

**EFFECTO DE *BEAUVERIA BASSIANA* Y *METARHIZIUM ANISOPLIAE*
SOBRE LA CHICHARRITA DEL MAÍZ (*DALBULUS MAIDIS*) (DELONG
Y WOLCOTT, 1923) (HEMIPTERA: CICADELLIDAE)**

**GRISELDA IBARRA-APARICIO¹, GUSTAVO MOYA-RAYGOZA¹
Y ANGÉLICA BERLANGA-PADILLA²**

¹ Departamento de Botánica y Zoología, C.U.C.B.A., Universidad de Guadalajara, km 15.5 carretera Guadalajara-Nogales, Apartado Postal 139, C.P. 45101 Las Agujas, Zapopan, Jalisco, MEXICO. ² Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, DGSV-SAGAR, Apartado Postal 133, C.P. 28130, Tecomán, Colima, MEXICO.

Ibarra-Aparicio, G., G. Moya-Raygoza y A. Berlanga-Padilla. 2005. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (Delong y Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). *Folia Entomol. Mex.*, 44(1): 1-6.

RESUMEN. Se determinó la mortalidad y la esporulación sobre individuos adultos de *D. maidis* (Delong y Wolcott 1923) causada por *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin bajo condiciones de laboratorio. En total se tuvieron siete tratamientos (tres cepas de *M. anisopliae*, tres cepas de *B. bassiana* y el testigo). Para cada tratamiento se efectuaron cuatro repeticiones, cada una con 20 individuos. De las seis cepas, la M362 de *M. anisopliae* produjo el mayor porcentaje de mortalidad (40.1 %) de *D. maidis* a los 25 días después de la aspersión. Esta cepa mató significativamente más rápido a los adultos de la chicharrita del maíz con un promedio de 10.5 días. Además se encontró que la cepa M362 tuvo el mayor porcentaje de esporulación (52.8 %) sobre los individuos muertos y presentó esporulación a los tres días.

PALABRAS CLAVE: Control microbiano, hongos entomopatógenos, maíz, vectores de patógenos.

Ibarra-Aparicio, G., G. Moya-Raygoza and A. Berlanga-Padilla. 2005. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* over the corn leafhopper (*Dalbulus maidis*) (Delong and Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). *Folia Entomol. Mex.*, 44(1): 1-6.

ABSTRACT. We determined mortality and sporulation in *Dalbulus maidis* (Delong and Wolcott) adults caused by *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in controlled conditions. We had seven treatments (three strains of *M. anisopliae*, three strains of *B. bassiana*, and the control). Each treatment was replicated four times, each with 20 adults. The strain M362 of *M. anisopliae* caused the major percentage of mortality (40.1 %) of *D. maidis* at 25 days after the inoculation. Moreover, the strain M362 killed significantly faster (10.5 days) adults of *D. maidis*, had the major percentage of sporulation (52.8%) on leafhoppers dead and produced spores at three days.

KEY WORDS: Microbial control, entomopathogenic fungi, maize, pathogen vectors.

La chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* (Delong y Wolcott), considerada la plaga del maíz más importante en América Latina, es un cicadélido que transmite con eficiencia a tres patógenos (el virus rayado fino del maíz (*Marafavirus*), el espiroplasma del maíz (*Spiroplasma kunkelii*) y

el fitoplasma del maíz) bajo el mecanismo de transmisión llamado persistente-propagativo (Nault, 1980; Nault *et al.*, 1981; Nault, 1990). Los patógenos transmitidos de esta manera, principalmente por hemípteros de las familias Aphididae, Cicadellidae y Delphacidae necesitan

reproducirse dentro del vector, lo que ocurre en semanas. Sólo después de ese tiempo (periodo de latencia) el vector es capaz de propagar el patógeno a una planta sana (Nault, 1997). El periodo de latencia para el virus rayado fino del maíz y *S. kunkelii* es de 14 días, mientras que para el fitoplasma del maíz es de 25 días (Nault, 1997; Moya-Raygoza y Nault, 1998; Moya-Raygoza et al., 2002).

