

# **UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

---

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y  
AGROPECUARIAS  
DIVISIÓN DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**



**“EFECTO DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS EN LA  
CHICHARRITA DEL MAIZ (*Dalbulus maidis*)  
(HOMOPTERA: CICADELLIDAE)”**

## **TESIS PROFESIONAL**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERO AGRONOMO**

**PRESENTA:**

**GRISELDA IBARRA APARICIO  
LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL., SEPTIEMBRE 2003**



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS**  
**BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERO AGRONOMO**  
**COMITE DE TITULACION**

**ING. ELENO FELIX FREGOSO**  
**DIRECTOR DE LA DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS**  
**PRESENTE**

Con toda atención nos permitimos hacer de su conocimiento, que habiendo sido aprobada la modalidad de titulación: TESIS con el título:

**" EFECTO DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS EN LA CHICHARRITA DEL MAIZ (*Dalbulus maidis*) (HOMOPTERA: CICADELLIDAE)"**

El cual fue presentado por él (los) pasante(s):

**GRISELDA IBARRA APARICIO**

El Comité de Titulación, designó como director y asesores, respectivamente, a los profesores:

<b>DR. GUSTAVO MOYA RAYGOZA</b>	<b>DIRECTOR</b>
<b>DR. GIL VIRGEN CALLEROS</b>	<b>ASESOR</b>
<b>M.C. ANGELICA MARIA BERLANGA PADILLA</b>	<b>ASESOR</b>

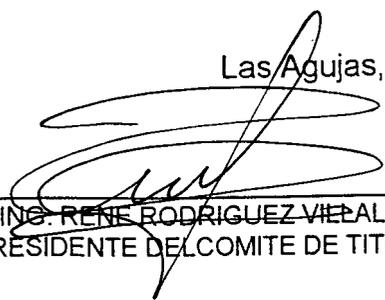
Una vez concluido el trabajo de titulación, el Comité de Titulación designó como sinodales a los profesores:

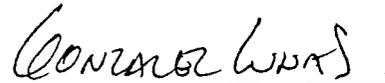
<b>DR. MARCELINO VAZQUEZ GARCIA</b>	<b>PRESIDENTE</b>
<b>ING. ELENO FELIX FREGOSO</b>	<b>SECRETARIO</b>
<b>ING. JUAN BOJORQUEZ MARTINEZ</b>	<b>VOCAL</b>

Se hace constar que se han cumplido los requisitos que establece la Ley Orgánica de la Universidad de Guadalajara, en lo referente a la titulación, así como el Reglamento del Comité de Titulación.

**ATENTAMENTE**  
**"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Zapopan, Jal. a 1 de agosto de 2003.

  
\_\_\_\_\_  
**ING. RENÉ RODRIGUEZ VIALOBOS**  
**PRÉSIDENTE DEL COMITE DE TITULACION**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. SALVADOR GONZALEZ LUNA**  
**SRIO. DEL COMITE DE TITULACION**

Gracias a CONACYT por el apoyo otorgado por medio del proyecto con clave 38689-B y titulado "Interacción entre insectos vectores de enfermedades a plantas, patógenos y enemigos naturales: un estudio pionero", proporcionándome una beca y recursos económicos para la realización de esta tesis.

## AGRADECIMIENTOS.

A Dios por darme la vida y permitirme disfrutar de estos momentos.

A mi familia, ya que por su apoyo he logrado caminar por la vida y dar este paso.

A todas las personas que laboran en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico por su apoyo, asesoría y amistad.

A mi director de tesis Gustavo Moya Raygoza y asesores Angélica M. Berlanga Padilla y Gil Virgen Calleros, los cuales fueron excelentes guías.

A todas las personas que de una forma u otra me apoyaron para realizar este trabajo.

## DEDICATORIA.

A mis padres:

Manuel Reyes Ibarra Casas y Josefina Aparicio Avila, los cuales no solo me dieron la vida sino también me enseñaron a buscar lo mejor de ella y enfrentar todas las dificultades que se presentan siempre apoyándome y mostrándome su amor por mí.

A mis hermanos:

Margarita, Jerónimo, Ana Rosa, Cecilia, Alma Rocío, los cuales siempre me han amado y apoyado en todo siendo no solo hermanos sino también amigos y cómplices.

A Juan Antonio Cortes Ramírez, a quien amo y el cual es un fuerte apoyo para mí.

A mi tía Cristina Aparicio Avila, quien me enseñó que siempre hay que buscar y luchar por lo que uno quiere ya que se puede lograr.

A cada uno de los maestros que me orientaron para que lograra llegar a cumplir esta meta y además me ofrecieron su amistad.

