

# INVESTIGACIONES

## PATOGENICIDAD DE UNA COLECCIÓN DE CEPAS NATIVAS DE *Metarhizium* spp. Y *Beauveria* spp. EN *Aegorhinus superciliosus*, *Asynonychus cervinus* Y *Otiorhynchus sulcatus*<sup>1</sup>

### Pathogenicity of a Chilean wild collection of *Metarhizium* spp. and *Beauveria* spp. on *Aegorhinus superciliosus*, *Asynonychus cervinus* and *Otiorhynchus sulcatus*.

Andrés France I.<sup>2</sup>, Macarena Gerding G.<sup>2</sup>, Marcos Gerding P.<sup>2</sup> y Alicia Sandoval V.<sup>2</sup>

#### ABSTRACT

Different isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria* and *Metarhizium*, collected throughout Chile, were screened for three important curculionid (weevil) pests. Nine *Beauveria* and 10 *Metarhizium* isolates were evaluated on adults of *Aegorhinus superciliosus*, 37 *Beauveria* isolates on *Asynonychus cervinus* larvae and 24 *Metarhizium* on *Otiorhynchus sulcatus* adults. Inoculated insects were observed daily and compared using a mortality index. The most effective isolates were M430 and B306 for *A. superciliosus*, B 179 for *A. cervinus* and M151b for *O. sulcatus*. There were also numerous strains that caused low or very reduced insect mortality, suggesting the specificity of the different fungi for different insects. The foregoing justifies the search for new and better isolates, as well as additional laboratory and field evaluation of the better strains.

**Key words:** biological control, entomopathogenic fungi, curculionids, survey.

#### INTRODUCCIÓN

Las especies de la familia Curculionidae, tales como *Aegorhinus superciliosus* (Guerin) (cabrito de la frambuesa o cabrito del sur), *Asynonychus cervinus* (Boheman) (capachito de los frutales) y *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (gorgojo de la frutilla o capacho de los invernaderos) son plagas de importancia económica, que en su estado larval se encuentran en el suelo consumiéndose raíces y raicillas de un gran número de cultivos, destacando su daño en los frutales menores (Aguilera, 1988; Prado, 1991; Artigas,

1994). Este daño produce el debilitamiento de la planta, enanismo y en caso de ataques severos puede llegar a provocar su muerte (Aguilera, 1988; Johnson y Lyon, 1988; Artigas, 1994; Dill, 1997). El control químico de estas plagas se ha visto dificultado por el hábito subterráneo de las larvas, principalmente *A. superciliosus* que, en especies frutales, horada las raíces y permanece dentro de galerías durante parte de su desarrollo (Aguilera, 1988).

El control químico de curculiónidos de hábito subterráneo o de ambientes crípticos, en general, se considera de baja eficacia, causando además problemas de contaminación ambiental. En consecuencia, la aplicación de insecticidas se ha visto limitada y han surgido medidas de control alternativas, como el uso de enemigos naturales.

<sup>1</sup>Recepción de originales: 07 de febrero de 2000.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Casilla 426, Chillán, Chile. E-mail: afrance@quilamapu.inia.cl

Dentro de éstos destaca el uso de los hongos entomopatógenos *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp., los que se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo y son considerados inocuos para el medio ambiente.

La entrada del hongo al insecto se produce a través de aberturas naturales (boca, espiráculo y ano) o a través del integumento por medio de un proceso mecánico enzimático. Durante el proceso de infección, el hongo produce toxinas que causan la muerte del insecto, para luego colonizar el interior del hospedante y emerger en forma de micelio al exterior para posteriormente producir esporas. La forma de reproducción le confiere, en terreno, una mayor persistencia en el tiempo, ya que convierte al insecto muerto en una nueva fuente de inóculo (St. Leger *et al.*, 1986; Lecuona *et al.*, 1996; Alves y Pereira, 1998).

Desde el año 1996, el programa de Patología de Insectos, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro Regional de Investigación (CRI) Quilamapu, Chillán, ha realizado prospecciones en el país, encontrando con relativa frecuencia hongos entomopatógenos, dentro de los cuales destacan por su abundancia *Metarhizium* y *Beauveria*. La prospección y evaluación de nuevos aislamientos de hongos entomopatógenos, contra insectos de importancia económica, permitiría incorporar una nueva fuente de diversidad genética para el control biológico de plagas en Chile, sin las restricciones eventuales de los productos de síntesis químicas, por estar adaptada a las condiciones locales y de no requerir de los complejos procesos de importación. En consecuencia, este trabajo es un primer estudio de laboratorio sobre la susceptibilidad de las plagas anteriormente mencionadas, a una colección de *Metarhizium* y *Beauveria* obtenido de muestras recolectadas a lo largo del país, con el objetivo final de seleccionar aquellas cepas que resulten más agresivas, expresadas por su selectividad y menor tiempo en causar la muerte de los insectos evaluados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Colecta de insectos

Para los ensayos de patogenicidad se utilizaron larvas de *A. cervinus*, y adultos de *O. sulcatus* y *A. superciliosus*. Las larvas de *A. cervinus* fueron colectadas desde un huerto de frambuesas (*Rubus idaeus* L.) de 4 años, ubicado en Parral, VIII Región, en los meses de enero y febrero de 1998. Los adultos de *O. sulcatus* fueron colectados en febrero de 1998 en un huerto de frambuesas de la localidad de San Pablo, Osorno, X Región. Adultos de *A. superciliosus* se colectaron en enero de 1999 desde un huerto de frambuesa ubicado en San Carlos, VIII Región.

