

**EVALUACIÓN DE DOS CEPAS DEL HONGO *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsh.) PARA EL CONTROL DE LARVAS DE GUSANO BLANCO *Hylamorpha elegans* Burm. (COLEOPTERA: SCARABAEIDAE)<sup>1</sup>**

**Evaluation of two strains of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsh.) for control of white grub *Hylamorpha elegans* Burm. (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae<sup>1</sup>**

**Marta Rodríguez<sup>2</sup>, Andrés France<sup>2\*</sup> y Macarena Gerding<sup>2</sup>**

**ABSTRACT**

The white grub, *Hylamorpha elegans* Burm., is a serious pest on cereals and pastures in Chile. In laboratory and greenhouse studies, the pathogenicity of two *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsh.) isolates: Qu-M270 and Qu-M802 on *H. elegans* larvae was evaluated. The first evaluation was carried out by immersion of third instar larvae in increasing suspensions, 0 to 10<sup>8</sup> conidia mL<sup>-1</sup> of each isolate. The area under an accumulated mortality curve was calculated, observing differences (P = 0.032) between the isolates, with Qu-M270 being 50% superior to Qu-M802. The LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> for Qu-M270 were 10<sup>4.7</sup> and 10<sup>7.5</sup> conidia mL<sup>-1</sup>, respectively. The greenhouse evaluation was carried out in pots with pasteurized soil and 10 larvae of *H. elegans*, on which four suspensions (0 to 10<sup>14</sup> conidia ha<sup>-1</sup>) were pulverized. After thirty days, there were no significant differences in the mortality between doses of 10<sup>13</sup> and 10<sup>14</sup> conidia ha<sup>-1</sup> (P < 0.05), with 95 and 94% of larval mortality, respectively, but there was a difference at 10<sup>12</sup> conidia ha<sup>-1</sup> (P = 0.045) with 74% mortality. It is concluded that Qu-M270 was more effective in the control of *H. elegans* larvae.

**Key words:** biological control, entomopathogenic fungi, white grub, scarabs, insect pathology.

**RESUMEN**

El gusano blanco, *Hylamorpha elegans* Burm., es una plaga grave en cereales y praderas en Chile. Se evaluó en laboratorio e invernadero la patogenicidad de dos aislamientos del hongo *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*: Qu-M270 y Qu-M802, sobre larvas de tercer estadio de *Hylamorpha elegans* Burm. La primera evaluación se realizó por inmersión de las larvas en suspensiones crecientes de 0 a 10<sup>8</sup> conidias mL<sup>-1</sup> de cada aislamiento. Se calculó el área bajo la curva de la mortalidad acumulada, observándose diferencias (P = 0,032) entre aislamientos, siendo Qu-M270 superior en un 50% a Qu-M802. Las CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub> para Qu-M270 fueron 10<sup>4.7</sup> y 10<sup>7.5</sup> conidias mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Las evaluaciones en invernadero se realizaron en macetas con suelo pasteurizado y 10 larvas L3 de *H. elegans*, sobre las cuales se pulverizaron cuatro suspensiones (0 a 10<sup>14</sup> conidias ha<sup>-1</sup>). Luego de 30 días, no hubo diferencias significativas en la mortalidad (P < 0,05) entre dosis de 10<sup>13</sup> y 10<sup>14</sup> conidias ha<sup>-1</sup>, con 95 y 94% de mortalidad, respectivamente, pero sí respecto a 10<sup>12</sup> conidias ha<sup>-1</sup> (P = 0,045), la que fue de 74%. Se concluyó que Qu-M270 fue más efectiva en el control de larvas de *H. elegans*.

**Palabras clave:** control biológico, hongo entomopatógeno, gusano blanco, escarabeido, patología de insectos.

<sup>1</sup> Recepción de originales: 27 de septiembre de 2002.