Una alternativa para reducir las poblaciones de *D. maidis* antes de que ocurra la transmisión del fitopatógeno puede ser el uso de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarizhium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Previamente Vega y Barbosa (1990) reportaron individuos de *D. maidis* muertos por *B. bassiana* y *M. anisopliae* en condiciones naturales en Nicaragua. El objetivo de este trabajo fue evaluar bajo condiciones de laboratorio el porcentaje de mortalidad y el tiempo letal de la aspersión de tres cepas de *M. anisopliae* y tres cepas de *B. bassiana* sobre *D. maidis*, así como la capacidad de reproducción de los hongos evaluando el porcentaje de esporulación y periodo de tiempo que necesita el hongo para esporular después de la muerte de la chicharrita.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron tres cepas de *M. anisopliae* y tres cepas de *B. bassiana* (Cuadro 1). Las cepas tienen la característica en común de haber sido colectadas en la República Mexicana y atacar hemípteros. Se utilizaron cepas aisladas de familias diferentes a Cicadellidae para hacer los experimentos, debido a que no existen registros en México hasta nuestro conocimiento de las dos especies de hongos atacando a chicharritas. La siembra del hongo de cada una de las cepas se efectuó de la siguiente manera. Esporas de cada cepa se tomaron de un tubo matriz con la ayuda de una asa bacteriológica y bajo una campana de flujo laminar. Dichas esporas fueron sembradas en tubos con medio nutritivo de Agar Dextrosa Sabouraud, los cuales se incubaron a $27 \pm 2^\circ\text{C}$, por un periodo de ocho días para *M. anisopliae*, y de 15

a 20 días para *B. bassiana*, con el propósito de obtener esporas en gran cantidad.

Una vez obtenido el hongo en esporulación, se efectuó la extracción de esporas de cada una de las cepas de la siguiente manera. A cada tubo, se le agregó una cantidad arbitraria de agua estéril tratando de cubrir toda el área donde creció el hongo. Con una asa se raspó suavemente el área de crecimiento para desprender la mayor parte de esporas posible y después se realizó el conteo de esporas en suspensión. El anterior procedimiento se efectuó bajo condiciones estériles.

El conteo de las esporas se realizó de la siguiente manera. Se tomó 1 ml de la suspensión de esporas, se diluyó en 100 ml de agua estéril, a lo anterior se le agregó una gota de Estravon 40®, como dispersante. Esta suspensión se homogenizó y se tomó una muestra que se colocó en una cámara hematocitométrica de Neubauer, se realizó el conteo de esporas en el microscopio óptico (40 x) y se obtuvo el número promedio de conidios por campo.

Una vez conocida la cantidad de esporas/ml, se procedió a preparar una suspensión de 1×10^7 esporas/ml. Además de las cepas se contó con un testigo, el que sólo tenía una gota de Estravon 40® por un litro de agua destilada.

Dalbulus maidis fue colectada en cultivos de maíz en Colima, Colima y criada bajo condiciones de invernadero en cajas de 35 x 45 x 25 cm para obtener adultos de una semana de edad.

Se utilizaron 3 ml de la suspensión de esporas y se aplicó con un atomizador (tamaño de gota 0.4 – 0.8 mm) a plántulas de maíz (tres hojas) con *D. maidis*, depositados en jaulas tipo botella invertida. Cada jaula tipo botella invertida tenía cinco individuos adultos de *D. maidis* de una semana de edad, cuatro jaulas (20 individuos) por repetición y cuatro repeticiones por tratamiento. En total se tuvieron tres tratamientos para *M. anisopliae*, tres tratamientos para *B. bassiana* y el testigo, que tuvo 80 individuos. Después de asperjar los adultos de *D. maidis* con la respectiva solución. Las jaulas tipo botella invertida se