Las larvas fueron mantenidas en cajas con tierra pasteurizada y raicillas de frambuesa desinfectadas. Los adultos fueron mantenidos en cajas con trozos de polietileno de baja densidad, y hojas y tallos de frambuesa lavados. Todos los individuos fueron mantenidos en una cámara a temperatura constante de 20 °C.

### Origen del inóculo

Los aislamientos de *Metarhizium* y *Beauveria* provinieron de insectos muertos encontrados en terreno, y de una colecta de suelos realizada a lo largo del país por el Programa de Control Biológico del CRI Quilamapu de INIA. Para las muestras de suelo se utilizó el método del cebado (Goettel e Inglis, 1997) con larvas de la polilla de la cera (*Galleria melonella*), las que fueron criadas en confinamiento y dieta artificial. Cinco larvas de último estadio fueron depositadas en el interior de tubos plásticos de 5 x 15 cm, junto con la muestra de suelo. Luego de 5 días, las larvas se extrajeron e incubaron en cámara húmeda para el desarrollo de posibles entomopatógenos. Las estructuras fungosas que se desarrollaron sobre las larvas muertas fueron cultivadas en placas de Petri de 6 cm de diámetro, con agar papa dextrosa (APD, DIFCO) y repicadas hasta obtener un cultivo puro. Luego, cada aislamiento fue traspasado a tubo de ensayo

con APD y conservado en frío (5 °C), además se mantuvo una contramuestra en nitrógeno líquido (-196 °C).

La identificación de las cepas se realizó mediante observaciones macro y microscópicas de la morfometría de conidias y conidioforos. Estas mediciones fueron comparadas con claves dicotómicas (Barnett y Hunter, 1987; Samson *et al.*, 1988; Humber, 1997) para la identificación de los géneros de hongos. Para la realización de este trabajo sólo se utilizaron aislamientos identificados de *Metarhizium* y *Beauveria*, ya que otros géneros detectados sólo fueron ocasionales. El origen de las cepas utilizadas para cada insecto se indica en los Cuadros 1, 2 y 3. La selección de cepas dependió de la oportunidad de contar con cultivos homogéneos y en fase de esporulación, al momento en que estuvo disponible en forma masiva la plaga a evaluar. Lo anterior significó que no siempre fue posible evaluar todos los aislamientos, sobre las tres especies de insectos.

### Pruebas de patogenicidad

Para obtener inóculo fresco para las pruebas de patogenicidad, se sembró cada aislamiento en placas Petri con APD y se incubó a 25 °C por 20 días aproximadamente, hasta obtener el cubrimiento de la placa con micelio y conidias. Las conidias fueron aplicadas en seco sobre los insectos, utilizando para la inoculación de cada individuo, un trozo de 10 mm de diámetro de agar colonizado por el hongo. *O. sulcatus* fue inoculado con 24 aislamientos de *Metarhizium* originarios de la zona Sur y Centro-Sur de Chile; *A. cervinus* con 37 aislamientos de *Beauveria* de distintas zonas del país, y en *A. superciliosus* se evaluaron 10 aislamientos de *Metarhizium* y 9 de *Beauveria*. Las larvas inoculadas fueron mantenidas en placas con suelo pasteurizado y raíces de frambuesa desinfectadas, las que fueron cambiadas periódicamente, y los adultos en placas con hojas lavadas de frambuesa. Se evaluó cada 24 h la mortalidad de insectos y el momento de la aparición de signos del hongo.

El diseño experimental utilizado fue uno completamente al azar con 5 repeticiones por aislamiento, utilizando un insecto como unidad experimental. Los resultados obtenidos fueron comparados calculando el índice de mortalidad para cada aislamiento (IM), el que corresponde a la sumatoria del número de insectos muertos cada día (NI), dividido por el producto entre el número del día (ND) por el número total de individuos (NT), de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$IM = \sum (NI / (ND \times NT))$$

Este índice buscó favorecer a los aislamientos que causaron mayor mortalidad en los primeros días postinoculación, de manera de aumentar la exigencia para elegir los aislamientos más agresivos. Los ensayos se evaluaron hasta el momento en que uno de los aislamientos logró el 100% de mortalidad de insectos. Todos los aislamientos fueron comparados a través de la prueba de  $\chi^2$ , evaluando la hipótesis de independencia de cada índice de mortalidad en relación al testigo, confrontados en tablas de contingencia de 2 x 2 (Gomez y Gomez, 1984).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislamientos presentaron diferencias en patogenicidad, de acuerdo al test de  $\chi^2$ , para las diferentes plagas evaluadas. Para *A. superciliosus*, 17 de las 19 aislaciones aplicadas causaron mortalidad para esta especie, siendo M430 originaria de Osorno (X Región) y B306 del Valle de Chaca (I Región), las que presentaron mayor índice de mortalidad y fueron diferentes al testigo a  $P \leq 0,05$ . El testigo y los aislamientos M146 y B73 no presentaron mortalidad mientras duró el ensayo (Cuadro 1 y Figura 1). Luego de algunos días de incubación en cámara húmeda, se observó emisión de micelio y posteriormente de esporas en las zonas menos esclerosadas del tegumento del insecto, lo que coincide con lo citado por otros autores (Alves y Pereira, 1998).

