

## EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE CEPAS NATIVAS DEL ESTADO DE GUANAJUATO DE *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF) SOROKIN SOBRE LA ARAÑA ROJA (*Tetranychus urticae*, KOCH) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Sandra Yazmín Jiménez-Hernández<sup>1</sup>, José Ignacio Hernández-Moreno<sup>2</sup>, Héctor Gordon Núñez-Paleniús<sup>2</sup>, Laura Alejandra Arriola-Mosqueda<sup>2</sup>, Yadira Jiménez-Lara<sup>2</sup>, César Andrés Angel-Sahagún<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato-Silao Km. 12,5 C. P. 36821 Irapuato, Guanajuato, México; email: yaz-luna@hotmail.com; <sup>2</sup>Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato Ex Hacienda El Copal, km 7 C. P. 36500, Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México; email: sahaun01@yahoo.com.mx.

**RESUMEN:** Se evaluó la efectividad de cepas nativas de Guanajuato del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* sobre el ácaro plaga *Tetranychus urticae* presente en hojas de fresa en condiciones de laboratorio. La inoculación se realizó por inmersión de hojas durante cinco segundos en la concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/mL<sup>-1</sup>, posteriormente se colocaron los ácaros sobre la hoja y se registró la micosis cada 48 horas por al menos ocho días. Se observó variación en la micosis de acuerdo a la cepa y se seleccionaron dos por micosar el 100% de los ácaros y también se observaron cepas poco eficientes con micosis de 2,27%. Los resultados del análisis de varianza mostró diferencias estadísticas entre tratamientos y la prueba de Tukey formó cinco grupos, el más sobresaliente formado por las cepas Ma3, Ma11, Ma10, Ma1, Ma7 y Ma8 y solo las dos primeras no presentaron igualdad estadística con el segundo grupo.

Palabras clave: Araña roja, hongos entomopatógenos, micosis, control biológico, fresa.

### Evaluation of Guanajuato State native strains of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin on two-spotted mite *Tetranychus urticae* (Koch) under laboratory conditions

**ABSTRACT:** The effect of entomopathogenic fungi (*Metarhizium anisopliae*) strains, native to the state of Guanajuato, were tested on “two-spotted mite” pest (*Tetranychus urticae*) that were attacking strawberry leaves (*Fragaria x ananassa* Duch.) under laboratory conditions. Inoculation was achieved by immersing the leaves in  $1 \times 10^8$  conidia/mL concentration of several *M. anisopliae* strains. Then the mites were placed onto the leaves and mycosis was registered every 48 hours for at least 8 days. A variation was observed in the mycosis according to the strain used, and two of them were selected due to the achievement of 100% mycosis of the mites. Also, some *M. anisopliae* strains were observed with low efficiency to cause mycosis of *T. urticae*, presenting only a mortality rate of 22.7%. The effectiveness of Guanajuato native strains of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on pest mite *Tetranychus urticae* present in strawberry leaves under laboratory conditions was evaluated. The inoculation was performed by immersion of leaves for five seconds in the concentration of  $1 \times 10^8$  conidia/mL<sup>-1</sup> subsequently mites were placed on the leaf and mycosis recorded every 48 hours for at least eight days. Variation was observed in the fungal strain according to two micosar and 100% of the mites were selected and inefficient strains were also observed 2.27% mycosis. The results of analysis of variance showed statistical differences between treatments and Tukey formed five groups, the most salient formed by the Ma3, Ma11, Ma10, Ma1, Ma7 and Ma8 strains and only the first two showed no statistical equality with the second group.

Key words: Red spider mite, entomopathogenic fungi, mycoses, biological control, strawberry.

### Introducción

El cultivo de las plantas satisface directamente las necesidades de alimento de la población humana, por lo que su cuidado y desarrollo debe evitarse que los cultivos se vean perjudicados por enfermedades, malezas y organismos plaga: tales como los insectos, nematodos y ácaros, puesto que la presencia de estos reduce significativamente el rendimiento y la calidad de las cosechas (Vega *et al.*, 2009).

