

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**Departamento Académico de Ciencias Agrarias**



**HONGOS ENTOMOPATÓGENOS ASOCIADOS A  
DIFERENTES CULTIVOS TROPICALES**

***TESIS***

**Para optar el título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**PERCY PÉREZ MEZA**

**PROMOCIÓN II – 2001**

**“Excelencia Profesional para un Desarrollo Sostenible”**

**TINGO MARÍA - PERÚ**

**2004**

## **DEDICATORIA**

A mis queridos padres:

**EDVER y ELVA**

Con eterno amor, gratitud  
y mucho respeto.

Para mi compañera

**SALLI**

Con mucho cariño y amor.

A mis queridas hermanas:

**PAQUITA, PERLA y VANESSA**

Por que son parte de mi alma y mi vida.

Por que son los seres que alegran cada uno de mis días, que contribuyeron para llegar a  
superarme.

## AGRADECIMIENTO

- Al Blgo. M.Sc. José Luis Gil Bacilio; patrocinador del presente trabajo, por sus acertadas orientaciones y sugerencias.
- Al Ing. Oscar Cabezas Huayllas; Co - patrocinador del presente trabajo, por su desinteresada colaboración.
- A los Miembros Integrantes del Jurado; Ing. M.Sc. Miguel Anteparra Paredes, Ing. Oscar Cabezas Huayllas, Ing. Jaime Chavez Matías.
- Al Ing. Luis Reymundo Meneses, docente del área de Sanidad Vegetal – Fitopatología de la Facultad de Agronomía – UNAS.
- Al Ing. Walter Panduro Calderón, encargado del área de extensión de la Facultad de Agronomía – UNAS.
- Al personal técnico del Laboratorio de Entomología Sr. César Ríos Vásquez y del Laboratorio de Fitopatología Sr. Michael Avendaño Rubio, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

## ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	07
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	09
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
A. Ubicación del experimental.....	61
B. Colección y envío de insectos y arácnidos parasitados.....	61
C. Parámetros registrados .....	63
D. Aislamiento.....	63
E. Prueba de patogenicidad .....	65
F. Identificación de hongos entomopatógenos, insectos y arácnidos hospedantes.....	66
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	67
A. De la identificación de hongos entomopatógenos .....	67
1. Insectos y arácnidos hospedantes de hongos entomopatógenos.....	67
2. Frecuencia de ocurrencia y porcentaje de infestación de los hongos entomopatógenos.....	82
B. De la evaluación patogénica de los hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio.....	87
V. CONCLUSIONES.....	90
VI. RECOMENDACIONES .....	92
VII. RESUMEN.....	93
VIII. BIBLIOGRAFÍA .....	95
IX. ANEXO.....	103

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Presentación del estado de mayor producción de los hongos entomopatógenos más comunes .....	33
2. Hongos entomopatógenos y sus hospedantes.....	43
3. Principales organismos nocivos en los que se emplea el control biológico por aumento .....	44
4. Posición taxonómica de los géneros de hongos entomopatógenos identificados en algunos sectores de Leoncio Prado, durante el experimento .....	68
5. Hospedantes de los hongos entomopatógenos identificados en diferentes cultivos .....	69
6. Población de hongos entomopatógenos identificados con sus hospedantes en 10 localidades de Leoncio Prado muestreadas en cultivos agrícolas .....	84
7. Patogenicidad de los hongos entomopatógenos sobre sus hospedantes a nivel de laboratorio .....	88

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Ciclo de vida de un hongo entomopatógeno .....	22
2. Establecimiento de una micosis en un invertebrado.....	24
3. Ciclo biológico de los entomopatógenos.....	28
4. Localidades de muestreo en los diferentes sectores de Leoncio Prado .....	62
5. Frecuencia de ocurrencia de los hongos entomopatógenos de acuerdo a los hospedantes identificados en 10 localidades de Leoncio Prado muestreadas en cultivos agrícolas.....	85
6. Porcentaje de infestación de los hongos entomopatógenos de acuerdo a las localidades de Leoncio Prado muestreadas en cultivos agrícolas.....	86
7. Porcentaje de control de los hongos entomopatógenos sobre sus hospedantes a nivel de laboratorio.....	89
8. Cultivos puros de hongos entomopatógenos .....	106
9. Colonización de hongos entomopatógenos sobre sus hospedantes (insectos o arácnidos).....	107
10. Formulación del entomopatógeno en sustrato de arroz .....	108

## I. INTRODUCCIÓN

Las plagas agrícolas es problema del hombre. Aplicar insecticidas químicos, además de costosos desarrollan insectos resistentes, muerte a enemigos naturales y contaminan el ambiente. En los últimos años se desarrollan investigaciones para buscar nuevos medios de lucha biológica contra insectos, como parasitoides, depredadores y microorganismos entomopatógenos (Forsythe, 1992 y Alves and Lecuona, 1995).

Los hongos entomopatógenos son estudiados en todo el mundo, existiendo más de 700 especies reunidas en 100 géneros. Parasitando diferentes insectos y artrópodos que se encuentran en hábitat acuático o terrestre y dentro de estos, en cultivos anuales, semiperennes y perennes (Lecuona, 1995). Aproximadamente 80% de enfermedades en insectos tienen como agente causal un hongo (Webcolombia, 2003).

La susceptibilidad de más de 200 especies de insectos de los órdenes Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera, Isoptera, Hemiptera, Homoptera e Hymenoptera. Lo que permitió la aparición de casi 40 empresas que producen y comercializan hongos entomopatógenos, localizados en Europa (Alemania, Suiza, Holanda, Francia, Bélgica, Inglaterra, Rusia, Dinamarca), América (EE.UU., México, Brasil, Colombia, Cuba), Asia (China, India, Japón, Israel), Oceanía (Australia y Nueva Zelanda) y África (Sudáfrica, Benin) (Gerding y France, 2003).

Actualmente se desarrollan agentes de control biológico para insectos plaga y patógenos que afectan a los cultivos, sin dañar el medio ambiente y la salud (López, 2002), conociéndose comercialmente como “micoinsecticidas” a *Beauveria bassiana*,

*Metarhizium anisopliae*, *Hirsutella*, *Aschersonia*, *B. brongniartii*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Lagnidium giganteum* para el control de plagas (Lecuona, 1995).

En el mundo la inquietud de mejorar la producción y la calidad de los productos agrícolas, controlando plagas y enfermedades, sin causar daño a enemigos naturales, al hombre y al medio ambiente. En el Perú como en el mundo existe una diversidad de hongos entomopatógenos, más aun en Tingo María que pueden aprovecharse exitosamente, por ubicarse en la faja tropical la que lo dota condiciones naturales de humedad, pH y temperatura favorables para el crecimiento y desarrollo de los hongos entomopatógenos sobre sus hospedantes.

Actualmente no existen trabajos de investigación en identificación de hongos entomopatógenos en el Alto Huallaga, que amplíe los conocimientos adquiridos hasta el momento. Con excepción de algunos trabajos en Tingo María con *Beauveria bassiana* a nivel de campo para controlar plagas en algunos cultivos agrícolas, por parte del SENASA, Universidad Nacional Agraria de la Selva por medio de sus tesis y docentes.

Considerando lo antes mencionado se planteó el presente, cuyos objetivos son los siguientes:

- a. Identificar hongos entomopatógenos asociados a la mortalidad de insectos y arácnidos que se encuentran en diferentes cultivos tropicales.
- b. Evaluar la patogenicidad de los hongos entomopatógenos bajo condiciones de laboratorio.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### A. Insectos asociados a cultivos agrícolas tropicales

#### 1. Orden: Homoptera

##### a. Familia: Aleyrodidae

Insectos picadores-chupadores en el envés de las hojas, de preferencia en hojas tiernas donde forman colonias (Boucias and Latgé, 1986). En el caso de la mosca blanca de los cítricos, *Aleurothrixus floccosus* Mask, los estados inmaduros producen abundante cera y melaza que favorece el desarrollo de la fumagina. *Bemisia tuberculata* Bondar ataca al algodonero y *Aleurodicus* sp., se presenta en el palto (Cisneros, 1980).

##### b. Familia: Aphididae

Los áfidos o pulgones pueden ocasionar distintos daños al cultivo. 1) Directos, se alimentan del floema de la planta (existen muy pocas especies que se alimentan del xilema). Las ninfas y los adultos extraen nutrientes de la planta y alteran el balance de las hormonas del crecimiento. 2) Indirectos, como consecuencia de la alimentación. Reducción de la fotosíntesis, pueden transmitir a la planta sustancias tóxicas y pueden ser vectores de virus fitopatógenos.

Áfidos importantes en cultivos de invernadero son: *Myzus persicae* (pulgón verde del duraznero), *Aphis gossypii* (pulgón del algodón), *Macrosiphum euphorbiae* (pulgón del tomate), *Aphis fabae* (el pulgón negro de la poroto) (Infoagro, 2002). Otros

áfidos importantes como el *Aphis craccivora* (pulgón del fréjol de vaca), el áfido negro de la haba (*Aphis fabae*) y el áfido de la melocotón, patata (*Myzus persicae*); el áfido de la fresa (*Chaetosiphon fragaefolii*), el áfido verde de la manzana (*Aphis pomi*), el áfido atractivo de la manzana (*Dysaphis plantaginea*), el áfido del pera galio (*D. pyri*), etc., (Cornell, 2003). *Cedrobium laportei* Remaudiere, cedro; *Cinara cedri* Mimeur, cedro; *Tinocallis saltans* (Nevsky), olmo; *Myzocallis walshii* (Monell), roble; *Pterochloroides persicae* (Cholodkosky), frutales (Pérez, 1999) *Aphis spiraeicola* (Cisneros, 1980).

### c. Familia: Cercopidae

Insectos plagas que succionan el contenido de las células vegetales. Las plantas infestadas pierden vigor, se agotan y reducen su capacidad de crecimiento vegetativo y de producción. En muchos casos se producen deformaciones de brotes, hojas y frutos; en otros casos hay defoliaciones y secamiento de ramas o de toda la planta. Afectan a gramíneas y en menor grado a leguminosas y otras plantas. Entre las especies más importantes están *Sphenorhina liturata* Var. *Ruforivulata* Stal como importante plaga de la caña de azúcar en el Brasil (Evans, 1966).

### d. Familia: Coccidae

Son insectos picadores – chupadores de los jugos de las plantas (hojas y frutos). Secretan abundante melaza que atrae a las hormigas y provoca el desarrollo de la fumagina. Entre las especies más conocidas tenemos a *Saissetia oleae* (Bernard) lapilla negra del olivo, *S. coffeae* (Walker) lapilla hemisférica, *S. nigra* (Nietner) lapilla negra de la chirimoya, *Coccus hesperidum* L., lapilla blanda marrón, *Lecanium corni* Bouche lapilla omnívora y la lapilla cerosa *Ceroplastes* sp., (Cisneros, 1980). *Coccus* sp. (Salazar, 1964). *Protopulvinaria pyriformis* (Cockerell), aguacate, cítricos, laurel, etc.; *Ceroplastes floridensis* Comstock, cítricos (Cornell, 2003).

**e. Familia: Diaspididae**

Queresas conocidos como insectos picadores – chupadores de los jugos de las plantas. Se presentan adheridos sobre las hojas, tallos y frutos según las especies. Infestaciones severas provocan defoliación y secamiento de las ramas pudiendo matar a la planta. Las especies más importantes son la escama de los cítricos *Lepidosaphes beckii* (Newman), escama circular de los cítricos *Selenaspidus articulatus* Morgan, escama coma del manzano *Lepidosaphes ulmi* (L.), piojo blanco de los cítricos *Pinnaaspis aspidistrae* Signoret, escama dictiosperma de los cítricos *Chrysomphalus dictyospermi* (Targ.), escama latina del olivo *Hemiberlesia lataniae* Signoret, escama del cocotero *Aspidiotus destructor* Signoret. *Aonidiella auranti* (Maskell), cítricos, frutales, etc.; *Odonaspis greeni* (Cockerell), bambú (Alata, 1973; Cornell, 2003; Cisneros, 1980 y Toussoun and Nelson, 1978)

**f. Familia: Cicadellidae**

Ha sido reportado atacando algodón, maíz, maní, caupí, higuera, papa y en más de 80 hospedantes silvestres, pero especialmente causa daños de importancia en frijol común y habichuela (vainitas, ayote francés) (Cornell, 2003). Presenta especies importantes como el algodoneo *Empoasca kraemeri* Ross & Moore. En el frijol *Empoasca batatae* Poos, *E. Cispura* Langlitz (Cisneros, 1980).

**g. Familia: Delphacidae**

Afecta Arroz y algunas malezas. Causan daño directo o indirecto al arroz. Es directo cuando hace las perforaciones o incisiones para alimentarse u ovipositar. Los adultos y ninfas chupan savia de las hojas tiernas del cogollo. Esto provoca retardos en el crecimiento de la planta, achaparramiento y quema de los ápices de las hojas. Ataque severo, hay producción de fumagina y secamiento total de plantas adultas. El daño indirecto es por transmitir a la planta el virus de la hoja blanca (Cornell, 2003).

#### **h. Familia: Membracidae**

La mayoría de las especies se desarrollan sobre árboles, arbustos o plantas leñosas y otras en plantas herbáceas. En la oviposición producen heridas en corteza de brotes tiernos o en pedúnculos de flores o frutos. En el Perú, las especies más conocidas es el “asta de torito”, *Hoplophorion pertusum* (Germar) (*Metcalfiella pertusa* Germar), entre las plagas del cultivo de cacao, causando daños similares a los que ocasiona *Monalonium dissimulatum* Dist. (Fam. Miridae), esta especie puede causar problemas en el cultivo por las abundantes excreciones de melaza, además *Hoplophorion proximum* Walker, registrada sobre Zorzamora, *Rubus roseus* (Fam. Rosaceae) y a *Hoplophorion signoretti* Goding (Cornell, 2003).

### **2. Orden: Coleoptera**

#### **a. Familia: Chrysomelidae**

Insectos predadores por lo general masticadores, se alimentan exclusivamente de sus presas, como larvas, pupas, áfidos, cochinillas harinosas y queresas (Hassell y Varley, 1969). Así mismo atacan una gran variedad de plantas, incluyendo maíz, sorgo, arroz, repollo, chile dulce, cucurbitáceas, otras hortalizas y muchas leguminosas, especialmente frijol y soya. Las larvas habitan el suelo y se alimentan de las raíces, los hipocotilos, los nódulos. Los adultos se alimentan del follaje reduciendo la fotosíntesis, y estos son muy móviles, por eso pueden transmitir enfermedades rápidamente. La especie más importante es *Colaspidema atrum* Latr., (Cornell, 2003).

**b. Familia: Scolytidae**

Perforadoras de botones florales y frutas de las plantas frutales. Estos órganos infestados en sus primeros estados de desarrollo suelen caerse prematuramente. La especie más importante en el café es el *Hypothenemus hampei* broca de café (Forsythe, 1992 y De Ingunza, 1966). También se dice que algunas especies de esta familia infestan algunos árboles frutales. El escarabajito *Scolytus rugulosus* (Ratzeburg) barrena entre la corteza y el duramen de los troncos de durazno, manzano y otros frutales de hueso y pepita (Cornell, 2003).

**c. Familia: Curculionidae**

Los cultivos más afectados son maíz, sorgo y arroz; también ha sido reportado en gramíneas silvestres semi acuáticas de áreas bajas y pastizales. Las larvas minan el tallo y los puntos de crecimiento de las plántulas, causándoles la muerte y los adultos también causan daño al alimentarse del follaje. Las especies de importancia son *Gonopterus scutellatus* Gyllenhal, eucalipto; *Sphenophorus venatus* (Say), césped; *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier), palmeras, *Rhynchophorus palmarum* L., barrena los tallos del cocotero y otras palmeras, *Metamasius hemipterus* L. y otras especies del mismo género barrenan los tallos de la caña de azúcar (Cornell, 2003).

**d. Familia: Scarabacidae**

Los cultivos afectados son maíz, sorgo, arroz de secano, frijol, solanáceas, cucúrbitas, cítricos jóvenes, plantas ornamentales, camote, cafeto, frutales, pastos, muchas malezas y otras plantas. Las larvas se alimentan de las raíces de las plantas, y los adultos son por lo general atraídos hacia los árboles de yuca, madera y piñón sobre

los cuales se alimentan. Entre las especies de esta familia tenemos a *Phyllophaga* spp. , y entre los géneros tenemos a *Bothynus*, *Golofa*, *Cyclocephala*, *Serica*, *Anomala*, *Ancistrosoma* y *Heterogomphus*. (Cisneros, 1980 y Cornell, 2003).

#### **e. Familia: Lampyridae**

Insectos plagas que comen las hojas de las plantas y pueden provocar la destrucción total o parcial de las hojas (Beingolea, 1963). Los géneros importantes son; *Lamprocera*, *Microphotus*, *Macrolampis*, *Microdiphot*, *Pyrogaster*, *Lampyris*, *Pyropyga* (Zavala, 2002). *Aspisoma*, *Cratomorphus*, *Dodacles*, *Ellychnia*, *Lucermuta*, *Lucidota*, *Lucio*, *Lychnacris*, *Macroculus*, *Ophoelis*, *Phaenolis*, *Photinus*, *Psilocladus*, *Pyractomena*, *Photurinae: Bicellonycha*, *Photuris* (INCB, 1997).