**Cuadro 1. Origen de las cepas, mortalidad, probabilidad de similitud con el testigo ( $\chi^2$ ) y tiempo de esporulación en adultos de *Aegorhinus superciliosus* inoculados con distintas aislaciones de *Metarhizium* y *Beauveria***

**Table 1. *Aegorhinus superciliosus* origin and adult mortality after inoculation with different *Metarhizium* y *Beauveria* isolates, goodness of fit probability ( $\chi^2$ ) between each isolate and the control, and time to sporulation of dead insects**

N°	Origen de la muestra		Índice de mortalidad <sup>1</sup>	Probabilidad <sup>2</sup> $\chi^2$	Aparición esporas (días) <sup>3</sup>
	Localidad o comuna (Región)	Substrato			
M 145b	Lago Negro, Chaitén (X)	Pradera natural <sup>4</sup>	0,61	0,081	10,0
M 146	Caleta Gonzalo (X)	Huerto de lechugas orgánicas	0,00	1,000	–
M 151b	Río Chamiza (X)	Pradera degradada	0,39	0,163	16,0
M 156a	Puerto Ramírez (X)	Bosque nativo	0,22	0,294	11,5
M 171a	Pumanzano, Chiloé (X)	Pradera natural	0,11	0,458	13,0
M 173c	Villa Santa Lucía (X)	Desmonte y pradera nat.	0,56	0,094	–
M 233a	Vega Santa Rosa (X)	Rastrojo de trigo	0,61	0,081	10,0
M 363	Pinto (VIII)	Adulto enfermo de <i>Sericoides viridis</i>	0,28	0,237	–
M 421	Puyehue (X)	Pradera natural	0,22	0,294	11,0
M 430	Osorno (X)	Pradera natural	1,00	0,025	12,0
B 47	Yungay (VIII)	Trigo	0,08	0,527	–
B 72	Osorno (X)	Adulto enfermo de <i>Listronotus bonariensis</i>	0,00	1,000	–
B 187	Osorno (X)	Pradera natural	0,17	0,357	11,0
B 273	Cañete (VIII)	Papa	0,56	0,094	–
B 306	Valle de Chaca, Arica (I)	Frejol	0,92	0,032	9,0
B 321	Puyehue (X)	Lilium	0,72	0,058	–
B 326	Melipilla (RM)	Trigo de secano	0,72	0,058	10,0
B 378	Junquillar, Constitución (VII)	Alfalfa	0,44	0,138	–
B 452	Huape (VIII)	Manzano	0,39	0,163	15,0
Testigo			0,00	1,000	–

<sup>1</sup> $\Sigma$  (n° de insectos muertos/(n° día x n° total de insectos)), calculado hasta 6 días después de la inoculación.

<sup>2</sup>Probabilidad de  $\chi^2$  para tabla de contingencia de 2 x 2 entre el testigo y el respectivo Índice de Mortalidad.

<sup>3</sup>Indica el promedio de días entre mortalidad y esporulación.

<sup>4</sup>Corresponde a praderas mixtas de gramíneas y tréboles de crecimiento espontáneo.

En el caso de *A. cervinus*, de los 36 aislamientos de *Beauveria* evaluados, sólo 24 causaron mortalidad a esta plaga a los tres días de inoculación, en tanto los 12 aislamientos restantes no provocaron mortalidad de larvas, al igual que el testigo (Figura 2). Con el aislamiento B179, originario de Pumanzano, Chiloé (X Región), se alcanzó el mayor índice de mortalidad y fue

estadísticamente diferente al testigo a  $P=0,031$  (Cuadro 2). Las larvas muertas por *Beauveria* adquirieron una consistencia dura en un principio, para luego de dos días de incubación observarse los primeros signos del hongo, que correspondieron a micelio blanquecino que paulatinamente quedó cubierto de esporas blancas.

**Cuadro 2. Origen de las cepas, mortalidad, probabilidad de similitud con el testigo ( $\chi^2$ ) y tiempo de esporulación en larvas de *Asynonychus cervinus* inoculados con distintas aislaciones de *Beauveria* spp.****Table 2. *Asynonychus cervinus* origin and larvae mortality after inoculation with different *Beauveria* isolates, goodness of fit probability ( $\chi^2$ ) between each isolate and the control, and time to sporulation of dead insects**

