

DISTRIBUCIÓN NATURAL DE *Beauveria bassiana* Y *Metarhizium anisopliae* EN SUELO AGRÍCOLA DEL ESTADO DE HIDALGO, MÉXICO

Amada Mirasol Morales-Ramírez¹, Argelia Ramírez Sanjuán¹ y Jorge San-Juan Lara^{1*}. Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Domicilio conocido, Tepatepec, Hidalgo, México. C.P. 42660¹. *teotsintli@gmail.com

RESUMEN: En el estado de Hidalgo existen pocos estudios sobre abundancia y distribución de hongos entomopatógenos en suelos agrícolas. El presente trabajo tuvo como objetivo en analizar la distribución natural de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en suelo cultivado por maíz en tres localidades del estado de Hidalgo. Del total de larvas incubadas de *Tenebrio molitor* los resultados muestran que un 11.73 % (44 larvas) fueron positivas a *B. bassiana* y 2.66 % (10 larvas) por *M. anisopliae*. La distribución de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en los tres sitios no hubo diferencias significativas, sin embargo, en la localidad de Acayuca fué donde se obtuvo un mayor número de larvas infectadas (21 larvas). La ocurrencia natural de *B. bassiana* de acuerdo al área de muestreo presentó diferencias significativas, siendo la localidad de Acayuca el de mayor frecuencia (15.2%) mientras que en *M. anisopliae* no hubo diferencias significativas en las tres localidades muestreadas.

Palabra clave: suelo, insecto, distribución.

Natural distribution of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in agricultural land in the State of Hidalgo, Mexico

ABSTRACT: In the state of Hidalgo there are few studies about abundance and distribution of entomopathogenic fungi in agricultural soils. The goal of this study was to analyze the natural distribution of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in soil cultivated for maize at three locations in the state of Hidalgo. Of total incubated larvae of *Tenebrio molitor* the results show that 11.73% (44 larvae) were positive for *B. bassiana* and 2.66% (10 larvae) by *M. anisopliae*. The distribution of *B. bassiana* and *M. anisopliae* in the three sites there were no significant differences, however, in Acayuca was where a greater number of infected larvae (21 larvae) was obtained. The natural occurrence of *B. bassiana* according to sampling area showed significant differences, being the locality of Acayuca the most frequent (15.2%) while *M. anisopliae* were no significant differences in the three sampling sites.

Key word: Soil , insect, distribution.

Introducción

La disminución del rendimiento debido a las plagas alcanza entre un 20-30% en la mayoría de los cultivos, a pesar del incremento substancial en el uso de plaguicidas (cerca de 500 mil toneladas de ingrediente activo a nivel mundial) esto es un síntoma de la crisis ambiental que afecta a la agricultura. Por otro lado, las prácticas agrícolas modernas afectan negativamente a los enemigos naturales de las plagas, los que a su vez no encuentran las condiciones necesarias para reproducirse y así poder suprimir biológicamente a las plagas en los monocultivos. Debido a esta ausencia de controles naturales, los agricultores invierten billones de dólares en plaguicidas, y se estima que el ahorro en pérdidas por plagas es de 16 billones de dólares. En cambio, el costo indirecto del uso de plaguicidas por los daños al medio ambiente y a la salud pública debe ser balanceado contra estos beneficios (Altieri y Nicholls, 2000).

En la búsqueda de alternativas sustentables para mitigar el uso de agroquímicos, eliminar plagas de importancia para la agricultura y disminuir la contaminación producida por el uso indiscriminado de plaguicidas se están realizando investigaciones haciendo uso de métodos biológicos incluyendo el uso

de enemigos naturales así como el uso de hongos entomopatógenos, una de sus ventajas es reducir el riesgo de causar efectos negativos en el medio ambiente y en los humanos.

Los hongos entomopatógenos se encuentran asociados con insectos que viven en diversos hábitats, como el agua, suelo, partes aéreas, zonas desérticas y zonas urbanas (Carruthers y Hural, 1990; Lacey *et al.*, 1996), estos se pueden aplicar en forma de conidios o micelio que esporulan después de la aplicación. El uso de estos microorganismos como alternativa a los insecticidas o la aplicación combinada de insecticida con hongos entomopatógenos podría ser muy útil para el manejo de la resistencia en los insecticidas (Hajecck y Leger, 1994). Los entomopatógenos del género *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria* son comunes encontrarlos en el suelo (Domsch *et al.* 1980; Keller and Zimmermann, 1989). *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales) son enemigos naturales de un rango amplio de insectos ambos presentan una distribución cosmopolita (Bidochka *et al.*, 1998; Roberts and St. Leger, 2004). En varios estudios realizados señalan que *B. bassiana* es común encontrarlo en hábitats no perturbados mientras que *M. anisopliae* es frecuente en suelos agrícolas (Vänninen, 1996; Quesada-Moraga *et al.*, 2007; Sánchez-Peña *et al.*, 2011). En el estado de Hidalgo existen pocos estudios sobre abundancia y distribución de hongos entomopatógenos en suelos agrícolas. Por lo anterior el presente trabajo tuvo como objetivo en analizar la distribución natural de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en suelos de tres agroecosistemas de maíz en el estado de Hidalgo.