## INDICE DEL CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA.....	ii
INDICE DEL CONTENIDO.....	iii
RESUMEN.....	v
1.-INTRODUCCIÓN.....	1
2.- OBJETIVOS.....	2
3.- REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
3.1.- <i>Dalbulus maidis</i> .....	3
3.2.- HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	5
3.2.1.- <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	5
3.2.2.- <i>Beauveria bassiana</i> .....	7
4.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
4.1.- PROCEDIMIENTO DE ELECCIÓN Y SIEMBRA DEL HONGO.....	9
4.2.- EXTRACCIÓN DE ESPORAS.....	9
4.3.- CONTEO DE ESPORAS.....	9
4.4.- CRÍA DE <i>Dalbulus maidis</i> .....	10
4.5.- MANEJO DEL TESTIGO.....	10
4.6.- INOCULACIÓN.....	10
4.7.- CONDICIONES DEL BIOENSAYO.....	10
4.8.- TOMA DE DATOS.....	11
4.9.- ANALISIS ESTADISTICO.....	11
5.- RESULTADOS.....	12
5.1.- PORCENTAJE DE MORTALIDAD.....	12
5.2.- PORCENTAJE DE ESPORULACIÓN.....	12
5.3.- DÍAS PROMEDIO DE MORTALIDAD.....	12
5.4.- DÍAS PROMEDIO DE ESPORULACIÓN.....	13
6.- DISCUSIÓN.....	14

6.1.- PORCENTAJE DE MORTALIDAD.....	14
6.2.- PORCENTAJE DE ESPORULACIÓN.....	15
6.3.- DÍAS PROMEDIO DE MORTALIDAD.....	16
7.- CONCLUSIÓN.....	18
8.- CUADROS Y FIGURAS.....	19
9.- LITERATURA CITADA.....	27

## RESUMEN.

La chicharrita *Dalbulus maidis* (DeLong & Wocott) es una de las principales plagas del maíz en América Latina, debido a que es un eficiente vector de patógenos. A pesar de que individuos de *D. maidis* han sido encontrados en el campo con evidencias de muerte por los hongos entomopatógenos *Metarhizium* sp. y *Beauveria* sp., no se han hecho estudios bajo condiciones controladas para determinar el efecto de estos hongos sobre la chicharrita del maíz. Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue determinar la mortalidad y la esporulación sobre los adultos de *D. maidis* causada por *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin bajo condiciones de laboratorio. En total se tuvieron siete tratamientos (tres aislamientos de *M. anisopliae*, tres aislamientos de *B. bassiana* y el testigo). Para cada tratamiento se efectuaron cuatro repeticiones, cada una con 20 individuos. De los seis aislamientos, el M262 de *M. anisopliae* resulto tener los mejores efectos contra los adultos de *D. maidis*. Dicho aislamiento produjo el mayor porcentaje de mortalidad (40.1%), mayor porcentaje de esporulación (52.8 %) sobre los individuos muertos, mata más rápido a la chicharrita (10.5 días) y esporular mas pronto (3.0 días). Futuros estudios son sugeridos para probar este aislamiento bajo diferentes dosis y bajo condiciones de campo.

## 1.- INTRODUCCIÓN.

El maíz es uno de los cultivos más importantes para nuestro país, ya que forma parte de la alimentación básica de los mexicanos, se encuentra distribuido en todo el territorio nacional, y en la mayor parte de las zonas agrícolas. Uno de los problemas en este cultivo es la presencia de plagas y una de las principales es la chicharrita *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott), como vector de tres patógenos, mismos que causan achaparramiento en el maíz; el virus del rayado fino del maíz, el espiroplasma del maíz (*Spiroplasma kunkelii*), y el fitoplasma del maíz (Nault 1990). *D. maidis* se encuentra distribuida en todo el territorio de la República Mexicana. Se puede decir que donde hay cultivos de maíz a menos de 2,000 msnm es seguro que se puede encontrar a *D. maidis* (Barnes 1954).

Una alternativa para controlar la chicharrita del maíz podría ser el uso de hongos entomopatógenos, de los cuales no se han realizado estudios para determinar su actividad como agentes de control biológico contra *D. maidis*. En este trabajo se estudiaron los hongos *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok, y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, que se sabe tienen una alta capacidad para enfermar un gran número de especies de insectos, algunos de los cuales son del orden Homóptera, grupo al que pertenece *D. maidis*. La producción de las dos especies de hongos es muy económica, además de que su aplicación en campo es fácil y muy segura para las personas, debido a que no dañan la salud humana.

## 2.- OBJETIVOS.

- Determinar la mortalidad y la esporulación sobre los adultos de *D. maidis* causada por el hongo *Metarhizium anisopliae* (tres aislamientos).
- Determinar la mortalidad y la esporulación sobre los adultos de *D. maidis* causada por el hongo *Beauveria bassiana* (tres aislamientos).

### 3.- REVISIÓN DE LITERATURA.

#### 3.1.- *Dalbulus maidis*.

La chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* es un insecto que se clasifica en el orden Homóptera, familia Cicadellidae y subfamilia Deltocephalinae (Triplehorn y Nault 1985). *D. maidis* tiene metamorfosis simple pasando por cinco estadios ninfales y estado adulto. Tanto ninfas como adultos tienen aparato bucal chupador. Los adultos son pequeños, miden de 3.0 a 4.4 mm de largo. Los machos son más pequeños que las hembras y por lo general son de color más oscuro (Nault 1993).

*Dalbulus maidis* se encuentra ampliamente distribuida desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina, incluyendo México, Centro América y las Islas del Caribe. Esta especie se encuentra distribuida desde el nivel del mar hasta los 2,000 msnm en las partes de México donde se siembra maíz. La distribución de la chicharrita coincide parcialmente con la distribución del patógeno más importante transmitido por este insecto, que es el espiroplasma del maíz *S. kunkelii*. Dicho espiroplasma se le encuentra preferentemente desde el nivel del mar hasta los 1,000 msnm, siendo en estas áreas donde las pérdidas de maíz por el espiroplasma pueden llegar hasta un 100 % (Nault 1990).