N°	Origen de la muestra		Índice de mortalidad <sup>1</sup>	Probabilidad <sup>2</sup> $\chi^2$	Aparición esporas (días) <sup>3</sup>
	Localidad o comuna (Región)	Substrato			
B 33	Desconocido	–	0,07	0,564	4,0
B 47	Yungay (VIII)	Trigo	0,23	0,280	4,5
B 72	Osorno (X)	Adulto enfermo de <i>Listronotus bonariensis</i>	0,07	0,564	4,0
B 73	El Carmen (VIII)	Pradera natural <sup>4</sup>	0,23	0,280	4,0
B 154	Laguna Chapo (X)	Pradera degradada	0,07	0,564	4,0
B 158	Río Claro (VII)	Bosque nativo	0,20	0,317	4,3
B 179	Pumazano (X)	Bosque nativo	0,93	0,031	2,6
B 184	Osorno (X)	Pradera <sup>5</sup>	0,23	0,280	4,5
B 187	Osorno (X)	Pradera natural	0,00	1,000	–
B 193	Osorno (X)	Bosque nativo	0,00	1,000	–
B 204	Precordillera de Osorno (X)	Pradera natural	0,00	1,000	–
B 219	Osorno (X)	Orilla de río	0,23	0,280	4,5
B 221	Bahía Mansa (X)	Bosque renoval	0,00	1,000	–
B 223	Maicolpué (X)	Bosque nativo	0,43	0,141	5,0
B 224	Maicolpué (X)	Vega orilla de río	0,40	0,157	4,3
B 247	Cañete (VIII)	Papa	0,40	0,157	5,5
B 255	Cañete (VIII)	Papa	0,40	0,157	4,0
B 270	Gusano blanco, Osorno (X)	Larva enferma de Scarabeidae	0,00	1,000	–
B 272	Desconocido	–	0,30	0,221	4,0
B 273	Cañete (VIII)	Papa	0,00	1,000	–
B 274	Puañil, Cañete (VIII)	Papa	0,00	1,000	–
B 278	Desconocido	–	0,13	0,414	4,0
B 294	Lago Chungará, Arica (I)	Orilla de lago	0,40	0,157	4,7
B 296	Lago Chungará, Arica (I)	Bofedal	0,00	1,000	–
B 297	Parinacota (I)	Bofedal	0,37	0,176	5,0
B 299	Lago Chungará, Arica (I)	Orilla de lago	0,73	0,056	2,4
B 303	Las Palmas, Valle Lluta, Arica (I)	Alfalfa	0,17	0,361	6,0
B 305	Valle Chaca, Arica (I)	Orilla de río	0,50	0,114	6,0
B 306	Valle Chaca, Arica (I)	Frejol	0,00	1,000	–
B 310	Putre (I)	Papa	0,00	1,000	–
B 312	Arica (I)	Plátano	0,07	0,564	5,0
B 314	Alto Yungay (VIII)	Larva enferma de Lepidoptera	0,67	0,068	3,8
B 315	Desconocido	–	0,00	1,000	–
B 316	San Carlos (VIII)	Larva enferma de Curculionidae	0,00	1,000	–
B 321	Puyehue, Osorno (X)	Larva enferma de Scarabeidae	0,13	0,414	4,5
B 323	Río Chaca, Arica (I)	Orilla de río	0,67	0,068	3,5
Testigo			0,00	1,000	–

<sup>1</sup> $\Sigma$  (n° de insectos muertos/(n° día x n° total de insectos)), calculado hasta 4 días después de inoculación.<sup>2</sup>Probabilidad de  $\chi^2$  para tabla de contingencia de 2 x 2 entre el testigo y el respectivo Índice de Mortalidad.<sup>3</sup>Indica el promedio de días entre mortalidad y esporulación.<sup>4</sup>Corresponde a praderas mixtas de gramíneas y tréboles de crecimiento espontáneo.<sup>5</sup>Corresponde a praderas sembradas de mezclas de gramíneas y tréboles.

**Cuadro 3. Origen de las cepas, mortalidad, probabilidad de similitud con el testigo ( $\chi^2$ ) y tiempo de esporulación en adultos de *Otiorhynchus sulcatus* inoculados con distintas aislaciones de *Metarhizium***

**Table 3. *Otiorhynchus sulcatus* origin and adult mortality after inoculation with different *Metarhizium* isolates, goodness of fit probability ( $\chi^2$ ) between each isolate and the control, and time to sporulation of dead insects**

Nº	Origen de la muestra		Índice de mortalidad <sup>1</sup>	Probabilidad <sup>2</sup> $\chi^2$	Aparición esporas (días) <sup>3</sup>
	Localidad o comuna (Región)	Substrato			
M 38	Desconocido	–	0,00	1,000	–
M 39	Cabrero (VIII)	Bosque de pino	0,00	1,000	–
M 82	El Carmen (VIII)	Trigo	0,08	0,533	7,0
M 142	Futaleufú (X)	Pradera natural <sup>4</sup>	0,02	0,773	8,0
M 146	Caleta Gonzalo (X)	Pradera natural	0,06	0,596	14,0
M 150	Lago Chapo (X)	Orilla de lago	0,00	1,000	–
M 151b	Río Chamiza (X)	Pradera natural	0,81	0,045	6,5
M 155	Pto. Piedra (X)	Bosque nativo	0,03	0,678	9,0
M 156	Pto. Ramírez (X)	Bosque nativo	0,03	0,683	9,0
M 159	Quemchi (X)	Pradera natural	0,00	1,000	–
M 171	Pumanzano (X)	Pradera natural	0,00	1,000	–
M 172	Quillaco (X)	Lecho de río	0,03	0,710	8,0
M 173	Villa Sta. Lucía (X)	Pradera natural	0,00	1,000	–
M 203	C. Puschel (X)	Pradera natural	0,18	0,337	7,0
M 214	La Cumbre (X)	Pradera natural	0,29	0,229	7,3
M 221	Bahía Mansa (X)	Renoval bosque nativo	0,02	0,739	5,0
M 227	Maicolpue (X)	Bosque nativo	0,00	1,000	–
M 231	Maicolpue (X)	Pantano	0,00	1,000	–
M 232	Maicolpue (X)	Bosque nativo	0,30	0,219	5,8
M 253	Entre Lagos (X)	Larva enferma de Scarabaeidae	0,07	0,541	7,0
M 270	Gusano blanco, Osorno (X)	Larva enferma de Scarabaeidae	0,00	1,000	–
M 271	Coihueco (VIII)	Larva enferma de Curculionidae	0,60	0,084	5,3
M 276	Cayucuoil, Cañete (VIII)	Lilium	0,21	0,312	5,0
M 290	Puyehue (X)	Pradera natural	0,07	0,552	3,5
Testigo			0,00	1,000	–