Cuadro 1

Cepas utilizadas en el estudio. Estas fueron tomadas de la colección de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, ubicado en Tecomán, Colima, México

<i>Metarhizium anisopliae</i>					
Clave particular	Colector	Clave oficial	Familia del insecto huésped (nombre del taxón)	Planta hospedera	Localidad de origen
M262	Enrique Garza González	MaGB4	Cercopidae (<i>Aeneolamia</i> sp.)	caña de azúcar	Miguel Alemán, Veracruz
M266	Enrique Garza González	MaNL1	Cercopidae (<i>Aeneolamia</i> sp.)	caña de azúcar	Ponciano Arriaga, San Luis Potosí
M279	Enrique Garza González	MuMP1	Cercopidae (<i>Aeneolamia</i> sp.)	caña de azúcar	Ctauhémec, Colima

<i>Beauveria bassiana</i>					
Clave particular	Colector	Clave oficial	Familia del insecto huésped (nombre del taxón)	Planta hospedera	Localidad de origen
B517	Enrique Garza González	BbCH	Membracidae (no determinado)	caña de azúcar	Colima, Colima
B874	Enrique Garza González	BbCHE1	Tingidae (no determinado)	caña de azúcar	Miguel Alemán, Veracruz
B942	Crispin Hernández Díaz	BbAP12	Aphididae (<i>Pisicoptera aurantii</i>)	limón	Tecomán, Colima

colocaron en una cámara de cría a una temperatura de 27 ± 2 °C, un fotoperiodo de 12:12 horas y 50% de humedad relativa.

La sobrevivencia de cada uno de los anteriores individuos de *D. maidis* se cuantificó cada 24 horas, durante 25 días después de asperjarlos. Los individuos muertos encontrados en cada lectura (cada 24 horas) fueron colocados en cámaras húmedas y se mantuvieron a una temperatura de 27 ± 2 °C. Los individuos depositados en la cámara húmeda fueron revisados diariamente en el microscopio estereoscópico, para determinar la fecha de esporulación y el tiempo que tarda en presentarse. El porcentaje de esporulación fue obtenido cuantificando el número de individuos muertos con presencia de esporas (independientemente de la cantidad de esporas por individuo) en relación con los individuos muertos sin la presencia de esporas. El periodo de esporulación fue

determinado en individuos con presencia de esporas y comprendió desde la muerte del individuo hasta la formación de las esporas.

Los porcentajes promedios de mortalidad en *D. maidis* por las cepas de las dos especies de hongos fueron transformados según la regla de Abbott. El análisis de varianza fue utilizado para hacer las comparaciones de los porcentajes de mortalidad, porcentajes de esporulación, número de días en que mueren los individuos inoculados, y número de días en que esporulan las diferentes cepas de las dos especies de hongos. Las diferencias entre las medias fueron determinadas con la prueba Tukey a un nivel de confianza $P = 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este es el primer estudio hasta nuestro conocimiento que muestra el efecto de los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* sobre

la chicharrita del maíz, bajo condiciones controladas. Previamente se ha mostrado que *M. anisopliae* es eficiente en controlar las poblaciones de hemípteros de las familias Aphididae (Hall, 1980) y Cercopidae (Arango *et al.*, 1994; Toriello *et al.*, 1999). En el caso de *B. bassiana* se ha mostrado que es eficiente en el control de hemípteros de las familias Aphididae (Humber, 1991) y Aleyrodidae (Salguero, 1993). Sin embargo, estas dos especies de hongos no habían sido probadas contra hemípteros vectores de la suborden Auchenorrhyncha, a la cual pertenecen el mayor número de especies transmisoras con mecanismo persistente- propagativo como son miembros de las familias Cicadellidae y Delphacidae.

