

Valoración insecticida de diversos aislados de hongos hifomicetos para el control de la langosta mediterránea, *Doclostaurus maroccanus* (Thunberg)

J. JIMÉNEZ-MEDINA, H. K. ALDEBIS y C. SANTIAGO-ÁLVAREZ

Por bioensayos de laboratorio, sobre ninfas y adultos de *Doclostaurus maroccanus*, se ha comprobado que los aislados del hifomiceto *Beauveria bassiana*, EABb90-2/Dm y EABb91-6/Ci, muestran mayor poder insecticida que los de *Metarhizium anisopliae*, EAMa90-9/Dm y *M. flavoviridae*, BBD-Darmstadt. El aislado de *B. bassiana* procedente de *D. maroccanus* (EABb90-2/Dm) resultó 11 veces más efectivo que otro procedente de *Caliptamus italicus* (EABb91-6/Ci). Se considera al hongo *B. bassiana* el más firme candidato para su empleo en el control de las plagas de la langosta mediterránea.

J. JIMÉNEZ-MEDINA, H. K. ALDEBIS y C. SANTIAGO-ÁLVAREZ: Cátedra de Entomología Agrícola y Forestal. Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales. E.T.S.I.A.M. Universidad de Córdoba. Avda. Menéndez Pidal s/n. Apartado 3048. 14080 CÓRDOBA.

J. JIMÉNEZ-MEDINA: Servicio de Investigación Agraria y Desarrollo Tecnológico, (S.I.A.). Dept. Fitopatología, Finca «La Orden», Apd. 22 06080 Badajoz.

Palabras clave: *Doclostaurus maroccanus*; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*; *M. flavoviridae*; langosta; lucha biológica, lucha microbiana.

INTRODUCCIÓN

La lucha biológica por medio de microorganismos entomopatógenos, es una de las aspiraciones actuales para el control de las plagas de langosta (BIDOCHKA y KHACHATOURIANS, 1991; LOMER y PRIOR, 1992). Los agentes más prometedores a tal fin son los hongos deuteromicetos *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. debido a que actúan por contacto, se producen con facilidad, economía y son susceptibles de formulaciones oleosas para aplicaciones tanto terrestres como aéreas (PRIOR y GREATHEAD, 1989; GOETTEL, 1992; Feng *et al.*, 1994).

Las especies reconocidas en España que atacan a los estados postembrionarios de la langosta mediterránea, *Doclostaurus maroccanus*, son *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, con carácter epizootico y

testimonial respectivamente (HERNANDEZ-CRESPO y SANTIAGO-ÁLVAREZ, 1997).

En el presente trabajo se compara el poder insecticida, para ninfas y adultos de *D. maroccanus*, de dos aislados autóctonos de *B. bassiana*, otro de *M. anisopliae* que pertenecen a la colección de la Cátedra de Entomología Agrícola de la ETSIAM de Córdoba y proceden del área de reserva de La Serena (Badajoz), y uno de *M. flavoviridae*, originario de Benin y que pertenece a la colección del Biologische Bundesanstalt für land und forstwirtschaft de Darmstadt en Alemania.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las ninfas y adultos de *D. maroccanus* utilizados en este trabajo provenían del área

de reserva de La Serena (Badajoz) que se mantuvieron en el laboratorio de forma individualizada a 26 ± 2 °C; $60 \pm 5\%$ de HR y un fotoperíodo de 12:12. La alimentación de los insectos consistió en hojas de trigo esterilizadas con una solución de hipoclorito sódico al 5%.

Los biopreparados a base de *B. bassiana* y *M. flavoviridae* consistían en blastosporas deshidratadas, producidas en el BBD (Darmstadt) sobre medio Samsinacova; por el contrario el biopreparado a base de *M. anisopliae* consistió en conidias obtenidas en placa petri sobre medio Saboureaud. Tanto las blastosporas como las conidias se suspendieron, a las concentraciones deseadas (Cuadro 1), en agua con Tween 80 al 0,05%. La aplicación se realizó con micropipeta sobre las piezas bucales. En el bioensayo de patogenicidad de *M. anisopliae* aplicamos 1 µl por insecto, en todos los demás se suministraron 3 µl. Los testigos se trataron de igual manera, con agua y Tween 80 al 0,05%.