Para el año 2012, en la República Mexicana se cultivaron más de 9,000 hectáreas de fresa y las principales entidades productoras fueron Michoacán, Baja California, Guanajuato y Estado de México. La producción total nacional para el mismo año fue de más de 360,000 toneladas, con un rendimiento promedio de 40,6 ton ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2014). Uno de los principales problemas en este cultivo son los daños que causan las plagas, los cuales llevan a la disminución en el rendimiento final, el cual puede llegar hasta un 30% (Nava-Pérez *et al.*, 2012). Por lo antes descrito se asume que el control de plagas es importante y para llevarlo a cabo se recurre a la utilización de plaguicidas químicos que en sus inicios fueron un buen método de control, sin embargo hoy en día han ocasionado que los insectos desarrollen resistencia, además de que estos plaguicidas causa un daño al medio ambiente por su uso inadecuado y excesivo (Scholl, 1993). no obstante lo anterior, la aplicación de agroquímicos quienes evitan pérdidas en los cultivos, es el principal método utilizado para el control de las plagas, sin embargo, la mala utilización de agroquímicos y su toxicidad, resultan perjudicial para los mismos cultivos, el ecosistema y su vez para la población humana que consume productos de origen vegetal. Por lo antes descrito, se deben buscar estrategias sostenibles para generar un control biológico sobre la plaga y que sus aplicaciones resulten óptimas para los productos vegetales, sus consumidores y el agroecosistema en general (St. Leger *et al.*, 2011).

La comunidad científica ha encontrado organismos que se pueden utilizar como agentes de control biológico de plagas, y entre ellos encontramos los hongos entomopatógenos que presentan ventajas por ser inocuos para la producción agrícola y pecuaria. Las especies de hongos entomopatógenos evaluados sobre diferentes plagas son: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophtora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium* (Vega *et al.*, 2009). Pese a la variedad de géneros reconocidos como patógenos de plagas de artrópodos, mayoritariamente se han estudiado dos especies por su eficacia y facilidad de propagación, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, cabe señalar que las especies antes mencionadas se han evaluado sobre sobre ácaros como *T. urticae*, ácaro de dos manchas (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2013).

La evaluación de los hongos entomopatógenos en condiciones controladas contra distintos parásitos presentan resultados favorables, por ejemplo, Klingen y Westrum (2007) mencionan que *M. anisopliae* ataca a ácaros plagas tales como *T. urticae* infestando la superficie del ácaro hasta causarle la muerte a un organismo e incluso a una población entera del ácaro, lo cual resulta importante por que dicha plaga ataca a cultivos agrícolas de gran importancia comercial, tales como la fresa (*Fragaria x annanasa*) Duch (fresa) (Santi *et al.*, 2009; Vega *et al.*, 2009; Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2013).

No obstante que se ha evidenciado que los hongos entomopatógenos como *M. anisopliae* son eficaces para controlar poblaciones de *T. urticae*, no se conoce si cepas nativas del estado de Guanajuato son eficaces para el control de la plaga en hojas de fresa, por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar cepas del hongo entomopatógeno *M. anisopliae* sobre *T. urticae* en hojas de fresa bajo condiciones de laboratorio. Lo anterior se realizó para la búsqueda de al menos una cepa que si bien no sustituya las aplicaciones de agroquímicos, si disminuya la frecuencia de los mismos con la intención de obtener alimentos de origen vegetal con menos tóxicos que puedan dañar a la población humana.

### **Materiales y Método**

Las cepas utilizadas en la presente investigación pertenecen al Laboratorio de Parasitología y Control Biológico de la División Ciencias de la Vida del campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato, ubicado en Ex-Hacienda El copal, Km 7 carretera Irapuato-Silao, Irapuato Guanajuato.

El ácaro plaga, identificado morfológicamente, se obtuvo de un cultivo en invernadero de fresa *F. ananassa* que se encuentra en las instalaciones del Campus Universitario. Inicialmente las cepas de *M. anisopliae* que se utilizaron, fueron cultivadas en Agar Dextrosa Sabouraud, con extracto de levadura y 500 ppm de cloranfenicol, posteriormente los hongos se incubaron a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 21 días (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2013; Ojeda-Chi *et al.*, 2010).