Porcentaje de mortalidad. En este estudio se encontró que los adultos de *D. maidis* son infectados por *M. anisopliae* y *B. bassiana*. El porcentaje de mortalidad en adultos de *D. maidis* causada por las seis cepas (tres de *M. anisopliae* y tres de *B. bassiana*) fue significativamente similar ($F = 1.49$; g.l. = 5, 18; $P = 0.24$). Aunque no se encontraron diferencias significativas entre los seis tratamientos, se observó un mayor promedio de porcentaje de mortalidad producido por las cepas M362 y M379 con 40.1 % y 37.2 %, respectivamente (Cuadro 2). En el hemíptero mosca pinta *Aeneolamia* sp. (Cercopidae) *M. anisopliae* produce una mortalidad promedio de 46.1 % (Arango *et al.*, 1994), la que es similar a la producida por las dos cepas.

Días promedio de mortalidad. Los promedios de días en que mueren los adultos de *D. maidis* por el efecto de las seis cepas fueron significativamente diferentes ($F = 4.37$; g.l. = 5,338; $P = 0.01$). En *M. anisopliae* fue desde 10.3 hasta 12.1 días y en las cepas de *B. bassiana* fue desde 12.0 hasta 14.8 días (Cuadro 3). Las cepas M362 y M379 mataron significativamente más rápido a los adultos de la chicharrita del maíz, con promedios de 10.5 y 10.3 días, respectivamente. Hall (1980) encontró resultados similares debido a que *M. anisopliae* mató a los áfidos a los siete días después de la inoculación. Sobre otros hemíp-

teros como *Macrosiphoniella sanborni* (Gillette, 1908) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) los promedios en días de mortalidad mediante cepas de *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas fueron de cinco y ocho días respectivamente (Chandler *et al.*, 1993). Para efectos de control sobre vectores de patógenos con mecanismo de transmisión persistente-propagativo, el resultado obtenido con las dos cepas M362 y M379 de *M. anisopliae* es positivo. Lo anterior significa que estas dos cepas matan al vector antes de que éste transmita a los patógenos, debido a que es necesario un periodo de latencia mínimo de 14 días para que *D. maidis* transmita a los tres patógenos.

Cuadro 2

Promedio de porcentaje de mortalidad en *D. maidis* adultos causada por tres cepas de *M. anisopliae* (M366, M362, M379) y tres cepas de *B. bassiana* (B517, B874, B992) a los 25 días después de la aspersión

<i>M. anisopliae</i>		
M366	M362	M379
40.8 A	40.1 A	37.2 A
n = 74	n = 74	n = 76
<i>B. bassiana</i>		
B517	B874	B992
22.5 A	8.6 A	21.3 A
n = 87	n = 76	n = 78

n = número de individuos probados.
 Promedios con letras iguales son significativamente similares entre las pruebas.
 Tukey con nivel de confianza $P = 0.05$.

Porcentaje de esporulación. El porcentaje de esporulación causado por las seis cepas (tres de *M. anisopliae* y tres de *B. bassiana*) en adultos de *D. maidis* fue significativamente diferente ($F = 4.14$; g.l. = 5,18; $P = 0.01$). El promedio de porcentaje de esporulación por las cepas de *M. anisopliae* se presentó entre 38.7% y 52.8% y por las cepas de *B. bassiana* ocurrió entre 5.7 % y 32.4 % (Cuadro 4). El mayor porcentaje de espo-

mulación fue mostrado por la cepa M362 con un promedio de 52.8%, mientras que los menores porcentajes de esporulación los presentaron las cepas B874 y B517 con promedios de 5.7 % y 9.2 %, respectivamente. Los niveles de micosis son variables de un género a otro como se ha mostrado en este estudio, resultados similares se han presentado al utilizar diferentes especies de hongos entomopatógenos sobre pulgón café de los cítricos con rangos de esporulación de 23.1 % a 78.0 % (Poprawski *et al.*, 1999).