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

## INTRODUCCIÓN

Los gusanos blancos corresponden al estado larval de escarabeidos que se alimentan de materia orgánica y raíces de plantas forrajeras, cultivos anuales y arbustos frutales. De las especies nativas identificadas en Chile, una de las de mayor importancia agrícola es *Hylamorpha elegans* (Burmeister), comúnmente llamada gusano blanco del trigo o pololo verde (Aguilera *et al.*, 1996). Este insecto causa serios daños en trigo (*Triticum aestivum* L.) en las regiones VIII a X, donde ataques severos llegan a ocasionar pérdidas de hasta un 80% de las plántulas (Artigas, 1994). Su ciclo de vida dura aproximadamente un año; el mayor daño es ocasionado por las larvas, lo que ocurre en los meses de junio a agosto, período en el cual los cultivos afectados presentan áreas con plantas marchitas y sin ellas, quedando el suelo a veces totalmente desnudo (Durán, 1976; Artigas, 1994).

El control de este insecto se ha basado en el uso de insecticidas, sin embargo, la movilidad de las larvas en el perfil del suelo por cambios de humedad, temperatura y disponibilidad de raíces para alimento (Villani *et al.*, 1992; Artigas, 1994) disminuyen la efectividad. Una vez establecido el cultivo, el control curativo de larvas se puede lograr aplicando diversos insecticidas, lo que encarece los costos de producción (Aragón, 2002). Además, los problemas de toxicidad y residualidad que generan su uso, han llevado a buscar otras alternativas de control, como el uso de antagonistas, entre los cuales se incluye el hongo entomopatógeno *Metarhizium* spp.

La efectividad de *Metarhizium* en el control de plagas, tanto aéreas como subterráneas, ha sido estudiada desde hace más de un siglo. En Chile, antecedentes de 1952, señalan que en condiciones de campo, *Metarhizium* puede producir mortalidad de hasta un 50% de la población de larvas de *H. elegans* (Olalquiaga y Cortés, 1952). Actualmente, el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), en su Centro Regional de Investigación Quilamapu, ubicado en Chillán, dispone de una colección de más de 600 aislamientos de hongos entomopatógenos, entre los

cuales destaca *Metarhizium* (France *et al.*, 2000). A partir de esta colección se han realizado pruebas preliminares de patogenicidad, con 33 aislamientos de *Metarhizium* provenientes de muestras de suelo colectadas en la zona Sur de Chile, seleccionando los aislamientos Qu-M270 y Qu-M802 de *M. anisopliae* var. *anisopliae* (Metsh.), debido a su alta patogenicidad para *H. elegans* (Gerding *et al.*, 1999). El estudio y evaluación de estos aislamientos nativos permitirá disponer de cepas endémicas que se podrían utilizar como método de control para esta plaga.

Los objetivos de este trabajo fueron comparar estos dos aislamientos para evaluar su efectividad en el control de *H. elegans*; determinar la concentración letal (CL) en condiciones de laboratorio y el grado de efectividad del aislamiento seleccionado en maceta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Colecta de insectos.** Se colectaron larvas del tercer estadio de *H. elegans* desde un huerto de frambueso (*Rubus idaeus* L.), en la localidad de Cachapoal (36°26' lat. Sur, 71°44' long. Oeste), San Carlos, VIII Región, entre mayo y octubre de 2000. Las larvas se depositaron individualmente en placas plásticas de 6 cm de diámetro con tierra pasteurizada en su interior, y se mantuvieron sin alimento en cámara oscura a 20°C. Con el objeto de descontaminarlas, se realizó el cambio diario de tierra por un período de cinco días previo a los ensayos.

**Selección del aislamiento y estudio de patogenicidad.** Se utilizaron los aislamientos Qu-M270 y Qu-M802 de *M. anisopliae* var. *anisopliae*, colectados en Osorno, X Región (40°34' lat. Sur; 73°09' long. Oeste) y Laguna río Mañihuales, Puerto Aisén, XI Región (45°22' lat. Sur; 72°49' long. Oeste), respectivamente. Ambos aislamientos se multiplicaron en placas Petri, con agar papa dextrosa, incubaron a 25°C hasta la esporulación del hongo. Las conidias se cosecharon desde la superficie del cultivo, mediante suspensión en agua destilada estéril con el humectante Tween 80 al 0,1%, y las conidias se disgregaron en un agitador mecánico. La concentración de conidias

se determinó en una cámara de recuento (BOECO, Neubauer, Germany). Se utilizaron suspensiones de  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  y  $10^8$  conidias  $\text{mL}^{-1}$ , las que se aplicaron a las larvas por inmersión durante 3 s. Como control se utilizaron larvas tratadas por inmersión en agua destilada con Tween 80. Posteriormente se incubaron en placas plásticas con tierra pasteurizada y se mantuvieron en oscuridad a  $20^\circ\text{C}$ .

