

NOTA CORTA

SEGURIDAD EN RATONES DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (METSCH.) SOROKIN AISLADO DE *AENEOLAMIA* SP. (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) EN MÉXICOCONCHITA TORIELLO¹, HORTENSIA NAVARRO-BARRANCO¹, ANASTASIO MARTÍNEZ-JACOBO¹
& TERESA MIER²¹Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, México, D.F., 04510.²Departamento El Hombre y su Ambiente, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-X, México D.F., 04960.

ABSTRACT

SAFETY TO MICE OF *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (METSCH.) SOROKIN ISOLATED FROM *AENEOLAMIA* SP. (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) IN MEXICO. *Rev. Mex. Mic.* 15: 123-125 (1999). Safety to mammals of the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae*, as a mycoinsecticide for the biological control of the insect pest spittlebug (Homoptera: Cercopidae) was determined by the median lethal dose (LD50) in mice. Results showed a LD50 higher than 2400 mg conidia/kg of the animal body weight, which reflects its safety to mice. This is the first report of LD50 in mammals for *M. anisopliae* isolated in Mexico.

Key words: *Metarhizium anisopliae*, biological control, mycoinsecticide, mice LD50.

RESUMEN

La seguridad para mamíferos del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, utilizado como micoinsecticida para el control biológico del insecto-plaga mosca pinta (Homoptera: Cercopidae), fue determinada por medio de la dosis letal media (DL50) en ratones. Los resultados mostraron una DL50 mayor a 2400 mg conidios/kg de peso corporal del animal, lo que indica la seguridad del hongo en el ratón. Este es el primer reporte de DL50 en mamíferos para una cepa de *M. anisopliae* aislada en México.

Palabras clave: *Metarhizium anisopliae*, control biológico, micoinsecticida, DL50 ratones.

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin es un micoinsecticida utilizado en el control biológico del insecto-plaga de la caña de azúcar y los pastizales conocido como mosca pinta o salivazo de los pastos (*Aeneolamia* sp., *Prosapia* sp.) en diversos países latinoamericanos (Ferron, 1981; Alves, 1986; Leal Guerra *et al.*, 1998; Toriello *et al.*, 1999). El control químico de esta plaga, además de tener efectos contaminantes para el hombre, los animales y el ambiente, es cada vez menos eficaz, debido a la resistencia desarrollada en los insectos a consecuencia de su constante y repetida aplicación (Alves, 1986). El insecticida fúngico con base en *M. anisopliae* deviene entonces una alternativa eficiente para el control del insecto. Para poder obtener el registro de un micoinsecticida para su aplicación comercial, por parte de las autoridades competentes, es necesario, entre otras pruebas, realizar diversas determinaciones, que incluyen análisis de alergenicidad, pruebas toxicológicas y de infectividad

(Hall *et al.*, 1982; Laird *et al.*, 1990), en mamíferos, para constatar su seguridad. En México, se han realizado ensayos para determinar la inocuidad de diversos hongos entomopatógenos, por inoculación intraperitoneal y subcutánea de entomoforales (Toriello *et al.*, 1986), de *Hirsutella thompsonii* (Mier *et al.*, 1989) y de *Verticillium lecanii* (Mier *et al.*, 1994) en ratones, cobayos y hámsters. Sin embargo, no se conoce que se hayan llevado a cabo en el país ninguna de estas determinaciones para *M. anisopliae*. En vista de la relevancia que ha cobrado actualmente este hongo para su uso en el control biológico de la mosca pinta, es necesario constatar la seguridad en mamíferos de cepas aisladas en México mediante la determinación de la dosis letal media (DL50), como un apoyo para el registro de insecticidas biológicos.

Para el presente trabajo se utilizó la cepa EH-172 de *M. anisopliae* (Fig. 1) aislada de *Aeneolamia* sp. (Homoptera: Cercopidae) de caña de azúcar en Tuxtepec, Oaxaca, identificada por Miguel Ulloa

(Instituto de Biología, UNAM) y mantenida en nitrógeno líquido a -196°C en el laboratorio de Micología Básica, Depto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. El hongo se sembró en matraces conteniendo medio de agar papa dextrosa (papa blanca 3%, dextrosa 2%, agar 1.5%), incubados durante 14-18 días a 26°C . Al cabo de este tiempo, los conidios del hongo se rasparon de la superficie del agar, se pesaron, y luego se realizó una suspensión en agua estéril con Tween 80 al 0.05%, para el conteo de conidios por cámara de Neubauer. La viabilidad del hongo se determinó por medio de unidades formadoras de colonias (UFC) por dilución en placa. A partir de una suspensión conidial inicial, se realizaron diluciones para obtener concentraciones finales al 100, 80, 60, 40 y 20 mg conidios/ml. Se llevaron a cabo inoculaciones por vía intraperitoneal en ratones machos de la cepa CD-1, de 25 g de peso, aproximadamente. Se inyectó un ml de cada dosis en cada uno de 10 animales, y un ml de solución salina estéril en 10 ratones utilizados como testigo. La DL50 se determinó a los 45 días después de la inoculación, con base en análisis Probit, ajustado a un programa Windows para computadora personal por Alberto Pérez Arista. Los resultados corresponden al promedio de tres experimentos. La viabilidad del inóculo utilizado fue siempre mayor del 95%. La suspensión inicial de conidios (dosis más elevada utilizada) correspondió en promedio a 3.4×10^{10} conidios/g del hongo.