<sup>1</sup> $\Sigma$ (nº de insectos muertos/(nº día x nº total de insectos)), calculado hasta 15 días después de inoculación.

<sup>2</sup>Probabilidad de  $\chi^2$  para tabla de contingencia de 2 x 2 entre el testigo y el respectivo Índice de Mortalidad.

<sup>3</sup>Indica el promedio de días entre mortalidad y esporulación.

<sup>4</sup>Corresponde a praderas mixtas de gramíneas y tréboles de crecimiento espontáneo.

En *O. sulcatus*, de los 24 aislamientos de *Metarhizium* evaluados, 15 causaron mortalidad y 9 aislamientos más el testigo fueron inocuos mientras duró el ensayo (Figura 3). El aislamiento M151b (Río Chamiza, X Región) produjo un 100% de mortalidad y fue diferente al testigo a  $P = 0,045$  (Cuadro 3). Además, M151b produjo

una rápida emisión de esporas sobre el cuerpo del insecto, lo que es importante para su posterior diseminación en terreno (Dr. D. Moore, 1998, comunicación personal). El bajo número de aislamientos que resultaron estadísticamente diferentes al testigo se debe al exigente índice de mortalidad, el cual favorece los aislamientos

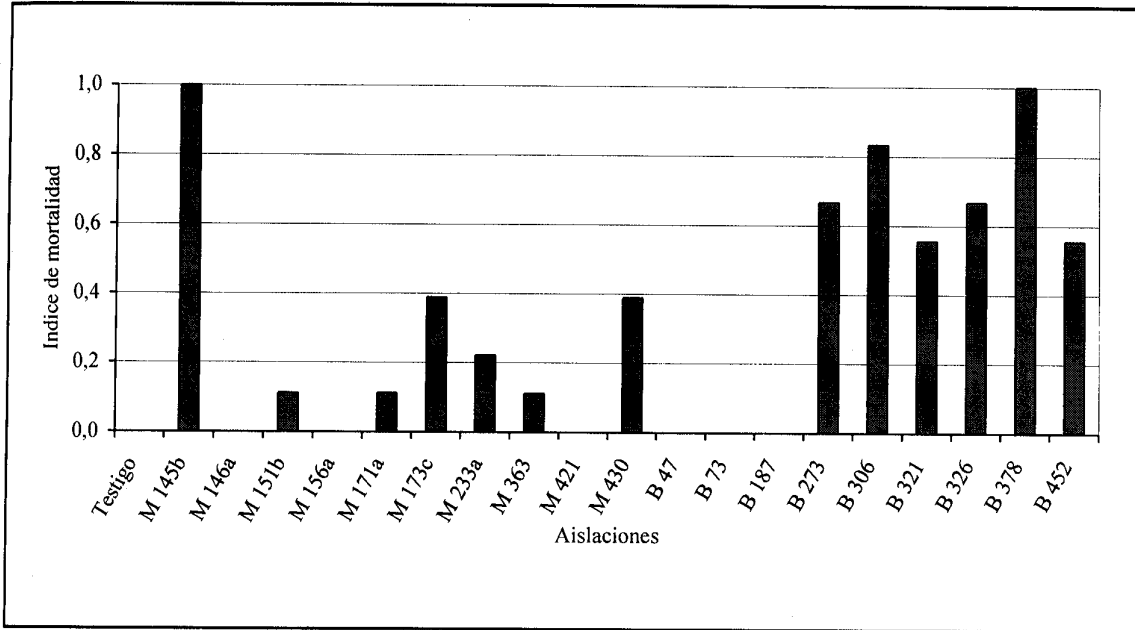


Figura 1. Mortalidad de adultos de *Aegorhinus superciliosus* inoculados con distintos aislamientos de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp.

Figure 1. *Aegorhinus superciliosus* adult mortality after inoculation with different *Metarhizium* and *Beauveria* spp. isolates.