La mortalidad de larvas se registró diariamente desde el primer día de tratadas. Las larvas muertas se removieron e incubaron a  $20^\circ\text{C}$  en cámara húmeda individual, para observar el desarrollo de micelio y conidias sobre la cutícula. Las observaciones continuaron hasta que al menos en uno de los tratamientos la mortalidad de la población tratada fuera de aproximadamente 95%.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento, considerando como tal cada una de las cinco concentraciones de inóculo por cada uno de los aislamientos, más un control sin inóculo; la unidad experimental consistió en 10 larvas. La mortalidad de las larvas de *H. elegans* se expresó como porcentaje de mortalidad en el tiempo. Con los resultados de cada repetición se calculó el área bajo la curva de la mortalidad acumulada para cada aislamiento; posteriormente los resultados se sometieron a ANDEVA y separación de medias mediante la prueba protegida de Fisher (Steel y Torrie, 1992). Para la selección del mejor aislamiento se comparó su eficacia, a través del análisis Probit de las curvas de mortalidad (Marcus e Eaves, 2000). Las diferentes concentraciones de inóculo se compararon el día 20 después de la inoculación, correspondiente al día en que el primer aislamiento alcanzó el 95% de mortalidad. La curva de mortalidad a diferentes concentraciones del aislamiento seleccionado se ajustó a una curva sigmoidea, cuya bondad de ajuste se comprobó con la prueba de chi-cuadrado. Posteriormente, esta curva fue linealizada mediante transformación Probit, asumiéndose normalidad para calcular la  $CL_{50}$  de la población, a través de la ecuación de regresión.

**Ensayo de dosis en macetas.** Se utilizaron larvas estado L3 de *H. elegans* colectadas en una pradera ubicada en Río Negro ( $40^\circ47'$  lat. Sur;  $73^\circ13'$  long. Oeste), X Región, en octubre de 2000. En macetas de 650 mL de capacidad, con suelo pasteurizado, se pusieron 10 larvas, previamente descontaminadas según la metodología descrita anteriormente. Mediante aspersiones con un pulverizador manual, se aplicó sobre el suelo el aislamiento Qu-M270, en concentraciones equivalentes a 0 (control),  $10^{12}$ ,  $10^{13}$  y  $10^{14}$  conidias  $\text{ha}^{-1}$ . Luego de las aplicaciones se colocaron raicillas de festuca (*Festuca arundinacea*) y ballica (*Lolium perenne*), desinfectadas superficialmente, para la alimentación de las larvas. Las macetas se cubrieron con tul blanco para atrapar los posibles adultos emergidos. El ensayo se mantuvo en invernadero a temperatura ambiente con ciclos de 12 horas luz y 12 de oscuridad. La emergencia de adultos se registró diariamente desde el primer día de aplicación. El día 30 de tratados, se contaron los individuos muertos que permanecieron en el suelo. Los adultos que emergieron se aislaron individualmente y aquellos que murieron se incubaron en cámara húmeda a  $20^\circ\text{C}$ , para observar el desarrollo de micelio y conidias sobre el insecto, de manera de comprobar que se trataba del mismo hongo inoculado. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con 4 tratamientos y 5 repeticiones, con una unidad experimental de 10 larvas. La mortalidad del control se corrigió mediante fórmula de Abbott (Alves *et al.*, 1998).

