

Patogenicidad de los hongos *Verticillium lecanii* (Zimmermann) Viegas y *Beauveria bassiana* (Balm) Vuilleman a animales homeotermos

Esperanza Rijo Camacho, Mercedes Luján, José R. Martínez* y Julio Oliva.**

Area de Biología, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle 110 No. 514, entre Calles 5ta. B y 5ta. F, Miramar, Playa. E.Mail: Einisav@ceniai.inf.cu *Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Provincia Camagüey. **Instituto de Medicina Veterinaria, Ministerio de la Agricultura, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 17 de noviembre del 2000. Aceptado: 24 de julio del 2001.

Palabras clave: hongos entomopatógenos, patogenicidad, sangre caliente, homeotermo, animales vertebrados.
Key words: entomopathology fungus, pathology, hot blood, homeoterm, vertebrate animals.

RESUMEN. Los hongos entomopatógenos *Verticillium lecanii* (Zimm.) Vieg (cepa LBVI-2) y *Beauveria bassiana* (Balm) Vuilleman (cepa LBBb-32) están ampliamente distribuidos y han sido evaluados a nivel de laboratorio contra un gran número de insectos plagas como *Anthonomus grandis* Boheman, *Bemisia* spp. y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), *Schistocerca gregaria* (Forsk.), *Plutella xylostella* (Linnaeus) y áfidos entre otros artrópodos, lo que avala su utilización en el control de plagas en la agricultura. Se evaluó su patogenicidad a ratones y curieles. Con este fin, se les proporcionó una suspensión de conidios de las cepas en aplicaciones intraperitoneal y a través de la vagina. Además, se estudió la posible acción patogénica de los biopreparados fúngicos a partir de su administración a los ratones y curieles a través de las aberturas nasales y en las comidas, así como en el agua de beber y por contacto al asperjar el cuerpo con la dilución del entomopatógeno. Estos últimos dos ensayos también fueron realizados en perros y vacunos. Las aplicaciones a los ratones y curieles se realizaron semanalmente, durante 6 meses y los animales se mantuvieron durante 18 meses bajo observación. En los perros y vacunos se llevaron a cabo con una frecuencia semanal, los dos primeros meses y posteriormente, cada 30 d hasta el término de dos años. Al finalizar los tratamientos, ejemplares de cada una de las especies tratadas fueron sacrificados para sus correspondientes exámenes anátomo-patológicos y microbiológicos. Los animales que fueron tratados con *V. lecanii* y *B. bassiana* no presentaron alteraciones clínicas que pudieran ser registradas por el facultativo, además, no presentaron ni daños en los tejidos y órganos, ni los microorganismos objeto de estudio.

ABSTRACT. The entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Zimm) Vieg (stump LBVI-2) and *Beauveria bassiana* (Balm) Vuilleman (stump LBBb-32) are broadly distributed and they have been evaluated under laboratory conditions against a great number of insect plagues as *Anthonomus grandis* Boheman, *Bemisia* spp. and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), *Schistocerca gregaria* (Forsk.), *Plutella xylostella* (Linnaeus) and aphids among other arthropods, that endorses their use in the control of plagues in the agriculture. The pathogenic action of those fungus was evaluated in mice and guinea pigs, providing them a conidium suspension of stumps in intraperitoneal applications and through the vagina. The possible pathogenic action of the fungal biopreparations from the above mentioned fungus was evaluated, when they were given to mice through the nasal openings, with food and water and by contact, when the animals's body was sprinkled with the entomopathogenic solution. These last two trials were also valued on dogs and cattle. The applications on mice and cattle were carried out weekly during 6 months and were observed during 18 months, while the applications on dogs and cattle were done weekly, during the first two months and later every 30 d until turning two years. The animals subjected to treatments with *V. lecanii* and *B. bassiana* didn't show clinical alterations that could be registered by the veterinary; besides they didn't present either tissues or organ alterations or presence of the microorganisms studied.

