

TRANSMISION HORIZONTAL DE *Beauveria bassiana* EN POBLACIONES CONTROLADAS DE *Bactericera cockerelli* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)

Janette Suárez-Núñez e Hipolito Cortez-Madrigal. Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN), Unidad Michoacán. Justo Sierra N° 28, Col Centro, Jiquilpan, Mich., México. CP 59510. janettesuarez@hotmail.com;hcortezm@ipn.mx.

RESUMEN: Para conocer los niveles de transmisión horizontal de *Beauveria bassiana* en poblaciones controladas de *Bactericera cockerelli*, se evaluó el efecto de la proporción de insectos infectados: sanos. Se registraron altos niveles de infección que fluctuaron del 86.66-94.66%. No se registró un efecto claro de la proporción de insectos infectados/sanos, pero la alta correlación ($r = 0.8$, $p \leq 0.05$) encontrada entre insectos infectados Vs porcentaje de infección, sugiere que un mayor número de insectos infectados favorece la diseminación del entomopatógeno. Asimismo, no se registró un efecto claro del sexo en la transmisión del entomopatógeno, aunque hubo una tendencia de mayor infección (94%) cuando se infectaron solo machos. La mayor infección se obtuvo con la proporción 1:10 (machos infectado: hembras sanas) con infecciones del $96.66 \pm 5.77\%$. Los resultados muestran que el hongo *B. bassiana* (Bb-M) tiene potencial para ser utilizado en el manejo de *B. cockerelli* mediante la técnica de autodiseminación.

Palabras clave: *Bactericera cockerelli* Sulc, *Beauveria bassiana*, técnicas de aplicación, auto diseminación.

Horizontal transmission of *Beauveria bassiana* in controlled populations of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae)

ABSTRACT: To know levels of horizontal transmission of *Beauveria bassiana* in controlled populations of *Bactericera cockerelli*, the effect of the proportion of infected/ healthy insect were evaluated. High levels of infection were recorded with ranges from 86.66-94.66%. A clear effect of the proportion of infected/healthy insects was not registered, but the high correlation ($r = 0.8$, $p \leq 0.05$) found between infected insects Vs percentage of infection; suggest that a greater number of infected insects favors the spread of entomopathogenic. Also, the effect of sex in the transmission of entomopathogenic was not clear, although there was a trend to greater infection (94%) when only males were infected. The highest infection was obtained with the proportion 1:10 (infectedmales: healthyfemales) with levels of $96.66 \pm 5.77\%$ of infection. Results show that the fungus *B. bassiana* (Bb-M) has potential to be used in the management of *B. Cockerelli* by the auto-dissemination technique.

Key words: *Bactericera cockerelli* Sulc, *Beauveria bassiana*, application techniques, auto spread.

Introducción

La forma convencional de aplicación de hongos entomopatógenos es mediante aspersion, técnica catalogada como una de las menos eficientes en la aplicación de insecticidas (Bateman y Chapple, 2001). En la naturaleza, una importante estrategia de dispersión de los entomopatógenos es mediante los mismos individuos infectados o insectos relacionados (parasitoides y depredadores). A dicha estrategia de dispersión se le denomina transmisión horizontal (Tanada y Kaya, 1993) y a la técnica de aplicación basada en ella, autodiseminación (Vega *et al.*, 2000). Esa estrategia pudiera ser de utilidad en el manejo de insectos plaga, principalmente vectores de enfermedades como lo es el psilido de las solanáceas *Bactericera cockerelli* Sulc., considerada plaga clave de las solanáceas cultivadas (Liu y Trumble, 2005). Dada la escasa investigación en México sobre ese ámbito, el objetivo del presente estudio fue el de conocer el potencial de la técnica de autodiseminación en la liberación del hongo *Beauveria bassiana* para el manejo de *B. cockerelli*.