Este ensayo se repitió una vez y los resultados de ambos ensayos se transformaron a raíz cuadrada de  $(x+1)$  previo al ANDEVA. Posteriormente, para determinar la mejor concentración se realizó separación de medias mediante la prueba protegida de Fisher.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ambos aislamientos, los síntomas iniciales de las larvas infectadas fueron manchas oscuras en el tegumento y pérdida de movimiento. Estos síntomas coinciden con los observados por Lecuona *et al.* (1996) y Alves (1998), quienes, además, mencionaron que durante la germinación

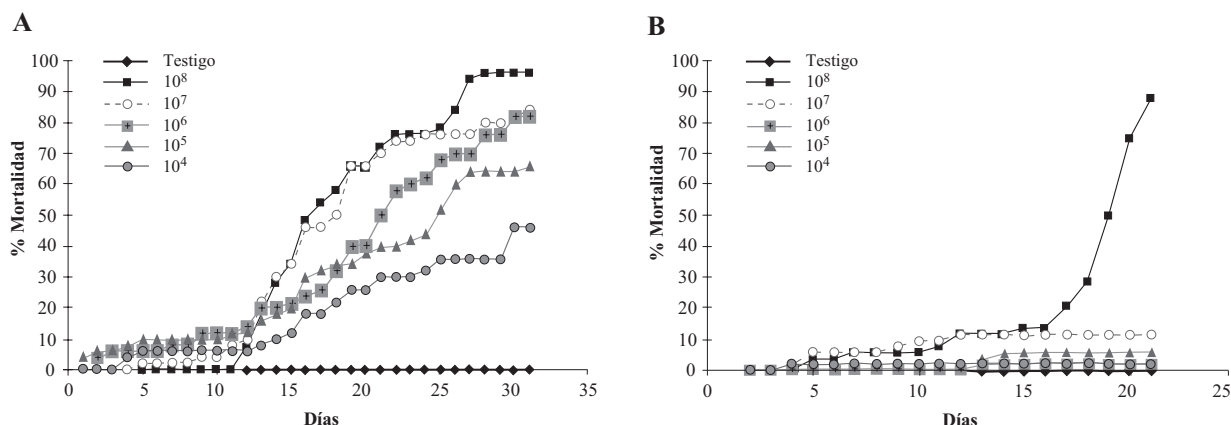
del hongo se produce una degradación enzimática de la cutícula, causada por la secreción de endoproteasas, quitinasas y lipasas, entre otras enzimas. Según Hidalgo (2001), la aparición de manchas pardas oscuras sobre el tegumento y gránulos pardos o negruzcos en el cuerpo de la larva, se debe a la acumulación de quitina alrededor de los puntos de penetración del patógeno y a la encapsulación del hongo en la cutícula, como mecanismo de defensa del insecto contra la infección.

Una vez desarrollados estos síntomas, las larvas inoculadas murieron, adquiriendo una consistencia dura; después de dos días de incubación el tegumento se tornó blanquecino, debido al crecimiento de micelio en lugares menos esclerosados. Aproximadamente al tercer día se observó esporulación sobre las larvas muertas. Esta forma de reproducción es característica de la Familia Moniliaceae, a la cual pertenece *Metarhizium*, y se manifiesta por presentar conidióforos libres y expuestos, lo que facilita la dispersión de las conidias y la infección de insectos sanos, prolon-

gando la presencia del entomopatógeno en terreno (Agrios, 1997).

Para el aislamiento Qu-M270, el mayor porcentaje de mortalidad (96%) se alcanzó el día 28 postinoculación, con la concentración de  $10^8$  conidias  $\text{mL}^{-1}$ , seguido de  $10^7$ ,  $10^6$  y  $10^5$  conidias  $\text{mL}^{-1}$ , las que causaron mortalidades de 80, 76 y 64%, respectivamente (Figura 1A). Se encontraron diferencias ( $P = 0,002$ ) entre el tratamiento de  $10^8$  conidias  $\text{mL}^{-1}$  y los tratamientos de  $10^7$ ,  $10^6$  y  $10^5$  conidias  $\text{mL}^{-1}$ . Entre estos últimos tratamientos no hubo diferencias ( $P < 0,05$ ), pero sí con el tratamiento de  $10^4$  conidias  $\text{mL}^{-1}$ , cuya mortalidad fue cercana al 40% ( $P = 0,002$ ).

El aislamiento Qu-M802 mostró el mayor índice de mortalidad de larvas el día 20 postinoculación, con la concentración de  $10^8$  conidias  $\text{mL}^{-1}$ , que causó un 92% de mortalidad. Este resultado fue superior ( $P < 0,001$ ) al obtenido en las demás concentraciones, con mortalidades inferiores al 15% (Figura 1B). En ambos ensayos no hubo mortalidad en el control.