Los tres patógenos transmitidos por *D. maidis* tienen un tipo de transmisión de tipo persistente-propagativo. Lo que significa que el patógeno se debe replicar dentro del vector antes de ser transmitido. La chicharrita necesita de días para adquirir el patógeno y una vez que lo adquiere lo retiene hasta su muerte. Además, el patógeno necesita un periodo de latencia de varios días antes de ser transmitido por la chicharrita (Nault 1997).

Los adultos como las ninfas de esta especie, generalmente descansan en los verticilios de las plantas de maíz. Los adultos pueden también ser encontrados con menos frecuencia en otras partes de la planta del maíz, tales como los tallos y las hojas inferiores (Barnes 1954).

Las hembras no ovipositan a menos que hayan sido apareadas, además las hembras necesitan ser fertilizadas solamente una vez para producir huevos fértiles

a través de su vida. El periodo de preoviposición de *D. maidis* varia de uno a siete días. Aparentemente no pasan por invernación o estivación en todas las áreas estudiadas en México. Los ovarios de *D. maidis* continúan su desarrollo y función durante rigurosos inviernos secos en México (Barnes 1954). *D. maidis* prospera sobre maíz y teocintle, no así sobre cereales como trigo, cebada, avena, arroz, caña de azúcar y sorgo. Las hembras depositan sus huevos en caña de azúcar y en sorgo pero las ninfas emergentes de éstos no llegaron a la madurez (Barnes 1954). Las hembras de *D. maidis* ovipositan en la superficie de la hoja de maíz y en la vena media. El periodo de incubación de los huevecillos dura de 7 a 10 días. Estos son prácticamente incoloros, pero después de que tienen 7 a 10 días de edad, se tornan blancos y claramente visibles en el tejido de la planta. Se ha encontrado que los huevecillos de *D. maidis* empiezan a eclosionar a media mañana y continúan haciéndolo así en todo el día en el invierno bajo condiciones de campo (Todd *et al.* 1991).

Las ninfas de *D. maidis* son extremadamente activas y a menudo permanecen en los lados inferiores de las hojas. Un lugar favorito de descanso y alimentación de las ninfas de cuarto y quinto estadios está en las porciones sombreadas de los cogollos de las plantas jóvenes de maíz (Barnes 1954). Estas requieren en el invierno aproximadamente 55 días para completar su desarrollo en el maíz del insectario, contrastando con 32 días requeridos durante el verano en el maíz bajo condiciones de campo (Barnes 1954). Se ha encontrado que *D. maidis* requiere cerca de 60 días para completar el desarrollo de una generación en un cultivo de maíz durante el verano (Todd *et al.* 1991). La población de chicharritas se incrementa a principios de primavera y después desciende cuando se inician las lluvias y la población se incrementa cuando hay sequías prolongadas en verano (Barnes 1954).

Poco se conoce sobre el control biológico de la chicharrita del maíz, especialmente en el uso de hongos entomopatógenos. En Centro América, se han encontrado en condiciones naturales adultos de *D. maidis* infectados por *Metarhizium* sp. y *Beauveria* sp., sin embargo, no se han realizado estudios sobre

el efecto de estas dos especies de hongos sobre la mortalidad y esporulación en la chicharrita del maíz.

### 3.2.- Hongos entomopatógenos.

En la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, orden Moniliales se encuentran los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*. Las clases de la subdivisión deuteromycotina se caracterizan por no presentar estado sexual, por lo cual se les conoce con el nombre de hongos imperfectos, la clase Hyphomycetes es la más importante ya que incluye a la mayoría de las especies conocidas como patógenos de insectos. Los Hyphomycetos se caracterizan por formar micelio septado con conidióforo simple o agrupado y la identificación de los géneros se basa en la forma en que se originan las conidias en el conidióforo (Berlanga 2002).

#### 3.2.1.- *Metarhizium anisopliae*.

*Metarhizium anisopliae* tiene una posición taxonómica cercana a *Penicillium* en la familia *Moniliaceae*. Esta especie crece en forma rápida en medio artificial, su crecimiento y germinación son promovidos por la humedad alta y el calor (De Bach 1995). En el aislamiento de *Metarhizium* spp. se utilizan los medios de cultivo Agar Sabouraud con Extracto de Levadura, Caldo Sabouraud Dextrosa con Extracto de Levadura y Agar Maltosa Sabourad con Extracto de Levadura (Medio para producción de esporas) (Berlanga 2002). Para que se muestre un crecimiento y germinación más rápida se requiere una humedad relativa de 90% (Butt y Goettel 2000). Para que crezcan los hongos es necesario mantenerlos a una temperatura de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  (Berlanga 2002). Estudios de laboratorio han mostrado que la muerte del insecto ocurre dentro de cuatro a 10 días, según la temperatura (Cloyd 1999).

*Metarhizium anisopliae* aparentemente persiste con éxito en el hábitat del huésped. Esto ha sido indicado por los brotes periódicos de las enfermedades que

se presentan cada año, bajo condiciones favorables entre los huéspedes susceptibles a este hongo (De Bach 1995).

*Metarhizium anisopliae* es un hongo extensamente distribuido que habita en el suelo. El primer empleo de *M. anisopliae* como un agente microbiano contra insectos fue en 1879, cuando Elie Metchnikoff lo usó en pruebas experimentales para controlar el escarabajo de grano de trigo, *Anisoplia austriaca* (Herbst) (Cloyd 1999).

