozza, S., & Sandrelli, F. (2021). The circadian clock in *Lepidoptera*. *Frontiers in physiology*, 12, 776826.

- Cerna-Chavez, E., Rodríguez-Rodríguez, J. F., Hernández-Juárez, A., Aguirre-Uribe, L., Landeros-Flores, J., Cervantes-Ortiz, F., ... & Ochoa, Y. M. (2018). Cuantificación de enzimas asociadas a la resistencia de insecticidas en Diferentes Poblaciones de *Plutella xylostella* L.(Lepidoptera: Plutellidae) del Estado de Guanajuato. *Revista Bio Ciencias*, 5, 10-pág.
- Devine, G. J., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. J. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista peruana de medicina experimental y Salud Pública*, 25(1), 74-100.
- Dos Santos Jr, H. J., Marques, E. J., Barros, R., & Gondim Jr, M. G. (2006). Interação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e o parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov)(Hymenoptera: Eulophidae) sobre larvas da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae). *Neotropical Entomology*, 35, 241-245.
- Furlong, M. J., Wright, D. J., & Dosdall, L. M. (2013). Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annual review of entomology*, 58(1), 517-541.
- Garcia Garcia, Manuel & García, Silvia & Leshner, Julia & Martínez, René. (2014). Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *HORIZONTE SANITARIO*. 10. 21. 10.19136/hs.v10i2.229.
- Hatting, J. L., Humber R. A., Poprawski T. J. and Miller, R.M. 1999. A survey of fungal pathogens from South Africa with special reference to cereal aphids. *Biocontrol*. 16: 1-12.
- Lietti, M., Fernández, C. A., Graciela, R., & Gavilánez, E. (2020). *Plutella xylostella* and its parasitoids in Brassicaceas in Ecuador and Argentina View project Biodiversity conservation in Pampas agroecosystems Viewproject. <https://www.researchgate.net/publication/350824069>.
- Kaaya, G. P., Mwangi, E. N., Ouna, E. A. 1996. Prospects for Biological Control of livestock ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* y *Amblyomma veriegatum*, using the Entomogenous fungi *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.* 67: 15-20.
- Lima Neto, J. E., da Solidade Ribeiro, L. M., & De Siqueira, H. Á. A. (2021). Inheritance and fitness of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to chlorfenapyr. *Journal of Economic Entomology*, 114(2), 875-884.
- Rodríguez-Rodríguez, J. F., Cerna-Chávez, E., Ochoa-Fuentes, Y. M., Beltrán-Beache, M., Landeros-Flores, J., & Guevara-Acevedo, L. P. (2020). Efectos subletales en el desarrollo de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) asociados a la resistencia a fipronil. *Acta zoológica mexicana*, 36.

- Srinivasan, R., Shelton, A. M., & Collins, H. L. (Eds.). (2011). The sixth international workshop on management of the diamondback moth and other crucifer insect pests (Vol. 11, No. 755). AVRDC-WorldVegetableCenter.
- Vela, K. A., López, F. S., Vigo, C. R., FIESTAS, Y. R., ROJAS, J. P., Sanjinéz, L. V., & KRUGG, J. W. (2013). Efecto de tres concentraciones de conidios de *Metarhizium anisopliae* sobre larvas III de *Plutella xylostella* en condiciones de laboratorio. *Revista REBIOLEST*, 1(1), 22-29.
- Zafar, J., Shoukat, R. F., Zhang, Y., Freed, S., Xu, X., & Jin, F. (2020). *Metarhizium anisopliae* challenges immunity and demography of *Plutella xylostella*. *Insects*, 11(10), 694.