**Figura 1. Mortalidad de larvas de *Hylamorpha elegans* en el tiempo, inoculadas con distintas concentraciones (conidias  $\text{mL}^{-1}$ ) de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. A. Aislamiento Qu-M270. B. Aislamiento Qu-M802.**

**Figure 1. *Hylamorpha elegans* larvae mortality over time, inoculated with different concentrations of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (conidia  $\text{mL}^{-1}$ ). A. Isolate Qu-M270. B. Isolate Qu-M802.**

Al comparar la mortalidad para diferentes concentraciones de inóculo, el análisis probit indicó que la bondad de ajuste fue altamente significativa ( $\chi^2 = 45,67$ ;  $P < 0,001$ ), indicando diferencias entre las áreas de ambos aislamientos, siendo Qu-M270 superior ( $P = 0,032$ ) en un 50% al aislamiento Qu-M802 (Cuadro 1). Esto se debió a que el aislamiento Qu-M802 no fue efectivo a bajas concentraciones y sólo produjo una alta mortalidad de larvas a concentraciones mayores de  $10^7$  conidias  $\text{mL}^{-1}$  (Figura 2). Las diferencias obtenidas pueden ser explicadas por el origen de los aislamientos, ya que la mayor patogenicidad de Qu-M270 se debió a que esta cepa se obtuvo de una larva de Scarabaeidae, mientras que Qu-M802

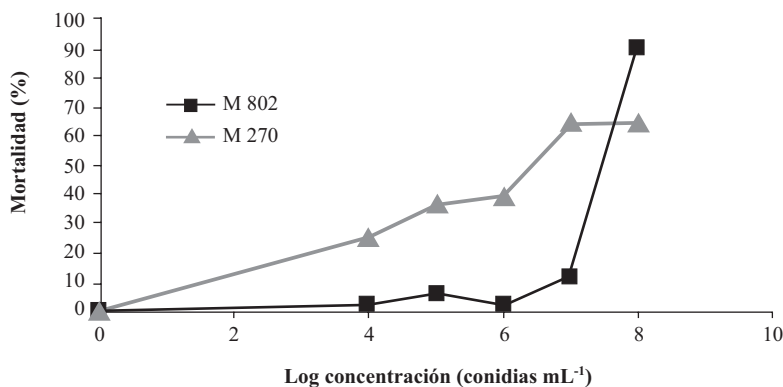
se aisló desde una muestra de suelo proveniente de una pradera natural utilizando como cebo una larva de Lepidoptera, situación concordante con lo planteado por France *et al.* (2000). La especificidad es una de las características más importantes de estos hongos, lo que representa una ventaja al no dañar organismos benéficos. Entre las variables que afectan la especificidad de algunos aislamientos de hongos entomopatógenos hacia un determinado hospedero, están la habilidad de las conidias para adherirse al tegumento y, una vez que el hongo ha penetrado en la cavidad corporal, su capacidad para producir toxinas (Vey *et al.*, 1982; Glare, 1992).

**Cuadro 1. Parámetros de las curvas de mortalidad de larvas de *Hylamorpha elegans* al día 20 postinoculación con distintas concentraciones de dos aislamientos de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*.**

**Table 1. Parameters of *Hylamorpha elegans* larvae mortality curves 20 days after inoculation with different concentrations of two isolates of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*.**

Aislamiento	Concentración (conidias $\text{mL}^{-1}$ )	Mortalidad (%)	Área total bajo la curva
Qu-M270	$10^4$	26	242 *
	$10^5$	38	
	$10^6$	40	
	$10^7$	66	
	$10^8$	66	
Qu-M802	$10^4$	2	71
	$10^5$	6	
	$10^6$	2	
	$10^7$	12	
	$10^8$	92	

\* Indica diferencia estadística entre áreas bajo la curva según prueba t de Students ( $P = 0,032$ ).



