

Control de plagas

# Las virtudes de los hongos entomopatógenos

**Para los productores de frutas uno de los principales desafíos es luchar efectivamente con plagas que afectan tanto la parte aérea como la subterránea de los árboles y plantas. El aprovechamiento de los hongos entomopatógenos como controladores de esos dañinos insectos es una posibilidad que no se debe descartar.**

Gabriel Corral / gcorral@uc.cl  
Alda Romero / aromeroga@uc.cl  
Catalina Radrigán / cradrign@uc.cl  
Tania Zaviezo / tzaviezo@uc.cl

El género *Metarhizium* como controlador de plagas ha sido estudiado en insectos que atacan tanto la parte aérea como subterránea. En Chile se ha señalado a *Metarhizium anisopliae* como controlador de más de 300 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo la familia Curculionidae. Estudios realizados en Alemania, Francia, Inglaterra y Estados Unidos reportan mortalidades de casi un 100% de larvas de plagas de esta familia, tanto en laboratorio como al aire libre. Ensayos realizados con aislamientos de *M. anisopliae* con larvas de diferentes especies han demostrado ser diferentes en cuanto a patogenicidad, formándose así grupos y subgrupos según el grado de similitud entre cepas provenientes de una misma especie de insectos, pero independiente de la ubicación geográfica. Por otro lado, ensayos utilizando la técnica RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) han determinado que cepas de *M. anisopliae* provenientes de diferentes insectos poseen un elevado grado de polimorfismo,

lo que sugiere una elevada variabilidad molecular intraespecífica.

A continuación reportamos ensayos que destacan el potencial del uso de este género en el control de tres plagas de importancia en frutales: el burrito de la vid (*Naupactus xanthographus* (Germar)), el gusano blanco del frejol (*Graphognatus leucoloma* (Boheman)) y chanchitos blancos (*Pseudococcus* spp.)

## Control de curculiónidos

Las especies de la familia Curculionidae, como burrito de la vid (*Naupactus xanthographus*) y el gusano blanco del frejol (*Graphognatus leucoloma*), son plagas frecuentes en cultivos de importancia económica en Chile, debido a su gran adaptación a climas subtropicales y templados y su capacidad de sobrevivir en más de 50 especies vegetales. Ambos son nativos del cono sur, existiendo barreras cuarentenarias para el burrito en Bolivia, Canadá, Perú y Estados Unidos. Por otro lado, el gusano

blanco del frejol es cuarentenario para Cuba. Ambas especies provocan daño, tanto en la parte aérea como radical de plantas, siendo este último de mayor importancia, ya que las larvas se alimentan de raíces y raicillas, debilitando la planta progresivamente hasta causarle la muerte. Además, estos síntomas son fácilmente confundibles con el de enfermedades radicales, lo cual dificulta su detección oportuna.

Para el ensayo de patogenicidad se utilizó *Metarhizium* sp. aislamiento "Talagante", obtenido a partir de larvas de gusano del frejol colectadas en la provincia de Talagante (RM), y para el ensayo con chanchitos blancos se usó *Metarhizium anisopliae* aislamiento Qu- M984 proporcionado por el INIA Quilamapu.

Las larvas de burrito de la vid provinieron de una crianza de laboratorio iniciada con adultos colectados durante los meses de noviembre y diciembre de 2005, en un parronal comercial, variedad Flame, ubicado en la provincia

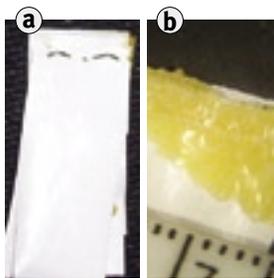


Figura 1. (a) Cintas de papel encerado utilizadas como sustrato de oviposición para burrito de la vid. (b) Detalle de masas de huevos entre las tiras de papel encerado.

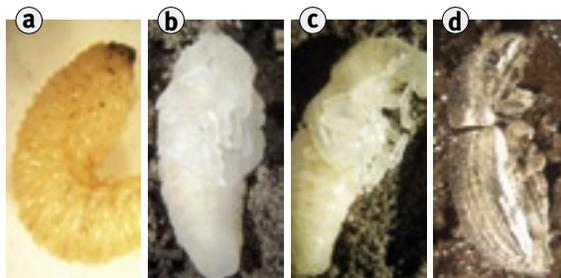


Figura 2. (a) Larva, (b y c) Pupa y (d) Adulto de *Graphognathus leucoloma*.