INTRODUCCION

Los hongos entomopatógenos *Verticillium lecanii* (Zimmermann) Viegas, *Beauveria bassiana* (Balm) Vuilleman son inocuos al hombre y a otros vertebrados, ya que la temperatura de estos es superior a 35 °C y los mencionados microorganismos no pueden desarrollarse bajo estas condiciones. Este es uno de los indicadores que ha demostrado la inocuidad de estos entomopatógenos a animales de sangre caliente u homeotermos.^{1,2}

Animales homeotermos fueron inoculados con esporas del hongo *V. lecanii* y pasados los 28 d, se les hicieron las pruebas anátomo-patológicas y microbiológicas, y no se detectó ninguna alteración, ni crecimiento del hongo en los cultivos de sus células.³

La patogenicidad de esos hongos entomopatógenos a artrópodos, su inocuidad a animales homeotermos y su posible combinación con plaguicidas químicos, hizo que en Cuba se desarrollaran trabajos encaminados al control de ectoparásitos en vacunos, motivo que ha hecho necesario hacer experimentos con la finalidad de verificar en las condiciones del ecosistema cubano la posible patogenicidad de los hongos entomopatógenos *V. lecanii* y *B. bassiana* a animales homeotermos.

MATERIALES Y METODOS

De la micoteca del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

de Cuba, se evaluó la patogenicidad de las cepas LBV1-2 y LBBb-32 de los hongos entomopatógenos *V. lecanii* y *B. bassiana*, respectivamente, a animales homeotermos. Para el desarrollo de este experimento se utilizaron 24 ratones y 24 curieles (para cada hongo), los cuales fueron distribuidos en seis grupos de cuatro animales cada uno por especie (un grupo era el testigo), ochenta perros de diferentes razas y edades (40 por biopreparado) y ocho vacunos adultos (cuatro por biopreparado). En la investigación se siguió la metodología que se emplea para el diagnóstico micológico en Veterinaria.⁴

Los biopreparados se obtuvieron por cultivo líquido estático para los hongos *V. lecanii*^{5,6} y *B. bassiana*.^{6,7} Cada uno fue administrado a los ratones y curieles a razón de $1 \text{ a } 5 \cdot 10^8$ conidios/mL en el agua de beber, gotas nasales y en la comida. Esta última variante, así como las aplicaciones al cuerpo, se incluyeron en el experimento con los perros y vacunos.

Cada biopreparado fue adicionado a la comida de los ratones y curieles, 30 y 60 mL, respectivamente. Igual procedimiento se siguió con el agua de beber, 60 y 120 mL para los ratones y curieles, de cada uno de los productos biológicos respectivamente; también los productos se aplicaron a través de las fosas nasales, una gota a los ratones y dos a los curieles.

La aplicación intraperitoneal y a través de la vagina a los ratones y curieles se llevó a cabo con una suspensión de $5 \cdot 10^8$ conidios/mL de *V. lecanii* y otra de $4,3 \cdot 10^8$ conidios/mL de *B. bassiana*. Las cepas de los hongos antes mencionados fueron mantenidas en medio de papa dextrosa agar. La inoculación de conidios en las pruebas intraperitoneal fue de 1 y 3 mL a ratones y curieles, respectivamente. La introducción de la suspensión de conidios a través de la vagina fue de 10 mL a los ratones y 20 mL a los curieles.

Los biopreparados y la suspensión de las cepas de ambos microorganismos, fueron suministrados a los ratones y curieles por periodos de cinco semanas, alternados con tres semanas de lavado. Este ciclo de tratamiento fue de seis meses y posteriormente, se mantuvo el análisis clínico durante 18 meses. Al terminar este, se sacrificó un animal por cada una de las diferentes variantes de hongo utilizado y se le realizó un examen anatómo-patológico y siembras de células de hígado, bazo, ri-

ñón y pulmón en medios de cultivo para bacterias y hongos. El resto de los animales de cada variante se mantuvo en observación para valorar la descendencia, desde el punto de vista etológico.