Materiales y Método

El experimento se llevó a cabo en tres lotes agrícolas, cada uno de estos experimentos ubicados en diferentes localidades del estado de Hidalgo, el primero en Achiqhuixtla, Atlapexco (20°59'15.0''N, 98°22'28.3''W) el segundo en Acayuca Municipio de Zapotlán de Juárez (20°00'49.3''N, 98°50'12.3''W) y el tercero se realizó en Caltimacán, Tasquillo (20°32'03.0''N, 99°21'28.3''W). En Febrero y Marzo del 2014 se realizaron las colectas de muestras de suelo, por lote se tomaron 25 muestras en zig-zag al azar a cinco centímetros de profundidad de la superficie del suelo, cada muestra tuvo un peso de 50 g, posteriormente se realizó la criba para eliminar terrones y materia orgánica, las muestras fueron vertidas en vasos de plástico con capacidad de 100 ml. Después de la criba se le agregó entre siete a 20 ml de agua esterilizada para humedecer el suelo sin llegar a punto de saturación posteriormente se dejaron reposar por 30 minutos a temperatura ambiente.

Para el aislamiento de los hongos entomopatógenos se utilizó la técnica del insecto cebo (Zimmermann, 1986). Se utilizaron larvas de *T. molitor* con una longitud entre 2.5 a 3 cm. En cada vaso se incubaron cinco larvas de *T. molitor* a una temperatura promedio 25°C ± 2 con humedad relativa de 75% por 15 días. Las muestras fueron examinadas cada dos días. Cuando la larva presentó síntomas de infección fue retirada del vaso y lavada cuatro veces como sigue: agua con cloro al 1%, agua destilada estéril, alcohol al 70%, agua estéril. Una vez desinfectada la larva se incubó en un vaso de 20 ml con algodón húmedo para permitir el desarrollo del hongo entomopatógeno. Cuando el hongo presentó esporulación fueron aislados en medio de cultivo agar dextrosa sabouraud (ADS), posteriormente los aislamientos fueron sembrados para su purificación. La identificación de los entomopatógenos se realizó mediante el uso de claves taxonómicas propuestas por Humber (1997) y Weiser (1969). Los datos obtenidos del porcentaje de larvas infectadas por hongos entomopatógenos de los tres sitios de muestreo fueron analizados con la prueba no paramétrica de Kruskal-wallis y la comparación de medias mediante la prueba de bonferroni utilizando SAS 9.3.

Resultados y Discusión

Se colectaron 25 muestras de suelo por localidad e incubaron cinco larvas de *T. molitor* por muestra teniendo 125 larvas por localidad para un total de 375 larvas incubadas en las tres localidades muestreadas. Los resultados obtenidos en los tres lotes evaluados para la variable número de larvas infectadas por hongos entomopatógenos no mostraron diferencias significativas ($p = 0.3581$, Kruskal-wallis), de las cuales, en Acayuca hubo 21 larvas que murieron infectadas por hongos entomopatógenos (16.8%), en Caltimacán 17 larvas infectadas (13.6%), y en Achiquihuitla 16 (12.8%) (Fig. 1).

Del número de larvas infectadas por *B. bassiana* y *M. Anisopliae* hubo diferencias significativas ($p = 0.0001$, Kruskal-Wallis; $p = 0.0003$, Bonferroni), 2.66 % fueron positivas a *M. anisopliae* y el 11.73 % fueron positivas a *B. bassiana* (Fig. 2), esto indica que *B. bassiana* fue el de mayor abundancia. Dichos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores para México y Canadá (Bidochka *et al.*, 1998; Hernández-Velázquez *et al.*, 2011; Sánchez-Peña *et al.*, 2011). Bidochka y colaboradores (1998) reportaron la presencia de los mismos géneros de hongos entomopatógenos en suelos de Canadá, aunque en porcentajes más altos, pero también predominando *B. bassiana*. En Saltillo, México, Sánchez-Peña (2011) y colaboradores obtuvieron los mismos resultados de 840 larvas incubadas 171 (20.4%) fueron infectadas por *B. bassiana* y 25 (3%) por *M. Anisopliae* mientras que en Morelos en el mismo año Hernández-Velázquez reportó que de 44 muestras colectadas en 60.8 % fue detectado *B. bassiana* y *M. Anisopliae* en el 21.7% .