Materiales y Método

Material biológico. Se utilizó la cepa de *B. bassiana* (Bb-M) aislada de un curculionido del cultivo de maíz en la región de Jiquilpan, Mich., México. La cepa fue previamente seleccionada por Cortez-Madrigal (2010) por su alta virulencia como una de las más promisorias para el control de *B. cockerelli*. Para su reactivación, se infectaron adultos del psilido de las solanáceas *B. cockerellide* donde el hongo fue recuperado. Los cultivos se mantuvieron en tubos con medio de cultivo inclinado y conservados a 25 ± 2 °C. La cepa se cultivó en Agar Dextrosa de Sabouraud+ 0.1% de extracto de levadura (ADS + EL). Todos los cultivos utilizados en los bioensayos fueron de 15 días de edad.

A partir de colectas de campo, se estableció una cría de *B. cockerelli* en el CIIDIR-IPN en Jiquilpan, Mich. Los insectos junto con plantas de chile cv. “Jalapeño” se mantienen a 25 ± 2 °C y un fotoperiodo de 12:12h, (luz: oscuridad) dentro de jaulas de 30x40 cm, con malla anti-áfidos para evitar el escape del insecto. Para estandarizar la cría se establecieron tres jaulas; en una de ellas se liberaron los insectos junto con plantas de chile. Periódicamente se retiraban las plantas con huevecillos y se colocaban nuevas plantas. Las plantas con huevecillos fueron colocadas en otra jaula identificándose con su fecha. De esta manera se tuvieron psilidos con edades conocidas.

Velocidad de germinación. Para conocer el tiempo que tardan los conidios en germinar, a partir de cultivos no mayores de 15 días de edad se preparó una suspensión de conidios en 20 ml de agua destilada estéril con una gota de coadyuvante (Inex ®). Los conidios se dispersaron con un agitador magnético durante 30 minutos y después una gota de la suspensión fue agregada en portaobjetos con una delgada placa de medio de cultivo ADS + EL. Se incubaron a 25 ± 2 °C. Mediante un microscopio compuesto y con el objetivo de 40X se determinó la germinación en 100 conidios (con tres replicas). Un conidio germinado se definió cuando el tubo germinativo alcanzó la mitad de la longitud del conidio. Dichas lecturas se realizaron cada hora hasta que se alcanzó $\geq 90\%$ de esporas germinadas.

Transmisión horizontal del hongo *B. bassiana*. En un primer bioensayo se evaluaron tres tratamientos, que consistieron de diferente número de insectos infectados: 0, 1, 2 y 3. Los psilidos se liberaron dentro de una caja Petri con esporas del hongo por un periodo de 5-10 min. Posteriormente, los insectos infectados se liberaron junto con una población ($n = 10$) de psilidos sanos en los recipientes especialmente diseñados para ello (alimento y humedad $> 90\%$).

Efecto del sexo en la transmisión horizontal de *B. bassiana*. Para conocer el efecto del sexo en la diseminación del hongo, el bioensayo fue similar al anterior, solo que en este caso los insectos infectados fueron con base al sexo: hembra + macho, hembra+ hembra y, macho + macho. Los insectos fueron liberados junto con un número conocido de insectos sanos ($n = 10$). Para todos los casos, un testigo sin hongo fue considerado y la incubación transcurrió durante 10 días a temperatura ambiente. Tres repeticiones en el tiempo fueron establecidas. Los datos se transformaron a porcentajes y se practicó un análisis de varianza (ANVA) para comparar los diferentes tratamientos y la separación de medias fue mediante Tukey, 0.05%. Complementariamente se practicó un análisis de correlación lineal.

Capacidad de machos en la autodiseminación de *B. bassiana*. Insectos de 10 días de edad se sexaron y una cantidad determinada de hembras fueron liberadas sobre plantas de chile dentro de dispositivos similares a los arriba señalados. Inmediatamente, machos de la misma especie fueron infectados con esporas del hongo dentro de una cámara similar a la usada en el experimento previo. Se ensayaron diferentes proporciones de machos infectados/hembras sanas: 1:10, 1:15 y 1:20 y se mantuvieron a 25 ± 2 °C. Diariamente se revisaron los insectos y se registró la mortalidad. Los cadáveres se colocaron en cámara húmeda para el desarrollo del hongo. Los datos se transformaron a porcentajes y se practicó un análisis de varianza (ANVA) para comparar los diferentes tratamientos.