*Metarhizium anisopliae* generalmente entra en los insectos por los espiráculos y poros en los órganos sensoriales. Una vez dentro del insecto, el hongo produce una extensión lateral de hifas, que eventualmente prolifera y consume el contenido interno del insecto. El crecimiento de las hifas sigue antes de que el insecto esté lleno de micelio. Cuando el contenido interno ha sido consumido, el hongo esporula, lo que hace el insecto tenga una apariencia "borrosa" (Cloyd 1999).

*Metarhizium anisopliae* puede obtener la nutrición de los lípidos sobre la cutícula. El hongo también puede producir metabolitos secundario, como destructinas, que tiene propiedades insecticidas. Algunos insectos han desarrollado mecanismos fisiológicos para reducir la infección por hongos como *M. anisopliae*. Por ejemplo, la langosta de desierto produce toxinas antifúngicas, que pueden inhibir la germinación de esporas. Además, los insectos pueden evitar la infección al mudar rápidamente o el desarrollo de un integumento nuevo antes de que el hongo pueda penetrar la cutícula (Cloyd 1999).

*Metarhizium anisopliae* puede liberar esporas (conidios) en las condiciones de humedad baja (< 50 %). *M. anisopliae* es sensible a extremos de temperaturas. Por ejemplo, la viabilidad de las esporas disminuye con el aumento de la temperatura y también disminuye la virulencia a temperaturas bajas (Cloyd 1999).

*Metarhizium anisopliae* ha sido probado contra varias especies de homópteros, específicamente contra insectos conocidos comúnmente como mosca pinta (Cercopidae) y pulgones o afidos (Aphididae). Esta especie de hongo se demostró ser eficiente en combatir la mosca pinta *Aeneolamia* sp. (Toriello et

al. 1999), especialmente si se aplica antes que aparecen las ninfas (Arango et al. 1994).

### 3.2.2.- *Beauveria bassiana*.

Una larva infectada por *Beauveria* sp. se vuelve perezosa en sus movimientos, no responde a la mayoría de los estímulos externos y con frecuencia toma un color ligeramente rosado. La larva permanece blanca y flexible hasta que el micelio ha crecido a través del cuerpo del insecto. En seguida, el insecto se pone rígido y momificado y el contenido del cuerpo es blanco y polvoso. Cuando la larva momificada permanece en una atmósfera seca, no se ve ningún signo externo del hongo. Sin embargo, cuando se expone al aire húmedo, los conidióforos rompen todo el integumento y aparece el micelio blanco sobre la superficie del insecto. Después de uno o dos días se producen los conidios, los cuales dan al insecto una apariencia harinosa y polvosa. Los conidios permanecen viables por más o menos 128 semanas a 4°C y por cerca de siete semanas a 23°C y 38°C (De Bach 1995).

En el aislamiento de *Beauveria* spp. se utilizan los medios de cultivo Agar Sabouraud con Extracto de Levadura, Caldo Sabouraud Dextrosa con Extracto de Levadura y Agar Maltosa Sabourad con Extracto de Levadura (Medio para producción de esporas) (Berlanga 2002).

La germinación óptima de las esporas de *B. bassiana* se presenta a humedad relativa arriba de 94% y a temperaturas de 28°C, obteniéndose bajas germinaciones a 10°C, 38°C y 44°C. En el campo, la humedad del microclima es a menudo más importante que todo el clima. Esto ha sido observado en la chinche, *Blissus leucopterus* (Say), cuando es atacada por *B. bassiana* (De Bach 1995).

*Beauveria bassiana* ha sido usada para combatir homópteros conocidos como mosquita blanca (Aleyrodidae) y pulgones (Aphididae). Por ejemplo, Poprawski et al. (2000) encontró que esta especie de hongo es eficiente contra la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en pepino, y Salguero (1993) la usó contra *Bemisia tabaci* (Gennadius). Por otro lado, esta especie de

hongo se usó contra el pulgón *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Vandenberg 1996) y contra seis especies de pulgones que atacan a cereales distribuidos a nivel mundial (Feng *et al.* 1990).

#### 4.- MATERIALES Y MÉTODOS.

Esta investigación se realizó en condiciones de laboratorio, en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico ubicado en Tecomán, Colima.

##### 4.1.- Procedimiento de elección y siembra del hongo.

Se utilizaron tres aislamientos de *M. anisopliae* y tres aislamientos de *B. bassiana* (cuadro 1). Los aislamientos tienen la característica en común de atacar homópteros además de haber sido colectados en la República Mexicana. La siembra del hongo en cada uno de los aislamientos se efectuó de la siguiente manera. Esporas de cada aislamiento se tomaron de un tubo matriz con la ayuda de una asa y bajo una campana de flujo laminar. Dichas esporas fueron sembradas en tubos con medio nutritivo de Agar Dextrosa Sabouraud. Los cuales se mantuvieron a  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , por un periodo de 8 días en *M. anisopliae* (con los aislamientos de *B. bassiana* el periodo fue de 15 a 20 días), con el propósito de obtener esporas en gran cantidad.

##### 4.2.- Extracción de esporas.

A los ocho días después de la siembra, se efectuó la extracción de esporas de cada uno de los aislamientos de la siguiente manera; a cada tubo que se sembró, se le agregó una cantidad arbitraria de agua estéril tratando de cubrir toda el área donde creció el hongo. Con una asa se talló suavemente el área donde creció el hongo para desprender la mayor parte de esporas posible y después se realizó el conteo. El anterior procedimiento se efectuó bajo condiciones estériles.