Para realizar las evaluaciones se utilizaron conidios de 21 días, los cuales fueron obtenidos con agua destilada y Tween 80 al 0,1%, ajustando la concentración de  $1\times 10^8$  conidios/mL<sup>-1</sup> para la evaluación sobre adultos de *T. urticae* (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2013).

Para obtener los adultos de *T. urticae* se muestrearon plantas infestadas a través de la valoración por observación en las hojas que evidenciaban daños, una vez seleccionadas las plantas dañadas se confirmó la presencia de la plaga en el laboratorio, con ayuda de un microscopio estereoscópico. Posteriormente se transfirieron 10 ácaros adultos, sin discriminar por el sexo, con ayuda de un pincel a cajas Petri 90x100 mm sobre una hoja de fresa previamente inoculada por inmersión durante cinco segundos con la cepa correspondiente a una concentración de  $1\times 10^8$  conidios/mL<sup>-1</sup>. Además además de una desinfección previa con hipoclorito de sodio al 0,1%, las cajas de Petri contenían una capa doble de papel filtro húmedo para favorecer el desarrollo de la micosis e se incubaron a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante al menos ocho días. Cada tratamiento constó de cuatro repeticiones; cuatro cajas de Petri con hojas de fresal fueron inoculadas con agua destilada con Tween 80, posteriormente se colocaron los ácaros y se consideraron como testigos.

La muerte por hongos entomopatógenos se corroboró por el crecimiento micelial (micosis) y posterior esporulación del hongo entomopatógeno sobre el cuerpo del ácaro. La micosis se registró cada 48 horas y con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza previa transformación angular de los porcentajes al arcoseno con ayuda del software estadístico SAS (SAS, 1997).

## Resultados

De acuerdo con las condiciones en que se realizó el experimento, se observó que las cepas evaluadas del hongo entomopatógeno *M. anisopliae* son patógenas sobre el ácaro plaga *T. urticae*. Las micosis variaron desde un 2,27 a 100%, donde solo dos cepas (Ma3 y Ma11) provocaron la mayor mortalidad, cuatro cepas (Ma10, Ma1, Ma7 y Ma8) lograron entre 85,83 y 96,88% de micosis y los aislados menos sobresalientes fueron las cepas Ma14 y Ma12 con micosis que no fueron superiores a un 27,78% (Cuadro 1).

Los resultados del análisis de varianza mostraron que existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $p<0,0001$ ,  $F=36,06$ ), la prueba de Tukey formó cinco grupos donde el más sobresaliente agrupó a las cepas Ma3, Ma11, Ma10, Ma1, Ma7 y Ma8, solo las dos primeras no presentaron igualdad estadística con el segundo grupo, el grupo menos sobresaliente se formó con el testigo y no compartió igualdad estadística con ninguna cepa de hongos entomopatógenos (Cuadro 1).

## Discusión

De acuerdo a lo observado en el presente estudio, las cepas de *M. anisopliae* son patógenas sobre el ácaro plaga *T. urticae* y el nivel de virulencia depende de la cepa utilizada. Bugeme *et al.* (2009) evaluaron *M. anisopliae* sobre *T. urticae* y observaron que existen aislados de una misma especie de hongos entomopatógeno con variaciones de acuerdo a su capacidad patogénica y a su efectividad a diferentes temperaturas, situación que se observó en el presente reporte ya que se encontraron cepas eficientes y menos eficientes en la micosis de los ácaros. En el presente estudio no se

evaluó a los entomopatógenos a diferentes temperaturas, sin embargo Bugeme *et al.* (2009) reportaron que la mejor temperatura para que los hongos entomopatógenos parasiten al ácaro *T. urticae* es de 25°C, probablemente las cepas seleccionadas podrán ser eficientes en campo, no obstante se recomienda su evaluación a diferentes temperaturas ya que también existen cepas con eficiencia del 100% de mortalidad a 30°C.