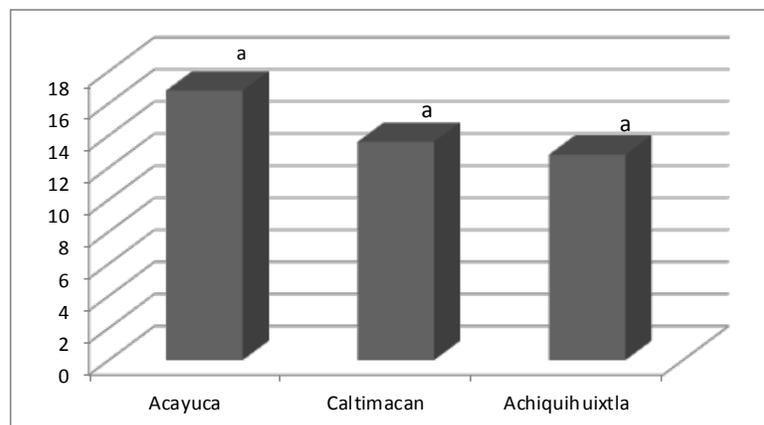


Figura 1. Porcentaje de larvas *T. molitor* infectadas por hongos entomopatógenos en suelos agrícolas de tres sitios de muestreo en el estado de Hidalgo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p = 0.05$).

En cuanto a la distribución de *B. bassiana* en los tres lotes muestreados (Fig. 3) si hubo diferencias significativas ($p = 0.0115$ Kruskal-Wallis; $p = 0.0165$, Bonferroni) siendo Acayuca el sitio con mayor frecuencia de dicho entomopatógeno, para *M. anisopliae* no se encontraron diferencias significativas ($p = 0.0610$ Kruskal Wallis, $p = 0.0588$ Bonferroni) en las tres localidades evaluadas. Hernández-Velázquez y colaboradores en 2011 citan que el porcentaje de insectos infectados por hongos por sitio fue mayor y estadísticamente diferente en suelos no cultivados con respecto a los suelos cultivados con maíz mientras Sosa-Gómez & Moscardi (1994) reportan una mayor prevalencia de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Nomuraea rileyi* y *Paecilomyces* sp. en suelos no cultivados con respecto a los cultivados con soya, esto se debe en gran parte a que en áreas de cultivo los conidios de

los hongos son expuestos a la luz ultravioleta y temperaturas altas, los cuales influyen en la supervivencia de estos microorganismos.

La ocurrencia de *B. bassiana* y *M. anisopliae* presentan una amplia distribución en suelos de todo el mundo (Vänninen 1996; Bidochka *et al.*, 1998). Varios autores señalan que *B. bassiana* es más frecuente en áreas no perturbadas caso contrario de *M. anisopliae* ya que es más abundante en zonas agrícolas, es decir, es más adaptado a zonas perturbadas (Quesada-Moraga *et al.*, 2007; Bruck, 2004).

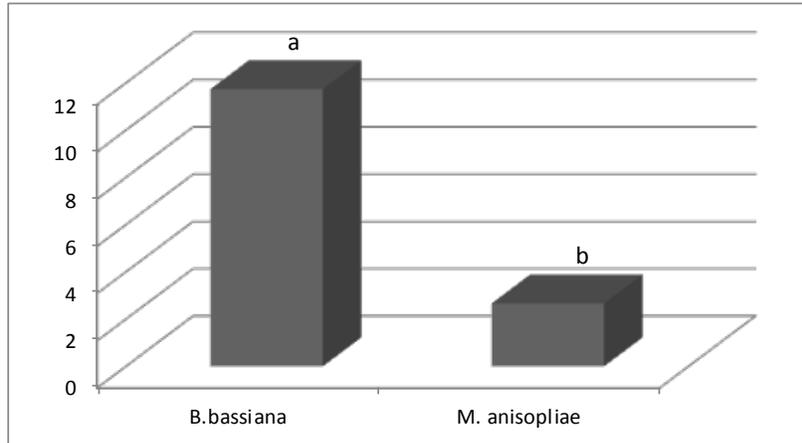


Figura 2. Porcentaje de larvas de *T. molitor* infectadas por *B. bassiana* y *M. anisopliae* en suelos de las tres localidades pertenecientes al estado de Hidalgo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p = 0.05$).