La evaluación de los perros y vacunos se realizó con una frecuencia semanal los dos primeros meses y posteriormente, cada 30 d hasta los dos años bajo tratamiento y al igual que el resto de los animales ensayados fue sacrificado un ejemplar por cada tratamiento para las pruebas anatómo-patológicas y microbiológicas. Además, se consideraron 515 vacunos entre novillos y vacas que en condiciones de producción estuvieron sometidos a tratamientos con biopreparados fúngicos de *B. bassiana* y *V. lecanii* para el control de *Boophilus microplus* (Canestrini).

RESULTADOS Y DISCUSION

De los animales tratados con el biopreparado de *V. lecanii* cepa LBV1-2, sólo murieron dos ratones, uno de la variante que recibió el biopreparado en el agua y el otro de la variante en que se inoculó la suspensión de conidios del hongo por vía intraperitoneal. También murió un ratón del grupo testigo de esa prueba (Tabla 1).

Los exámenes anatómo-patológicos realizados a los ratones muertos, no revelaron alteraciones visibles y en los análisis microbiológicos no se aislaron bacterias valorables. Las muestras sembradas para detectar hongos no arrojaron la presencia de

V. lecanii y resultaron negativas para los tres ratones muertos.

Los demás ejemplares de ratones, curieles, perros y vacunos sometidos a las diferentes pruebas con el hongo *V. lecanii*, no presentaron alteraciones y se mantuvieron dentro de los indicadores de salud para la especie.

En los ensayos realizados con curieles tratados con el hongo *B. bassiana*, en la prueba de agua tratada murió un ejemplar, cuyo examen anatómo-patológico arrojó hepatomegalia con áreas de necrosis. En las siembras bacteriológicas, se obtuvieron aislamientos de *Salmonella* grupo B en el hígado y bazo y no se observó crecimiento del entomopatógeno suministrado (Tabla 2).

Los ratones, perros, vacunos y los curieles sometidos a las diferentes pruebas con el hongo *B. bassiana*, no mostraron alteraciones que indicaran variaciones de los indicadores de salud de esas especies.

No obstante, los perros y vacunos que fueron sometidos a tratamientos prolongados con los biopreparados fúngicos no presentaron modificaciones en su conducta y en los ejemplares sacrificados, no se observaron cambios anatómo-patológicos ni microbiológicos.

Los animales de estos experimentos, así como otros vacunos que se encontraban en condiciones de producción y que fueron sometidos a tratamientos con biopreparados de *V. lecanii* y(o) *B. bassiana* para el

Tabla 1. Inocuidad del hongo *V. lecanii* a animales homeotermos en condiciones de laboratorio.

Animales	Total	Mortalidad		
		<i>V. lecanii</i>	Otras causas	Testigo
Ratones	24	0	2	1
Curieles	24	0	0	0
Perros	40	0	0	0
Vacas	4	0	0	0

Tabla 2. Inocuidad del hongo *B. bassiana* a animales homeotermos en condiciones de laboratorio.

Animales	Total	Mortalidad		
		<i>B. bassiana</i>	Otras causas	Testigo
Ratones	24	0	0	1
Curieles	24	0	1	0
Perros	40	0	0	0
Vacas	4	0	0	0

control del ectoparásito *B. microplus* no manifestaron alteraciones clínicas (orquitis, diarreas, trastornos respiratorios, etc.) que pudieran ser detectadas por la observación diaria del facultativo y no hubo mortalidad durante los dos años de trabajo (Tabla 3).

Los resultados obtenidos en esta investigación con los hongos *V. lecanii* y *B. bassiana* reafirmaron lo planteado por otros autores^{2,3,8} sobre la inocuidad de estos hongos entomopatógenos a animales homeotermos, debido a que por encima de 37 °C se dificulta su crecimiento en ellos.^{6,9} Estos estudios indican que los vacunos y perros pueden ser tratados con biopreparados de *V. lecanii* (cepa LBVI-2) y *B. bassiana* (cepa LBBb-32) para el control de garrapatas,⁹ sin que presenten modificaciones en su etología.