Figura 3. Tubos utilizados en el ensayo de burrito, montados sobre pajillas plásticas.

de Talagante (RM). Los adultos fueron mantenidos en cajas plásticas, donde se dispusieron tiras de papel encerado como sustrato de oviposición (Figura 1). Las masas de huevos fueron incubadas por un período de  $25 \pm 4$  días, y las larvas emergidas (aproximadamente 700) fueron puestas en grupos en macetas 4 L con plantas de alfalfa.

En el caso de *Graphognathus leucoloma*, larvas de diferentes estados de desarrollo de fueron colectadas en la localidad de Talagante, removiendo suelo hasta una profundidad de 60 cm. Larvas previamente colectadas en este sitio completaron su desarrollo en plantas de frambuesa, obteniéndose adultos que correspondieron en un 100% al gusano blanco del frejol (Figura 2).

Para el ensayo de patogenicidad de *Metarhizium* sp. en burrito de la vid se simuló la caída de 15 larvas neonatas desde una planta al suelo y la migración de éstas en profundidad. Para ello se utilizó tubos plásticos negros, de 3 cm de diámetro y 5 cm de alto, abierto por ambos lados y con una malla (de 1 mm), que permitía el paso de larvas neonatas (Figura 3). Los tubos fueron llenados con 35 cm<sup>3</sup> de compost o tierra, de manera que se conformaron sets de cuatro tubos.

Cada tubo fue puesto en un soporte plástico sobre una placa petri, lo que permitió, que una vez que las larvas neonatas recorrieran el interior del tubo, salieran a través de la malla y cayeran en la placa petri, desde donde diariamente fueron retiradas y puestas en cámara húmeda (Figura 4). El efecto de los diferentes tratamientos sobre la mortalidad fue evaluado al día siguiente de recolectadas. El hongo se aplicó a la superficie del suelo en so-

lución líquida, a una concentración de 1013 conidias ha<sup>-1</sup>.

Para *Graphognathus leucoloma*, grupos de 5 larvas fueron puestos en macetas a 15 cm. de profundidad. Se aplicó el hongo a la superficie del suelo en solución líquida a una concentración de 1013 conidias ha<sup>-1</sup>. En este caso el ensayo se mantuvo en sombreadero a temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C} \pm 8$ ), con ciclos de 12 horas luz y 12 de oscuridad. El día 30 de tratados se procedió a vaciar las macetas y revisar su contenido, en busca de larvas o individuos muertos en el suelo. Las larvas que aún se encontraban vivas fueron trasladadas a placas petri, con humedad relativa a saturación, y mantenidas en una cámara a  $25^{\circ}\text{C}$  y total oscuridad.

Los tratamientos en ambos casos fueron: T0: agua destilada a maceta con tierra (Agua); T1: suspensión de agua y hongo, 1013 conidias/ml con tierra (Agua/Hongo); C0: agua destilada a la maceta con tierra y compost (Compost + Agua); C1: suspensión de agua y hongo, 1013 conidias/ml a macetas con tierra y compost (Compost + Agua/Hongo). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, donde la unidad experimental correspondió a un tubo con 15 ó 5 larvas, dependiendo de la especie evaluada. Se realizó un análisis de varianza de dos vías para determinar el efecto del sustrato (Tierra o Compost), el efecto del hongo, y de la interacción entre ambos.

### Control de chanchitos blancos (*Pseudococcus* spp.)

En un parrón casero ubicado en Isla de Maipo (Región Metropolitana) se

escogió un grupo de seis plantas, y a la mitad de éstas se les aplicó una suspensión de 50 ml/planta de conidias del hongo a una concentración de  $6,5 \times 10^6$  conidias/ml utilizando un pulverizador manual SPRAY MAKER 2L, y al resto de las plantas un tratamiento control con el mismo volumen, pero de agua destilada. La aplicación fue dirigida a la corona (desde apriete de racimo a cosecha) y al tercio superior del tronco de cada planta (desde cuaja a cosecha) (Figura 4). Las aplicaciones se realizaron cada 15 días, desde mediados de noviembre hasta marzo, y se realizaron al atardecer, para evitar efectos detrimentales de los rayos ultravioleta sobre las conidias.