Para determinar la dosis letal media de los aislados de *B. bassiana*, aplicamos cuatro dosis en progresión geométrica de razón 10:

A	450 esporas/insecto
B	4.500 esporas/insecto
C	45.000 esporas/insecto
D	450.000 esporas/insecto

Diariamente se controlaban los insectos tratados, y aquellos que morían, se diagnosticaban para determinar la causa de la muer-

te. Los patógenos se reaislaron de los insectos muertos para confirmar la especie.

Con los datos de mortalidad se calcularon las DL_{50} , con sus respectivos límites fiduciales, por medio de las rectas de regresión log dosis-mortalidad Probit (FINNEY, 1971). La estimación y comparación de las rectas de regresión se llevó a cabo por medio del programa Polo-Pc (Le Ora Software Inc. Berkeley, Ca, USA), basado en el método de análisis Probit descrito por FINNEY (1971).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se muestra la respuesta de los estados de ninfa y adulto de *D. maroccanus* a los diferentes aislados ensayados. Los aislados que presentan mayor efectividad son los que pertenecen a la especie *B. bassiana* lo que se corresponde con su abundante presencia y prevalencia en condiciones naturales (HERNÁNDEZ-CRESPO y SANTIAGO-ÁLVAREZ, 1997).

A nuestro entender es la primera vez que se ensaya un aislado de *M. flavoviridae* sobre *D. maroccanus* y su eficacia, que es baja, es del mismo orden que la mostrada por el aislado autóctono de la especie congénica *M. anisopliae*. Este resultado contrasta con la alta virulencia que muestra *M. flavoviridae* para otros acrídidos tales como *Zonocerus variegatus* (THOMAS *et al.*, 1996) y *Schistocerca gregaria* (KOOYMAN y GONDONOU, 1997).

Cuadro 1.-Patogenicidad de diversos aislados de hongos hifomicetos

Especie	Estadio	Solución esporas/ml	Dosis Esporas/insecto	Insectos tratados	% mortalidad
<i>B. bassiana</i> EABb90-2/Dm	Ninfa N1	$1,5 \times 10^8$	$4,5 \times 10^5$	60	70,00
<i>B. bassiana</i> EABb91-6/Ci	Ninfa N2	$1,5 \times 10^8$	$4,5 \times 10^5$	59	50,84
<i>M. flavoviridae</i> BBD Darmstad	Ninfa N1	$1,65 \times 10^8$	$4,95 \times 10^5$	80	6,25
<i>M. flavoviridae</i> BBD Darmstadt	Adulto	$1,65 \times 10^8$	$4,95 \times 10^5$	60	2,22
<i>M. flavoviridae</i> BBD Darmstadt	adulto	$1,2 \times 10^9$	$3,6 \times 10^6$	60	2,22
<i>M. anisopliae</i> EAMa90-9/Dm	Ninfa N1	$4,36 \times 10^5$	436	48	2,08
<i>M. anisopliae</i> EAMa90-9/Dm	Ninfa N1	$2,18 \times 10^6$	2.180	48	10,40

La baja eficacia del aislado perteneciente a *M. anisopliae* concuerda con su presencia testimonial en las poblaciones de la langosta mediterránea en campo (HERNÁNDEZ CRESPO y SANTIAGO-ÁLVAREZ, 1997).

De nuestros resultados se desprende que tanto *M. anisopliae* como *M. flavoviridae* no resultan de interés para su utilización en programas de lucha contra la langosta mediterránea, *D. Maroccanus*, a menos que se diluciden los factores que gobiernan su patogenicidad y virulencia.