Adicionalmente se determinó el tiempo en que es infectado el 50% de los individuos, al que denominaremos como TG₅₀.

Resultados

Velocidad de germinación de conidios *B. bassiana*. En la germinación del entomopatógeno este comenzó a presentar las primeras esporas germinadas a partir de las 8 h alcanzando el TG₅₀ a las 12 h (Fig. 1).

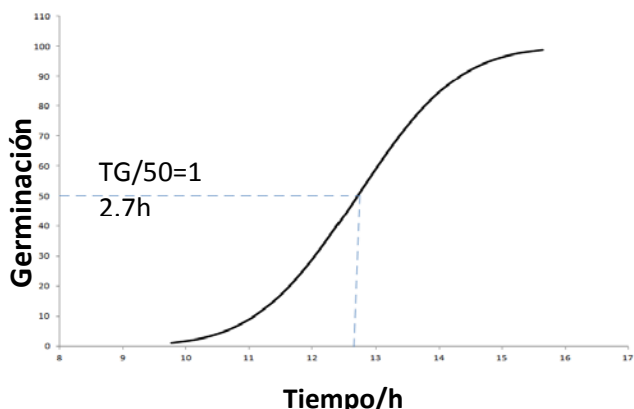


Figura.1. Tiempo de germinación de esporas de *Beauveria bassiana* cepa Bb-M expuesto a 25 °C.

Transmisión horizontal del hongo *B. bassiana*. El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas ($p = 0.0001$) entre tratamientos. La mayor infección se registró en donde se liberaron dos individuos infectados con una infección del $94.66 \pm 4.6\%$, pero sin mostrar diferencias con los tratamientos T1 y T3. (Fig. 2). Un análisis de correlación entre el número de individuos infectados Vs porcentaje de infección ($r = 0.804$, $p \leq 0.05$) corroboró la tendencia gráfica. El hongo aislado de los cadáveres infectados correspondió a la especie *B. bassiana*. En el testigo no se registró infección.

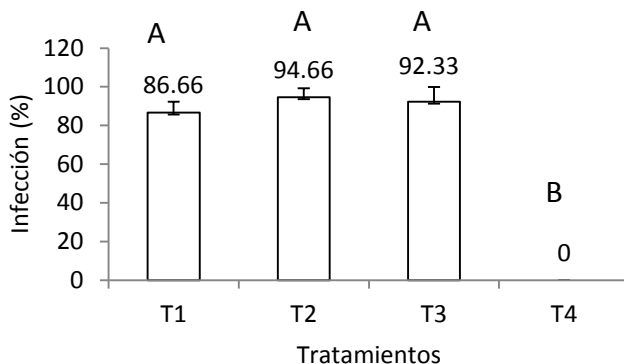


Figura. 2. Transmisión horizontal de *Beauveria bassiana* (Bb-M) en una población ($n = 10$) de *Bactericera cockerelli* Sulc. con diferentes niveles de individuos infectados ($\text{♂}:\text{♀}$) T1 = 1:10; T2 = 2:10; T3 = 3:10; T4 = Testigo sin hongo. Barras seguidas de la misma letra nos son diferentes estadísticamente ($p < 0.0001$).

Efecto del sexo en la transmisión horizontal de *B. bassiana*. Los resultados del análisis estadístico solo mostraron diferencias ($p = 0.0001$) entre tratamientos y testigo en donde los individuos en el testigo nunca desarrollaron infección. Entre los tres tratamientos solo se observó una tendencia de mayor infección ($94 \pm 12.7\%$) en donde se utilizaron dos machos, mientras que la menor tendencia ($80 \pm 5.1\%$) ocurrió con el tratamiento macho + hembra (Fig. 3).