Cuadro 3

Promedio de días en que mueren los adultos de *D. maidis* por el efecto de tres cepas de *M. anisopliae* (M366, M362, M379) y tres cepas de *B. bassiana* (B517, B874, B992)

Métodos anisopliae		
M366	M362	M379
3.7 (11.6) AB	3.5 (10.7) A	3.5 (10.8) B
n = 50	n = 50	n = 50
Métodos bassiana		
B517	B874	B992
4.7 (14.2) B	5.7 (17.1) A	9.2 (27.6) AB
n = 50	n = 50	n = 50

L = error estándar.
n = número de insectos muertos.
Promedios con letras iguales son estadísticamente similares con la prueba Tukey a un nivel de confianza $P < 0.05$.

Los insectos que mueren por la infección de hongos entomopatógenos esporulan abundantemente bajo condiciones de alta humedad; sin embargo, la esporulación no siempre ocurre, por lo que sólo las cepas que esporulan abundantemente sobre el cadáver de su hospedero tiene potencial de dispersión y reciclarse en el medio ambiente (Poprawski *et al.*, 1999).

Días promedio en esporular. El promedio de días en que esporulan las seis cepas en los adultos de *D. maidis* fue significativamente diferente ($F = 31.96$; g.l. = 5,129; $P = 0.001$). El promedio de días en que esporulan las tres cepas de *M. anisopliae* ocurrió entre los 3.0 y 3.7 días y las tres cepas de *B. bassiana* esporularon entre los 4.7 y 13.8 días (Cuadro 5). Las cepas M362 y M379

esporularon significativamente más rápido con promedios de 3.0 y 3.3 días, respectivamente, mientras que la cepa B517 fue la que tardó más tiempo en esporular con un promedio de 13.8 días.

Cuadro 4

Promedio de porcentaje de esporulación en adultos de *D. maidis* causada por tres cepas de *M. anisopliae* (M366, M362, M379) y tres cepas de *B. bassiana* (B517, B874, B992)

Métodos anisopliae		
M366	M362	M379
41.7 (11.6) AB	52.8 (13.7) A	50.7 (11.2) AB
n = 50	n = 50	n = 50
Métodos bassiana		
B517	B874	B992
9.2 (1.2) B	5.7 (2.1) B	17.4 (10.0) AB
n = 50	n = 50	n = 50

L = error estándar.
n = número de insectos muertos.
Promedios con letras iguales son estadísticamente similares con la prueba Tukey a un nivel de confianza $P < 0.05$.

De las seis cepas de hongos probadas, la M362 mostró los mejores resultados para disminuir la población de la chicharrita del maíz, decreciendo el número de estas hasta un 40.1%, mata antes de que la chicharrita pueda transmitir a los patógenos y se reproduce en un gran número de individuos muertos en un reducido tiempo. Lo anterior es importante para que la cepa reinfeste una segunda generación de adultos de *D. maidis*, ya que Todd *et al.* (1991) reportaron que este cicadélido tiene dos generaciones sobre un ciclo agrícola del maíz. Aunque la cepa M362 proviene de un huésped diferente a *D. maidis* mostró matar y reproducirse en *D. maidis* y se confirman las observaciones de campo en Nicaragua por Vega y Barbosa (1990), quienes encontraron individuos muertos por *M. anisopliae*. Finalmente, antes de sugerir la cepa M362 para el control de la chicharrita del maíz es necesario probar su efectividad a diferentes concentraciones y evaluar su efecto en condiciones de campo.

Cuadro 5

Promedio de días en que esporulan las tres cepas de *M. anisopliae* (M366, M362, M379) y tres cepas de *B. bassiana* (B517, B874, B992) después de matar a los adultos de *D. maidis*

Mycetozoa (días)		
M366	M362	M379
3.7(0.3) D	3.5(0.3) D	3.3(0.2) D
n = 32	n = 39	n = 27
Fungus (días)		
B517	B874	B992
11.8(1.5) A	4.7(1.0) BC	8.1(0.4) B
n = 5	n = 4	n = 25