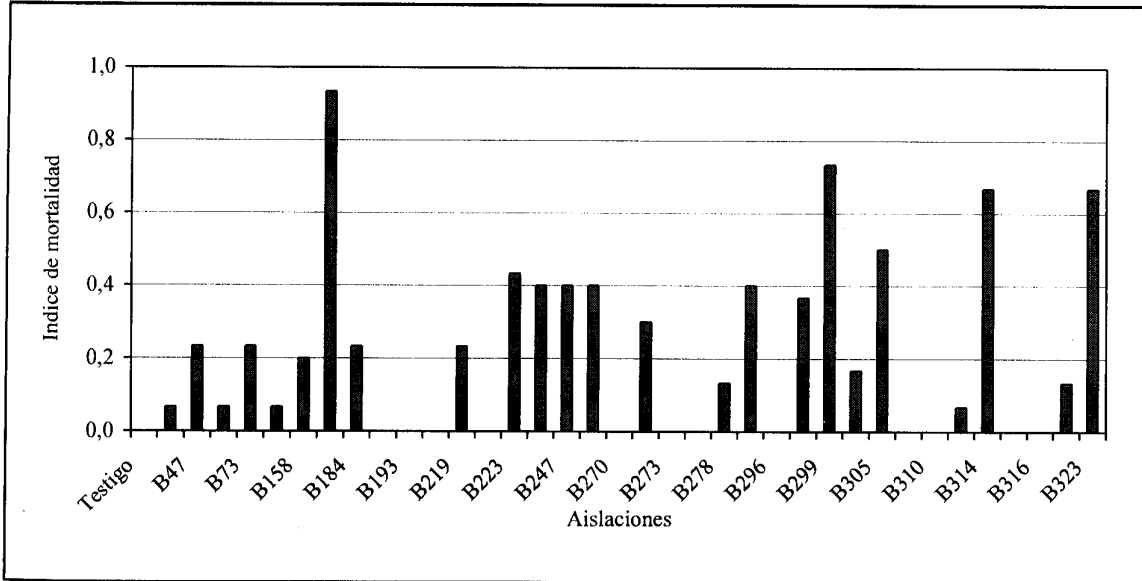


Figura 2. Mortalidad de *Asynonychus cervinus* inoculados con distintos aislamientos de *Beauveria* spp.

Figure 2. *Asynonychus cervinus* larvae mortality after inoculation with different *Beauveria* spp. isolates.

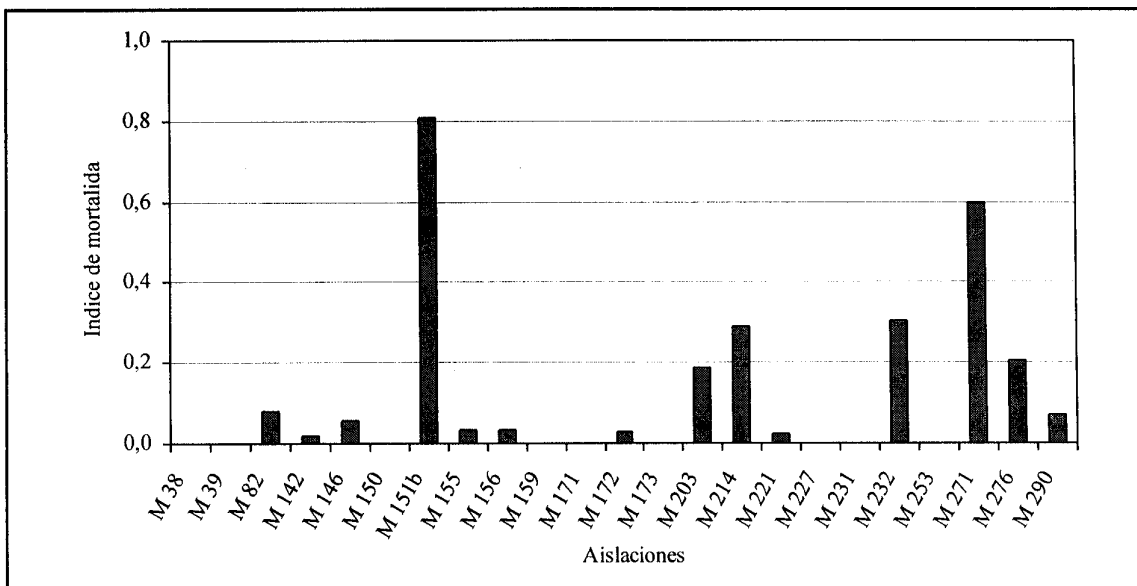


Figura 3. Mortalidad de adultos de *Otiorynchus sulcatus* inoculados con distintos aislamientos de *Metarhizium* spp.  
 Figure 3. *Otiorynchus sulcatus* adult mortality after inoculation with different *Metarhizium* spp. isolates.

que provocan alta mortalidad los primeros días de postinoculación. La finalidad de este índice fue obtener el mejor aislamiento para futuras pruebas de dosificación y eficacia, sin embargo, se debe tener presente que también existieron otros aislamientos patogénicos a las diferentes plagas evaluadas, pero que resultaron más lentos en causar enfermedad en los insectos.