Las infecciones de *T. urticae* por hongos entomopatógenos no solo matan al ácaro, sino también producen efectos subletales; tales como la reducción en la fecundidad de manera significativa (Shi y Feng, 2009), situación que no se evaluó en el presente estudio, sin embargo las cepas seleccionadas por matar el 100% bien podrían, en condiciones de campo donde posiblemente sean menos eficientes, producir efectos subletales, los cuales en un futuro deberían evaluarse ya que el potencial de un entomopatógenos no solo debería medirse con la mortalidad producida (Shi y Feng, 2009).

Cuadro 1. Efectividad de *M. anisopliae* nativos del estado de Guanajuato sobre *T. urticae* en hojas de fresa.

<b>Cepas</b>	<b>Porcentaje de micosis</b>
Ma13	100 <sup>a</sup>
Ma11	100 <sup>a</sup>
Ma10	96,88a b
Ma1	87,86a b
Ma8	85,83a b
Ma7	76,79a b
Ma5	77,79b c
Ma6	38,51c d
Ma2	37,5c d
Ma4	37,5c d
Ma9	33,33c d
Ma12	27,78d
Ma14	2,27d
Testigo	0e

Literales diferentes por columna son diferentes estadísticamente al  $p \leq 0.05$ .

### Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento del proyecto apoyado por la SEP a través del Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) con el Apoyo a la Incorporación de Nuevos PTC, en la convocatoria PROMEP 2012 titulado: Control Biológico de Araña Roja (*Tetranychus urticae* Koch), Mediante la Aplicación de Cepas de Hongos Entomopatógenos, en Fresa (*Fragaria x ananassa* Duchesne) Producida en Sistema Acuapónico.

### Literatura Citada

- Bugeme, D.M., Knapp M., Boga H.I., Wanjoya A.K., and Maniania N.K., 2009. Influence on temperature on virulence of fungal isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Mycopathologia*, 167: 221-227.
- Klingen, I. and Westrum K., 2007. The effect of pesticides used in strawberries on the phytophagous mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and its fungal natural enemy *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales). *Biological control*, 43: 222-230.

- Lezama-Gutiérrez, R., Gómez-Nuñez N., Angel-Sahagún C.A., Manzo-Sánchez G., Rebolledo-Domínguez O., y Molina-Ochoa J., 2013. Patogenicidad de cepas mexicanas de *Cordyceps bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Ascomycetes) sobre adultos de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Organizado por la Sociedad Mexicana de Control biológico del 3-9 de Noviembre del 2013 en la ciudad de Oaxaca de Juárez, Oaxaca, 477-480.
- Nava-Pérez, E.; García-Gutiérrez C., Camacho-Báez J.R., y Vázquez-Montoya E.L., 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*. 17-29.
- Ojeda-Chi, M.M., Rodríguez-Rivas R.I., Galindo-Velasco E., and Lezama-Gutiérrez R., 2010. Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 170, 348-354.
- Santi, L., Beys da Silva W.O., Berger M., Guimaraes J.A., Schrank A., and Vainstein M.H., 2009. Conidial surface proteins of *Metarhizium anisopliae*: Source of activities related with toxic effects, host penetration and pathogenesis. *Toxicon*, 55: 874-880.
- SAS, Institute, 1997. SAS/STAT software: change and hancements through relase 6.12. SAS Institute, Cary, NC.
- Scholl, P. J., 1993. Biology and control of cattle grubs. *Annual Review of Entomology*, 38: 53-70.
- Shi, W.B., and Feng M.G., 2009. Effect of fungal infection on reproductive potential and survival time of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Experimental & Applied Acarology*, 48: 229-237.
- SIAP, 2014. Servicios de Información Agroalimentaria y pesquera. Índice de Volumen Físico Agropecuario 2014.
- St. Leger, R.J., Wang Ch., and Fang W., 2011. New perspectives on insect pathogens. *Fungal Biology Reviews* 25, 84-88.
- Vega, F.E., Goettel M.S., Blackwell M., Chandler D., Jackson M.A., Keller S., Koike M., Maniania N.K., Monzón A., Ownley B.H., Pell J.K., Rangel. D.E.N., and Roy H.E., 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology* 2, 149-159.