D = días en que se esporulan.
 A, B, C = número de libéculos que esporulan.
 Diferencias entre tres tipos de hongos micetozoarios estadísticamente significativas con el prueba Tukey con nivel de confianza P = 0.05.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se efectuó con apoyo financiero del CONACYT dado al proyecto número 38689-B. Se agradece a Hugo C. Arredondo Bernal por todas las facilidades que otorgó el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico para realizar gran parte de este estudio. Además se agradece a Juan Bojorquez Martínez, Eleno Félix Fragoso, Marcelino Vázquez García, Liberato Portillo y Gil Virgen Calleros por revisar una versión inicial de este manuscrito.

LITERATURA CITADA

ARANGO, G.L., C. TORRES Y S.L. LAPOINTE. 1994. Patogenicidad de tres cepas de *Metarhizium anisopliae* sobre huevos y ninfas de *Aeneolamia varia* (Fabricius) (Homoptera: Cercopidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 20: 43-46.

CHANDLER, D., J.B. HEALE AND A.T. GILLESPIE. 1993. Competitive interaction between strains of *Verticillium lecanii* on two insect hosts. *Annals of Applied Biology*, 122: 435-440.

HALL, R.A. 1980. Comparison of laboratory infection of aphids by *Metarhizium anisopliae* and *Verticillium lecanii*. *Annals of Applied Biology*, 95: 159-162.

HUMBER, R.A. 1991. Fungal pathogens of aphids. In: *Proceedings Aphid-plant interactions: Populations to Molecules*, Oklahoma EUA. p. 45-56.

MOYA-RAYGOZA, G. AND L.R. NAULT. 1998. Transmission biology of maize bushy stunt phytoplasma by the corn leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 91: 668-676.

MOYA-RAYGOZA, G., L.R. NAULT, S.A. HOGENHOUT Y W.E. STYER. 2002. Variación en la transmisión del espiroplasma *Spiroplasma kunkelii* por poblaciones de la chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). *Folia Entomológica Mexicana*, 41: 113-118.

NAULT, L.R. 1980. Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host range, and vectors. *Phytopathology*, 70: 659-662.

NAULT, L.R. 1990. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhopper, a case study. *Maydica*, 35: 165-175.

NAULT, L.R. 1997. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals of the Entomological Society of America*, 90: 521-541.

NAULT, L.R., D.T. GORDON AND J. CASTILLO LOAYZA. 1981. Maize virus and micoplasma diseases in Peru. *Tropical Pest Management*, 27: 363-396.

POPRAWSKI, T.J., P.E. PARKER AND J.H. TSAI. 1999. Laboratory and field evaluation of hyphomycete insect pathogenic fungi for control of brown citrus aphid (Homoptera:Aphididae). *Environmental Entomology*, 28: 315-321.

SALGUERO, V. 1993. Perspectiva para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. pp. 20-26.. In: L. Hilje (ed.). *Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y El Caribe*. Orlando Arboleda. Costa Rica.

TODD, J. L., L. V. MADDEN, AND L. R. NAULT. 1991. Comparative growth and spatial distribution of *Dalbulus* leafhopper populations (Homoptera: Cicadellidae) in relation to maize phenology. *Environmental Entomology*, 20: 556-564.

TORIELLO, C., H. NAVARRO-BARRANCO, M.L. ALMENGOR Y T. MIER. 1999. Aplicación de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin como bioinsecticida contra la mosca pinta (Homoptera: Cercopidae) en pastizales para ganado en Guatemala. *Revista Mexicana de Micología*, 15: 119-121.

VEGA, E.F. AND P. BARBOSA. 1990. *Gonatopus barletti* Olmi (Hymenoptera: Dryinidae) in Mexico: a previously unreported parasitoid of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott) and the Mexican corn leafhopper *Dalbulus elimatus* (Ball) (Homoptera: Cicadellidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 92: 461-464.

Recibido: 1 de diciembre del 2003.
 Aceptado: 1 de octubre del 2004.