### **3. Orden: Lepidoptera**

#### **a. Familia: Brassolidae**

Comedores de hojas pueden provocar la destrucción total o parcial de las hojas de las plantas, en su estado larval. Presenta especies importantes como el gusano de la hoja algodonera, *Anomis texana* Riley y *Alabama argillacea* (hibner); el perforador de las hojas del algodonero, *Bucculatrix thurberiella* Busk; el gusano cachudo del tabaco, *Manduca sexta* (Johnson); los gusanos de la col *Pieris monuste* L. y *P. protodice* Boisduval & Leconte; el gusano medidor de la hoja del frijol, *Pseudoplusia includens* Walter (Fedepalma – Cenipalma, 1997 y Beingolea, 1963). Así mismo al género *Opsiphanes* sp., oruga destructora del follaje y especie como *Caligo teucer*, oruga Brassolidae “ahuihua” *Brassolis* sp., (Cabezas *et al.*, 2003).

**b. Familia: Gelechiidae**

Microlepidopteros que se alimentan del mesófilo o tejido interno de las hojas en su estado larval dejando intactos las capas externas o epidermales, así mismo perforan y matan los brotes terminales y las yemas axilares de las plantas. Los daños que causan son endémicos, una de las especies importantes se muestra en la alfalfa *Dichomerus lotellus* (palometa pequeña) (Cisneros, 1980). Esta familia presenta especies como *Metzneria metzneria*, *Neofaculta ericitella* (Luque, 2003). *Sitotroga cerealella* Olivier polilla de los cereales almacenados (Moreira y Maldonado, 1980).

**c. Familia: Lyonetiidae**

Microlepidopteros que en su estado larval se alimentan del mesófilo o tejido interno de las hojas dejando intactos las capas externas o epidermales, como consecuencia de las lesiones causadas por este insecto minador, las hojas pierden su capacidad fotosintética, se secan y terminan por caerse, la planta se defolia total o parcialmente (Enríquez *et al.*, 1975). La especie importante de esta familia en el cultivo de café es el minador de la hoja *Leucoptera coffeella* (Staint) (Cisneros, 1980).

**d. Familia: Gracilariidae**

Son plagas minadoras de hojas. Las larvas de estos microlepidopteros, son los que realizan el daño de las hojas. Teniendo a las siguientes especies importantes en esta familia a: *Phyllocnistis gracillaria*, *P. perseae*, minador de la hoja de aguacate (Cisneros, 1980).

**e. Familia: Noctuidae**

Esta familia de lepidopteros en su estado larval son perforadores de botones y frutos. Se encuentran en diversos cultivos como en el cacao, café, cítricos, etc., entre las especies de mayor importancia tenemos al perforador de botones y bellotas del algodonero *Heliothis virescens* (Fabricius), perforador de la mazorca del maíz *Heliothis zea* (Boddie), el cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Bondar, 1939; Campos, 1965 y Cisneros, 1980).

**f. Familia: Pyralidae**

Las larvas de estos lepidopteros, barrenan brotes florales, frutos, yemas axilares y tallos de las plantas (Vergara, 2000). Cultivos afectados son las cucurbitáceas, incluyendo el pepino, pepinillo, melón, sandía, calabacita, etc. La especie *Diaphania nitidalis* barrena los brotes terminales y los frutos, *Diaphania hyalinata* se alimenta del follaje, y frutos. Otras especies de importancia son: el barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius) que también ataca al maíz y otras gramíneas. La larva de la mariposa blanca, *Rupela albinela* Cramer barrena tallos de arroz, y las larvas de *Terastia meticulosalis* Gueneé, barrenan el tallo de la papa (Cisneros, 1980 y Cornell, 2003).

**g. Familia: Papilionidae**

En esta familia encontramos las plagas de los cítricos: gusano o perro del naranjo: *Papilio* sp. La larva se alimenta de las hojas y causa daños severos al follaje (Cornell, 2003). Así mismo los géneros más importantes como *Battus*, *Eurytides*, *Papilio*, *Parides*. Seguidamente las especies *Battus belus*, *B. crassus* (Cramer), *B. lycidas*, *B. polydamas*, *Papilio anchisiades*, *P. ascolius*, *P. birchalli*, *P. cresphontes*, *P. isidorus*, *P. rhodostictus*, *P. torquatus*, *P. androgeus*, *P. astyalus*, *P. cleotas*, *P. garamas*, *P. polyxenens*, *P. thoas*, *P. victorinus* (INCB, 1997).

#### **h. Familia: Sphingidae**

Afectada tomate, papa, tabaco, berenjena, yuca y también ataca algunas malezas. Las larvas son masticadoras del follaje. También consumen frutos y tallos (Cornell, 2003). Los géneros importantes *Adhemarius*, *Aellopos*, *Agrius*, *Aleuron*, *Amphimoea*, *Callionima*, *Cautethia*, *Ceratonia*, *Cocytius*, *Dalbogene*, *Enyo*, *Erinnyis*, *Eumorpha*, *Manduca*, *Neococytius*, *Xylophanes*, *Cocytius antaeus* (Drury), *C. beelzebuth* (Boisduval), *C. duponchel*, entre otras (INB, 1997).

### **4. Orden: Díptera**

#### **a. Familia: Sciaridae**

Moscas pequeñas, los adultos son activos durante las horas del día y son frecuentes y abundantes en ambientes húmedos, suelos con alto contenido de materia orgánica y vegetales en descomposición. También han sido constatados en invernaderos y en cultivos comerciales de hongos. Las larvas son de hábitos gregarios y generalmente se alimentan de materia orgánica y de fruta en proceso de descomposición, pero también han sido registrados causando daños en plantas (Cornell, 2003).

#### **b. Familia: Agromyzidae**

Afecta tomate, cucurbitáceas, berenjena, papa, frijol, ajo, repollo, maíz, malezas y plantas ornamentales. Las larvas forman minas y galerías al alimentarse y desarrollarse dentro de la hoja y los adultos también pueden causar daño al alimentarse, que sirven de entrada a bacterias y hongos (Cornell, 2003). Especies de importancia son *Liriomyza trifolii* (Burgess), hortícolas; *L. huidobrensis* (Blanchard) hortícolas (Pérez, 1999), *Melanagromyza* (Hendel) barrenan tallos de plantas herbáceas; *Phytobia* (Fallen) barrenan ramas y troncos de árboles y *Ophiomyia* (Braschnikov) barrena frutos y raíces (Raven, 1993).

**c. Familia: Lonchaeidae**

Moscas pequeñas, las larvas se desarrollan en materia orgánica vegetal en proceso de descomposición, observándose en forma secundaria en frutos y tejidos vegetales previamente dañados o sobre los excrementos de plagas primarias. Algunas especies han sido registradas como fitófagos primarios y algunas de ellas pueden constituirse en plagas de consideración. Entre las especies registradas en el Perú se menciona a *Neosilba pendula* (Bezzi), plagas de yuca *Manihot ultisima*. Las larvas barrenadores las yemas terminales de las plantas de yuca, provocando el atrofiamiento de éstas. Sin embargo esta especie puede ser secundaria en daños causados por *Anastrepha manihoti* (Raven, 1993).

**d. Familia: Otitidae**

Moscas pequeñas, las larvas se alimentan de materia orgánica de origen vegetal, algunos son fitófagos alcanzando carácter de plaga. Sin embargo, *Elassogaster sepsoides* Walker ha sido registrado como predator de huevos de *Schistocerca migratoria*; *Seioptera vibrans* viven como predadores de insectos. Especies de importancia económica en el Perú, *Euxesta annonae* (Fabricius) como plaga secundaria en mazorcas de maíz y frutos de ají previamente dañados por larvas de especies de lepidoptero *Euxesta* actúan como plagas primarias en mazorcas de maíz encontrándose las especies *Euxesta eluta* Loew, *Euxesta mazorca* Steyskal y *Euxesta sororcula* (Wiedemann) (Raven, 1993).

**e. Familia: Tephritidae**

La papaya es el único cultivo de valor más afectado por esta plaga, pero se cree que también otras caricáceas silvestres son atacadas. Todas las especies son fitófagas, con la sola excepción de la especie australiana *Termitorioxia termitoxena* (Bezzi), que se desarrolla en termiteros. A diferencia de *Toxotrypana curvicauda* comienza el ataque en los frutos pequeños, ya que los huevos los deposita en la cavidad del fruto. Muchas veces las hembras ovipositan desde la época en que caen los pétalos de las flores. Las larvas empiezan a alimentarse de las semillas en formación y luego de la pulpa. Por la función de la ovipostura, generalmente hay penetración de patógenos que pudren el interior, provocando frecuentemente la caída temprana del fruto (Cornell, 2003). Los géneros más importantes económicamente se pueden mencionar a *Ceratitis* Macleay, *Dacus* Fabricius, *Anastrepha* Schiner y *Rhagoletis* Loew (Raven, 1993).

**5. Orden: Hymenoptera**

**a. Familia: Aphelinidae**

Son muy importantes como parásitos de queresas, áfidos y moscas blancas. En esta familia encontramos a las especies importantes como *Aphelinus mali*, *Aphytis chilensis*, *A. chrysomphali*, *A. comperei*, *Dirphys mexicana*, *D. morley*, *Encarsia desantisi*, *E. migracephala* (Enríquez *et al.*, 1975; Cisneros, 1980 y Garcia, 1978).

**b. Familia: Formicidae**

Las hormigas cortadoras son las especies más importantes de la región tropical llamada en nuestro medio “hormigas coqui” o “cuqui”, que pertenecen a los géneros *Atta* y *Acromyrmex*. Estas hormigas cortan las hojas de diversas plantas incluyendo especies de importancia económica, para utilizarlas como substratos de

cultivos de hongos dentro de sus nidos. Constituyéndose como plaga indirecta (Carrasco, 1962) de preferencia en los cítricos, cacao, aguacate, mango, árboles maderables, eucalipto, hortalizas, frijol, maíz, sorgo, pastos y plantas ornamentales. Ocasionalmente ocasionando la reducción en fotosíntesis la que afecta la cantidad y calidad de los frutos (Cornell, 2003).

### c. Familia: Vespidae

Familia de insectos predadores, la que capturan insectos que llevan a sus nidos para alimentar a sus larvas. Otros véspidos contribuyen al control del minador de la hoja del cafeto (Enríquez *et al.*, 1975 y García, 1978).

## 6. Orden: Araneae

### a. Familia: Salticidae

Predadores muy generales, cazando sus presas directamente, mientras que otros lo hacen por medio de sus telarañas. La importancia práctica de las arañas no está bien definida. Es posible que las telarañas atrapen a mayor número de insectos benéficos debido a su mayor movilidad y que los cazadores directos destruyan más insectos fitófagos (Aguilar, 1968 y Aguilar *et al.*, 1977). Familias de importancia en el campo tenemos a Thomisidae o “arañas – cangrejo”, Oxyopidae o “arañas lince”, Theridiidae, Argiopidae, Nyphaenidae, Lycosidae, Clubionidae (Cisneros, 1980).

## B. Hongos

Son organismos eucariotas uni o pluricelulares con pared celular cuyo cuerpo o talo está constituido por filamentos tubulares denominados hifas la que constituye el micelio. La hifa es la unidad básica del hongo de donde van a reproducirse. Además las hifas pueden ser hialinas o coloreadas; este último va desde el crema hasta el oscuro. Asimismo las hifas pueden ser septadas o tabicadas, aseptadas o cenocíticos, pseudoseptada (Ames, 1974).

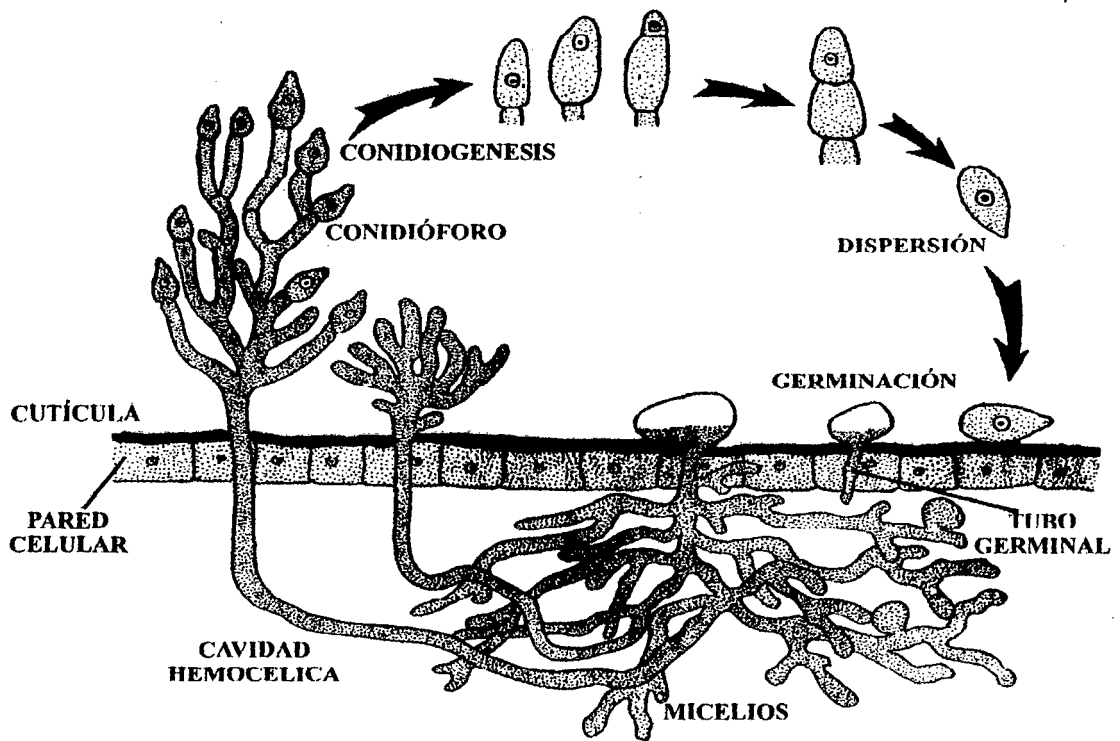
## **1. Hongos entomopatógenos**

Microorganismos vivos que producen enfermedades a diferentes órdenes de insectos. No causan daño al hombre, animales y plantas (France, 2003; Streets, 1992 y PNCB, 2003). El primer entomopatógeno ilustrado fue el hongo *Cordyceps sinensis* realizado por Rebumer en 1726. Sin embargo, la patología de insectos como ciencia experimental comienza con los trabajos de Bassi, quien en 1834 demostró que *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., era el agente causal de una enfermedad en el gusano de seda, *Bombix mori* L., un año más tarde, éste italiano publica sus conclusiones las cuales fueron la base de futuras investigaciones en diferentes partes del mundo (Lecuona, 1995).

### **C. Etapas de infección de los hongos entomopatógenos**

La micosis en insectos comienza por la adhesión al tegumento y la germinación de las conidias o esporas sobre éste (Orietta y Larrea, 2003). Luego la penetración a través de la cutícula del insecto, la multiplicación del hongo en el hemocele y la producción de toxinas (en ciertos hongos o cepas). Sobreviene entonces la muerte del insecto y el hongo coloniza todo el interior del hospedante. Posteriormente el micelio sale hacia el exterior pasando a través del tegumento, esporula sobre la superficie del insecto y finalmente los propágulos son diseminados al medio. Se puede afirmar que las tres primeras etapas, adhesión, germinación y penetración, son fundamentales para iniciar un proceso patogénico y son las que mas influyen sobre la especificidad entre el patógeno y el hospedante (Lecuona, 1995; Orietta y Larrea, 2003).

Los hongos entomopatógenos tienen la ventaja de actuar por contacto y afectar teóricamente cualquier estadio de la plaga. Cuando el hongo es capaz de penetrar dentro del insecto e invadirlo, provocándole la muerte por micosis otros patógenos actúan por diferentes mecanismos: hiperparasitismo, antibiosis, competencia de nutrientes y por el nicho ecológico, las más frecuentes son las dos primeras. Adhesión al tegumento y Germinación del conidio, interviniendo varios factores que pueden favorecer o no la actividad antagónica del microorganismo como son temperatura, pH, humedad relativa y la presencia de otros microorganismos, entre otras (Orietta y Larrea, 2003).



**Figura 1.** Ciclo de vida de un hongo entomopatógeno (Tomado de Cave, 1995).

### 1. Adhesión

Fijación de los propágulos sobre la superficie del hospedante, por medio de propiedades físicas, químicas y electrostáticas del patógeno y del hospedante. Dentro de este proceso podemos distinguir 3 etapas.

**a. Adsorción o inmovilización**

Del microorganismo sobre la superficie. Donde intervienen factores físicos y químicos del substrato como fuerzas de Van der Waals y electrostáticos.

**b. Contacto**

Esta en función de la capacidad del propágulo de emitir micro extensiones activos que refuercen las unidades electrostáticas entre ambas superficies (entomopatógeno – insecto).

**c. Adhesión**

Puede ser pasivo y no específico sin requerimiento de energía o activo y específico necesitando cofactores y de energía, iones, carbohidratos, lípidos, glucoproteínas, etc., estas tres fases son las que preceden a la germinación del propágulo sobre la superficie del hospedante. La adhesión es un paso importante en el proceso patogénico y ha sido correlacionado con la especificidad hospedante – patógeno (Boucias and Latgé, 1986 y Samson *et al.*, 1988).