Es importante destacar que los aislamientos que resultaron patogénicos para alguna especie, no siempre causaron mortalidad en otra plaga, lo que nos permite sugerir la existencia de especificidad en las distintas cepas, justificando la realización de pruebas preliminares y prospecciones en busca del aislamiento más efectivo para determinada plaga. La especificidad es una de las características de los hongos entomopatógenos, la cual es citada como una ventaja al no dañar organismos benéficos, o desventaja cuando existen mezclas de especies plagas en el cultivo (Glare, 1992; Tanada y Kaya, 1993; Alves, 1998). Esta característica es causada por variabilidad en cuanto a la capacidad de adherencia y/o penetración de la conidia en el integumento, además de su actividad toxicogénica (Vey *et al.*, 1982). La primera barrera que opone

el insecto a la penetración del patógeno es la cutícula, la cual difiere marcadamente entre el estadio larval o el adulto, por lo cual no necesariamente un buen aislamiento de entomopatógeno para adulto va a ser igualmente efectivo para la larva. Esta diferencia deberá tenerse presente en las futuras evaluaciones de susceptibilidad de especies de insecto.

También llamó la atención la susceptibilidad de las diferentes plagas evaluadas a aislamientos geográficamente separados. Por ejemplo, en el caso de *A. superciliosus*, los dos aislamientos más patogénicos fueron de Osorno (X Región) y Valle de Chaca (I Región), ambas localidades separadas aproximadamente por 3.000 km. La especificidad de las cepas puede estar dada por adaptaciones patológicas al compartir el mismo nicho o, por el contrario, no haber compartido nunca el mismo ambiente (Ferron, 1978; Tanada y Kaya, 1993). Lo anterior podría explicar la alta patogenicidad de cepas geográficamente aisladas. Por otro lado, ambos géneros poseen un amplio rango de hospederos, lo cual explica que estos hongos se encontraran en ambientes tan disímiles, como son las muestras del Lago



Chungará, ubicado en la I Región (B294), y el aislamiento de Futalelfú en la X Región (M142).

Tanto *Beauveria* como *Metarhizium* pertenecen a la clase Hyphomycetes, dentro de la división Deuteromycotina, la cual se caracteriza por producir sus conidias libres, en lugar de estar encerradas dentro de un cuerpo fructífero. Esto permite que las esporas queden inmediatamente disponibles para repetir el ciclo a partir de los insectos parasitados. Además, los Hyphomycetes son más productivos, de ciclos más cortos y relativamente fáciles de producir en forma masiva, por lo cual no es casualidad que estos dos géneros sean los más frecuentemente citados y utilizados en patología de insectos (Ferron, 1978; Glare, 1992; Tanada y Kaya, 1993; Shah *et al.*, 1997; Alves, 1998).

A pesar que se han detectado con anterioridad este tipo de hongos en Chile (Dutky, 1957; Vásquez, 1977; France *et al.*, 1998; Guerrero y Carrillo, 1998) y se han realizado pruebas de patogenicidad, no ha existido hasta la fecha una prospección sistemática. Los antecedentes de uso de hongos entomopatógenos en Chile muestran resultados no siempre satisfactorios, debido principalmente a que las cepas utilizadas fueron colectadas en otros países o no se realizó una selección previa con varios aislamientos (Dutky, 1957; Ripa y Rodríguez, 1989).

El desarrollo de este tipo de control biológico ofrece una alternativa más de control de plagas, especialmente para el caso de los escarabeidos, los que han sido considerados como las plagas del futuro (Jackson, 1992). A diferencia de otras familias de insectos, relativamente pocas especies de hongos son patogénicas a Escarabeidae, ya que éstos han desarrollado métodos efectivos para contrarrestar a los entomopatógenos que habitan en el suelo (Glare, 1992; Tanada y Kaya, 1993). Sin embargo, los resultados de este trabajo incentivan la búsqueda de nuevos hongos entomopatógenos en Chile, de manera de encontrar nuevos y mejores aislamientos para el control de estas plagas.

### CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se concluye que existen aislamientos nativos de los hongos *Beauveria* y *Metarhizium* con actividad patogénica a *Aegorhinus superciliosus*, *Asynonychus cervinus* y *Otiorhynchus sulcatus*. Además, estos hongos muestran especificidad para las distintas especies de insectos, lo que obliga a realizar pruebas de patogenicidad con numerosas cepas, antes de seleccionar la más agresiva. En laboratorio, los mejores aislamientos muestran un alto potencial de control de los insectos evaluados, sin embargo, se requiere evaluar su efectividad en terreno.

### RESUMEN

Se realizó una evaluación con diferentes aislamientos de los hongos entomopatógenos *Beauveria* y *Metarhizium*, colectados a lo largo de Chile, en tres especies de curculiónidos de importancia agrícola. Nueve cepas de *Beauveria* y 10 de *Metarhizium* fueron evaluados en adultos de *Aegorhinus superciliosus*, 37 aislamientos de *Beauveria* con larvas de *Asynonychus cervinus* y 24 cepas de *Metarhizium* en adultos de *Otiorhynchus sulcatus*. Los insectos inoculados fueron evaluados diariamente y comparados a través de índices de mortalidad. Diferentes niveles de patogenicidad fueron detectados entre

las cepas, destacándose como los más efectivos los aislamientos M430 y B306 para *A. superciliosus*, B179 con *A. cervinus* y M151b para *O. sulcatus*. También hubo numerosas cepas que no causaron mortalidad o ésta fue muy reducida, indicando una especificidad de los distintos hongos para diferentes insectos. Lo anterior justifica la búsqueda de nuevos y mejores aislamientos, así como la evaluación en terreno de las mejores cepas.