La actividad biológica de los aislados de *B. bassiana*, EABb90-2/Dm y EABb91-6/Ci, se determinó sobre ninfas de *D. maroccanus* cuya mortalidad estaba, en todos los casos, en relación directa con la dosis aplicada. En el Cuadro 2 se resumen los parámetros, pendientes y términos independientes, de las correspondientes rectas de regresión así como los valores χ^2 , que no alcanzan en ningún caso significación ($\alpha = 0,05$), lo que nos revela la bondad del ajuste de las rectas obtenidas (Fig. 1). Las pendientes son del mismo orden, e inferiores a 1,28, valor obtenido con un preparado a base de conidias (HERNÁNDEZ-CRESPO y SANTIAGO-ÁLVAREZ, 1997), esto indican que la población de *D. maroccanus* presenta mayor variabilidad de respuesta a la acción de las blastosporas. El valor de la DL_{50} del aislado EABb90-2/Dm es 10 veces menor que el de la cepa EABb91-6/Ci pero al no conocer los valores fiduciales de este último no es posible deducir si esta diferencia tiene significación estadística.

El análisis χ^2 para paralelismo de las rectas (FINNEY, 1971) no dio significación ($\alpha = 0,05$) por lo que dichas rectas son paralelas y no iguales y pueden ser ajustadas conjuntamente (Fig. 2) con una pendiente

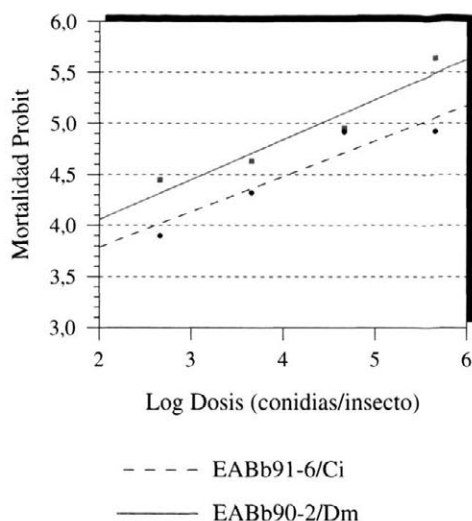


Fig. 1.—Rectas ajustadas independientemente.

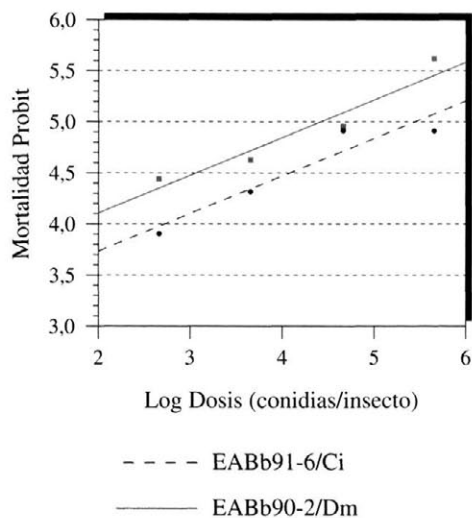


Fig. 2.—Rectas ajustadas con pendiente común.

Cuadro 2.—Cálculo de las dosis letales medias de los aislados de *B. bassiana*

Aislados	χ^2	g.l.	DL ₅₀	Límites fiduciales 95% (esporas/insecto)		Regresión log(dosis) mortalidad probit
				Inferior	Superior	
EABb90-2/Dm	1,99	2	2,5 × 10 ⁴	8.006	89.941	Y = 0,389X + 3,28
EABb91-6/Ci	2,15	2	34,3 × 10 ⁴	—	—	Y = 0,342X + 3,10

Cuadro 3.-Potencia relativa

Aislados	Estimación	Límites fiduciales 95% (Espora/insecto)	
		Inferior	Superior
EABb90-2/Dm	1	-	-
EABb91-6/Ci	11,07	2,1718	218,26

Cuadro 4.-Tiempos letales medios en días de los aislados de *B. bassiana*

Dosis Esporas/insecto	EABb90-2/Dm	EABb91-6/Ci
$4,5 \times 10^4$	7,00	-
$4,5 \times 10^5$	4,50	4,88

común ($b = 0,369$; $SE = 0,0612$). Una vez sometidas a paralelismo se compararon estas rectas mediante el cálculo de sus potencias relativas (Cuadro 3). El resultado de esta comparación indica que el aislado EABb90-2/Dm que procede de *D. maroccanus* es 11 veces más efectivo que el EABb91-6/Ci procedente de *C. italicus*, con significación estadística ($\alpha = 0,01$).