**2. Germinación**

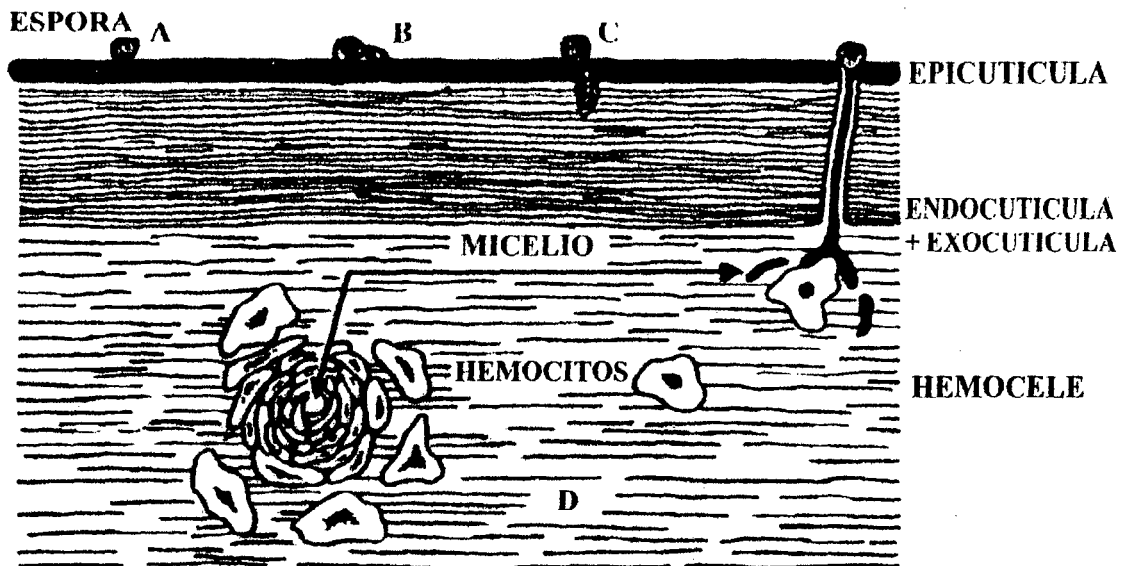
Luego de la adhesión e hidratación del conidio o espora sobre el tegumento, germina emitiendo un tubo germinativo con formación, en algunos casos, de un apresorio, para posteriormente penetrar al insecto. Sin embargo, las conidias de un hongo entomopatógeno pueden presentar cuatro comportamientos germinativos diferentes sobre la cutícula del hospedante:

- a. Emisión de un tubo germinativo corto que perforará el tegumento.

- b. Emisión de un tubo germinativo largo errante sobre la superficie.
- c. Emisión de un tubo germinativo más o menos corto en cuya extremidad se forma un conidio secundario diferente a la del primario.
- d. No puede germinar (Pekrul and Grula, 1979 y Samson *et al.*, 1988).

### 3. Penetración

Después de la germinación de esporas se produce una serie de transformaciones físicas y/o químicas, tanto a nivel del tegumento como del conidio, permitiendo al patógeno penetrar a la cutícula de su hospedante específico. De ser así, podría existir un estímulo determinado para esta penetración, el cual puede ser diferente o no, según el hospedante y patógeno considerando, el paquete enzimático disponible podría ser insuficiente. Esto lo demuestran los casos donde las conidias logran germinar sobre insectos que no son sus hospedantes pero que no logran penetrar en su interior y no provocan mortalidad (Campos, 1965; Boucias and Latgé, 1986 y Samson *et al.*, 1988).



**Figura 2.** Establecimiento de una micosis en un invertebrado. A. Adhesión de la espora sobre la cutícula, B. Germinación, C. Penetración por la cutícula junto al tubo germinativo, D. Colonización en el hemocele y la reacción de las defensas del hospedante (Tomado de Samson *et al.*, 1988).

**a. Multiplicación del hongo en el hemocele**

Cuando el hongo ataca la cutícula y penetra, puede haber en ella reacciones de melanización en el punto de penetración y posteriormente alrededor de los elementos fúngicos. Dichas reacciones pueden ser celulares (granulomas en los lepidopteros) o humorales, por mediación de células sanguíneas, sin embargo estas reacciones no siempre están presentes. Una vez en el interior del insecto, el hongo se multiplica principalmente por gemación, dando formas misceláneas libres y unicelulares llamados blastosporas en los Deuteromycetes, pero inexistentes entre los Entomophthorales. Sin embargo también se producen en el hemocele hifas y protoplastos o células sin pared. Los insectos tienen un sistema inmunológico, que les permite reconocer y reaccionar a partículas extrañas dentro del hemocele. Estos podrán ser propágulos de hongos, bacterias, virus, etc., las cuales pueden ser fagocitadas si los organismos invasores no son muy grandes. Sin embargo, el principal mecanismo de defensa o reacción celular de los insectos es la encapsulación, la cual se produce por la concentración de plasmotocitos o granulocitos alrededor del punto de infección, logrando así formar una masa pseudotisular llamada granuloma (Samson *et al.*, 1988).

**b. Producción de toxinas**

No todos los hongos o todas las cepas de una misma especie fúngica producen toxinas en el hemocele. El término toxina se refiere a toda sustancia venenosa producida por organismos patógenos. Sin embargo, otros vocablos han surgido como micotoxinas, fitotoxinas y vivotoxinas. Estas toxinas son sustancias que pueden, en ciertos casos originar la muerte del insecto debido a sus propiedades insecticidas, pero además, ellas actúan como inhibidores de las reacciones de defensa del hospedante por alteraciones de los hemocitos y retardo en la agregación de las células de la hemolinfa. Las toxinas que producen los hongos entomopatógenos son de dos tipos.

- **Macromoléculas proteicas**

Son enzimas extracelulares secretadas en cantidades significativas en medios de cultivos o en el interior del insecto.

- **Toxinas de bajo peso molecular**

La producción de estos metabolitos secundarios (moléculas de tamaño medio a pequeño, con peso molecular menor de 2000 mol) es una propiedad genética de cada hongo, pero su producción puede ser alterada por factores como nutrientes, pH, temperatura, etc., ellos derivan de precursores tales como acetatos y aminoácidos.

Las principales toxinas de este grupo son los ciclodepsipeptidos, producidos por *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, siendo las más comunes las destroxinas, nombre genérico dado a éstos compuestos provenientes del segundo hongo citado. Dentro de las destroxinas están: A ( $C_{29}H_{47}O_7N_5$ ) y B ( $C_{25}H_{45}O_5N_4$ ); así mismo los 14 desipéptidos, donde 5 eran conocidos (A, B, C, D y la desmetildestroxina B), mientras que las nueve restantes son nuevas (E, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> y E<sub>1</sub>) (Vey and Gotz, 1986).

#### 4. Muerte del insecto

La muerte del insecto parasitado por un Deuteromycete ocurre generalmente antes que el hongo colonice todo el interior del hemocele. Ella es originada, en parte, por la acción de las sustancias tóxicas secretadas por el hongo. La muerte del hospedante marca el final de la fase parasitada para continuar creciendo saprofiticamente por todos los tejidos y compartiendo, en ciertos insectos, con la flora bacteriana intestinal. El tiempo que demanda la muerte del insecto dependerá de la cepa, del hospedante y de los factores ambientales (Lecuona, 1995; Orietta y Larrea, 2003).

### **5. Colonización total en el insecto**

Luego de la muerte el micelio invade todos los órganos y tejidos, comenzando en ciertos casos por el tejido graso. Después de la colonización total, aunque en algunos casos el hongo llega a respetar algunos tejidos como glándulas de seda, músculos, tráqueas y huevos de pulgones ovíparos, el cadáver se transforma en una momia resistente a la descomposición bacteriana, aparentemente y sin poder generalizar debido a la acción de antibióticos liberados por el hongo (Pekrul and Grula, 1979).

### **6. Emergencia del hongo hacia el exterior**

El hongo se encuentra formando una gran masa miceliar en el interior del hospedante, manteniendo intacto su tegumento. Puede permanecer bajo esta forma en cuanto las condiciones de humedad relativa sean bajas, en ambientes húmedos y cálidos logrará atravesar nuevamente el tegumento pero esta vez desde el interior hacia el exterior del insecto. Generalmente emerge por las regiones menos esclerosadas del tegumento, como las membranas intersegmentales o los espiráculos, pero esto dependerá también del hospedante y de su estado de desarrollo (Lecuona, 1995).

### **7. Esporulación**

Una vez que las hifas atraviesan el tegumento, ellos pueden quedar en esta etapa vegetativa o pasar a la reproductiva dentro de las 24 a 48 horas, como formación de conidias o esporas, si las condiciones de humedad relativa son altas. El insecto pasa ahora a tomar una coloración que será característica para cada especie de hongo. Por ejemplo, blanco (*Beauveria*, *Verticillium*), verde claro (*Nomuraea*), verde oliva o ceniciento (*Metarhizium*), blanca amarillento, rosa o rojo (*Paecilomyces*), blanco grisáceo con un halo blanco alrededor del cadáver debido a que proyectan las conidias desde conidióforos (Entomophthorales) (Lecuona, 1995).

## 8. Diseminación

Los conidios o esporas formados sobre el insecto se diseminan por acción del viento, agua, el propio hombre o de otros organismos (Orius Biotechnology, 2001).

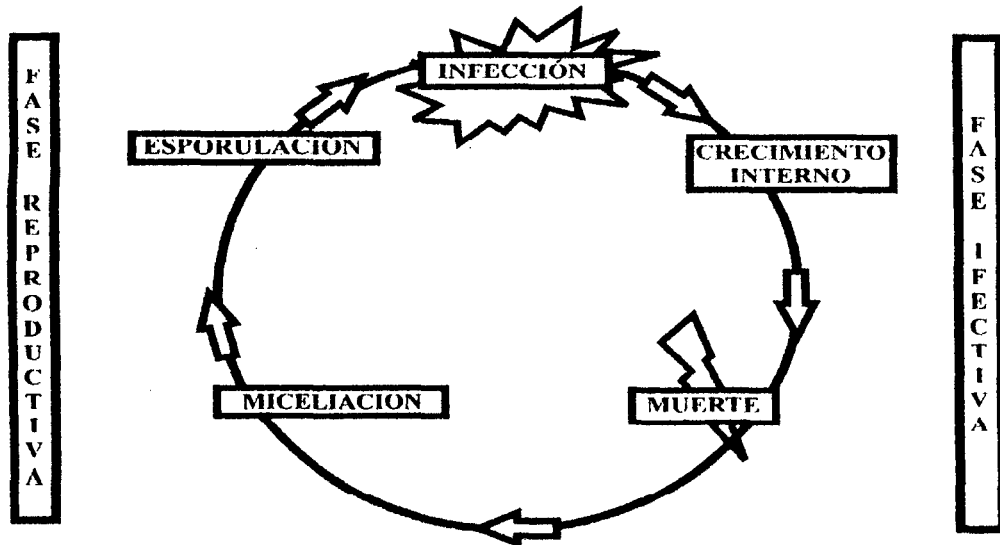


Figura 3. Ciclo biológico de los entomopatógenos (Tomado de Orius Biotechnology, 2001).

## D. Técnicas empleadas con hongos entomopatógenos

### 1. Recolección y envío de insectos parasitados

Son encontrados, tanto vivos como muertos, en follaje, axilas y hojas de las plantas, en el interior de tallos o corteza de los árboles, sobre la superficie o en el suelo incluso, en las crías de insectos criados en laboratorio se procura separar aquellos insectos que presentan síntomas anormales en su crecimiento. Los insectos muertos y adherido al vegetal, cortar la porción del vegetal dejando al insecto adherido sobre ella y trasladar al laboratorio para su identificación. Los insectos enfermos o muertos deben ser colocados individualmente en recipientes limpios de vidrio o plástico con tapa o en cajas de petri, cajas de fósforo, etc., pero nunca deben colocarse en sobres de papel u otro envoltorio similar donde pueden ser dañados o aplastados, con un trocito de algodón humedecido en agua destilada de preferencia. Evitar el exceso de agua para que

el insecto no se ponga en contacto directo con ella. Si se desea más seguridad aún estas cámaras húmedas pueden ser esterilizadas y en el momento de usarlas, trabajar dentro de una campana de flujo laminar.

Los insectos parasitados por hongos no se colocan en agua u otra sustancia conservante como los que son afectados por bacterias o virus que pueden aceptar hasta 0.5 ml de agua destilada. El material se conservará mejor a temperatura y humedad relativas bajas (heladera) hasta el momento de la identificación o de su aislamiento, evitando el posible crecimiento de hongos saprofitos presentes en los insectos o la proliferación bacteriana con la consecuencia putrefacción del espécimen. Para insectos vivos implicaría la cría individual hasta la posible micosis llamándose cuarentena.

Las muestras deben ser acompañadas de la siguiente información: nombre del recolector, lugar y fecha, cultivo o ambiente, nombre del insecto y cualquier otra observación que considere útil, como grado de la enfermedad (epizoótico o enzoótico), tratamientos químicos sobre el cultivo, etc. (Lecuona, 1995).

## **2. Aislamiento**

Los hongos entomopatógenos pueden ser aislados por diferentes procedimientos. El más aconsejable es el aislamiento por dilución decimal seriada, también llamado monospórico. Se parte de un insecto bien esporulado, logrando de 24 a 48 horas de permanencia en una cámara húmeda, colocándolo en un recipiente conteniendo 10 ml de agua destilada estéril con 0.01% de Tween 80 más el agregado de pequeñas bolitas de vidrio de 0.1 – 0.2 mm de diámetro y agitando facilitara la separación de los conidios del cuerpo del insecto, formándose una suspensión concentrada del inóculo.

Posteriormente, se transfiere 1 ml a un tubo de 9 ml de agua destilada estéril más Tween, agitando los tubos y se repite esta operación cinco veces más (en total son seis diluciones). De las últimas diluciones se toman 0.1 ml y se depositan en medio nutritivo sólido más antibiótico cloranfenicol 0.5 g/L (500 ppm) antes de su esterilización o en medio casi frío, penicilina (30 mg/L), estreptomicina (130 mg/L) repartiéndolo sobre toda la superficie, con un rastrillo de vidrio o ansa de Dngalsky, las que se colocan en estufa a 25°C por tres o cuatro días a más, hasta obtener el cultivo, luego se repica en cajas de petri o tubos con medio nutritivo inclinado (pico de flauta) y colocados en estufa. Se asume que las colonias aisladas provienen de un conidio. De esta manera se trata de obtener colonias puras, minimizando la variabilidad genética.

En realidad, si bien este tipo de aislamiento se denomina monospórico, no existe la total certeza que la colonia obtenida provenga de un solo conidio o espora. El verdadero aislamiento monospórico sería aquel en el cuál se extrae solamente un conidio de una suspensión, medio de cultivo o del propio insecto.

Una segunda forma de obtención de cepas no tan recomendada como la anterior, es tomar una porción del hongo presente sobre el insecto y sembrarla en medio nutritivo sólido, en forma de estrías, consiguiendo diluir la concentración conidial a medida que se avanza con la estría lográndose un crecimiento en masa al inicio y colonias separadas al final. De estas colonias individuales se repican en medios de cultivo siguiendo el procedimiento anterior.

Si las muestras están sucias, desinfectar el insecto antes de colocarlo en cámara húmeda con hipoclorito de sodio (NaClO) de 0.3 - 0.5% por 3 minutos y enjuagar tres veces con agua destilada estéril. Habiendo algunos hongos como los Entomophthorales que proyectan sus esporas hacia arriba. En este caso, se coloca el insecto parasitado sobre la tapa de una caja de petri invertida (con el medio nutritivo hacia arriba). Luego de 12 horas de incubación, se produce una explosión de esporas hacia arriba en dirección al medio. Finalmente se cambia la tapa por otra esterilizada y se incuba normalmente (Lecuona, 1995).

### **3. Medios de cultivo**

Son sustancias o soluciones que permite el crecimiento de uno o más organismos. A diferencia de los cultivos que es el producto del crecimiento de un organismo o grupo de organismos, establecido con fines experimentales o industriales. Asimismo el cultivo puro es el cultivo de un solo organismo y su progenie es un cultivo clonal de un organismo libre de todo contaminante. Los medios de cultivos empleados pueden ser tantos simples como complejos. Ellos deben suministrar los elementos necesarios para la multiplicación del hongo; en ciertos casos, estos requerimientos varían con las distintas especies fúngicas. Los medios pueden ser divididos en sólidos y líquidos (French y Teddy, 1980; Lecuona, 1995 y Samson *et al.*, 1988).

#### **a. Sólidos**

Es aquel en el que se ha agregado un agente solidificante como la gelatina. La más empleada es la gelatina vegetal conocida como agar o agar - agar que es un polisacárido que se extrae de varias especies de algas. El agar se derrite a partir de los

80°C y tolera las altas temperaturas de esterilización sin descomponerse. Se solidifica entre los 35 y 50°C siendo su valor nutritivo casi nulo. Los medios sólidos más usados en patología de insectos son: Agar - Papa - Dextrosa, SDA (Sabouraud Dextrosa Agar), SDA + 10 g de Levadura (SDAY), medios completos, (French y Teddy, 1980; Lecuona, 1995; Samson *et al.*, 1988 y Streets, 1992).

Estos tres medios son aptos para la mayoría de los Deuteromycetes, obteniéndose excelentes resultados con el completo. Sin embargo el hongo *Nomuraea rileyi* se cultiva mejor en SMAY (Sabouraud Maltosa Agar Levadura). En todo los casos el agua debe ser destilada o bidestilada. La esterilización se realiza en autoclave durante 15 - 20 min., de 121 - 127°C bajo una presión de 1 - 1.5 atmósferas. Sabouraud Dextrosa - Agar - Yema de huevo; es un medio complejo que es empleado para una gran variedad de hongos pero, especialmente para los Entomophthorales (French y Teddy, 1980; Lecuona, 1995; Samson *et al.*, 1988 y Streets, 1992).

#### **b. Líquidos**

Aquí no se incorpora el agente solidificante; pueden tener la misma composición que los sólidos pero sin el agregado de agar, es decir con una fuente de carbono y otra de nitrógeno. Son empleados para obtener una producción masal económica principalmente de hongos como *Beauveria* y *Metarhizium* a ser utilizada en ensayos de laboratorio y campo o en estudios sobre genética y bioquímica fúngica. De igual modo hay medios líquidos que pueden ser considerados más complejos y caros, siendo en algunos casos suplementados con suero animal. Son utilizados para patógenos obligados u otros hongos más delicados o exigentes y de difícil crecimiento en medios sólidos (Lecuona, 1995; French y Teddy, 1980).