CONCLUSIONES

Los biopreparados de *V. lecanii* (cepa LBVI-2) y *B. bassiana* (cepa LBBb-32), que son utilizados para el control de fitófagos, no ofrecen patogenicidad alguna a los curieles, ratones, perros y vacunos bajo las condiciones del ecosistema cubano.

BIBLIOGRAFIA

1. Roberts O.W. and Yendol W.Y. Use of fungi for microbial control of insects. *Microbial Control of insect and mites*,

Tabla 3. Inocuidad de los hongos *V. lecanii* y *B. bassiana* a vacunos en condiciones de producción.

Razas	Producto biológico	Novillos		Vacas	
		Total	Mortalidad (%)	Total	Mortalidad (%)
Holstein	<i>V. lecanii</i>	–	–	322	0
	<i>B. bassiana</i>	–	–	117	0
Jersey	<i>V. lecanii</i>	15	0	12	0
Criollo	<i>V. lecanii</i>	–	–	9	0
Mestizo	<i>V. lecanii</i>	–	–	40	0

Burges, H.D. and N. W. Hussey (ed.). Academic Press, New York, 125-149, 1971.

2. Hall R.A. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. En: *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*. Acad. Press, 482-498, 1982.

3. Hall R.A. and Papierok B. Fungus as biological control agents of arthropods of agricultural-medical. **Importance parasitology**, **84**, 205, 1982.

4. Fonseca N. Metodología para el diagnóstico micológico en Veterinaria. En: *Centro de Información y Documentación del Instituto de Medicina Veterinaria*, Cuba, 8, 1988.

5. Luján M. Vázquez T. and Cabrera T. Metodología de propagación bifásica o líquida del hongo *Verticillium lecanii*. Informe técnico del Tema de investigación Tecnologías de reproducción de entomopatógenos, 1985-1990. Centro de Información y Documentación del Instituto Investigaciones de Sani-

dad Vegetal, Ciudad de La Habana, Cuba, 32, 1990.

6. Fernández-Larrea Vega Orietta Temas Interesantes Acerca del Control Microbiológico en Cuba. Ed. CIDISAV, La Habana, INISAV, 138, 2001.

7. Cabrera T. and Calderón A. Metodología de reproducción de *Beauveria bassiana* cultivo superficial. Informe técnico del Tema de investigación Tecnologías de reproducción de entomopatógenos, 1985-1990. En: *Centro de Información y Documentación del Instituto Investigaciones de Sanidad Vegetal*, Ciudad de La Habana, Cuba, 32, 1990.

8. Taborsky V. Small scale processing of microbial pesticides. *Agricultural Services*, Roma, FAO, Bulletin 96, 1992.

9. Rijo Camacho, E. Effectiveness of biological preparations based on entomopathogenic fungi in the control of *Boophilus microplus*. En: *Fuente José de la Recombinant vaccines for the control of cattle tick*. Ciudad de La Habana, Cuba, 37-43, 1995



ACTIVIDADES CIENTIFICAS
MINISTERIO DE EDUCACION SUPERIOR DE CUBA

TALLER INTERNACIONAL DE ORQUIDEAS

Del 11 al 17 de noviembre del 2002.

TEMATICAS:

- Cultivo y Colecciones.*
- Biología Molecular.*
- Marketing.*
- Micropropagación.*
- Fitopatología y Entomología.*
- Biodiversidad y Conservación.*
- Ecología.*
- Fitogeografía.*
- Taxonomía y Sistemática.*

CUOTA DE INSCRIPCION: 100.00 USD. Se pagará en el momento de la acreditación en el evento.

COMITE ORGANIZADOR: Ing. Rolando Pérez Márquez.
E-mail: rperez@vrect.upr.edu.cu
Fax: (5382) 2558