Los tiempos letales medios (TL_{50}) obtenidos con ambos aislados (Cuadro 4), a la dosis $4,5 \times 10^5$ esporas/insecto, son similares entre ellos e inferiores a 7,6 días, obtenido con un preparado a base de conidias del preparado a base de conidias (HERNÁNDEZ-CRESPO y SANTIAGO-ÁLVAREZ, 1997). Esta diferencia se explica porque las blastosporas, después de la infección, germinan en menor tiempo que las conidias (MÜLLER-KÖEGLER y ŠAMSINAKOVA, 1969).

Aunque existen casos en los que aislados procedentes de una especie muestran mayor virulencia para hospedantes alternativos (SAMUELS *et al.*, 1989; PRIOR, 1992), a la luz de estos resultados se preferirá, para el control de las poblaciones de *D. maroccanus*, el aislado EABb90-2/Dm al obtenido de *C. italicus*.

La DL_{50} del EABb90-2/Dm que hemos calculado usando blastosporas es 58,4 veces superior a la obtenida con las conidias (HERNÁNDEZ-CRESPO y SANTIAGO-ÁLVAREZ, 1997), lo que supone un aumento de la carga de inóculo en el preparado. Esta dife-

rencia es debida a que las conidias presentan mayor hidrofobicidad que las blastosporas (HEGEDUS *et al.*, 1992) lo cual facilita la adherencia a la cutícula tegumentaria (BOUCIAS *et al.*, 1988) que incrementará la probabilidad de infección. Aunque no se debe descartar que el proceso de deshidratación pueda originar la disminución de la virulencia de las blastosporas (YIN *et al.*, 1988).

En consecuencia, para el control de las plagas de la langosta mediterránea, en el área de reserva de La Serena, los biopreparados a base de *B. bassiana* son los que presentan mayor interés. Los primeros ensayos de campo (JIMÉNEZ-MEDINA *et al.*, 1995; 1996), para evaluar y comparar la eficacia insecticida de biopreparados a base de conidias y blastosporas han dado resultados prometedores.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto de investigación «Estudio ecológico de la langosta mediterránea, *Doclostaurus maroccanus* (Thunberg), y de las medidas más adecuadas para el control de sus plagas en España (Ref. AGF94-0145)», financiado por CICYT (2-VI-94 al 2-VI-97). El primer autor disfruta de la beca «Lucha integrada contra la langosta» concedida por la consejera de Agricultura y Comercio de la Junta de Extremadura.

ABSTRACT

JIMÉNEZ-MEDINA, J.; ALDEBIS, H. K. y SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., 1998: Valoración insecticida de diversos aislados de hongos hifomicetos para el control de la langosta mediterránea, *Dociosaurus maroccanus* (Thunberg). *Bol. San. Veg. Plagas*, **24**(Adenda al n.º 4): 867-872.

Laboratory bioassays, on *Dociosaurus maroccanus* nymphs and adults, has shown that *Beauveria bassiana* isolates, EABb90-2/Dm and EABb91-6/Ci, have higher insecticidal activity than those from *Metarhizium anisopliae* and *M. Flavoviridae* BBD-Darmstadt. The isolate EABb90-2/Dm, from *D. maroccanus* is 11 fold more effective than the isolate EABb91-6/Ci, from *C. italicus*. The fungus *B. bassiana* is thought over as the most steady candidate for the control of the mediterranean locust outbreaks

Key words: *Dociosaurus maroccanus*; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*; *M. flavoviridae*; locust; biological control; microbial control.