**Cuadro 1.** Presentación del estado de mayor producción de los hongos entomopatógenos más comunes.

Hongos Entomopatógenos	Propágulo producido	Medio de cultivo	
		Sólido	Líquido
<i>Lagenidium giganteum</i>	Sp (oosporas)		+
<i>Conidiobolus obscurus</i>	Sp (zygosporas)		+
Entomophthorales (no producen esporas in vitro)	M (cuerpo hifal)		+
<i>Beauveria brongniartii</i>	M (blastosporas)		+
<i>Beauveria bassiana</i>	M (blastosporas)		+
	Sp (conidias)	+	+
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Sp (conidias)	+	
<i>Hirsutella thompsonii</i>	Sp (conidias)	+	+
<i>Verticillium lecanii</i>	M (blastosporas)		+
	Sp (conidias)	+	
<i>Nomuraea rileyi</i>	M (blastosporas)		+
	Sp (conidias)	+	
<i>Aschersonia aleyrodii</i>	Sp (conidias)	+	
<i>Culicinomyces clavosporus</i>	Sp (conidias)		+

Sp = Espora, M = Mycelium

Fuente: Samson *et al.* (1988).

En Cuba se producen *Beauveria bassiana* en medio líquido y sólido, *Metarhizium anisopliae* en medio sólido, *Verticillium lecanii* en medio sólido y líquido, *Paecilomyces lilacinus* en medio sólido, *Trichoderma spp.* en medio sólido y líquido (Orietta y Larrea, 2003).

#### 4. Coloraciones para observación microscópica

Los colorantes utilizados cumplen la función de realzar o tornar más visible a los patógenos para poder identificarlos con mayor facilidad. Para observación microscópica de estructuras vegetativas o reproductivas se puede utilizar varias coloraciones. Las coloraciones más usuales son: azul de metileno y azul láctico (Lecuona, 1995; French y Teddy, 1980).

## 5. Conservación

El principio del almacenamiento para las colecciones o micotecas es conservar una cepa de hongo sin pérdida de su estabilidad y viabilidad por la mayor cantidad de años posibles. Por que cada microorganismo puede responder distinto a los procedimientos de almacenamiento, incluso pueden existir diferentes comportamientos entre cepas de un mismo hongo (French y Teddy, 1980; Lecuona, 1995; Samson *et al.*, 1988 y Streets, 1992).

Antes de comenzar a trabajar con cualquier cepa fúngica, realizar su reactivación pasándola por su insecto hospedante y verificar su viabilidad y pureza. Por lo que ciertas cepas pueden perder alguna característica importante durante su conservación. Hay dos grandes principios de conservación, uno donde se reduce el metabolismo y el otro donde se induce la dormancia de los conidios o esporas (French y Teddy, 1980; Lecuona, 1995; Samson *et al.*, 1988 y Streets, 1992).

### a. Reducción del metabolismo

- Posterior a su esporulación son almacenados a 4°C.
- Se puede preservar los hongos cubriendo con aceite mineral medicinal estéril (aceite de parafina) la superficie de la colonia bien desarrollada.
- Se cultiva el hongo en cajas de petri con una capa delgada del medio para luego de su esporulación, cortar el medio en pequeños bloques de aproximadamente 5 mm cada uno. Estos son transferidos a tubos o recipientes con 10 ml de agua destilada estéril y colocada a 4°C.

- Suspensiones de esporas pueden ser incorporadas a una mezcla de tierra más arcilla estéril y luego de permitir su crecimiento por algunos días aproximadamente 10, almacenadas a bajas temperaturas (French y Teddy, 1980; Lecuona, 1995; Samson *et al.*, 1988 y Streets, 1992).

#### **b. Inducción a la dormancia**

- Como sustrato para secar los conidios de los hongos se tiene a la sílice (SiO<sub>2</sub>) purificada, sílica gel (6 - 22 mesh, sin indicador) y se esterilizan al calor seco durante 3 h a 180°C.
- Este método de secado a frío es eficiente para conservación a periodos largos, 20 ó más años. La liofilización puede ser por congelamiento o por centrifugación.
- El almacenamiento a temperaturas ultra bajas preserva la viabilidad, pureza y estabilidad de las cepas por periodos largos (20 ó más años). Este método es más empleado por que permite obtener temperaturas de -196°C (Lecuona, 1995).

#### **c. Prevención al ataque de ácaros durante la conservación**

Los cultivos de hongos son susceptibles de ser infectados con ácaros del género *Tyroglyphus* y *Tarsonemus*. Los daños que los ácaros provocan esta representado no solo por su alimentación, al consumir toda la colonia fúngica, sino además, por la introducción de hongos o bacterias con la consecuente contaminación y pérdida del material de la colección o con la inoculación cruzada que realizan al pasar de una cepa a otra. Por esta razón se acostumbra seguir los siguientes pasos:

- Los lugares de trabajo mantenerse limpios, incluyendo la entrada de aire contaminado del exterior, los productos más usados para éste fin son el camphor y el paradichlorobenzeno (PDB); sin embargo, este último puede provocar crecimiento anormal de los hongos.
- Existen barreras manuales, como agua, aceite, material pegajoso, etc., que pueden parcialmente impedir la entrada de ácaros pero, no son absolutamente prácticas de emplear.
- La liofilización o el nitrógeno líquido que proveen una protección excelente para la entrada de los ácaros, al igual que el almacenamiento en sílica gel, conservación a temperaturas próximas a 4°C, reduce la multiplicación de esta plaga, permaneciendo inmóviles hasta tanto no sean retirados de la heladera (Lecuona, 1995 y Streets, 1992).

## 6. Bioensayos

Se designan con éste nombre a los ensayos realizados en laboratorio con organismos vivos. A través de ellos se pueden evaluar la patogenicidad de un microorganismo y determinar su virulencia según los siguientes parámetros:

- LD<sub>50</sub> (Dosis letal)** : Dosis en la cual muere el 50% de los individuos.
- LT<sub>50</sub> (Tiempo letal)** : Tiempo necesario para matar el 50% de los insectos a una dosis constante.
- LC<sub>50</sub> (Concentración letal)** : Dosis que provoca el 50% de mortalidad pero, en este caso, no es posible conocer exactamente la cantidad del patógeno en contacto con el insecto (Lecuona, 1995).

## **E. Producción de hongos entomopatógenos**

Para que un insecticida biológico pueda ser liberado con éxito al medio ambiente, debe presentar características tales que permitan su introducción mediante la aplicación de las metodologías disponibles empleadas con los insecticidas químicos.

### **1. Producción in vitro**

Cuando el objetivo es una producción aplicando las técnicas de multiplicación in vitro, los principales aspectos a tener en consideración son:

- Selección de una cepa capaz de producir abundante cantidad de conidios con una virulencia suficientemente alta.
- Selección y optimización de un medio de cultivo que permita su obtención con altos rendimientos.
- Que dicho medio facilite la producción industrial de los mismos a bajos costos
- Desarrollar una adecuada formulación que, asegure la calidad del producto terminado y permita su fácil aplicación y almacenamiento (Orietta y Larrea, 2003).

#### **a. El microorganismo**

El punto de partida de un bioinsecticida fúngico es contar con una cepa que demuestre una actividad marcada biológica, además de ser fácilmente cultivable y segura. Para que un microorganismo sea considerado un buen candidato para formar parte de un insecticida biológico, debe reunir tres condiciones:

- Tiene que demostrar habilidad para reducir la población de insectos que produce daños.
- No debe ser tóxico para el hombre y animales de sangre caliente.
- Debe producirse económicamente en gran escala sin perder sus cualidades (Dunn and Mechales, 1963).

La especificidad de las aislaciones, para un producto que funciona bien para una determinada plaga, difícilmente logrará el mismo éxito contra una plaga diferente e incluso, contra la misma plaga, pero en un ambiente distinto (Gerding y France, 2003).

#### **b. Entorno físico - químico**

Los requerimientos nutricionales para hongos entomopatógenos han sido en general poco estudiados. Si bien se ha descrito una gran variedad de medios de cultivo para la producción de hongos entomopatógenos, al igual que otros medios, ellos contienen una fuente de carbono y energía, una fuente de nitrógeno, sales inorgánicas y en algunos casos, factores de crecimiento. La relación C:N juega un papel importante. Su apropiado balance no solo contribuye a evitar problemas de pH, sino que además un factor determinante cuando el objetivo es lograr la esporulación en medios líquidos.

Generalmente los requerimientos nutricionales de los hongos entomopatógenos han sido determinados estudiando el efecto producido sobre el crecimiento, al introducir una modificación en la composición del medio respetando el resto de los constituyentes. Una alternativa de búsqueda, es estudiar las necesidades nutricionales en medio sólido y evaluar el crecimiento y esporulación. Otras variables de proceso tales como temperatura y pH óptimos para el crecimiento, así como los requerimientos de oxígeno, pueden ser analizados previamente (Soper and Ward, 1981).

### **c. Producción de hongos entomopatógenos en sustratos sólidos**

Durante siglos, la bioconversión de sustratos sólidos ha sido aprovechada por el hombre a través de las llamadas fermentaciones en sustrato sólido (FSS), basándose en las fermentaciones alimentarias orientales, la maduración de quesos, el ensilaje y el composteo.

En la actualidad, existe un renovado interés en el uso de las FSS, como son: bajos costos de inversión en equipamiento, menor demanda energética, mayores productividades volumétricas, facilidad en la recuperación de productos, bajos volúmenes de líquidos residuales a tratar y menores riesgos de contaminación, entre otros. Ello a permitido su gran difusión en procesos tales como: enriquecimiento proteico de productos y subproductos agroindustriales; el incremento de digestibilidad de materiales lignocelulósicos destinado a dieta animal; la producción de enzimas, metabolismo metabolitos variados, esporas para ser usados en transformaciones orgánicas y, la obtención de conidios para ser usados en el control de plagas (Goettel and Roberts, 1991).

### **d. Producción de hongos entomopatógenos en frascos de vidrio**

Para iniciar la producción, generalmente se parte de un cultivo Stock de la cepa seleccionada, mantenida en el laboratorio. A partir del mismo se realizan repiques bien en medios sólidos aptos para el cultivo y esporulación de hongos o directamente sobre granos de arroz previamente esterilizados.

La metodología de trabajo desarrollada recomienda emplear frascos conteniendo 100 g de arroz precocido y autoclavado, con un contenido de agua aproximadamente con 25% en base húmeda. Una vez cerradas con tapones de algodón u otro material que permita el intercambio gaseoso y evite los problemas de contaminación, se procede a su esterilización en autoclave a 120°C durante 30 minutos. Luego de esterilizados y enfriados, se procede a la inoculación de los frascos. Finalizada la inoculación, los frascos son colocados en ambiente termostatizados a una temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; es aconsejable que el cuarto de cultivo mantenga además una humedad relativa elevada (preferentemente no menos de 80 – 85%), a fin de evitar problemas de desecación. Los conidios junto con los granos de arroz, son secados a 25°C durante 72 horas, en un cuarto con una humedad relativa del 35%. Por último, el material secado es sometido a molienda, obteniéndose un producto con tamaño de partícula de 30 – 45 mesh, listo para ser sometido a control y posterior envasado (Lecuona, 1995).

#### **e. Producción de hongos entomopatógenos en bolsas plástico autoclavables**

Las dificultades técnicas relacionadas con la producción de hongos entomopatógenos en botellas de vidrio, pueden ser solucionados si las mismas son reemplazados por bolsas de polipropileno. En líneas generales la metodología de trabajo y los cuidados necesarios son los anteriormente descritos. Para lo cual se utilizan bolsas resistentes a la esterilización, que presentan dimensiones de 35 x 22 x 0.1 cm y contienen 300 g de arroz precocido y autoclavado (Lecuona, 1995).

**f. Producción de hongos entomopatógenos en cultivo sumergido (Cultivos líquidos agitados en zaranda)**

Las fermentaciones en cultivo sumergido (CS) brindan muchas posibilidades exitosas en la producción de hongos entomopatógenos. Así por ejemplo, el diseño de bioreactores y los sistemas de control de proceso disponible para la producción en CS son aspectos que cuentan con un alto grado de desarrollo y sofisticación. Permitiendo realizar los cultivos ejerciendo un estricto control sobre el entorno físico - químico que rodea a los microorganismos (Lecuona, 1995; Orietta y Larrea, 2003).

**e. Producción de hongos entomopatógenos en sistema bifásico (donde se realiza el inóculo en forma líquida agitado o estático y posteriormente se pasa al soporte sólido)**

Consta de dos etapas: una primera de multiplicación en medio de líquidos para obtener micelio en abundante cantidad (la que generalmente se extiende hasta el final de la fase de crecimiento exponencial), seguida de una segunda etapa en la cual el micelio obtenido es distribuido en bandejas (bien sobre un sustrato sólido o sobre un soporte inerte), alojados en un cuarto con temperatura y humedad controlados hasta alcanzar la esporulación (Soper and Ward, 1981; Orietta y Larrea, 2003).

**2. Producción in vitro**

Muchos entomopatógenos obligados, entre ellos ciertos hongos, tienen requerimientos nutricionales tan complejos que se torna sumamente dificultoso, sino imposible, cultivar los medios artificiales, por lo tanto, la única alternativa para propagarlos, es recurrir a su multiplicación por pasaje a través de insectos sensibles vivos (Ignoffo and Hink, 1971).

### **3. Formulación**

La formulación tiene los objetivos principales: proporcionar una forma económica y fácilmente utilizable de un principio activo con viabilidad prolongada y de ser posible, contribuir a incrementar su efectividad. Si bien se han logrado progresos significativos en la formulación de diferentes cepas de bacterias y virus entomopatógenos, los hongos constituyen aún un desafío en cuanto a su formulación se refiere (Pereira and Roberts, 1990; Samson *et al.*, 1988).

Las producciones masivas está íntimamente ligada a la taxa, los hongos pertenecientes a la división Matigomycotuina y Zygomycotina requieren un complejo nutricional más específico que los Deuteromycetes. Los hongos que presentan un rango estrecho de hospederos, pero que son muy virulentos, son generalmente los más difíciles de cultivar, aún más las especies que presentan fases parasíticas y saprofiticas en sus ciclos de vida (Orietta y Larrea, 2003).

#### **F. Utilización de hongos entomopatógenos**

Comienza a fines del siglo pasado en distintos países para controlar plagas tanto de la agricultura extensiva como en invernáculos. Es así como se muestra en el Cuadro 2, hongos entomopatógenos y sus hospedantes, mientras que en el Cuadro 3, principales organismos nocivos en los que se emplea el control biológico por aumento.

**Cuadro 2.** Hongos entomopatógenos y sus hospedantes.

HONGOS ENTOMOPATÓGENOS	HOSPEDANTES
<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Meharvarva fimbriolata</i> , <i>M. posticata</i> (Chicharritas de cañas de azúcar)
<i>M. anisopliae</i>	<i>Deois sp.</i> ; <i>Zulia sp.</i> (Chicharritas de las posturas)
<i>Beauveria bassiana</i> ; <i>M. anisopliae</i>	<i>Cornitermes bequaerti</i> (Termite)
<i>M. anisopliae</i>	<i>Nasutitermes exitiosus</i> (Termite)
<i>B. bassiana</i>	<i>Heterotermes tenuis</i> (Termite)
<i>M. anisopliae</i> ; <i>B. bassiana</i>	<i>Sphenophorus levis</i> ; <i>Metamasius hemipterus</i> (Gorgojo de la caña de azúcar)
<i>M. anisopliae</i> ; <i>B. bassiana</i>	<i>Cosmopolites sordidus</i> (Barrenador del banadero)
<i>Zoophthora radicans</i>	<i>Empoasca sp.</i> (Chicharrita verde del poroto)
<i>B. bassiana</i>	<i>Oryzophagus orizae</i> ; <i>Lissorhoptis tibialis</i> ; <i>Helodytes faveolatus</i> (Gorgojos acuáticos del arroz)
<i>M. anisopliae</i>	<i>Diploschema Rotundicolle</i> (Barrenador de los Citrus)
<i>B. bassiana</i>	<i>Acromyrmex sp.</i> (Hormiga basurera)
<i>Sporothrix insectorum</i>	<i>Leptopharsa heveae</i> (Mosca del caucho)
<i>M. anisopliae</i>	<i>Tibraca limbativentris</i> (Chinche del arroz)
<i>Aschersonia aleyrodidis</i>	Aleiródidos y coccidos en cítricos
<i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i>	<i>Hypothenemus hampei</i> (Barrenador del café)
<i>Podonectria</i> y <i>Atractium flammeum</i>	<i>Quadraspidiotus perniciosus</i> (Coccidos y Pulgones)
<i>Nomuraea rileyi</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i> (Oruga de la soja)
<i>M. anisopliae</i> y <i>B. bassiana</i>	<i>Diatraea saccharalis</i> (Barrenados de la caña de azúcar)
<i>Beauveria sp.</i>	<i>Castnia licus</i> (Barrenados de la caña de azúcar)
<i>B. bassiana</i>	<i>Ostrinia nubilalis</i> (Barrenados de la caña de azúcar)
<i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i>	<i>Sitophilus spp.</i> y <i>Rhizoperta dominica</i> (Plagas de granos almacenados)
<i>B. brongniartii</i>	<i>Melolontha melolotha</i> y <i>M. Hippocastani</i> (Insectos de suelo)
<i>M. anisopliae</i>	<i>Otiorynchus sulcatus</i> (Insectos de suelo)
<i>M. anisopliae</i> Var. <i>Majus</i>	<i>Oryctes rhinoceros</i> (Insectos de suelo)
<i>B. bassiana</i> ; <i>M. anisopliae</i>	<i>Nilaparvata lugens</i> (Insectos de suelo)
<i>B. bassiana</i> ; <i>M. anisopliae</i> ; <i>Entomophaga grylli</i>	Ortopteros (Acrididae)
<i>M. flavoviridae</i> ; <i>Aspergillus sp.</i> ; <i>Sorospora sp.</i>	
<i>B. bassiana</i>	<i>Anthonomus grandis</i> (Picudo del algodón)
<i>Arthrobotrys irregularis</i>	<i>Meloidogyne sp.</i> (Fitonemátodos)
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	<i>M. incógnita</i> (Fitonemátodos)

Fuente: Alves and Lecuona (1995).