##### 4.3.- Conteo de esporas.

El conteo de las esporas se realizó de la siguiente manera. Se tomo 1 ml de las esporas extraídas (punto 4.2) y 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 en una cámara hematócitométrica de Neubauer y se realizó el conteo de esporas en el

microscopio para obtener el número promedio de conidios por campo. Entonces se aplica la siguiente fórmula:

Número promedio de conidios por campo X Factor de corrección de la cámara X dilución realizada.

Dando así, la concentración de la suspensión madre o inicial (Lecuona 1996). Una vez que conocimos la cantidad de esporas/ ml., entonces se hicieron las diluciones necesarias para aproximar lo más posible la concentración de esporas a  $1 \times 10^7$ .

#### 4.4.- Cría de *Dalbulus maidis*.

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

#### 4.5.- Manejo del testigo.

Además de los aislamientos se contó con un testigo, el que sólo tenía una gota de Estravon 40® por un litro de agua destilada.

#### 4.6.- Inoculación.

Se utilizaron 3 ml de solución para aplicarlos con un atomizador 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 siendo 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 (cuadro 2).

#### 4.7.- Condiciones del bioensayo.

Después de asperjar los adultos de *D. maidis* con su respectiva solución. Las cajas tipo botella invertida de los tres aislamientos y el testigo se colocaron en un cuarto a una temperatura de  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y un fotoperiodo de 12:12 hora.

#### 4.8.- Toma de datos.

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  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Los individuos depositados en la cámara húmeda fueron revisados diariamente en el estereoscopio, para determinar la fecha de esporulación y el tiempo que tarda en presentarse. El periodo de esporulación comprendió desde la muerte del individuo hasta la formación de las esporas.

#### 4.9.- Análisis estadístico.

Los porcentajes promedios de mortalidad en *D. maidis* por los aislamientos 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 los diferentes aislamientos de las dos especies de hongos. Las diferencias entre las medias fueron determinadas con la prueba Tukey a un nivel de 0.05. Ambas pruebas fueron efectuadas con el programa (Olivares 1994).

## 5.- RESULTADOS.

### 5.1.- Porcentaje de mortalidad.

En este estudio se encontró que los adultos de *D. maidis* son infectados por *M. anisopliae* (Figura 1) y *B. bassiana* (Figura 2). El porcentaje de mortalidad en adultos de *D. maidis* causada por los tres aislamientos de *M. anisopliae* (M366; M362; M379) y los tres aislamientos de *B. bassiana* (B517; B874; B992) 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 los aislamientos M362 y M379 con 40.1 % y 37.2 %, respectivamente (cuadro 3). Mientras que el aislamiento B874 produjo el menor promedio de porcentaje de mortalidad.

### 5.2.- Porcentaje de esporulación.

El porcentaje de esporulación causado por los tres aislamientos de *M. anisopliae* y tres aislamientos 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 los aislamientos de *M. anisopliae* se presentó entre 38.7 % y 52.8% y por los aislamientos de *B. bassiana* ocurrió entre 5.7 % y 32.4 % (cuadro 4). El mayor porcentaje de esporulación fue mostrado por el aislamiento M362 con un promedio de 52.8 %, mientras que los menores porcentajes de esporulación los presentaron los aislamientos B874 y B517 con promedios de 5.7 % y 9.2 %, respectivamente.

### 5.3.- Días promedio de mortalidad.

Los promedios de días en que mueren los adultos de *D. maidis* por el efecto de los tres aislamientos de *M. anisopliae* y los tres aislamientos de *B. bassiana* fueron significativamente diferentes ( $F = 4.37$ ; g.l. = 5,338;  $P = 0.01$ ). El promedio de días en que murieron los adultos por los aislamientos de *M. anisopliae* fue desde 10.3 hasta 12.1 días y por los aislamientos de *B. bassiana* fue desde 12.0 hasta 14.8 (cuadro 5). Los aislamientos 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, mientras que el aislamiento B874 tardó más tiempo en matar a los adultos con un promedio de 14.8 días.

#### 5.4.- Días promedio en esporular.

El promedio de días en que esporulan los tres aislamientos de *M. anisopliae* y los tres aislamientos de *B. bassiana* 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 los tres aislamientos de *M. anisopliae* ocurrió entre los 3.0 y 3.7 días y los tres aislamientos de *B. bassiana* esporularon entre los 4.7 y 13.8 días (cuadro 6). Los aislamientos M362 y M379 esporularon significativamente más rápido con promedios de 3.0 y 3.3 días, respectivamente, mientras que el aislamiento B517 fue el que tardó más tiempo en esporular con un promedio de 13.8 días.

## 6.- DISCUSIÓN.

Este es el primer estudio que muestra el efecto de los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* sobre la chicharrita del maíz, bajo condiciones de laboratorio. Previamente se ha mostrado que *M. anisopliae* es eficiente en controlar las poblaciones de homópteros de las familias Aphididae (afidos) (Hall 1980) y Cercopidae (Mosca pinta) (Arango *et al.* 1994, Toriello *et al.* 1999). En el caso de *B. bassiana* se ha mostrado que es eficiente en el control de homópteros de las familias Aphididae (Humber 1991) y Aleyrodidae (mosquita blanca) (Salguero 1993).