REFERENCIAS

- BIDCHKA, M. J. y KHACHATOURIANS, G. G., 1991: Microbial and protozoan pathogens of grasshoppers and locust as potential biocontrol agents. *Biocontrol Science and Technology* **1**: 243-259.
- BUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. y LATDE, J. P., 1988: Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic Deuteromycetes to host insect cuticle. *Applied and environmental microbiology* **54**: 1795-1805.
- FENG, M. G.; POPRAWSKI, T. J., y KHACHATOURIANS, G. G., 1994: Production, formulation and application of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science and Technology*, **4**: 3-34.
- FINNEY, D. J., 1971: Probit Analysis. Cambridge Univ. Press; 333 pp.
- GOETTEL, M., 1992: Fungal agents for biocontrol. En «*Biological control of locust and grasshoppers*». Editado por C. J. Lomer y C. Prior. C.A.B. International. Ascot. págs. 122-132.
- HERNÁNDEZ-CRESPO, P. y SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., 1997: Entomopathogenic Fungi Associated With Natural Populations of the Moroccan Locust *Dociosaurus maroccanus* (Orthoptera: Gomphocerinae) and other Acridoidea in Spain. *Biocontrol Science and Technology*, **7**: 357-363.
- HEGEDUS, D. D.; BIDCHKA, M. J.; MIRANPURI, G. S. y KHACHATOURIANS, G. G., 1992: A comparison of the virulence, stability and cell-wall-surface characteristics of three spore types produced by entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied microbiology and biotechnology* **36**: 785-789.
- JIMÉNEZ-MEDINA, J.; HERNÁNDEZ-CRESPO, P. y SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., 1995: Aplicación en campo del hongo *Beauveria bassiana* para el control de las poblaciones de *Dociosaurus maroccanus*. V jornadas científicas de la Sociedad Española de Entomología aplicada. 20-24 noviembre 1995. Sevilla.
- JIMÉNEZ-MEDINA, J.; QUESADA-MORAGA, E.; ALDEBIS, H. K. y SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., 1996: Evaluation of fungi isolated from *Dociosaurus maroccanus* (Thunberg, 1815) at the breeding area of La Serena (Badajoz Spain) for the control of its populations. 29 annual meeting of the society for invertebrate pathology and III international colloquium on *Bacillus thuringiensis*. 1-6 September 1996. Córdoba. P. 40.
- KOYMAN, C. Y GODONOU, I., 1997: Infection of *Schistocerca gregaria* (Orthoptera, Acrididae) hoppers by *Metarhizium flavoviridae* (Deuteromycotina, Hiphomycetes) conidia in an oil formulation applied under desert conditions. *Bulletin of entomological research*, **87** (1): 105-107.
- LOMER, C. J. y PRIOR, C., edit (1992): *Biological control of locust and grasshoppers*. C.A.B. International Ascot. 374 pp.
- MÜLLER-KÖGLER, E. y SAMSINAKOVA, A., 1969: Keimungsprozente und keimungskurven der konidien und submers gebildeten blastosporen eines Stammes von *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Entomophaga* **14**: 369-382.
- PRIOR, C., 1992: Discovery and characterization of fungal pathogens for locust and grasshopper control. En «*Biological control of locust and grasshoppers*». Editado por C. J. Lomer y C. Prior. C.A.B. International. Ascot. pp. 159-177.
- PRIOR, C. y GREATHEAD, D. J., 1989: Biological control of locust: The potential for exploitation of pathogens. *FAO Plant protection bulletin* **37**: 37-48.
- SAMUELS, K.; HEALE, J. B. y LLEWELLYN, M., 1989: Characteristics relating to the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* to *Nilaparvata lugens*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **53**: 25-31.
- THOMAS, M. B.; LANGEWALD, J.; WOOD, S. N., 1996: Evaluating the effects of a biopesticide on populations of the variegated grasshopper, *Zonocerus variegatus*. *Journal of applied ecology*, **33**: 1509-1516.
- YIN, F. M.; CHEN, Q. C.; CHE, Y. G.; GUO, G. L. y LI, Z. W., 1988: Studies of the submerged culture of *Beauveria bassiana*. En «*Study and application of entomogenous fungi in China*», Vol 1. Academic periodical press Beijing. pp. 105-110.

(Recepción: 28 enero 1998)

(Aceptación: 25 junio 1998)