**Cuadro 3.** Principales organismos nocivos en los que se emplea el control biológico por aumento.

<b>Organismos nocivos</b>	<b>Control biológico empleado</b>
<i>Coccus viridis</i>	<i>Verticillium lecanii</i>
<i>Saissetia spp.</i>	<i>Verticillium lecanii</i>
<i>Xylosandrus compactus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
<i>Meloidogyne spp.</i>	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
<i>Hemileia vastatrix</i>	<i>Verticillium lecanii</i>
<i>Rhizoctonia</i> y otras	<i>Trichoderma harzianum</i>
<i>Pseudococcus spp.</i>	<i>Beauveria bassiana</i>

Fuente: Vásquez (2003).

## **G. Algunos hongos entomopatógenos y sus hospedantes**

### **1. *Akanthomyces***

*Akanthomyces aculeatus*, coloniza sobre microlepidoptero de la familia Noctuidae. *Akanthomyces gracilis*, coloniza sobre *callibaphus* sp. (Pyrrhocoridae). *Akanthomyces pistillariiformis*, coloniza sobre microlepidopteros de la familia Sphingidae (Samson *et al.*, 1988).

### **2. *Aschersonia***

Reportan que dentro de este género hay especies como *A. aleyrodis* y *A. placenta*, infecta escamas insectiles (Coccidae y Diaspididae) y ninfas de moscas blancas (Cave, 1995). Así mismo se dice que: *Aschersonia aleyrodis* coloniza *Aleurothrixus floccosus* (mosca blanca de los cítricos), *Dialeurodes citri* (mosca blanca de los cítricos). También se reporta que: *Aschersonia aleyrodis*, coloniza ninfas de la familia Aleyrodidae, *Aschersonia cubensis* y *A. turbinato* coloniza insectos de la familia Lecanidae (Samson *et al.*, 1988).

### 3. *Aspergillus*

Reporte que indica a: *Aspergillus* sp., coloniza sobre *Anthonomus grandis* (picudo del algodonero) (Lecuona, 1995). También se dice que: *Aspergillus parasiticus*, coloniza sobre *Encarsia formosa* (Samson *et al.*, 1988).

### 4. *Aphanomyces*

*Aphanomyces astaci*, coloniza sobre *Pacifastacus Leniusculus* (Samson *et al.*, 1988).

### 5. *Asellaria*

La especie *Asellaria aselli*, coloniza sobre *Asellus aquaticus* (Samson *et al.*, 1988).

### 6. *Beauveria*

La especie *Beauveria bassiana*, coloniza sobre larvas de lepidopteros, adultos de cigarra. *Beauveria amorpha*, coloniza sobre adulto de coleopteros. *Beauveria velata*, coloniza sobre larva de lepidoptero (Samson *et al.*, 1988). Respecto a éste, existen preparaciones biológicas de *B. bassiana* originarias de los EE.UU., China y la Ex URSS como Boverin y Biotrol FBB, empleados en el control de *Ostrinia nubilalis* en maíz, *Leptinotarza decemlineata* en papa, *Cydia pomonella* en frutales y *Dentrolimus* sp. En forestales. Se debe aclarar que la lista de especies de insectos parasitados es tan amplia, así mismo *Beauveria bassiana*, controla *Spodoptera frugiperda*, *Sibine* sp., *Euprosterina eleasa*, *Hypothenemus hampei*, *Laspeyresia pomonella*. *B. brongniartii*, controla *Premnotrypes latitorax*, *Epitrix* sp., *Epicauta* sp. (Lecuona, 1995).

### 7. *Conidiobolus*

*Conidiobolus* sp., es ocasionalmente un gran factor de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* (Cave, 1995). De otro modo nos dice que: *Conidiobolus apiculatus*, coloniza sobre *Coccinellida*, *Sciaridae* sp. *C. coronatus*, coloniza larvas de escarabajo. *C. major*, coloniza dípteros adultos. *C. obscurus*, coloniza áfidos adultos (Samson *et al.*, 1988).

### 8. *Cordyceps*

*Cordyceps sobolifera*, ataca prepupas y pupas del defoliador del ciprés, *Glena bisulca*. *Cordyceps* atacan adulto de dípteros, himenópteros, homópteros, arañas, larvas y pupas de lepidópteros y coleópteros (Cave, 1995). Por otro lado se dice que las especies de *Cordyceps* como: *C. australis*, *C. calocerioides*, *C. gunnii*, *C. lloydii*, *C. martialis*, *C. Militaris*, *C. nutans*, *C. polyortha*, *C. sabolifera*, *C. tuberculata*, *C. unilateralis*, infectan y colonizan *Tenvirostitermes* sp., *Paltothyreus tarsatus*, *Mygalidae*, larvas de *Neleus* sp., *Camponotus* sp., larvas de *Elateridae*, pupa de Lepidópteros, *Callibaphus* sp. , ninfa de cigarritas (Samson *et al.*, 1988).

### 9. *Cordycepiodeus*

La especie *Cordycepiodeus octosporus*, *C. bisporus*, infectan y colonizan termitas (*Tenvirostitermes* sp.) (Samson *et al.*, 1988).

### 10. *Erynia*

Las especies *Erynia aquatic*, parasita y colonizan dípteros. *E. castrans*, parasitan y colonizan dípteros. *E. conica*, parasitan y colonizan dípteros acuáticos. *E. dipterigena*, *E. blunckii*, parasitan y colonizan moscas pequeñas y *Athalia rosae* respectivamente. *E. elateridiphaga*, parasitan y colonizan *Agrotis sputator*. *E. gammae*, *E. neoaphidis*, *E. radicans*, *E. rhizospora*, *E. plecopteri*, *E. virensis*, parasitan y colonizan a larvas de Noctuidae, *Acyrthosiphon pisum*, dípteros *Agrotis segetum* (Noctuidae), así mismo *Erynia neoaphidis* y *Erynia dipterigena*, las mismas que infectan a *Acyrthosiphon pisum* y *Liriomyza huidobrensis* respectivamente (Samson *et al.*, 1988).

### **11. *Entomophthora***

Las especies *Entomophthora planchoniana* ataca *Aphis spiraeicola* y *Toxoptera citricidus*. *Entomophthora musae* se ha encontrado atacando a la mosca casera. En cítricos en los trópicos es frecuentemente observado en *Aphis spiraeicola* y *Toxoptera citricidus* (Cavé, 1995). De igual manera las especies *Entomophthora culicis* y *E. muscae* se ha encontrado parasitando dípteros, *Entomophthora epiculata* sobre *Trichoplusia* y *Entomophthora planchoniana*, *Aphidis*, *Fresenii* y *Thaxteriana* sobre pulgones (Lecuona, 1995).

### **12. *Engyodontium***

La especie *Engyodontium aranearum* se ha encontrado atacando a arácnidos de la familia Apilionidae (Samson *et al.*, 1988).

### **13. *Fusarium***

Esta especie de *Fusarium coccophillum*, parasita a cochinillas (Lecuona, 1995).

### **14. *Granulomanus***

Para la especie *granulomanus* se dice que afectan a arañas pequeñas de la familia Salticidae (Samson *et al.*, 1988).

### **15. *Gibellula***

La especie *Gibellula alata* afecta a arañas pequeñas. *Gibellula leiopus* ataca a arañas de la familia Salticidae y *Gibellula pulchra* ataca a arañas grandes tropicales (Samson *et al.*, 1988).

### 16. *Hirsutella*

La especie *Hirsutella thompsonii* ataca a: *Phyllocoptruta oleibora*, *Retractus elaeis*, *Zulia entreriana*, *Aeneolamia selecta*, *Mahanarva posticata*, *Metamasius hemipterus*, *Diatraea* sp; *Spodoptera* sp., también *Hirsutella thompsonii* ataca a *Panonychus citri* (Vigiani, 1990). Así mismo *Hirsutella citriformis* es la que causa epizootias en el Delphacido *Nilaparvata lugens*, *Hirsutella versicolor* infecta cicadelidos de arroz en Asia (Cave, 1995) y *Hirsutella thompsonii* afecta ácaros (Bolaños, 2002). Finalmente se han encontrado especies de *Hirsutella citriformis* afectando a *Nilaparvata* sp. , *H. entomophila* afecta adultos de coleoptero, *H. jonesii* afecta a *Nephotettix* sp. , *H. sausserei* afecta a avispas *Polistes*, *H. versicolor* ataca a *Idiocerus* sp. (Samson *et al.*, 1988).

### 17. *Hymenostilbe*

Se han encontrado especies que parasitan a la mosca de la fruta como *H. dipterigena*, a hormigas como *H. formicarum* y a mosca comunes como *H. muscaria* (Lecuona, 1995). Así mismo las especies *Hymenostilbe dipterigena* ataca a la familia Tephritidae, *H. formicarun* ataca a hormiga camponotus, *H. muscaria* ataca mosca, *H. species* ataca la familia Gryllidae (Samson *et al.*, 1988).

### 18. *Legeriomyces*

Por otra parte la especie *Legeriomyces* sp., ataca a ninfas de mosca (Samson *et al.*, 1988).

### 19. *Nomuraea*

*Nomuraea rileyi* provoca epizootias sobre larvas de Noctuidae. Además *N. atypicola* que parasita arácnidos (Lecuona, 1995). De igual manera *Nomuraea atypicola* ataca a arañas de la familia *Mygalidae* sp., *Nomuraea rileyi* ataca a *Spodoptera exigua* (Samson *et al.*, 1988). Así *Nomuraea rileyi* ataca a *Spodoptera eridania*, *Spodoptera frugiperda*, *Anticarsia gemmatilis*. También *Nomuraea rileyi* ataca a *Heliothis zea*, *Spodoptera frugiperda*, *Plathypena includens*, *Agrothis gemmatilis* y *Plathypena scabra* (Cave, 1995). Finalmente *Nomuraea rileyi* es empleado para controlar *Trichoplusia* spp., *Plathypena scabra*, *Heliothis zea* y *Pieris rapae* (Bolaños, 2002).

### 20. *Nectria*

La especie *Nectria flammea* es patógeno de Diaspididae (Lecuona, 1995). De igual manera *Nectria flammea* ataca a *Ischnaspsis* sp., (Samson *et al.*, 1988).

### 21. *Pseudogibellula*

*Pseudogibellula formicarum* ataca a *Paltothyreus torsatus* (Samson *et al.*, 1988).

### 22. *Sporodiniella*

*Sporodiniella umbellata* ataca a la familia Membracidae (*Umbonia* sp.) (Samson *et al.*, 1988).

### 23. *Verticillium*

*Verticillium lecanii* es patógeno de *Coccus viridis*, *Ceroplastes floridensis*, *Aphis gossypii*. De igual manera *Verticillium lecanii* es una alternativa en Europa para controlar a moscas blancas, trips y áfidos, especialmente en cultivos bajo invernadero (Bolaños, 2002). Es más *Verticillium lecanii* infecta insectos, ácaros, y arañas; además,

es un saprofito de alimentos y materiales orgánicos. En Europa ha obtenido éxito en el control de áfidos, la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* y el *Thrips tabaci* en invernaderos. En México se ha obtenido buen control del áfido *Myzus persicae* en crucíferas (Cave, 1995). Así mismo *Verticillium* parasita diversos órdenes de insectos e incluso ácaros, es patógeno de *Coccus* sp., de áfidos (Samson *et al.*, 1988), controla pulgones, mosca blanca y trips en Inglaterra y Suiza (Lecuona, 1995).

#### **H. Características de algunos hongos entomopatógenos**

**DIVISIÓN** : **MYCOTINA (HONGOS)**

**Subdivisión** : **MASTIGOMYCOTINA**

Hongo con micelio no septado y zoosporas flagelados, presentan esporas de restricción o reposo y esporangios, generalmente globosos. Atacan insectos terrestres tornándolos a un aspecto anaranjado debido a sus esporas o esporangios.

Clase : Oomycetes

Orden : Saprolegniales

Familia : Saprolegniaceae

Género : *Aphanomyces* de Bary (1860).

Hifa (3-9 mm de diámetro), no septado, hialino, con el citoplasma granular y la colonia se forma un delicado, escaso, aracnoide, vagando el crecimiento sobre y dentro de medios de comunicación. Hifa principal comúnmente se bifurca en Y, la unión formada y ramas son a menudo cortas con un ápice puntiagudo. Zoosporangio (hasta 3-4 mm en la longitud) son delimitados de ramas hifales y están sinuosos, irregulares en el diámetro, e implican los segmentos grandes del talo vegetativo. Zoosporas primarios

enquistados en el orificio sobre aparición del zoosporangioforo. Zoosporas secundarias reniformes y lateralmente biflageladas. Oogonio llevan en la fase terminal sobre ramas cortas laterales, son subsférico (20 - 29  $\mu$ m de diámetro), con una pared (1 - 2  $\mu$ m grueso (espeso) que está liso en la superficie externa y sinuosa sobre él.

**Subdivisión : ZYGOMYCOTINA**

Presentan micelio no septado y son de reproducción sexual.

- Clase : Zygomycetes  
 Orden : Entomophthorales  
 Familia : Conidiobolaceae  
 Género : *Conidiobolus* Brefeld (1972).  
 Sinónimos : *Boudierella* constantin; *Delacroixia* Saccardo.

Presentan conidios liberados con fuerza. Conidios primarios con más de un núcleo, unitunicado; campanulado, esférico, periforme, elipsoidal o subcilindrico sin punto apical y papila definida redondeada o afilada. Conidios proyectados no rodeados de restos de membranas. Conidios primarios relativamente grandes con más de 8 núcleos en promedio; papila redondeada o afilada. Conidios secundarios semejantes a los primarios. Esporas de resistencia esféricas. Núcleos pequeños, no se tiñen o lo hacen levemente con lactofenoaceto orceina (LPAO), en promedio más de 50 por conidio.

- Familia : Entomophthoraceae  
 Género : *Entomophthora* Fresen. (1856).  
 Sinónimos : *Empusa* Cohn

Conidios primarios con más de un núcleo, unitunicado; campanulado, esférico, periforme, elipsoidal o subcilindrico. Conidios primarios con punto apical. Conidio primario proyectado que están rodeados por restos de una membrana conidial.

- Familia : Entomophthoraceae  
 Género : *Erynia* (Nowak. Ex Batko) Remaud. & Hennbert (1980).  
 Sinónimos : *Zoophthora* Batko, *Strongwellsea* Batko & Weiser

Conidios primarios uninucleados bitunicados; periformes elongados, fusiformes o cilíndricos. Conidióforos ramificados, penetran el tegumento del hospedante. Conidios primarios ovoide periforme o fusiforme; papila levemente redondeada, no claramente diferenciada del cuerpo del conidio. Conidios secundarios semejantes a los primarios o esféricos con o sin el pequeño punto apical.

- Orden : Mucorales  
 Familia : Entomophthoraceae  
 Género : *Sporodiniella* Boedijn (1959).

Esporangióforo marrón amarillo, largo de 1 cm de alto, sosteniendo en el ápice ramas en forma de verticilo, las cuales produce ramificaciones en forma de verticilo de 4 - 6 esporangióforos; cada terminal de la rama tiene una espina estéril, partiendo un único esporangio. Esporangio globoso de 25 - 50  $\mu\text{m}$  de diámetro marrón. Esporangiosporas (sub) globosas, hialino, con pared rugosa a fino. Zygosporas globosas, verrugosas y negras.

**Subdivisión : TRICHOMYCOTINA**

Micelio aseptado, tiene reproducción sexual.

- Clase : Trichomycetes  
 Orden : Harpellales  
 Familia : Legeriomycetaceae  
 Género : *Legeriomyces* Pouzar (1972).

Ramas adheridas a los talos en posición posterior de una tripa. Celdas subtenderador y generador de trichosporas. Trichosporas liberados con dos dependencias poseen Zygosporas.

- Familia : Asellarialceae  
 Orden : Asellariales  
 Género : *Asellaria* R. Poiss (1932).

Talos agregados hacia una posición posterior de una tripa. Celda bifurcada en forma de grapa. Reproducción de artrosporas en ramas laterales de los talos.

**Subdivisión : ASCOMYCOTINA**

Presentan micelio septado y esporas (ascosporas) producidas dentro de sacos llamados ascas, la que son estructuras de reproducción sexual meiótica ascógena o teleomorfa. Sin embargo varios de estos hongos también producen conidióforos y conidios dentro de la fase de producción asexual o anomórfica.

- Clase : Ascomycetes  
 Familia : Hypocreaceae  
 Orden : Clavicipitales  
 Género : *Cordycepiodeus* Stifler (1941).  
 Anamorfo : probablemente igual *Paecilomyces*.

Tienen ramas simples, clavadas y erectas. El micelio se origina desde la acción en el cuerpo del hospedante. Ascas sumergidos en ascostroma, con ápice estéril, asca clavada, liquidándose en su madurez, cada asca posee 2 ó 8 esporas, ascosporas anchos elipsoidales con 7 – 13 septas transversas sobre la madurez, muchas veces adheridos, con ligera pigmentación.