La abundancia poblacional de los distintos estados de la plaga (adulto, ninfas, lanas vacías y lanas con huevos) se estimó mediante monitoreo de 5 minutos/planta, 7 a 10 días post aplicación de los tratamientos. Finalmente, se evaluó el daño a cosecha (5 racimos/planta) utilizando una escala de daño de 0 a 3, donde 0 = racimo sano, 1 = racimo con presencia de algunos individuos posible de limpiar, 2 = racimo con sectores con chanchitos y 3 = racimo totalmente no comercializable.



Figura 4. Aplicación de una suspensión de hongos a racimos de vid infestados con chanchitos blancos.

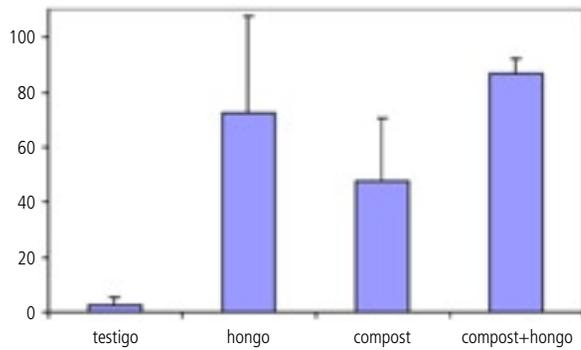


Figura 5. Mortalidad de larvas *N. xanthographus* 30 días post inoculación para los diferentes tratamientos.

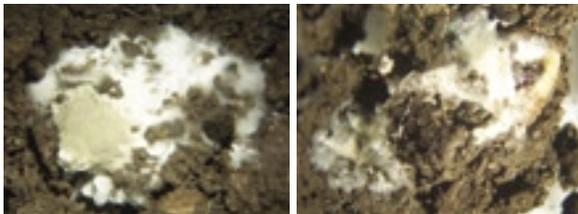


Figura 6. Restos de larvas de *G. leucoloma* atacadas donde se observa micelio de *Metarhizium*, nótese que sólo en la segunda imagen se distingue un trozo de tegumento.

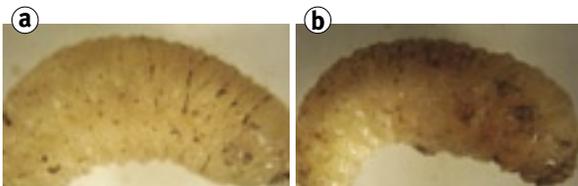


Figura 7. Comparación entre larva sana (a) y enferma (b), nótese la zona más oscura en la región meso y metatoraxica en comparación a la larva sana.

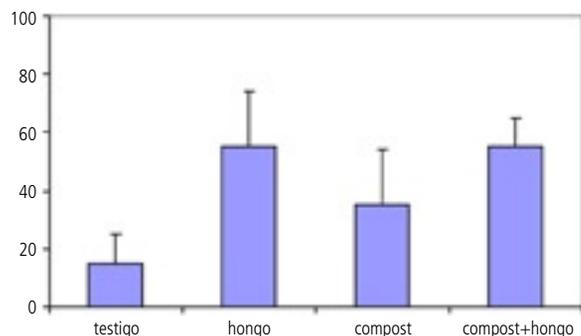


Figura 8. Mortalidad de larvas de *G. leucoloma* 30 días post inoculación para los diferentes tratamientos.

## Resultados

### Curculiónidos

El hongo *Metarhizium* sp. demostró ser patogénico a *N. xanthographus* con un 70% de mortalidad promedio v/s un 25% de los tratamientos sin hongo (Figura 5). Existió también un efecto del sustrato, presentando una mayor mortalidad los tratamientos con compost. La interacción entre estas dos variables fue marginalmente significativa, sugiriendo una mayor mortalidad cuando éstas se combinan.