**Figura 2. Mortalidad de larvas de *Hylamorpha elegans* al día 20 postinoculación con distintas concentraciones de los aislamientos Qu-M270 y Qu-M802 de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* en condiciones de laboratorio.**

**Figure 2. Mortality of *Hylamorpha elegans* larvae 20 days after inoculation with different concentrations of isolates Qu-M270 and Qu-M802 *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* under laboratory conditions.**

Alves (1998) señaló que la patogenicidad es una característica genética de un microorganismo, que lo lleva a penetrar en un insecto y causar la enfermedad, en tanto que la virulencia es el grado de patogenicidad de los aislamientos hacia un hospedero específico. Así, para una misma especie de hongo puede haber diversas cepas o aislamientos con distintos grados de virulencia, cuando son aplicados en las mismas dosis y condiciones ambientales. Como la virulencia es una de las características más importantes en la selección de cepas para un programa de control biológico (Butt y Goettel, 2000) y dado los resultados obtenidos, se seleccionó el aislamiento Qu-M270 para calcular la  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ . La curva de mortalidad de Qu-M270 a diferentes concentraciones del aislamiento se ajustó a una sigmoidea ( $P < 0,01$ ); la ecuación de la recta luego de la transformación probit fue  $y = 0,49x + 2,71$  ( $R^2 = 0,98$ ) (Figura 3), las  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  fueron  $10^{4,7}$  y  $10^{7,5}$  conidias  $mL^{-1}$ , respectivamente.

Ferron (1978) señaló que aplicaciones directas del hongo sobre el insecto producen concentraciones letales más bajas, por consiguiente, al utilizar métodos indirectos de inoculación como aplicaciones al suelo, se deberían utilizar dosis más altas para alcanzar mayor mortalidad. Cabe destacar que en este ensayo las larvas se mantu-

vieron en suelo esterilizado húmedo y a  $20^{\circ}C$ , condiciones que podrían favorecer aún más la interrelación entre los aislamientos de *Metarhizium* utilizados y las larvas, traduciéndose en mayores posibilidades de infección. Como la virulencia varía con las condiciones nutricionales del hospedero, las dosis y técnicas de aplicación del entomopatógeno y las condiciones de temperatura, humedad y radiación (Alves, 1998; Butt y Goettel, 2000), se realizó un segundo estudio en condiciones de maceta, con el propósito de relacionar los resultados obtenidos a las condiciones de campo.

**Experimentos en macetas.** El aislamiento Qu-M270 demostró ser patogénico sobre las larvas de *H. elegans* a concentraciones de  $10^{12}$ ,  $10^{13}$  y  $10^{14}$  conidias  $ha^{-1}$ , obteniéndose mortalidades de 77, 96 y 95%, respectivamente, todas las cuales fueron diferentes ( $P < 0,01$ ) al testigo. No existieron diferencias ( $P < 0,05$ ) entre las dosis de  $10^{13}$  y  $10^{14}$  conidias  $ha^{-1}$ , pero sí con respecto a  $10^{12}$  conidias  $ha^{-1}$  ( $P = 0,045$ ) (Figura 4). La mortalidad alcanzada por el control (10%) se debió posiblemente, a que las larvas fueron colectadas en terreno y en primavera, por lo cual no puede descartarse que la mortalidad se debió al parasitismo natural de la población.