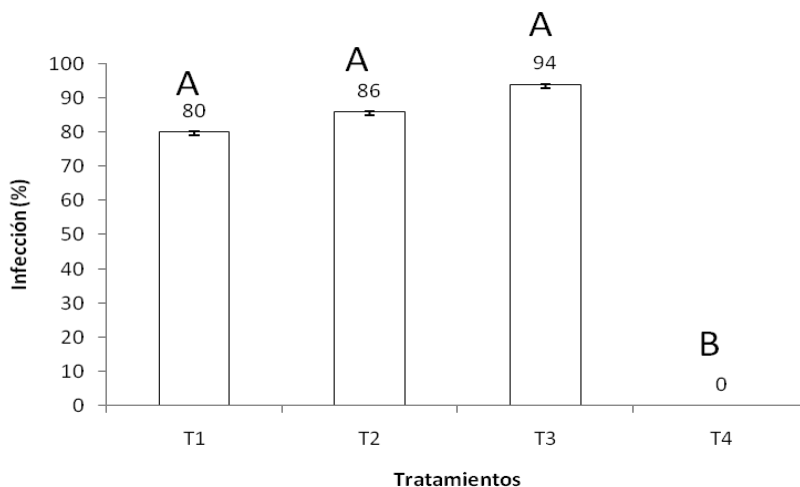


Figura.3. Transmisión horizontal de *Beauveria bassiana* (Bb-M) en una población ($n = 10$) de *Bactericeracockerelli* Sulc. Conbase al sexo de insectos infectados: T1 = ♂ + ♀; T2 = ♀ + ♀; T3 = ♂ + ♂; T4 = testigo sin hongo. Barras seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente ($p = 0.0001$).

Capacidad de machos en la autodiseminación de *B. bassiana*. El análisis de varianza mostro diferencias significativas ($p = 0.001$) entre tratamientos donde el tratamiento T1 (1:10 machos: hembras, respectivamente) fue el que mostro la mayor diseminación con el $96.66 \pm 5.77\%$ y el menor fue el correspondiente al T3 (1:20 machos: hembras, respectivamente) con 15 ± 7.27 (Fig. 5).

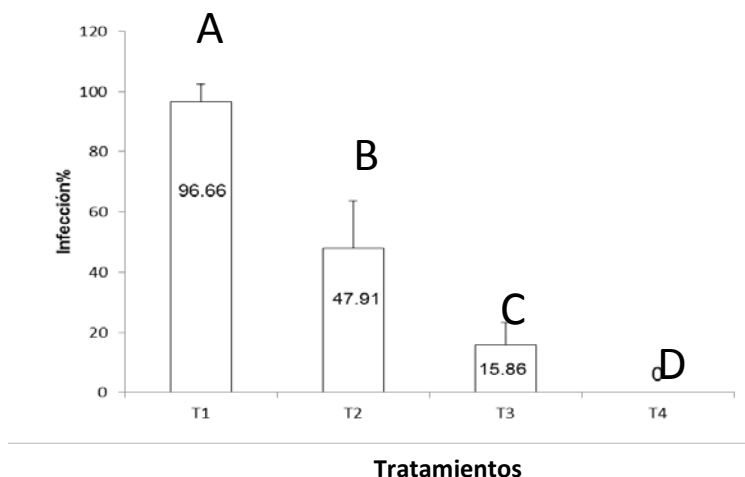


Figura.4. Capacidad de los machos de *B. Cockerelli* en la autodiseminación de *B. bassiana* (machos: hembras) T1 = 1:10; T2 = 1:15; T3 = 1:20; T4 = Testigo.