Familia : Clavicipitaceae  
 Género : *Cordyceps* (Fr.) Link (1833) nom. Cons  
 Sinónimos : *Ophiocordyceps* Peth; *Torrubia* Leveille  
 Anamorfo : *Akanthomyces*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Nomuraea*,  
*Paecilomyces*, *Paraisaria*, *Pseudogibbellula*, *Sporothrix*, "*Stilbella*" y *Verticillium*.

Ascosporas unicelulares, contenidas en vesículas características ("spore balls"); asociadas generalmente con abejas y otros dípteros. Ascosporas septados, no contenidas en vesículas ("spore balls"). Ascosporas multiseptadas solo con septas transversales, a menudo desarticulables; ascas cilíndricos a clavados. Ascosporas largas, clavadas a cilíndricos y multiseptadas. Ascas largos, filiformes, sin paredes bitunicadas pero con un espaciamiento apical. Estroma prominente, erecto, frecuentemente clavado con una porción apical fértil y estípote fértil.

Orden : Hypocreales  
 Familia : Hypocreaceae  
 Género : *Nectria* (Fr.) (Fr.) (1849).  
 Sinónimos : *Corallomyces* Berkeley & Curtis; *Sphaerostilbe* Tulasne & Tulasne.  
 Anamorfos : *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, *Verticillium*.

Ascosporas unicelulares, contenidos en vesículas características de ("spore balls"); asociadas generalmente con abejas y otros dípteros. Ascosporas septadas no contenidas en vesículas ("spore balls"). Ascosporas multiseptadas sólo con septas transversales a menudo desarticulables; ascas cilíndricos a clavados. Ascosporas elipsoidales a fusiforme, 2 ó 3 septas.

<b>Subdivisión</b>	:	<b>DEUTEROMYCOTINA</b>
Clase	:	Deuteromycetes
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Stilbaceae
Género	:	<i>Akanthomyces</i> Lebert (1858).
Sinónimos	:	<i>Insecticola</i> Manis
Telemorfos	:	<i>Cordyceps, Torrubiella</i>

Presentan micelio septado y ramificado, conidios producidos por fiálides en cadena o en cabezuelos de aspecto mucoide. Conidios en cadenas secas y a menudo largos fiálides conspicuos, generalmente aristada o en forma de botella, sobre conidióforos claramente distinguibles. Conidióforos sin una vesícula. Fiálides distribuidas a lo largo de sinemas como un himenio.

Orden	:	Sphaeropsidales
Familia	:	Sphaeropsidaceae
Género	:	<i>Aschersonia</i> Mont. (1848) nom.cons.
Telemorfos	:	<i>Hypocrella</i> .

Micelio septado y ramificado, con conidios producidos por fiálides en cadena o en cabezuelas de aspecto mucoide. Conidios no en cadenas sino en cabezuelas de aspecto mucoide Conidióforos en picnidios. Conidios generalmente fusiformes.

Orden	:	Moniliales
Familia	:	Moniliaceae
Género	:	<i>Aspergillus</i> Link (1809).
Sinónimo	:	<i>Sterigmatocytis</i> Cramer
Telemorfos	:	<i>Eurotium, Neosartorya, Emericella</i>

Presentan micelio septado y ramificado. Conidias producidos por fiálides en cadena o en cabezuelas de aspecto mucoide. Conidias en cadena secas y a menudo largas. Fiálides conspicuos, generalmente aristada o en forma de botella, sobre conidióforos claramente distinguibles. Conidióforos formados de un estípite no ramificado terminando en una vesícula que produce las células conidiogénicas y/o las métulas. Conidióforos originados simplemente del cuerpo del insecto.

Familia : Moniliaceae  
 Género : *Beauveria* Vuill. (1912).  
 Telemorfo : Cordyceps (No reportado)

Micelio septado y ramificado. Conidios producidos por una célula conidiogénica simpodial, frecuentemente con cicatrices o dentículos evidentes. Células conidiogénicas no distribuidas en densos himenios. Conidióforos sin estípite ni vesícula hinchada. Conidióforos no en esporodoquio, conidias unicelulares. Conidias de formas diferentes, células conidiogénicas en forma de botella, con una parte basal hinchada terminando en un raquis en zig-zag.

Familia : Moniliaceae  
 Género : *Engyodontium* de Hoog (1978).  
 Telemorfo : No se conoce.

Conidióforos hialinos, creciente a lo largo del substrato, un poco erecto, con ramas arreglados de tipo subverticilo; celda conidiogenoso en forma de punzón y de otro modo fiálide en forma de zamorilla marchitada, muchas veces la terminación en un raquis geniculado y formando conidia en corto dentículos; conidia con pared uniforme, hialino, con una celda.

Familia	:	Tuberculariaceae
Género	:	<i>Fusarium</i> Link (1809)
Sinónimo	:	<i>Atractium</i> Link, <i>Discofusarium</i> Petch; <i>Lechnidium</i> Giard; <i>Microcera</i> Desmazieres; <i>Psuedomicrocera</i> Petch.
Telemorfo	:	<i>Nectria</i>

Conidios producidos por fiálides en cadena o en cabezuela de aspecto mucoide. Conidios no en cadena en cabezuelas de aspectos mucoide, conidióforos no desarrollados en picnidio. Conidio con una ó más septas, falcados y con una célula basal característica.

Familia	:	Stilbaceae
Género	:	<i>Gibellula</i> Cavara (1894).
Telemorfo	:	<i>Torrubiella</i> .

Conidios producidos por fiálides en cadena o en cabezuela de aspectos mucoide. Conidios en cadenas secas y a menudo largas. Fiálides conspicuas, generalmente aristada o en forma de botella, sobre conidióforos claramente distinguibles. Conidióforos formados de un estípite no ramificado terminando en una vesícula que produce las células conidiogénicas y/o las métulas. Conidióforos frecuentemente unidos en sinemas; parasitando arañas.

Familia	:	Stilbaceae
Género	:	<i>Hirsutella</i> Pat. (1892).
Sinónimos	:	<i>Desmidiospora</i> Thaxter; <i>Synnematium</i> Speare; <i>Trichosterigma</i> Petch; <i>Troglobiomyces</i> Pacioni.
Telemorfos	:	<i>Cordyceps</i> , <i>Torrubiella</i> y " <i>Calonectria</i> ".

Conidios producidos por fiálides en cadena o en cabezuela de aspecto mucoide. Conidios no en cadena sino en cabezuelas de aspecto mucoide. Conidióforos no desarrollados en picnidio. Conidios no septados ni curvas. Sinemas presentes con estípite y cabezuela fértil mucoide. Fiálides de formas diferentes, no solamente cubriendo la parte apical del sinema; conidios generalmente menores de 5  $\mu\text{m}$ . Fiálides aislados o agrupadas en capas de tipo himenio a lo largo del sinema, con una parte basal ensanchada, estrechándose abruptamente en uno o más cuellos delgados y largos; conidios individuales o en pequeños grupos, típicamente cubiertos por una capa mucoide.

Familia : Stilbaceae  
 Género : *Hymenostilbe* Petch (1931).  
 Telemorfos : *Cordyceps*

Conidios producidos por una célula conidiogénica simpodial, frecuentemente con cicatrices o dentículos evidentes. Células conidiogénicas frecuentemente cilíndricas con numerosas cicatrices o dentículos, distribuidas a lo largo de los sinemas en capas densas con aspecto de himenio.

Familia : Moniliaceae  
 Género : *Nomuraea* Maubl. (1903).  
 Telemorfo : *Cordyceps* (for *N. atypicola*)

Conidios producidos por fiálides en cadena o en cabezuelas de aspecto mucoide. Conidios en cadenas secas y a menudo largos. Fiálides conspicuas, generalmente aristada o en forma de botella, sobre conidióforos claramente distinguibles. Conidióforos sin una vesícula. Fiálides distribuidas en forma diferente. Conidióforos simples o en sinema generalmente verticilados; conidios en largas cadenas divergentes. Fiálides con un cuello muy corto, conidióforos originando densos verticilos de ramificaciones y fiálides.

Familia	:	Stilbaceae
Género	:	<i>Pseudogibellula</i> Samson & H. C. Evans (1973).
Telemorfo	:	<i>Torrubiella</i>

Conidias producidos por una célula conidiogénica simpodial, frecuentemente con cicatrices o denticulos evidentes. Células conidiogénicas no distribuidas en densos himenios. Conidióforos con un estípote finalizando en una vesícula que origina métulas y células conidiogénicas.

Familia	:	Moniliaceae
Género	:	<i>Verticillium</i> Nees (1816).
Sinónimo	:	<i>Acrostalagmus</i> Corda
Telemorfos	:	<i>Cordyceps</i> , <i>Torrubiella</i> .

Conidios producidos por fiálides en cadena o en cabezuela de aspecto mucoide. Conidios no en cadenas sino en cabezuela de aspecto mucoide. Conidióforos no desarrollados en picnidio. Conidios no septados ni curvos. Sinemas ausentes o sin cabezuelas. Fiálides típicamente aristadas. Fiálides formando muchas conidias en cabezuelas. Fiálides en verticilos, originados sobre conidióforos ramificados.

Familia	:	Monoliaceae
Género	:	<i>Granulomanus</i> de Hoog & Samson (1978).
Telemorfo	:	<i>Torrubiella</i>

Conidios producidos por una célula conidiogénica simpodial, frecuentemente con cicatrices o denticulos evidentes. Células conidiogénicas no distribuidas en densas himenios. Conidióforos sin estípote ni vesícula hinchada conidióforos no en esporodóquio, conidios unicelulares. Conidios largos, en forma de varilla, generalmente nacen sobre células conidiogénicas verrugosas, asociadas con *Torrubiella* y *Gibellula*; parasitando arañas (Barnett and Hunter, 1978; Lecuona, 1995 y Samson *et al.*, 1988).

## I. Identificación de hongos entomopatógenos

Las características del micelio tienen un valor muy limitado, pero la presencia de tabiques en el micelio es importante. Sólo un grupo importante, los *Ficomycetos* (incluyendo *Chitridiales*, *Oomycetas*, *Zigomicetos*, *Trychomycetes*) presentan micelio no tabicado. La mayor parte de los *Basidiomycetos* presentan ganchos de conexión en su micelio, con excepción de royas y carbones. La presencia de los ganchos de conexión dará indicios que el hongo pertenece a los *Basidiomycetos* superiores, cuando no se formaron los cuerpos fructíferos propios de cada tipo. Estos crecimientos miceliales (1 ó más) se producen en los tabiques, conectando dos células adyacentes. La clasificación se basa sobre todo en el tamaño, forma, color y número de células en cada espora asexual (conidios) o sexual (Oosporas, Zygosporas, Ascosporas o Basidiosporas), y las características de los cuerpos fructíferos que cada tipo produce. Esto puede observarse con bastante claridad en montajes temporarios o permanentes sobre objetos (Streets, 1992).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **A. Ubicación del experimento**

La recolección de los hongos entomopatógenos se realizó en diferentes campos agrícolas de la Provincia de Leoncio Prado, estos fueron: Cafetal UNAS, Zoocriadero UNAS, Banco de Germoplasma UNAS, Fundo Agrícola UNAS (distrito de Rupa Rupa), Cayumba (distrito de Mariano Dámaso Beraún), Pueblo Nuevo (distrito de José Crespo Castillo), Santa Rosa (distrito de Padre Felipe y Luyando), San Juan de Tulumayo (distrito de Padre Felipe y Luyando), La Divisoria (distrito de Hermilio Valdizan) y Huacamayo (distrito de Padre Felipe y Luyando); Provincia de Leoncio Prado y departamento de Huánuco (Figura 4); cuya situación geográfica es 10 °12' 45'' Latitud Sur y 83° 35' 38'' Longitud Oeste y 670 m.s.n.m., en los periodos comprendidos de julio a octubre del 2001.

#### **B. Colección y envío de insectos y arácnidos parasitados**

La búsqueda y recolección de insectos y arácnidos enfermos, muertos y colonizados por hongos entomopatógenos en condiciones naturales, se realizó en algunos campos agrícolas de la provincia de Leoncio Prado. Encontrándose estos insectos y arácnidos en el follaje de las plantas, en las axilas de las hojas, interior de los tallos, corteza de los árboles o sobre la superficie del suelo.

Aquellos insectos y arácnidos que se encontraban muertos y adheridos al vegetal fueron aislados con la porción del vegetal y colocados individualmente en bolsas de polietileno, con dimensiones de 2 pulg x 4 pulg y trasladados al laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva donde fueron conservados en refrigeración. Asimismo los insectos enfermos fueron colocados en cámara húmeda para la observación de algún tipo de esporulación.

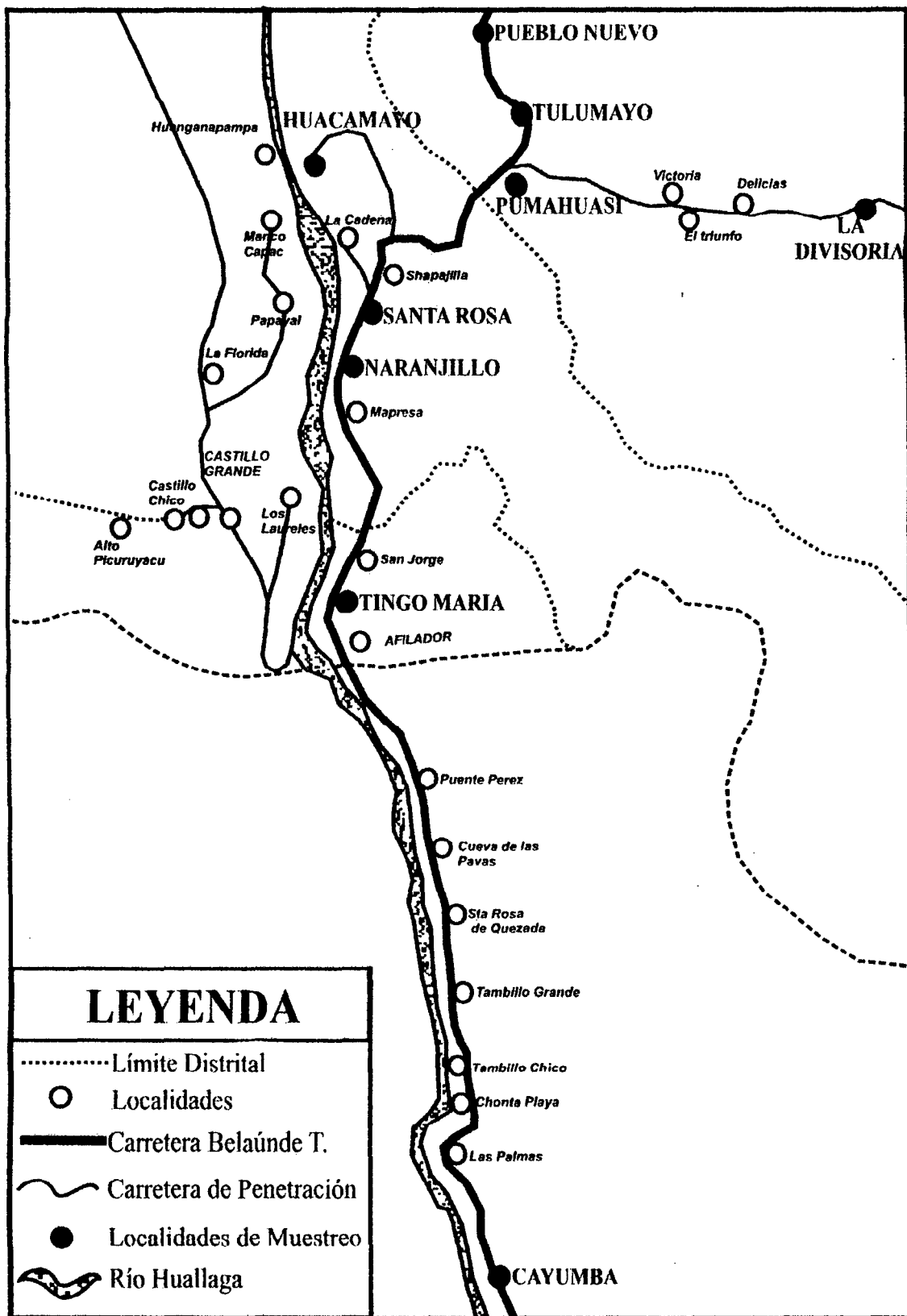


Figura 4. Localidades de muestreo en los diferentes sectores de Leoncio Prado.

### C. Parámetros registrados

#### 1. Frecuencia de ocurrencia

Este parámetro se considero para los hongos entomopatógenos presentes en hospedantes diferentes por localidades utilizándose la siguiente fórmula:

**FOHEP= Suma de hongos entomopatógenos presentes en hospedantes diferentes por localidades**

Donde:

FOHEP= Frecuencia de ocurrencia de los hongos entomopatógenos  
(Ramírez, 2001)

#### 2. Porcentaje de localidades con presencia de hongos entomopatógenos

Este factor se obtuvo utilizando la siguiente fórmula:

$$\%LHEP = \frac{NLHEP}{NTL} \times 100$$

Donde:

%LHEP = Porcentaje de localidades con hongos entomopatógenos

NLHEP = Número de localidades con hongos entomopatógenos

NTL = Número total de localidades (Ramírez, 2001).

### D. Aislamiento

El aislamiento se realizó según la metodología propuesta por French y Teddy (1980) la que consistió en:

### **1. Desinfestación de los insectos y arácnidos esporulados**

Los insectos y arácnidos esporulados fueron sumergidos individualmente en hipoclorito de sodio (NaClO) a 0.3% durante tres minutos; seguidamente se enjuagó por tres veces con agua destilada estéril, colocándolos en cámara húmeda hasta obtener la esporulación.