En el modelo utilizado se encontró una DL50 subaguda intraperitoneal mayor a 2400 mg de conidios/kg de peso del animal. Entre más elevada sea la dosis requerida para poder obtener una DL50 en mamíferos, el producto utilizado es menos agresivo. Las inoculaciones se diseñaron considerando dosis mayores a las propuestas por Hall *et al.* (1982), quienes señalan que la dosis máxima de conidios practicable para inoculación intraperitoneal, no debe exceder de 10^8 propágulos/kg de peso corporal del animal. Sin embargo, los resultados mostraron que sólo con dosis considerablemente elevadas del hongo se podía obtener la DL50 en los animales utilizados en los 45 días que duró el experimento. Estos resultados confirman que el microorganismo no es agresivo para los ratones utilizados.

Zimmerman (1993) describe estudios de seguridad en otros países, llevados a cabo con *M. anisopliae* en diferentes animales, donde menciona la prueba de DL50 aguda oral y DL50 aguda dérmica en ratas,



Fig. 1. Fotomicrografía de contraste interferencial de *M. anisopliae* cepa EH-172. Conidios cilíndricos con puntas redondeadas en columnas, que emergen de conidióforos ramificados compactados (938 x).

correspondiente a más de 2000 mg conidios/kg de peso del animal, dosis similares al resultado de la presente prueba con la cepa del hongo aislada en México. El mismo autor (Zimmerman, 1993) menciona ensayos en otros vertebrados como codornices y peces, donde *Metarhizium* no muestra efectos tóxicos o patológicos en los animales.

El resultado de este trabajo, reportado por primera vez con una cepa aislada en México, confirma que *M. anisopliae* es poco agresivo para el modelo murino estudiado y podría apoyar la utilización de este hongo como un insecticida fúngico para el control biológico, en programas de manejo integrado de plagas, que contribuyen al mantenimiento racional de los ecosistemas terrestres.

Agradecimiento

Los autores agradecen a Mariví Sota su invaluable apoyo secretarial.

Literatura citada

- Alves, S. B., 1986. *Controle microbiano de insetos*. Manole, São Paulo.
- Ferron, P., 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: H.D. Burges (ed.), *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*. Academic Press, London, pp. 465-482.

- Hall, R. A., G. Zimmermann, A. Vey, 1982. Guidelines for the registration of entomogenous fungi as insecticides. *Entomophaga* 27: 121-127.
- Laird, M., L.A. Lacey, E.W. Davidson, 1990. **Safety of Microbial Insecticides**. CRC Press, Boca Raton.
- Leal Guerra, J.F., J. Reyes Hernández, A. Guillén Vázquez, 1998. Manejo integrado de plagas de la caña de azúcar en los ingenios del grupo Saenz, Tamaulipas, México. In: SAGAR, INIFAP, SMCB (eds.), **Memoria XXI Congreso Nacional de Control Biológico**. Río Bravo, TS, pp. 286-287.
- Mier, T., J. Pérez, J. Carrillo-Farga, C. Toriello, 1989. Study on the innocuity of *Hirsutella thompsonii*. I. Infectivity in mice and guinea pigs. *Entomophaga* 34: 105-110.
- Mier, T., F. Rivera, M.P. Rodríguez-Ponce, J. Carrillo-Farga, C. Toriello, 1994. Infectividad del hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* en ratones y cobayos. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 36: 107-111.
- Toriello, C., J.M. Hernández Ibañez, R. López-Martínez, A. Martínez, L. López González, T. Mier, J.P. Latgé, 1986. The pathogenic fungi of the spittlebug in Mexico. III. Innocuity of *Erynia neoaphidis* and *Conidiobolus major* in experimental animals. *Entomophaga* 31: 371-376.
- Toriello, C., H. Navarro Barranco, M.L. Almengor, T. Mier. 1999. Aplicación de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin como bioinsecticida contra la mosca pinta (Homoptera: Cercopidae) en pastizales para ganado en Guatemala. *Rev. Mex. Mic.* 15: 119-121.
- Zimmerman, G., 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pestic. Sci.* 37: 375-379.

Recibido: 14 de abril, 1999. Aceptado: 10 de noviembre, 1999.
Solicitud de sobretiros: Conchita Toriello.