### 6.1.- Porcentaje de mortalidad.

En este estudio se encontró que los aislamientos M362 y M379 de *M. anisopliae* produjeron la mayor mortalidad sobre adultos de *D. maidis* con un 40.1 % y 37.2 %, respectivamente. En el homóptero 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 los dos aislamientos.

Sin embargo, en otros grupos de insectos se ha encontrado una gran variación en la mortalidad que produce *M. anisopliae*. Por ejemplo, los aislamientos ARSEF (Agricultural Research Service Entomopathogenic Fungal Cultures, USDA) 3540 y ARSEF 3542 fueron patogénicos a *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvoys) (Hemiptera: Myridae) con un porcentaje de mortalidad de 92.1% y 75.0%, respectivamente (Liu *et al.* 2002). El barrenador de las bayas del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) tuvo una mortalidad de 22.1% por *M. anisopliae* (De la Rosa *et al.* 2000). Por otro lado, esta especie de hongo produjo una mortalidad de 98.6% a 100% en las termitas obreras *Coptotermes formosanus* (Shiraki) (Isoptera: Rhinotermitidae) (Jones *et al.* 1996). La mortalidad total en *Megalurothrips sjostedti* (Tribom) (Thysanoptera: Thripidae) causada por *M. anisopliae* estuvo entre 16% y 100% (Ekesi *et al.* 1999). Además, la mortalidad de larvas de *Diaprepes abbreviatus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) después del tratamiento con *M. anisopliae* fue de 23.0% (Quintela y McCoy 1997).

Por otro lado, el mayor porcentaje de mortalidad por *B. bassiana* sobre los adultos de *D. maidis* fue producido por el aislamiento B517, quien alcanzo un 22.5 %. Posiblemente esto se debe a que ataca a membrácidos, una familia de homóptero que se encuentra muy cercana filogenéticamente a la familia Cicadellidae, a la cual pertenece *D. maidis*. El porcentaje de mortalidad mostrado por el aislamiento B517 es menor que los encontrados en el homóptero mosquita blanca *T. vaporariorum* (Aleirodidae), ya que ninfas de esta especie fueron muertas en un 38.7% (Poprawski *et al.* 2000). Por otro lado, en el barrenador de las bayas del café la mortalidad fue de 40.6% (De la Rosa *et al.* 2000). En las termitas obreras *C. formosanus* fue de 97.9% a 100% (Jones *et al.* 1996). Liu *et al.* (2002) encontró una gran variación en el efecto de mortalidad de 18 aislamientos en *L. lineolaris*, siendo de un 35% a 98%. Además, altos niveles de mortalidad fueron encontrados por tres aislamientos de *B. bassiana* sobre la mosca de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew) (Tephritidae), encontrándose valores entre un 98% y 100% (De la Rosa *et al.* 2002).

La gran variación en la mortalidad se puede deber a los diferentes grados de resistencia que tienen los diferentes grupos de insectos, los cuales tienen una respuesta inmunológica diferente al intento de infección de los entomopatógenos. Además, los insectos pueden evitar la infección por mudar rápidamente o al desarrollar un integumento nuevo antes de que el hongo pueda penetrar la cutícula (Cloyd 1999).

## 6.2.- Porcentaje de esporulación.

El mayor porcentaje de esporulación sobre los adultos muertos de *D. maidis* fue mostrado por el aislamiento M362 con un 52.8 %. Mientras que los porcentajes de esporulación por los tres aislamientos de *B. bassiana* fueron entre un 5.7% y 32.4%. A diferencia de estos resultados, *B. bassiana* produjo mayor porcentaje de esporulación en otros insectos. Por ejemplo, los individuos de *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) muertos por el hongo mostraron un 90% de esporulación (Noma y Strickler 2000). Además, la mosca de la fruta presentó porcentajes de esporulación entre un 66.4% y 74.7% por tres cepas virulentas de

*B. bassiana*. El bajo porcentaje de esporulación por los aislamientos de *B. bassiana*, sugiere que podrían tener poco potencial de reinoculación después de asperjarlos.

### 6.3.- Días promedio de mortalidad.

Los aislamientos M362 y M379 de *M. anisopliae*, quienes produjeron su mortalidad en 10.5 y 10.3 días respectivamente, mataron significativamente más rápido a los adultos de *D. maidis*. En otros estudios se ha encontrado que esta especie de hongo puede matar a otros homópteros en menos días, debido a que los áfidos son muertos a los siete días después de la aspersión (Hall 1980). Mientras otros insectos como *L. lineolaris* murieron a los ocho días después de la aplicación del hongo (Liu *et al.* 2002). Por otro lado, el barrenador de las bayas del café murió a los 40 días (De la Rosa *et al.* 2000), y las termitas obreras murieron entre las tres horas y dos días (Jones *et al.* 1996).

Los aislamientos M362 y M379 de *M. anisopliae* causaron una mortalidad de los adultos de *D. maidis* en un tiempo promedio menor a los 11.0 días. Para efectos de control sobre vectores de patógenos con mecanismo de propagación persistente-propagativo, eso es positivo. Lo anterior significa que estos aislamientos matan al vector antes de que este transmita a los patógenos, debido a que es necesario un periodo de latencia (tiempo necesario para que el patógeno sea propagado por el vector desde que es adquirido) de entre dos y tres semanas para que *D. maidis* transmita a los tres patógenos.