### **2. Siembra en PDA**

La siembra fue apoyada con la utilización de un estereoscopio con aumentos de 0.5X; 1.0X; 1.5X; 2.0X. Se tomó una muestra con un estilete flameado en alcohol a 70%, se procedió a la siembra en cajas petri con medio de cultivo PDA (Papa – Dextrosa - Agar), en el que se adicionó un antibiótico (estreptomicina 130 mg/L., de medio), en medio casi frío y se incubó a una temperatura promedio de 25°C con luz continua.

### **3. Observación de las siembras**

Las observaciones se realizaron diariamente para detectar oportunamente posibles contaminaciones y realizar su purificación respectiva.

### **4. Incremento del inóculo**

Se realizó con la finalidad de producir estructuras propagativas (esporas y conidias), empleándose bolsas de polipropileno con dimensiones de 3 pulg x 8 pulg conteniendo 20 g de arroz precosido y 5 ml de agua destilada; las que fueron selladas con grapas en la parte superior para su esterilización en autoclave a 120°C por 30 minutos. Una vez enfriado, se adicionó 4 a 5 discos (1 cm de diámetro) del cultivo puro en cada una de las bolsas. Estas se movieron para distribuir uniformemente el inóculo y se incubaron de 7 a 15 días.

## **E. Prueba de patogenicidad**

### **1. Obtención de insectos y arácnidos hospedantes**

La obtención de insectos y arácnidos hospedantes en campo, se realizó con la ayuda de una red entomológica, y luego fueron trasladados al laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva donde se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.3% y enjuagados por tres veces con agua destilada. Una vez desinfectados se colocaron en envases de plástico (tapers) con dimensiones de 40 cm x 20 cm x 15 cm conteniendo sus respectivas fuentes de alimentación para cada tipo de insectos y arácnidos.

### **2. Inoculación**

Disolviendo 2 g del sustrato arroz en 4 ml de agua estéril (Proporción 1:2), se cosechó esporas o conidias de cada aislamiento. La inoculación se realizó por medio de un baño total, con una jeringa de inyección. Considerándose para cada tratamiento 10 insectos o arácnidos vivos a quienes se les proporcionó sus alimentos respectivos.

### **3. Evaluación**

Se evaluaron diariamente el número de insectos o arácnidos muertos en cada uno de los tratamientos. Los muertos fueron colocados individualmente en cámara húmeda para favorecer la esporulación del hongo; éste evento permite confirmar que la muerte del insecto se debe a la acción parasítica del hongo inoculado. Los hongos que esporularon sobre la superficie del insecto muerto fueron nuevamente reaislados y observados al microscopio para reconfirmar la presencia del entomopatógeno.

## **F. Identificación de hongos entomopatógenos, insectos y arácnidos hospedantes**

### **1. Montaje y sellado de hongos entomopatógenos**

Se realizó a partir de las estructuras propagativas (conidias y esporas) e hifas. Se realizaron montajes semipermanentes, colocando el material con una gota de azul metileno y/o lactofenol, dependiendo de la coloración del hongo, tanto para las estructuras propagativas como para las hifas. Finalmente se procedió a sellar cada uno de los montajes, bordeando el cubreobjeto con glass de uñas.

### **2. Identificación de hongos entomopatógenos**

La identificación hasta nivel de género, se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, utilizándose un microscopio con aumentos de 5X, 10X, 40X, 100X, y las claves de Barnett and Hunter (1978), Lecuona (1995), Gilman (1975), Toussoun and Nelson (1978), Samson *et al.* (1988) y Raper and Fenell (1965).

### **3. Identificación de insectos y arácnidos hospedantes**

La identificación de los insectos y arácnidos hospedantes se realizó en los ambientes del laboratorio de Entomología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para lo cual se utilizó un estereoscopio con aumentos de 0.5X, 1.5X, 2.0X, y la colaboración del Blgo. M.Sc. José L. Gil Bacilio.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. De la identificación de hongos entomopatógenos

En el Cuadro 4, se muestra la posición taxonómica de 23 géneros de hongos entomopatógenos identificados en diferentes insectos y arácnidos hospedantes que frecuentan diversos cultivos agrícolas en diferentes lugares de Leoncio Prado; observándose que un género pertenece a la subdivisión Mastigomycotina, cuatro géneros pertenecen a la subdivisión Zygomycotina, dos géneros a la subdivisión Trichomycotina, tres géneros a la subdivisión Ascomycotina y 13 géneros a la subdivisión Deuteromycotina, agrupándose en 12 familias.

Del mismo modo se aprecia que la subdivisión Deuteromycotina con la clase Deuteromycetes son los más abundantes, debido posiblemente a que se dan muchas generaciones o ciclos en un periodo definido, a las condiciones medio ambientales favorables y por tener un mayor rango de hospedantes. Dentro de la subdivisión mencionada predomina el orden Moniliales con dos familias Stilbaceae y Moniliaceae, debido a que sus micelios y conidios se producen libremente en la superficie del hospedante, facilitando su rápida diseminación e infección en otros hospedantes, tal como lo menciona Lecuona (1995); Barnett y Hunter (1978).

#### 1. Insectos y arácnidos hospedantes de hongos entomopatógenos

En el Cuadro 5, se muestra a los insectos y arácnidos que han sido encontrados e identificados como hospedantes de cada uno de los hongos entomopatógenos. Encontrándose 31 géneros y agrupados en 19 familias, de las cuales siete familias se han identificado hasta género, quedando 22 géneros agrupados en 12 familias sin identificar, comportándose algunos como plagas y otros como predadores y parasitoides. Así mismo se registra para cada hongo entomopatógeno sus respectivos hospedantes y localidades de Leoncio Prado, donde fueron recolectados.

**Cuadro 4.** Posición taxonómica de los géneros de hongos entomopatógenos identificados en algunos sectores de Leoncio Prado, durante el experimento.

	Subdivisión y Clase	Orden y Familia	Género
REINO	Mastigomycotina: Oomycetes	Saprolegniales: Saprolegniaceae	<i>Aphanomyces</i>
	Zygomycotina: Zygomycetes	Entomophthorales: Conidiobolaceae	<i>Conidiobolus</i>
	Zygomycotina: Zygomycetes	Entomophthorales: Entomophthoraceae	<i>Entomophthora</i>
	Zygomycotina: Zygomycetes	Entomophthorales: Entomophthoraceae	<i>Erynia</i>
	Zygomycotina: Zygomycetes	Mucorales: Entomophthoraceae	<i>Sporodiniella</i>
	Trichomycotina: Trichomycetes	Harpellales: Legeriomycetaceae	<i>Legeriomyces</i>
	Trichomycotina: Trichomycetes	Asellariales: Asellariaceae	<i>Asellaria</i>
	Ascomycotina: Ascomycetes	Hypocreales: Hypocreaceae	<i>Cordycepiodeus</i>
	Ascomycotina: Ascomycetes	Clavicipitales: Clavicipitaceae	<i>Cordyceps</i>
	FUNGI	Ascomycotina: Ascomycetes	Hypocreales: Nectriaceae
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Moniliales: Stilbaceae	<i>Akanthomyces</i>
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Sphaeropsidales: Sphaeropsidaceae	<i>Aschersonia</i>
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Moniliales: Moniliaceae	<i>Aspergillus</i>
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Moniliales: Moniliaceae	<i>Beauveria</i>
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Moniliales: Moniliaceae	<i>Engyodontium</i>
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Moniliales: Tuberculariaceae	<i>Fusarium</i>
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Moniliales: Stilbaceae	<i>Gibellula</i>
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Moniliales: Stilbaceae	<i>Hirsutella</i>
Deuteromycotina: Deuteromycetes		Moniliales: Stilbaceae	<i>Hymenostilbe</i>
DIVISIÓN MYCOTINA	Deuteromycotina: Deuteromycetes	Moniliales: Moniliaceae	<i>Nomuraea</i>
	Deuteromycotina: Deuteromycetes	Moniliales: Stilbaceae	<i>Pseudogibellula</i>
	Deuteromycotina: Deuteromycetes	Moniliales: Moniliaceae	<i>Verticillium</i>
	Deuteromycotina: Deuteromycetes	Moniliales: Moniliaceae	<i>Granulomanus</i>

**Cuadro 5.** Hospedantes de los hongos entomopatógenos identificados en diferentes cultivos.

HONGOS (HEP)	HOSPEDANTES		LUGAR DE COLECCIÓN (HEP y H)
	Insectos y Arácnidos		
	Familia	Especie	
<i>Akanthomyces</i> - 1	Noctuidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	Santa rosa, La Divisoria <sup>(1)</sup>
<i>Akanthomyces</i> - 2	Coccidac <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Coccus</i> sp. <sup>(a)</sup>	La Divisoria <sup>(2)</sup>
<i>Aschersonia</i>	Aleyrodidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo, Banco de Germoplasma UNAS <sup>(3)</sup>
<i>Aspergillus</i>	Aphelinidac <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(c)</sup>	Fundo UNAS, Tulumayo <sup>(3)</sup> San Juan de Tulumayo <sup>(4)</sup>
<i>Aphanomyces</i>	Gracilariidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	Santa rosa <sup>(5)</sup>
<i>Asellaria</i>	Sciaridae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4)</sup> Santa rosa <sup>(5)</sup>
<i>Beauveria</i> - 1	Scolytidac <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Hypothenemus hampei</i> <sup>(a)</sup>	La Divisoria, Cayumba, Huacamayo, Pueblo Nuevo, Cafetal UNAS, Fundo UNAS <sup>(2)</sup>
<i>Beauveria</i> - 2	Formicidac <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Atta cephalotes</i> <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(6, 7)</sup>
<i>Beauveria</i> - 3	Brassicidae <sup>(**)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(6, 7)</sup>
<i>Beauveria</i> - 4	Chrysomelidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	Santa rosa <sup>(5)</sup>
<i>Conidiobolus</i> - 1	Sciaridae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4)</sup>
<i>Conidiobolus</i> - 2	Noctuidac <sup>(**)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Spodoptera frugiperda</i> <sup>(a)</sup>	Fundo UNAS <sup>(8)</sup>
<i>Cordyceps</i>	Noctuidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	Santa rosa, Zocriadero UNAS <sup>(1)</sup>
<i>Cordycepiodeus</i>	Cercopidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	Fundo UNAS <sup>(4)</sup>
<i>Erynia</i>	Diaspididae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Pinnaaspis aspidistrae</i> <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(3)</sup>
<i>Entomophthora</i>	Aphididae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Aphis spiraecola</i> <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(3)</sup>
<i>Engyodontium</i>	Lampyridae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4)</sup>
<i>Fusarium</i>	Cercopidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	Pueblo nuevo <sup>(9)</sup>
<i>Granulomanus</i>	Salticidae <sup>(*)</sup> ( <sup>A</sup> )	n.d <sup>(b)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4)</sup>
<i>Gibellula</i>	Salticidae <sup>(*)</sup> ( <sup>A</sup> )	n.d <sup>(b)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4)</sup>
<i>Hirsutella</i>	Vespidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(b)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(5)</sup> , La Divisoria <sup>(2)</sup> , Huacamayo <sup>(2)</sup>
<i>Hymenostilbe</i>	Pyrilidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	Santa rosa <sup>(5)</sup>
<i>Leucgriomyces</i> - 1	Lyonctiidac <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Leucoptera coffeella</i> <sup>(a)</sup>	La Divisoria, Cafetal UNAS <sup>(2)</sup>
<i>Legeriomyces</i> - 2	Coccidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Saissetia coffeae</i> <sup>(a)</sup>	La Divisoria, Cafetal UNAS <sup>(2)</sup>
<i>Nomuraea</i>	Gelchidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	Santa rosa <sup>(5)</sup>
<i>Nectria</i> - 1	Sciaridae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4,3)</sup>
<i>Nectria</i> - 2	Diaspididae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4,3)</sup>
<i>Pseudogibellula</i>	Salticidae <sup>(*)</sup> ( <sup>A</sup> )	n.d <sup>(b)</sup>	La Divisoria <sup>(2)</sup>
<i>Sporodiniella</i> - 1	Cercopidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4)</sup>
<i>Sporodiniella</i> - 2	Sciaridae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	n.d <sup>(a)</sup>	San Juan de Tulumayo <sup>(4)</sup>
<i>Verticillium</i>	Coccidae <sup>(*)</sup> ( <sup>l</sup> )	<i>Coccus</i> sp. <sup>(a)</sup>	La Divisoria, Pueblo, Nuevo Huacamayo, Cafetal UNAS, Cayumba, San Juan de Tulumayo <sup>(2)</sup>

n.d: no determinado <sup>(a)</sup> Plaga <sup>(b)</sup> Predator <sup>(c)</sup> Parasitoide <sup>(l)</sup> Insectos <sup>(A)</sup> Arácnidos

<sup>(1)</sup> *Theobroma cacao* <sup>(2)</sup> *Coffea* sp. <sup>(3)</sup> *Citrus sinensis* <sup>(4)</sup> *Solanum sessiliflorum* <sup>(5)</sup> *Persea americana*

<sup>(6)</sup> *Elaeis guineensis* <sup>(7)</sup> *Musa* sp. <sup>(8)</sup> *Zea mays* <sup>(9)</sup> *Rosaceae*

HEP: Hongos entomopatógenos H: Hospedante

<sup>(\*)</sup> Estado adulto <sup>(\*\*)</sup> Estado larval

### *Akanthomyces*

Este género se encontró colonizando microlepidópteros adultos de la familia Noctuidae y Coccidae (*Coccus* sp.), infestando *Theobroma cacao* y *Coffea* sp., respectivamente en Santa Rosa y La Divisoria, debiéndose posiblemente a que este género tenga más de un hospedante dentro de la zona de estudio. Al respecto Samson *et al.* (1988), reporta ciertas especies entomopatógenas y sus hospedantes como *Akanthomyces gracilis*, colonizando *Callibaphus* sp. (Pyrrhocoridae), *A. pistillariiformis* colonizando microlepidópteros de la familia Sphingidae y *A. aculeatus* colonizando microlepidópteros de la familia Noctuidae.

Vale destacar que el hongo *Akanthomyces* podría ser considerado en el futuro dentro de un plan estratégico de control biológico de noctuidos y coccidos, de manera especial contra *Spodoptera frugiperda* en maíz y *Saissetia* sp., *Coccus* sp., plagas de café, olivo, cítricos, aguacate, laurel y otros que han sido reportado en diversos lugares de nuestro país por Bondar (1939); Campos (1965) y Cisneros (1980).

### *Aschersonia*

Entomopatógeno que ha sido registrado en adultos de moscas blancas de la familia Aleyrodidae, infestando *Citrus sinensis* (naranja dulce) en San Juan de Tulumayo y Banco de Germoplasma UNAS, probablemente este hongo tenga especificidad sobre esta familia insectil, coincidiendo en parte con Samson *et al.* (1988), quien reporta a *Aschersonia aleyrodis* colonizando ninfas de la familia Aleyrodidae y otras especies colonizando diversas familias insectiles. De igual manera, Cave (1995), reporta a *A. aleyrodis* y *A. placenta*, que infectan escamas insectiles (Coccidae y

Diaspididae) y ninfas de moscas blancas, *Aschersonia aleyrodis* colonizando *Aleurothrixus floccosus* y *Dialeurodes citri* (moscas blancas de los cítricos), plagas primarias e indirectas que favorecen el crecimiento de fumagina en las hojas de los naranjos Cisneros (1980), por lo que *Aschersonia* también podría ser considerado como una alternativa de control biológico de plagas en este cultivo, de manera especial en agroecosistemas con bajas precipitaciones.

### *Aspergillus*

Este género solo fue encontrado colonizando avispidas adultas de la familia Aphelinidae, en *C. sinensis* (naranja dulce) y *Solanum sessiliflorum* (cocona) instalados en el Fundo UNAS y en San Juan de Tulumayo, coincidiendo con Samson *et al.* (1988), quienes reportaron *Aspergillus parasiticus* colonizando al afelínido *Encarsia formosa*. De igual manera Lecuona (1995), reporta que *Aspergillus* sp., colonizando *Anthonomus grandis* (picudo mexicano del algodón). Estos registros incentivan el uso de programas de control biológico en algodón contra *Anthonomus vestitus* (picudo peruano), plaga muy dañina en la costa peruana Enríquez *et al.* (1975); Cisneros (1980); García (1978).

### *Aphanomyces*

Al respecto Samson *et al.* (1988), nos indica que *Aphanomyces astaci*, coloniza sobre *Pacifastacus leniusculus* (cangrejo de mar), mientras que en la zona de estudio fue registrado colonizando individuos adultos de la familia Gracilariidae, infestando *Persea americana* (palto) en Santa Rosa. Según Cisneros (1980), estos fitófagos son minadores de hojas de cultivos donde causan daños mínimos en cuanto a la producción.

### *Asellaria*

Registrado que moscas adultas de la familia Sciaridae son colonizados por éste entomopatógeno, en *S. sessiliflorum* (cocona) y *P. americana* (palto) en Santa Rosa y San Juan de Tulumayo. Sobre el referente no existe información para la zona estudiada. Sin embargo Samson *et al.* (1988), reportó que *Asellaria aselli*, coloniza sobre *Asellus aquaticus* (Asellidae). Según Cornell (2003), las larvas de Sciaridae son de hábitos gregarios y generalmente se alimentan de materia orgánica y de frutas en proceso de descomposición, pero también han sido registradas causando daños en plantas.