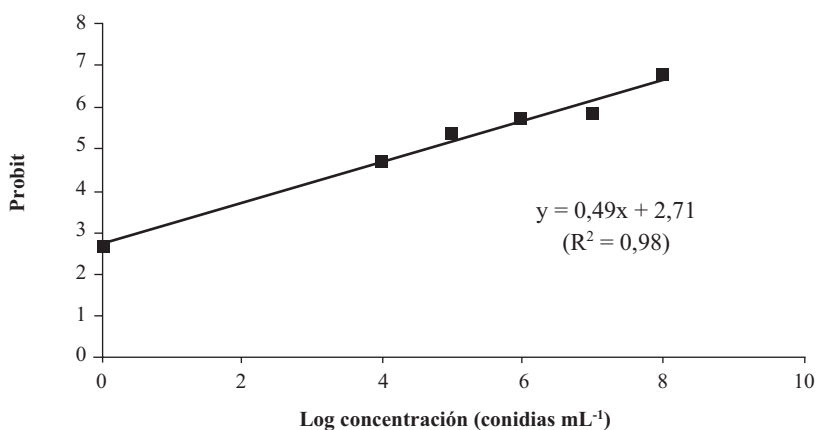
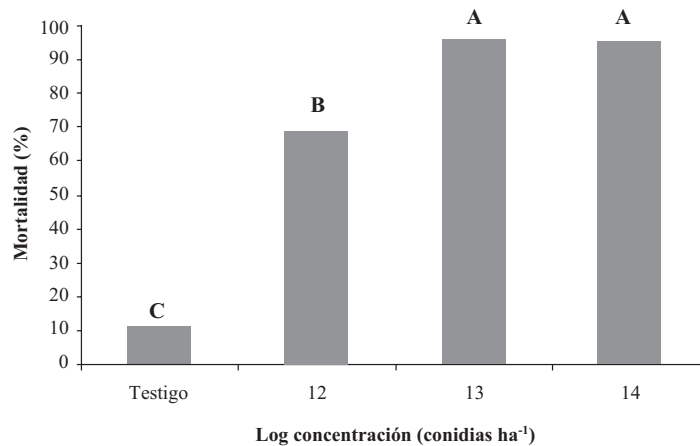


Figura 3. Regresión probit para la curva de mortalidad de larvas de *Hylamorpha elegans* al día 30 postinoculación con distintas concentraciones del aislamiento Qu-M270 de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*.

Figure 3. Probit regression of *Hylamorpha elegans* larvae mortality curve 30 days after inoculation with different concentrations of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, isolate Qu-M270 in laboratory.



**Figura 4. Mortalidad de larvas de *Hylamorpha elegans* al día 30 postinoculación con distintas concentraciones del aislamiento Qu-M270 de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*.**

**Figure 4. *Hylamorpha elegans* larvae mortality 30 days after inoculation with different concentrations of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* isolate Qu-M270 in pots.**

Al vaciar las macetas en los tratamientos inoculados, se observó que las larvas de *H. elegans* estaban muertas y con esporas de *Metarhizium*. Sin embargo, los adultos capturados vivos e incubados luego de muertos, no desarrollaron síntomas de parasitismo por el hongo aplicado. Es posible explicar este resultado si se acepta lo señalado por Butt y Goettel (2000), quienes establecieron que durante el proceso de ecdisis una importante cantidad de inóculo presente en la superficie del insecto se pierde, afectando así la virulencia del entomopatógeno. En efecto, no todos los estados del ciclo de vida del insecto son igualmente susceptibles a la infección por *Metarhizium*. Tal como señalaron Ferron (1978) y Butt y Goettel (2000), el estado de pupa es el más resistente, mientras que los estados larvarios, especialmente L2 y L3, y el estado adulto, son los más susceptibles a la infección, lo cual es importante de considerar para determinar el momento más oportuno para las aplicaciones, ya sea en laboratorio o campo.

Otro aspecto destacable es la habilidad de *Metarhizium* de crecer en forma saprofítica, lo que quedó demostrado por la producción de micelio sobre el suelo de las macetas. Esto, junto