*Metarhizium* resultó ser patogénico a *G. leucoloma*, con un 55% de mortalidad v/s un 25% de los tratamientos sin hongo (Fig. 6, 7 y 8). No existió un efecto del sustrato (tierra o compost), ni hubo interacción entre estas dos variables. En todos los insectos muertos encontrados en los tratamientos con hongo (C1, T1) que fueron puestos en cámara húmeda, presentaron signos del hongo a partir del día dos o tres, mientras que los insectos muertos en los tratamientos sin inoculación no presentaron signos del hongo (Figura 9).

### Chanchito blanco

Se registraron efectos significativos de los tratamientos, en la población de adultos y ninfas (Figura 10). Por otra parte el porcentaje de infestación de racimos del tratamiento Control, fue de 100%, mientras que los con aplicación de *Metarhizium* fue de un 82% (100 – Daño 0). Además la severidad del daño difirió entre los tratamientos. Los racimos infestados del tratamiento Control, se vio mayoritariamente representado por racimos con severidad 1 y 2. Pero un 10% de los racimos dañados fue con severidad 3, es decir, totalmente inservibles. En cambio, en el tratamiento con *Metarhizium*, aunque sólo hubo un 13% de racimos sanos (daño 0), del 87% restante, sólo hubo racimos con daño 1 (menor nivel de infestación) dentro de la escala de daño utilizada en este trabajo (Figura 11).

### Modo de acción de los hongos entomopatógenos

*Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) es un hongo parásito facultativo, cuyo ciclo biológico comprende dos fases: una patogénica y otra saprofítica. La fase patogénica ocurre cuando el hongo entra en contacto con el tejido vivo del hospedero, en este caso insectos, en conjunto con humedad y temperatura adecuada.

El proceso infeccioso, que lleva a la muerte del insecto atacado por el hongo, se cumple en tres etapas. La primera, de germinación de esporas y penetración de hifas al cuerpo del hospedero. La segunda, de invasión de los tejidos por parte del micelio del hongo hasta causar la muerte del insecto. Durante este proceso se producen una gran variedad de metabolitos tóxicos, siendo las destruxinas las más estudiadas. Los síntomas de la enfermedad en el insecto son la pérdida de sensibilidad, descoordinación de movimientos y parálisis. Cuando el insecto muere queda momificado y algunas veces se pueden presentar zonas de pigmentación localizadas, que corresponden a los sitios de penetración de las conidias en el tegumento. Finalmente en la tercera etapa, se produce la esporulación y el inicio de un nuevo ciclo. El micelio del hongo se observa primero en las articulaciones y partes blandas de los insectos y en días posteriores se incrementa a todo el cuerpo hasta finalmente cubrirlo.

Tras la muerte del insecto, y bajo unas condiciones de alta humedad relativa, las conidiosporas pueden extenderse a través del cuerpo cubriéndolo con material fungoso característico de color verde oliváceo.



Figura 9. Larvas muertas, (a) tratamiento sin inoculación y (b) de tratamiento con inoculación, donde se observa el micelio.