Discusión

Los resultados demuestran que *B. bassiana* fue capaz de infectar significativamente poblaciones sanas de *B. cockerelli* después de liberar al menos un individuo infectado en poblaciones de insectos sanos. Se sabe que la dispersión de hongos entomopatógenos en la naturaleza depende de diferentes factores; entre ellos, el viento, el agua, los insectos y las características del entomopatógenos (p.e. virulencia y esporulación; Tanada y Kaya, 1993). En condiciones de laboratorio, como fue el caso del presente estudio, no existió viento ni precipitación, por lo que presumiblemente en condiciones de campo la transmisión horizontal del entomopatógeno pudiera ser mayor. El hecho de que los machos de *B. cockerelli* hayan sido más eficientes en la transmisión de *B. bassiana* pudiera brindarnos beneficios, pues una de las ideas para diseminar al entomopatógeno en campo pudiera ser mediante la cría y selección de machos para después liberarlos infectados con el hongo.

La información sobre autodiseminación de hongos entomopatógenos en insectos es escasa. Por ejemplo en Africa, después de exponer la mosca tsetse *Glossina morsitans* a concentraciones de 2×10^7 conidios/ml de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *B. bassiana* durante 14 días con insectos sanos del sexo opuesto, los hongos causaron mortalidades del 90-100% en ambos sexos (Kaya y Okech, 1990).

Los hongos entomopatógenos son de lenta acción y generalmente requieren de varios días para actuar (Tanada y Kaya, 1993). Es por ello que en insectos vectores de enfermedades, como *B. cockerelli*, la adopción de los hongos como estrategia de control ha sido poco aceptada. Además, la aplicación convencional de estos entomopatógenos es mediante aspersión, señalada como la menos eficiente en la aplicación de insecticidas (Bateman y Chapple, 2001). Una alternativa sería la técnica de autodiseminación de hongos entomopatógenos.

Una característica de los hongos entomopatógenos para una rápida infección es la velocidad de germinación de los conidios expresada como el tiempo en que germina el 50% de los conidios (TG50); generalmente, hongos con mayor velocidad suelen ser más virulentos hacia insectos (Drummond *et al.*, 1987). La cepa Bb-M de *B. bassiana* aquí evaluada mostró un TG50 de 12 h. y en trabajos previos mostró ser la cepa más virulenta hacia *B. cockerelli* (Cortez-Madrigal, 2010). Por lo anterior se puede concluir que el aislamiento Bb-M de *B. bassiana* tiene un buen potencial para ser utilizado en el control de *B. cockerelli* en campo, en este caso mediante la técnica de autodiseminación; sin embargo, se requiere de estudios de campo que validen los presentes resultados.

Literatura citada

- Bateman R. y Chapple, A. 2001. The spray application of mycopesticide formulations. Pp. 289-309. In: Jackson, C.W. y Magan, N. (Eds.). Fungi as Biocontrol agents. CABI Publishing. New York. 390pp.
- Cortez-Madrigal, H. 2010. Evaluación de aislamientos de hongos entomopatógenos y su virulencia hacia *Bactericera cockerelli* según su origen. Fitopatología Colombiana 34(1):17-21
- Drummond, J. y Heale, J. B. 1988. Genetic studies on the inheritance of pathogenicity in *Verticillium lecanii* against *Trialeurodes vaporariorum*. J. Invert. Pathol. 52:57-65.
- Tanada, Y. Kaya, H.K. 1993. Insect pathology. Academic Press. San Diego, California. pp.122.
- Kaaya, G. P. y Okech, M. A. 1990. Horizontal transmission of mycotic infections in adult tsetse, *Glossina morsitans*. Entomophaga 35:589-600.

- Liu, D. y Trumble, J.T. 2005. Interactions of plant resistance and insecticides on the development and survival of *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Homoptera: Psyllidae). *Crop Protection* 24: pp.111-117.
- Vega, F.E.; Downd, P. F.; Lacey, A.L.; Pell, J.K. 2000. Dissemination of beneficial microbial agents by insects. Pp.153-177. In: Lacey, L.A. y Kaya, H.K. (eds.). *Field manual of techniques in invertebrate pathology*. Academic Publishers. Netherlands.