El aislamiento B874 de *B. bassiana*, quien necesitó de 14.8 días para matar los adultos de *D. maidis*, fue el que requirió más tiempo para matar los adultos de esta chicharrita. En otros estudios se encontró que el homóptero *D. noxia* (Aphididae) fue muerto entre los 4.6 y 10.3 días por *B. bassiana* (Vandenberg 1996). La mosca de la fruta fue muerta a los 4.4 días después de la aspersión (De la Rosa *et al.* 2002). El barrenador del tallo entre los 3.3 y 6.4 días (Crisostomo *et al.* 2000). El barrenador de las bayas del café a los 30 días (De la Rosa *et al.* 2000). Las termitas obreras entre los 2.0 y 20.8 días (Jones *et al.* 1996), y *Lygus hesperus* a los cinco días después de la inoculación (Noma y Strickler 2000).

Finalmente en este estudio se recomienda efectuar futuras investigaciones con los aislamientos que producen sobre *D. maidis* mayor mortalidad, mayor porcentaje de esporulación, matan mas rápido y esporulan en pocos días. Antes de sugerir algún aislamiento para el control de la chicharrita del maíz es necesario probar su efecto a diferentes concentraciones y determinar su efecto en condiciones de campo.

## 7.- CONCLUSION.

- *Metarhizium anisopliae* (aislamiento M362) es el que produjo el mayor porcentaje de mortalidad, mayor porcentaje de esporulación, mata más rápido y esporula mas pronto.
- La mejor opción para utilizar en futuros estudios es el aislamiento M362 de *M. anisopliae*.

## 8.- CUADROS Y FIGURAS.

**Cuadro 1.** Aislamientos utilizados en el estudio. Estos son parte de la colección de hongos entomopatógenos Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, ubicado en Tecomán, Colima.

*Metarhizium anisopliae:*

<u>Clave particular</u>	<u>Clave oficial</u>	<u>Insecto Huésped</u>	<u>Planta hospedera</u>	<u>Lugar de origen</u>
M362	MaGB4	Cercopidae	C. de azúcar	Veracruz
M366	MaNL1	Cercopidae	C. de azúcar	San Luis Potosí
M379	MaMP1	Cercopidae	C. de azúcar	Colima

*Beauveria bassiana:*

<u>Clave particular</u>	<u>Clave oficial</u>	<u>Insecto Huésped</u>	<u>Planta hospedera</u>	<u>Lugar de origen</u>
B517	BbCII	Membracidae	C. de azúcar	Colima
B874	BbCHE1	Tingidae	C. de azúcar	Veracruz
B992	BbAPH2	Aphididae	Limón	Colima

**Cuadro 2.** Concentraciones y dosis aplicadas en los tratamientos para cada una de las cuatro repeticiones de *M. anisopliae* y *B. bassiana*.

Tratamiento	Concentración	Dosis
<i>M. anisopliae</i>		
M366	$1 \times 10^7$	3 ml.
M362	$1 \times 10^7$	3 ml.
M379	$1 \times 10^7$	3 ml.
<i>B. bassiana</i>		
B517	$1 \times 10^7$	3 ml.
B874	$1 \times 10^7$	3 ml.
B992	$1 \times 10^7$	3 ml.
Testigo	Agua (1 lt.) + Estravon 40 ® (1 gota)	3 ml.

**Cuadro. 3.** Promedio de porcentaje de mortalidad en *D. maidis* adultos causada por tres aislamientos de *M. anisopliae* (M366; M362; M379) y tres aislamientos de *B. bassiana* (B517; B874; B992) a los 10 días después de efectuar la aspersion.

---

<i>Metarhizium anisopliae</i>		
M366	M362	M379
19.8 A n = 74	40.1 A n = 74	37.2 A n = 76
<i>Beauveria bassiana</i>		
B517	B874	B992
22.5 A n = 67	8.6 A n = 70	21.3 A n = 78

---

n = número de individuos probados.

Promedios con letras iguales son significativamente similares con la prueba Tukey a un nivel de 0.05.

**Cuadro. 4.** Promedio de porcentaje de esporulación en adultos de *D. maidis* causada por tres aislamientos de *M. anisopliae* (M366; M362; M379) y tres aislamientos de *B. bassiana* (B517; B874; B992).

<i>Metarhizium anisopliae</i>		
M366	M362	M379
43.7 (13.8) AB n = 60	52.8 (9.3) A n = 59	38.7 (11.6) AB n = 62
<i>Beauveria bassiana</i>		
B517	B874	B992
9.2 (2.2) B n = 61	5.7 (2.1) B n = 47	32.4 (10.0) AB n = 55

( ) = error estándar.

n = número de insectos muertos.

Promedios con letras iguales son significativamente similares con la prueba Tukey a un nivel de 0.05.

**Cuadro. 5.** Promedio de días en que mueren los adultos de *D. maidis* por el efecto de tres aislamientos de *M. anisopliae* (M366; M362; M379) y tres aislamientos de *B. bassiana* (B517; B874; B992).

<i>Metarhizium anisopliae</i>		
M366	M362	M379
12.1 (0.6) AB n = 60	10.5 (0.7) B n = 59	10.3 (0.8) B n = 62
<i>Beauveria bassiana</i>		
B517	B874	B992
12.0 (0.6) AB n = 61	14.8 (0.7) A n = 47	12.2 (0.7) AB n = 55

( ) = error estándar.

n = número de insectos muertos.

Promedios con letras iguales son significativamente similares con la prueba Tukey a un nivel de 0.05.