**Palabras claves:** control biológico, hongos entomopatógenos, curculiónidos, prospección.

## LITERATURA CITADA

- ALVES, S. B. 1998. Patología e controle microbiano: vantagens e desvantagens. *In*: S. B. Alves (Ed.). Controle Microbiano de Insetos. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. Piracicaba, Brasil. p. 21-38.
- ALVES, S. B. Y PEREIRA, R. M. 1998. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. *In*: S. B. Alves (Ed.). Controle Microbiano de Insetos. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. Piracicaba, Brasil. p. 39-55.
- AGUILERA, A. 1988. Plagas del arándano en Chile. *In*: Seminario El cultivo del arándano. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Carillanca. Serie Nº 2. p. 111-178.
- ARTIGAS, J. 1994. Entomología económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario. Vol II. Ediciones Universidad de Concepción. Concepción, Chile. 943 p.
- BARNETT, H. L. AND B. B. HUNTER. 1987. Illustrated genera of imperfect fungi (4<sup>th</sup> ed.). Minnesota, USA. Mac Millan. p. 218.
- DILL, J. F. 1997. Strawberry root weevils. University of Maine. Cooperative Extension Pest Management Office. Disponible en: <http://pmo.umext.maine.edu/factsht/strawpro.htm> Conectado el 20 de octubre de 1997.
- DUTKY, S. 1957. Report on white grub control project in Chile. Agricultura Técnica (Chile) 17(1): 92-105.
- FERRON, P. 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Annual Review of Entomology 23: 409-442.
- FRANCE, A.; GERDING, M. Y CISTERNAS, E. 1998. Colección de hongos entomopatógenos nativos para el control biológico de insectos plagas. XX Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Chilena de Entomología. Concepción, Chile. 11-13 de noviembre. p. 54. (Resumen).
- GLARE, T. R. 1992. Fungal pathogens of scarabs. *In*: Glare, T. R. and Jackson, T. A. (Eds.). Use of pathogens in scarab pest management. Andover, England. Intercept Ltda. p. 63-77.
- GOETTEL, M. S. AND INGLIS, G. D. 1997. Fungi: Hyphomycetes. *In*: L. Lacey (Ed.). Manual of techniques in insect pathology. San Diego, California, USA. Academic Press. p. 213-249.
- GOMEZ, K. A. AND GOMEZ, A. A. 1984. Statistical procedures for agricultural research. New York, USA. Wiley & Sons. 680 p.
- GUERRERO, J. Y CARRILLO, R. 1998. Diversidad genética (rapd's) y virulencia en larvas de *Hylamorpha elegans* (Col.: Scarabaeidae) de cepas de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. XX Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Chilena de Entomología. Concepción, Chile. 11-13 de noviembre. p. 19. (Resumen).
- HUMBER, R. A. 1997. Fungi: Identification. *In*: Manual of techniques in insect pathology. Biological Techniques Series. New York, USA. Academic Press. p. 153-185.
- JACKSON, T. A. 1992. Scarabs – Pests of the past or the future? *In*: Glare, T. R. and Jackson, T. A. (Eds.). Use of pathogens in scarab pest management. Andover, England. Intercept Ltda. p. 1-10.

- JOHNSON, W. AND LYON, H. H. 1988. Insects that feed on trees and shrubs. Ithaca, New York, USA. Cornell University Press. 556 p.
- LECUONA, R. E.; PAPIEROK, B. Y RIBA, G. 1996. Hongos entomopatógenos. *In:* Lecuona, R. E. (Ed.). Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Buenos Aires, Argentina. Talleres Gráficos Mariano Mas. p. 35-60.
- PRADO, E. 1991. Artrópodos y sus enemigos naturales asociados a plantas cultivadas en Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile. Serie Boletín Técnico N° 169. 207 p.
- RIPA, R. Y RODRÍGUEZ, A. 1989. Susceptibilidad de larvas de *Naupactus xanthographus* (Coleoptera: Curculionidae) a ocho aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Agricultura Técnica 49(4): 336-340.
- SAMSON, R. A.; EVANS, H. C. AND LATGÉ, J. P. 1988. Atlas of Entomopathogenic Fungi. New York, USA. Springer-Verlag. 187 p.
- SHAH, P. A.; KOOYMAN, C. AND PARAISO, A. 1997. Surveys for fungal pathogens of locusts and grasshoppers in Africa and the Near East. *In:* Goettel, M. S. and Johnson, D. L. (Eds.). Microbial control of grasshoppers and locusts. Memoirs of The Entomological Society of Canada N° 171. p. 27-35.
- ST LEGER, R. J.; CHARNLEY, A. K. AND COOPER, R. M. 1986. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: synthesis in culture on cuticle. Journal of Invertebrate Pathology 48(1): 85-95.
- TANADA, Y. AND KAYA, H. 1993. Insect Pathology. San Diego, California, USA. Academic Press. 666 p.
- VÁSQUEZ, J. 1977. Antagonistas de larvas de Scarabeidae presentes en las praderas de la provincia de Valdivia. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Valdivia, Chile. Universidad Austral, Facultad de Ciencias Agrarias. 54 p.
- VEY, A.; FARGUES, J. AND ROBERT, P. 1982. Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus *Metarhizium anisopliae* for scarabid larvae. Entomophaga 27(4): 387-397.