con la facilidad de diseminación de las conidias y su relativa capacidad de sobrevivencia en el suelo (Alves, 1998) favorecen la utilización de esta especie para el control de insectos plaga de hábito subterráneo como los gusanos blancos. Es indispensable señalar también, que este método de control debe ir acompañado de prácticas culturales que contribuyan a evitar la utilización de plaguicidas químicos, y así favorecer la persistencia del inóculo en terreno.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que bajo condiciones de laboratorio, los aislamientos nativos Qu-M270 y Qu-M802 de *M. anisopliae* var. *anisopliae* difirieron en virulencia, siendo Qu-M270 más efectivo al provocar altos niveles de mortalidad en larvas de *H. elegans*, a dosis equivalentes. Qu-M270 logró siempre mayores niveles de mortalidad que Qu-M802 a las diferentes dosis de conidias utilizadas. Las  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  de Qu-M270 fueron de 104,7 y 107,5 conidias mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Así mismo, en condiciones de macetas y concentraciones de  $10^{13}$  a  $10^{14}$  conidias ha<sup>-1</sup>, Qu-M270 logró mortalidades de larvas cercanas al 95%.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G. 1997. Plant Pathology. 635 p. 4<sup>th</sup> ed. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Aguilera, A., E. Cisternas, M. Gerding, y H. Norambuena. 1996. Plagas de las praderas. p. 309-340. In I. Ruiz (ed.). Praderas para Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile.
- Alves, S.B. 1998. Fungos entomopatogenicos. p. 289-370. In S.B. Alves (ed.). Controle microbiano de insetos. 2<sup>nd</sup> ed. Fundación de Estudios Agrarios Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil.
- Alves, S.B., J.E. Almeida, A. Minor Jr., y L.F. Alves. 1998. Tecnicas de laboratorio. p. 637-710. In S.B. Alves (ed.). Controle microbiano de insetos. 2<sup>nd</sup> ed. Fundación de Estudios Agrarios Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil.
- Aragón, J.R. 2002. Productos insecticidas según formulación, toxicidad y dosis para el control de gusanos blancos en el cultivo de trigo. In El trigo en la provincia del Chaco. Síntesis de recomendaciones para su cultivo. Disponible en <http://saenzpeinta.gov.ar/Cereales/trigo2000.htm#arriba>. Leído el 15 de marzo de 2002.
- Artigas, J. 1994. Entomología económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario. Vol II. 993 p. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Butt, T.M., and M.S. Goettel. 2000. Bioassays of entomogenous fungi. p. 141-196. In A. Navon and K.R. Ascher (eds.). Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. CAB International, Wallingford, UK.
- Durán, L. 1976. Problemas de la entomología agrícola en Chile Austral. Agro Sur 4(2):119-127.
- Ferron, P. 1978. Biological control of insects pests by entomogenous fungi. Ann. Rev. Entomol. 23:409-442.
- France, A., M. Gerding G., M.E. Gerding P., y A. Sandoval. 2000. Patogenicidad de una colección de cepas nativas de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. en *Aegorhinus superciliosus*, *Asynonychus cervinus* y *Otiorhynchus sulcatus*. Agric. Téc. (Chile) 60:205-215.
- Gerding G., M., A. France, A. Sandoval, y M.E. Gerding P. 1999. Patogenicidad de *Metarhizium* y *Beauveria* spp. en cuatro plagas subterráneas de importancia económica. p. 782. 50° Congreso de la Sociedad Agronómica de Chile, Pucón, Temuco, Chile. 8-12 noviembre 1999. Sociedad Agronómica de Chile (SACH), Temuco, Chile.
- Glare, T.R. 1992. Fungal pathogens of scarabs. p. 63-77. In T.R. Glare and T.A. Jackson (eds.). Use of pathogens in scarab pest management. Intercept Andover, Hampshire, England.
- Hidalgo, E. 2001. Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp. Revista Manejo Integrado de Plagas. CATIE. N° 60. Disponible en <http://redepapa.org/chisa.pdf>. Leído el 15 marzo de 2002.
- Lecuona, R.E., B. Papierok, y G. Riba. 1996. Hongos entomopatógenos. p. 35-60. In R.E. Lecuona (ed.). Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Talleres Gráficos Mariano Mas, Buenos Aires, Argentina.
- Marcus, R., and D. Eaves. 2000. Statistical and computational analysis of bioassay data. p. 249-293. In A. Navon and K. Ascher (eds.). Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Olalquiaga, G., y R. Cortés. 1952. Insectos que afectan al cultivo de trigo en Chile. Simiente 22:101-111.
- Steel, R.G., y J.H. Torrie. 1992. Comparaciones múltiples. p. 166-185. In R.G. Steel, y J.H. Torrie (eds.). Bioestadística: principios y procedimientos. McGraw-Hill, México.
- Vey, A., J. Fargues, and D.W. Robert. 1982. Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus *Metarhizium anisopliae* for the scarabidae larvae. Entomophaga 27:387-396.
- Villani, M.G., S.R. Krueger, and J.P. Nyrop. 1992. A case study of impact of the soil environment on insect/pathogen interaction: Scarabs in turfgrass. p. 11-126. In T.R. Glare and T.A. Jackson (eds.). Use of pathogens in scarabs pest management. Intercept Andover, Hampshire, England.