**Cuadro 6.** Promedio de días en que esporulan los tres aislamientos de *M. anisopliae* (M366; M362; M379) y tres aislamientos de *B. bassiana* (B517; B874; B992) después de matar a los adultos de *D. maidis*.

<i>Metarhizium anisopliae</i>		
M366	M362	M379
3.7 (0.3) CD n = 32	3.0 (0.1) D n = 39	3.3 (0.2) D n = 29
<i>Beauveria bassiana</i>		
B517	B874	B992
13.8 (2.1) A n = 6	4.7 (1.0) BC n = 4	5.1 (0.5) B n = 25

( ) = error estándar.

n = número de insectos que esporularon.

Promedios con letras iguales son significativamente similares con la prueba Tukey a un nivel de 0.05.

Figura 1.- Adulto de *Dalbulus maidis* infectado con *Metarhizium anisopliae*.



Figura 2.- Adulto de *Dalbulus maidis* infectado con *Beauveria bassiana*.



## 9.- 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.
- Barnes, D. 1954. Biología, ecología y distribución de las chicharritas, *Dalbulus elimatus* (Ball) y *Dalbulus maidis* (DeL. & W.) Folleto Técnico, Número 11. Secretaría de Agricultura y Ganadería, Oficina de Estudios Especiales, México, D.F. 112 pp.
- Berlanga, P., A. M. 2002. Manejo y conservación de hongos entomopatógenos. *En* Entrenamiento en producción masiva de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Colima, México. 23 pp.
- Butt, T. M. y M. S. Goettel. 2000. Bioassay of entomogenous fungi. *En* Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. A. Navon and K. R. S. Ascher (Eds.). London, UK. 324 pp.
- Cloyd, R.A. 1999. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. <http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf607.html>
- Crisostomo, J., T. J. Poprawski, y B. C. Legaspi Jr. 2000. Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* against sugarcane stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae) in the lower Rio Grande Valley of Texas. *Journal of Economic Entomology* 93: 54-59.
- De Bach, P. 1995. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. CECSA, México. 946 pp.
- De la Rosa, W., R. Alatorre, J. F. Barrera., y C. Toriello. 2000. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee berry Borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions. *Journal of Economic Entomology* 93: 1409-1414.

- De la Rosa, W., F. L. Lopez, y P. Liedo. 2002. *Beauveria bassiana* as a pathogen of the mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology* 95: 36-43.
- Ekesi, S., N. K. Maniania., K. Ampong-Nyarko, y I. Onu. 1999. Effect of intercropping cowpea with maize on the performance of *Metarhizium anisopliae* against *Megalurothrips sjostedti* (Thysanoptera: Thripidae) and predators. *Enviromental Entomology* 28: 1154-1161.
- Feng, M-G, J.B. Johnson, y L.P. Kish. 1990. Virulence of *Verticillium lecanii* and an aphid-derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) for six species of cereal-infesting aphids (Homoptera: Aphididae). *Enviromental Entomology* 19: 815-820.
- Hall, R. A. 1980. Comparison of laboratory infection of aphids by *Metarhizium anisopliae* and *Verticillium lecanii*. *Ann. Appl. Biol.* 95: 159-162.
- Humber, R. A. 1991. Fungal pathogens of aphids. *En proceedings Aphid-plant interactions: Populations to Molecules, Oklahoma USA.* p 45-56.
- Jones, W. E., J. Kenneth, y M. Tamashiro. 1996. Virulence of seven isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Enviromental Entomology* 25: 481-487.
- Lecuona, R., E. Papierok B, y Riba G. 1996. Técnicas empleadas con hongos entomopatógenos. 143-150 pp. *En Microorganismos patógenos empleados en el control microbial de insectos plaga.* R.E. Lecuona (Ed.). Argentina. 338 pp.
- Liu. H., M. Skinner., B. L. Parker, y M. Brownbridge. 2002. Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes), and other entomopathogenic fungi against *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Economic Entomology* 95: 675-681.
- Nault, L.R. 1990. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhopper, a case study. *Maydica* 35: 165-175.
- Nault, L.R. 1993. Evolución de una plaga de insecto: el maíz y las chicharritas, un estudio de caso. *En Biología, ecología y distribución del género Zea.* B.F. Benz (Ed.). Universidad de Guadalajara, México. 302 pp.

- Nault, L.R. 1997. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90: 521-541.
- Noma, T., y K. Strickler. 2000. Effects of *Beauveria bassiana* on *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) feeding and oviposition. *Environmental Entomology* 29: 394-402.
- Olivares, S.E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía, UANL, Nuevo León.
- Poprawski, T. J., S. M. Greenberg, y A. Ciomperlik. 2000. Effect of host plant on *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*- induced mortality of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Environmental Entomology* 29: 1048-1053.
- Quintela, E. D., y C. W. McCoy. 1997. Pathogenicity enhancement of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to first instars of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) with sublethal doses of imidacloprid. *Environmental Entomology* 26: 1173-1182.
- Salguero, V. 1993. Perspectiva para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. En *Las moscas blancas* (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y El Caribe. L. Hilje (Ed.). Orlando Arboleda. Costa Rica. p 20-26.
- Todd, J.L., L.V. Madden, y 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.
- Triplehorn, B.W., y L.R. Nault. 1985. Phylogenetic classification of the genus *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae), and notes on the phylogeny of Macrostelini. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78: 291- 315.
- Vandenberg, J. D. 1996. Standardized bioassay and screening of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* against the russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology* 89: 1418-1423.