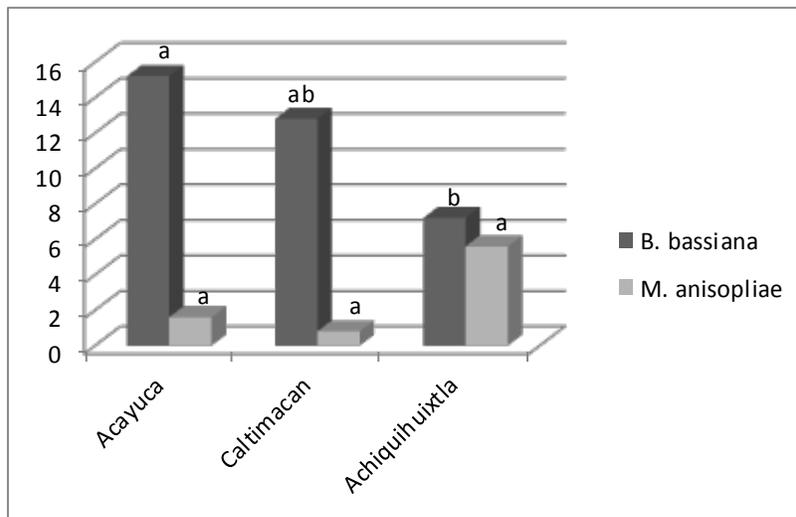


Figura 3. Porcentaje en la diversidad de *B. bassiana* y *M. anisopliae* de acuerdo al área de muestreo. Letras diferentes indican diferencia entre las medias de las poblaciones (Bonferroni $p = 0.05$).

Agradecimientos.

Al rector de la UPFIM Ing. Juan De Dios Nochebuena Hernández y al M.C. Alejandro Ventura Maza coordinador de la Carrera de Ing. en Agrotecnología por el apoyo y facilidades brindadas en la realización del presente trabajo de investigación.

Literatura Citada

- Altieri, M., Nicholls C. I. 2000. Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable. Serie textos básicos para la formación ambiental. Primera edición. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. 250 p.
- Bidochka M.J., Kasperski J.E., Wild GAM. 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and nearnorthern habitats. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 76: 1198-1204.
- Bruck D.J. 2004. Natural occurrence of entomopathogens in Pacific Northwest nursery soils and their virulence to the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Environmental Entomology* 33: 1335-1343.
- Carruthers, I.R. and Hural K. 1990. Fungi as natural occurring entomopathogens, pp. 115-138. *In: New Directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pest and Diseases.* Alan R. Liss, Inc.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H., 1980. *Compendium of Soil Fungi*, vol. 1. Academic Press, London, 859 pp.
- Hajek A.E. and Leger St. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts, *Annual Review of Entomology*. vol.39, pp.293 - 322.
- Hernández-Velázquez V.M., Cervantes Espíndola Z., Villalobos F.J., Lina García L. & Peña Chorra G. 2011. Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleóptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de Maíz. *Acta Zoológica Mexicana*. 27(3), 591-599.
- Humber R.A. 1997. Fungi: Identification. *In: Lacey LA*, editor. *Manual of Techniques in Insect Pathology*. pp. 153-185. Academic Press.
- Keller, S., Zimmerman, G., 1989. Mycopathogens of soil insects. *In: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F. (Eds.), Insect-fungus interactions.* Academic Press, London, pp. 240-270.
- Lacey L.A, Fransen J.J, Carruthers R. 1996. Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents. *In: Gerling D, Mayer R, editors. Bemisia: 1995. Taxonomy, biology, damage, control and management.* Andover: Intercept. pp. 401-433.
- Molina-Ochoa, J., R. Lezama-Gutiérrez, M. González-Ramírez, M. López-Edwards, M. Rodríguez-Vega & F. Arceo-Palacios. 2003. Pathogens and parasitic nematodes associated with pupations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in México. *Florida Entomologist*, 86: 244-253.
- Quesada-Moraga E., Navas-Cortes J.A., Maranhao E.A.A., Ortiz-Urquiza A., Santiago- Alvarez C. 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research* 111: 947-966.
- Roberts, D.W. and St. Leger, R.J. 2004. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. *Advances in Applied Microbiology*, 54: 1- 70.

- Sánchez-Peña S.R, San-Juan L. J., Medina R.F. 2011. Occurrence of entomopathogenic fungi from agricultural and natural ecosystems in Saltillo, Mexico, and their virulence towards thrips and whiteflies. *Journal of Insect Science* 11:1 available online: insectscience.org/11.1
- Sosa-Gómez, D. R. and Moscardi F. 1994. Effect of till and no-till soybean cultivation on dynamics of entomopathogenic fungi in the soil. *Florida Entomologist*, 77: 284-287.
- Vänninen I. 1996. Distribution and occurrence of four entomopathogenic fungi in Finland: Effect of geographical location, habitat type and soil type. *Mycological Research* 100: 93-101.
- Weiser, J. 1969. An atlas of insect. Shannon: Irish University Press.
- Zimmermann G. 1986. The "Galleria bait method" for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal of Applied Entomology* 102: 213-215.
- SAS Institute Inc. 2011. Base SAS® 9.3 Procedures Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.