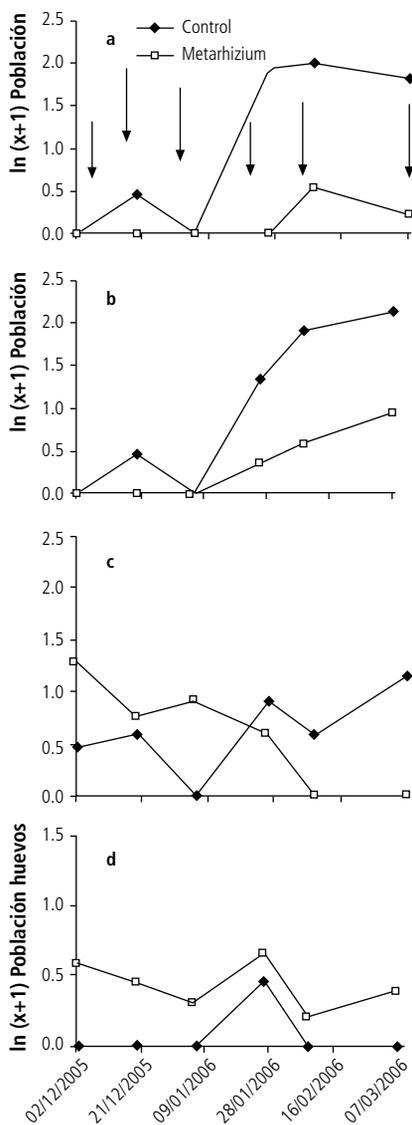


Figura 10. Fluctuación poblacional de chanchitos blancos: adultos (a), ninfas (b), lanas vacías (c) y lanas con huevos (d), en parrón casero, Isla de Maipo, Chile. Flechas indican momentos de aplicación de tratamientos.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran una mortalidad para gusano blanco del frejol y el burrito de la vid de alrededor de 45% y 70% respectivamente en los tratamientos con *Metarhizium*. Los mayores porcentajes de mortalidad producidos en el burrito de la vid se podrían explicar por algún grado de especificidad de la cepa, las condiciones de temperatura durante el experimento, por el uso de larvas de distintas edades en las dos especies de insectos o una combinación de estos factores. En todo caso, es interesante destacar que, si bien el aislamiento de *Metarhizium* provino de larvas de gusano del frejol, este posee alta patogenicidad para el burrito de la vid, lo que es atractivo desde el punto de vista de un control conjunto en condiciones de campo.

Se encontró un efecto del compost solo en el caso de burrito de la vid, donde su presencia provocó una mayor mortalidad. Esto podría ser explicado porque en dicho experimento la larva interactuó con el sustrato, ya que se desplazó a través de él, mientras que en el experimento con gusano blanco del frejol las larvas fueron dejadas a una cierta profundidad y no existió movimiento a través del perfil de suelo. Además el análisis estadístico reportó una interacción marginalmente significati-

va ( $P=0.06$ ) con el efecto patogénico de *Metarhizium*, por lo que sería interesante realizar un nuevo ensayo, con un mayor número de repeticiones, para determinar si existe o no una interacción entre estos factores y evaluar el potencial sinérgico entre el hongo y el compost en condiciones de campo.

El uso de compost sería recomendable como medio de aplicación de *M. anisopliae*, ya que en la gran mayoría de los berries se usa la producción en camellones o la aporca de tierra bajo la planta, lo que permite inocular el hongo previo a esta práctica. Así, el hongo quedaría incorporado en el suelo, viviendo saprofiticamente. Adicionalmente el compost otorga condiciones de temperatura y humedad necesarias para un buen proceso infectivo del hongo (temperatura en torno a 25°C y humedad relativa elevada).

En el caso de chanchito blanco los resultados, si bien preliminares, también son promisorios: la aplicación del hongo en plantas con un alto grado de infestación, redujo los tamaños poblacionales en la planta y además logró disminuir la infestación de los racimos y la severidad con que estos estaban afectados. Esto destaca la importancia de probar este microorganismo en condiciones más comerciales.

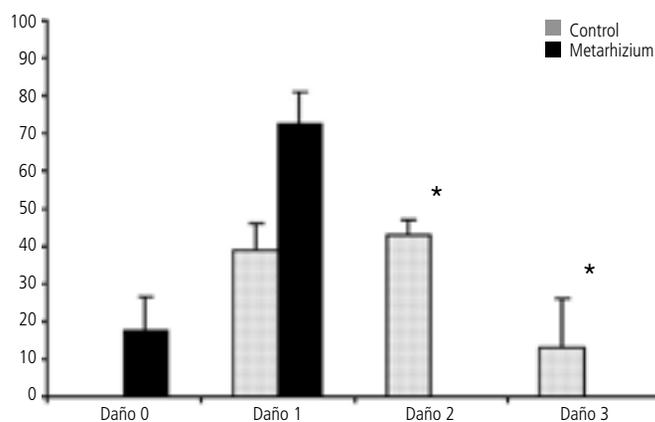


Figura 11. Efecto de tratamientos en racimos de vid cosechados desde un parrón casero en Isla de Maipú (RM), Chile. \* indica diferencias estadísticas entre los tratamientos.