### *Beauveria*

Este entomopatógeno se ha identificado colonizando adultos de Scolytidae (*Hypothenemus hampei*), Formicidae (*Atta cephalotes*), Chrysomelidae y larvas de Brassolidae, en *C. arabica* (café), *Elaeis guineensis* (palma aceitera), *Musa* sp., (plátano) y *P. americana* (palto) en La Divisoria, Cayumba, Huacamayo, Pueblo Nuevo, Cafetal UNAS, Fundo UNAS, San Juan de Tulumayo y Santa Rosa, coincidiendo con los reportes de Samson *et al.* (1988), quienes dicen que *Beauveria bassiana* coloniza larvas de lepidopteros y adultos de cigarra, *B. amorpha* coloniza adultos de coleopteros, *B. velata* coloniza larvas de lepidopteros. De igual modo Lecuona (1995), sostiene que *B. bassiana* es empleado en el control de *Ostrinia nubilalis* en maíz, *Leptinotarza decemlineata* en papa, *Cydia pomonella* en frutales y *Dentrolimus* sp., en forestales, y *B. bassiana* controlando *S. frugiperda*, *Sibine* sp., *Euprosteria eleasa*, *Hypothenemus hampei*, *Laspyresia pomonella*, *B. brongniartii* controla *Premnotrypes latithorax*, *Epitrix* sp., *Epicauta* sp., en diversos agroecosistemas del Perú.

Este género ha sido trabajado por Coaguila (2001) y Jara (2003), para controlar gorgojo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus*), obteniéndose buenos resultados en Tingo María, por lo que es necesario continuar con los ensayos de *Beauveria* en el control de este fitófago y otros como Chrysomelidae, Brassolidae, *Hypothenemus hampei* y *Atta cephalotes*, plagas de importancia económica en diferentes cultivos, reportados por Beingolea (1967); Carrasco (1962); Cornell (2003); De Ingunza (1966); Forsythe (1992); Fedepalma - Cenipalma (1997) y Cabezas *et al.* (2003).

### ***Conidiobolus***

Entomopatógeno que se encontró colonizando moscas adultas de la familia Sciaridae y larvas de lepidopteros de la familia Noctuidae (*S. frugiperda*) en *S. sessiliflorum* (cocona) y *Zea mays* (maíz) en San Juan de Tulumayo y Fundo UNAS, coincidiendo con Cave (1995), quien registra a *Conidiobolus* sp., como factor de mortalidad ocasional de larvas de *S. frugiperda*. De igual manera Samson *et al.* (1988), reportaron a *Conidiobolus apiculatus* colonizando Coccinellidae y Sciaridae, mientras que *C. coronatus* coloniza larvas de escarabajo, *C. major* dípteros adultos y *C. obscurus* áfidos adultos.

Es interesante resaltar la interacción *Conidiobolus* y *S. frugiperda*, ya que éste insecto es considerado como plaga clave en maíz y otros cultivos Bondar (1939); Campos (1965), Cisneros (1980) y Cornell (2003), situación que incentiva a investigar más sobre éste entomopatógeno y poder contribuir en la solución de ciertos problemas fitosanitarios que estarían afectando a los agricultores de nuestra zona.

### ***Cordyceps***

Biocontrolador que se ha registrado colonizando adultos de la familia Noctuidae, infestando *T. cacao* (cacao) en Santa Rosa y Zoocriadero UNAS. Al parecer este entomopatógeno es específico para esta familia insectil, pero no se descarta su afinidad por otros hospedantes, tal como indica Cave (1995); quien registró *Cordyceps sabolifera*, atacando prepupas y pupas del defoliador del ciprés y *Glena bisulca* (Geometridae). Otras especies de *Cordyceps* atacan adultos de dípteros, himenópteros, homópteros, arañas, larvas y pupas de lepidópteros y coleópteros. Así mismo Samson *et al.*, (1988), reportaron a *Cordyceps australis*, *C. sabolifera* y *C. tuberculata*, entre otros infectando y colonizando *Tenvirostitermes* sp., *Paltothyreus tarsatus*, *Mygalidae*, larvas de *Neleus* sp., *Camponotus* sp., larvas de *Elateridae*, pupas de lepidópteros, *Callibaphus* sp., y ninfas de cigarritas.

Cabe resaltar que *Cordyceps* al igual que otros entomopatógenos podría ser usado en el control de noctuidos y al parecer serían aún más importantes en el control de termitas, insectos muy abundantes y destructivos en la zona de estudio.

### ***Cordycepiodeus***

Para la zona de estudio los Cercopidae adultos se constituyen en hospedantes de *Cordycepiodeus*, infestando *S. sessiliflorum* (cocona) en el Fundo UNAS. Al respecto no existe información; sin embargo Samson *et al.* (1988), reportó *Cordycepiodeus octosporus*, *C. bisporus* infectando y colonizando termitas (*Tenvirostitermes* sp.).

Este entomopatógeno se constituye en una alternativa de control biológico contra cercópidos (“salivazos”) y termitas, insectos de importancia económica, reportado por Evans (1966) y Cornell (2003), y muy abundantes en la zona de estudio, pero que no han sido estudiados hasta la fecha.

### ***Erynia***

Este género se ha encontrado colonizando adultos de *Pinnaspis aspidistrae* (Diaspididae), infestando *C. sinensis* (naranja dulce) en San Juan de Tulumayo, coincidiendo con los reportes de Alata (1973), Cisneros (1980); Cornell (2003); Toussoun and Nelson (1978), quienes reportan a éste pseudocóccido como plaga importante en cítricos. Así mismo, Samson *et al.*, (1988), reportaron otros hospedantes para éste género, entre los más importantes *Erynia aquatic*, *E. dipterigena* que parasitan y colonizan dípteros., *E. elateridiphaga* parasitando *Agrotis sputator* y *E. neophidis* y otros parasitan larvas de noctuidos, *Acyrtosiphon pisum*, dípteros, *Agrotis segetum* (Noctuidae).

De todo lo expuesto, este entomopatógeno se podría utilizar para controlar *Acyrtosiphon pisum* y *Liriomyza huidobrensis* en cultivos de la costa peruana.

### ***Entomophthora***

Biocontrolador que ha sido registrado en adultos de *Aphis spiraeicola* (Aphididae), infestando *C. sinensis* (naranja dulce) en San Juan de Tulumayo. Considerando los reportes de Lecuona (1995); Cave (1995) y Cisneros (1980); el género *Entomophthora* podría ser utilizado en el control de moscas caseras y zancudos, éste último muy abundante en épocas de alta precipitación en la zona de estudio, de igual modo en el control de pulgones cuando las condiciones agroecológicas lo amerite. Si bien es cierto en Tingo María éstos áfidos no constituyen mayor problema pero si lo son en otras zonas de nuestro país.

### ***Engyodontium***

Este género solo fue registrado colonizando individuos insectiles adultos de la familia Lampyridae, en cocona en San Juan de Tulumayo, no se descarta que éste género podría tener otros hospedantes como lo confirma Samson *et al.* (1988), quienes reportaron *Engyodontium araneorum*, colonizando arañas de la familia Apilionidae, mientras que Beingolea (1963), reporta a la familia Lampyridae como plaga defoliadora de algunos cultivos en nuestro país.

Estos registros incentivan a la investigación sobre éste entomopatógeno y poder contribuir en la solución de ciertos problemas fitosanitarios que estarían afectando a los agricultores de algunos lugares del país.

### ***Fusarium***

Estudios anteriores en esta zona identificaron cepas de este género, reportado por Cabezas (1995), sin lograr determinar hospedante animal alguno. Al respecto éste género se ha registrado colonizando adultos de la familia Cercopidae, infestando plantas de la familia Rosaceae en Pueblo Nuevo. Así mismo Cornell (2003) y Evans (1966), reportaron a la familia Cercopidae como plaga de diferentes cultivos de nuestro país. Considerando los reportes de Lecuona (1995), el género *Fusarium* podría ser utilizado en el control de *Sphenorhina liturata* Var. *ruforivulata*, el mismo que es importante plaga de la caña de azúcar en Brasil.

Si bien es cierto en Tingo María éstos cercópidos no constituyen mayor problema, no se descarta en el futuro con la implementación de extensas áreas de caña de azúcar para extraer etanol, y ser considerados como elementos de control biológico ya que éste género ha sido trabajado por Cerna (1993), para controlar escoba de bruja en el cacao (*Crinipellis pernicioso*), obteniéndose resultados no favorables en este caso en Tingo María.

### ***Granulomanus***

Este entomopatógeno fue registrado colonizando arañas de la familia Salticidae en cocona para la localidad de San Juan de Tulumayo. Al respecto Samson *et al.* (1988), reportaron que éste género infecta y coloniza arañas pequeñas de la familia Salticidae. Sobre el referente no existe información para la zona estudiada.

### ***Gibellula***

Dentro de la zona de estudio se ha registrado a éste género colonizando adultos de Salticidae en cocona para San Juan de Tulumayo, no encontrándose mayor información al respecto. Sin embargo Samson *et al.* (1988), reportó a la especies de éste género infectando y colonizando arañas de la familia Salticidae y arañas grandes tropicales. Preocupa que éstos entomopatógenos como *Granulomanus* y *Gibellula* estén controlando arañas de la familia Salticidae, los que según Aguilar (1968); Aguilar *et al.* (1977) y Cisneros (1980); son importantes depredadores de una diversidad de plagas agrícolas. Por lo que se hace necesario realizar exhaustivos estudios para verificar esta situación.

### ***Hirsutella***

Este entomopatógeno se ha registrado colonizando Vespidae, en *C. arabica* (café) y *P. americana* (palto), para San Juan de Tulumayo, La Divisoria y Huacamayo. Considerando los reportes de Bolaños (2002); Vigiani (1990); Cave (1995) y Samson *et al.* (1988); el género *Hirsutella* podría ser considerado en el control de *Zulia entreriana*, *Aeneolamia selecta*, *Mahanarva posticata*, *Metamasius hemipterus*, *Diatraea* sp., *Spodoptera* sp., *Nilaparvata lugens*, adultos de coleopteros y otros insectos dañinos en

los cultivos instalados en diversos lugares del país. Preocupa que éste entomopatógeno esté controlando avispas de la familia Salticidae y no fitófagos, los que según Aguilar (1968); Aguilar *et al.* (1977) y Cisneros (1980); son importantes depredadores de una diversidad de plagas agrícolas. Por lo que se hace necesario realizar exhaustivos estudios para verificar si controla plagas.

### ***Hymenostilbe***

Este entomopatógeno se ha registrado colonizando adultos de Pyralidae, en *P. americana* (palto), para Santa Rosa, no encontrándose una mayor información al respecto para esta zona estudiada. Al respecto, Lecuona (1995) y Samson *et al.*, (1988); reportaron especies de éste género infectando y colonizando moscas comunes, moscas de la fruta (Tephritidae), hormigas *Camponotus* e individuos insectiles de la familia Gryllidae.

Al parecer *Hymenostilbe* es un entomopatógeno promisorio para el control de moscas de la fruta, fitófagos muy abundantes y perjudiciales en los huertos vergeles de la zona estudiada, corroborando lo mencionado por Gil (2003), quien registra 19 especies de moscas *Anastrepha* infestando diversos frutales nativos (zapote, araza, caimito, guayaba) e introducidos (mango y cítricos). Esta situación incentiva a continuar en investigaciones específicas en *Hymenostilbe* y ver la posibilidad si incluir en futuros programas de control biológico.

***Legeriomyces***

Este entomopatógeno ha sido registrado en *Leucoptera coffeella* (Lyonetiidae) y *Saissetia coffeae* (Coccidae), infestando *C. arabica* (café), en La Divisoria y Cafetal UNAS, no descartándose su afinidad por otros hospedantes, como lo confirma Samson *et al.* (1988), quien menciona a las especies de éste género infectando y colonizando ninfas de moscas. Considerando que *Leucoptera coffeella* y *Saissetia* sp., son plagas potenciales en cafetales instalados en Tingo María, sería meritorio realizar ensayos utilizando éste entomopatógeno en zonas con menor precipitación en donde las plagas minadoras ocasionan serios daños a los cultivos de café.

***Nomuraea***

Este biocontrolador ha sido registrado en adultos de la familia Gelechidae, en *P. americana* (palto), ubicados en Santa Rosa. Según Cisneros (1980); Moreira y Maldonado (1980) y Luque (2003), los gelechidos se consideran como serias plagas en diferentes cultivos. Por lo que se recomienda considerar a *Nomuraea* como factor de control de larvas de *Spodoptera frugiperda*, *Anticarsia gemmatilis*, *Heliothis zea*, *etc.*, así lo reporta Lecuona (1995); Samson *et al.* (1988); Cave (1995) y Bolaños (2002), plagas muy dañinas en diferentes lugares del país.

***Nectria***

Este género ha sido registrado colonizando adultos de moscas (Sciaridae) y queresas (Diaspididae), en *C. sinensis* (naranja dulce) y cocona, en San Juan de Tulumayo. No existe información alguna sobre lo referente, sin embargo Samson *et al.* (1988) y Lecuona (1995); reportaron especies de éste entomopatógeno colonizando *Ischnaspis* sp., y Diaspididae, recalcando que éste biocontrolador no tiene especificidad de hospedante.

Es bien conocido que las plagas importantes de diferentes cultivos específicamente en costa, tal como lo dicen Alata (1973); Cisneros (1980); Cornell (2003) y Toussoun and Nelson (1978); por lo que éste entomopatógeno puede ser utilizado con el ensayo de queresas en diferentes agroecosistemas.

### ***Pseudogibellula***

Este entomopatógeno se ha registrado colonizando arácnidos de la familia Salticidae en café para la zona de La Divisoria. Al respecto no existe información sobre lo referente. Sin embargo Samson *et al.*, (1988); reportaron especies de éste género infectando y colonizando *Paltothyreus torsatus*, por lo que su especificidad es negativo. En tal sentido preocupa que éste entomopatógeno esté controlando arañas la familia Salticidae, los que según Aguilar (1968); Aguilar *et al.* (1977) y Cisneros (1980), son importantes depredadores de una diversidad de plagas agrícolas. Haciéndose necesario realizar exhaustivos estudios para verificar si controla plagas.

### ***Sporodiniella***

Este biocontrolador ha sido registrado en adultos de moscas Sciaridae y homópteros Cercopidae en cocona, instalado en San Juan de Tulumayo. Al respecto no existe información alguna; sin embargo Samson *et al.*, (1988), reportan que *Sporodiniella umbellata* la familia Membracidae (*Umbonia* sp.). Estos homópteros se vienen incrementando en la zona de estudio infectando uña de gato, sangre de grado y frijol de palo, por lo que amerita realizar investigaciones y ver que posibilidad se presentan para que éste hongo sea incluido en programas de control biológico.

### ***Verticillium***

Entomopatógono encontrado colonizando adultos de *Coccus* sp., (Coccidae), en *C. arabica* (café), instalados en La Divisoria, Pueblo Nuevo, Huacamayo, Cafetal UNAS, Cayumba y San Juan de Tulumayo. Reportes de Bolaños (2002); Cave (1995) y Lecuona (1995), descartan la especificidad de éste hongo, ya que colonizan *Coccus viridis*, *Aphis gossypii*, moscas blancas, Thrips y Áfidos. En los últimos años *Verticillium* es considerado como un componente importante en el programa de control biológico de homópteros como moscas blancas y áfidos, por lo que sería recomendable continuar con estos estudios en los diversos cultivos instalados en el territorio peruano, tal como se viene realizando en Europa y México, según Bolaños (2002).

En resumen, se ha observado que los hongos entomopatógenos más promisorios son: *Beauveria*, *Entomophthora* y *Verticillium*, quienes deberían ser considerados en estudios de control biológico para la zona de estudio. De igual manera, se debe incidir en el estudio de aquellos hongos que atacan arañas Salticidae, insectos Vespidae y Aphelinidae, ya que éstos son artrópodos benéficos para la agricultura.

De igual modo, se registra por primera vez para la zona a los entomopatógenos *Aphanomyces*, *Conidiobolus*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Sporodiniella*, *Legeriomyces*, *Asellaria*, *Cordycepiodeus*, *Cordyceps*, *Nectria*, *Akanthomyces*, *Aschersonia*, *Engyodontium*, *Gibellula*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Nomuraea*, *Pseudogibellula*, *Verticillium*, *Granulomanus*, los que ameritan ser estudiados con mayor especificidad.

## 2. Frecuencia de ocurrencia y porcentaje de infestación de los hongos entomopatógenos

El Cuadro 6, muestra 23 hongos entomopatógenos identificados hasta género en la zona de estudio; tres géneros se han identificado en el Cafetal UNAS, uno en el Zoocriadero UNAS, uno en el Banco de Germoplasma UNAS y cuatro en el Fundo UNAS, en la localidad de Tingo María; 14 géneros en Tulumayo; siete géneros en Santa Rosa; seis géneros en La Divisoria; dos géneros en Cayumba; tres géneros en Huacamayo y tres géneros en la localidad Pueblo Nuevo.

Así mismo en el Cuadro 6 y Figura 5, se observa la frecuencia de ocurrencia de los géneros de hongos entomopatógenos de acuerdo a sus hospedantes para la zona de muestreo. Obteniéndose en un primer plano a *Beauveria*, *Verticillium* y *Legeriomyces* con nueve, seis y cuatro respectivamente. De igual manera se muestra en un segundo plano con tres a *Akanthomyces*, *Aspergillus* e *Hirsutella*, dos para *Aschersonia*, *Asellaria*, *Conidiobolus*, *Cordyceps*, *Nectria*, *Sporodiniella* y uno para *Aphanomyces*, *Cordycepiodeus*, *Erynia*, *Entomophthora*, *Engyodontium*, *Fusarium*, *Granulomanus*, *Gibellula*, *Hymenostilbe*, *Nomuraea* y *Pseudogibellula*.

De igual manera en el Cuadro 6 y Figura 6, muestra el porcentaje de infestación de los hongos entomopatógenos de acuerdo a las zonas de muestreo. Determinándose *Beauveria*, *Verticillium* e *Hirsutella* con 80%, 60% y 30% de infestación respectivamente, seguidos de *Akanthomyces*, *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Asellaria*,

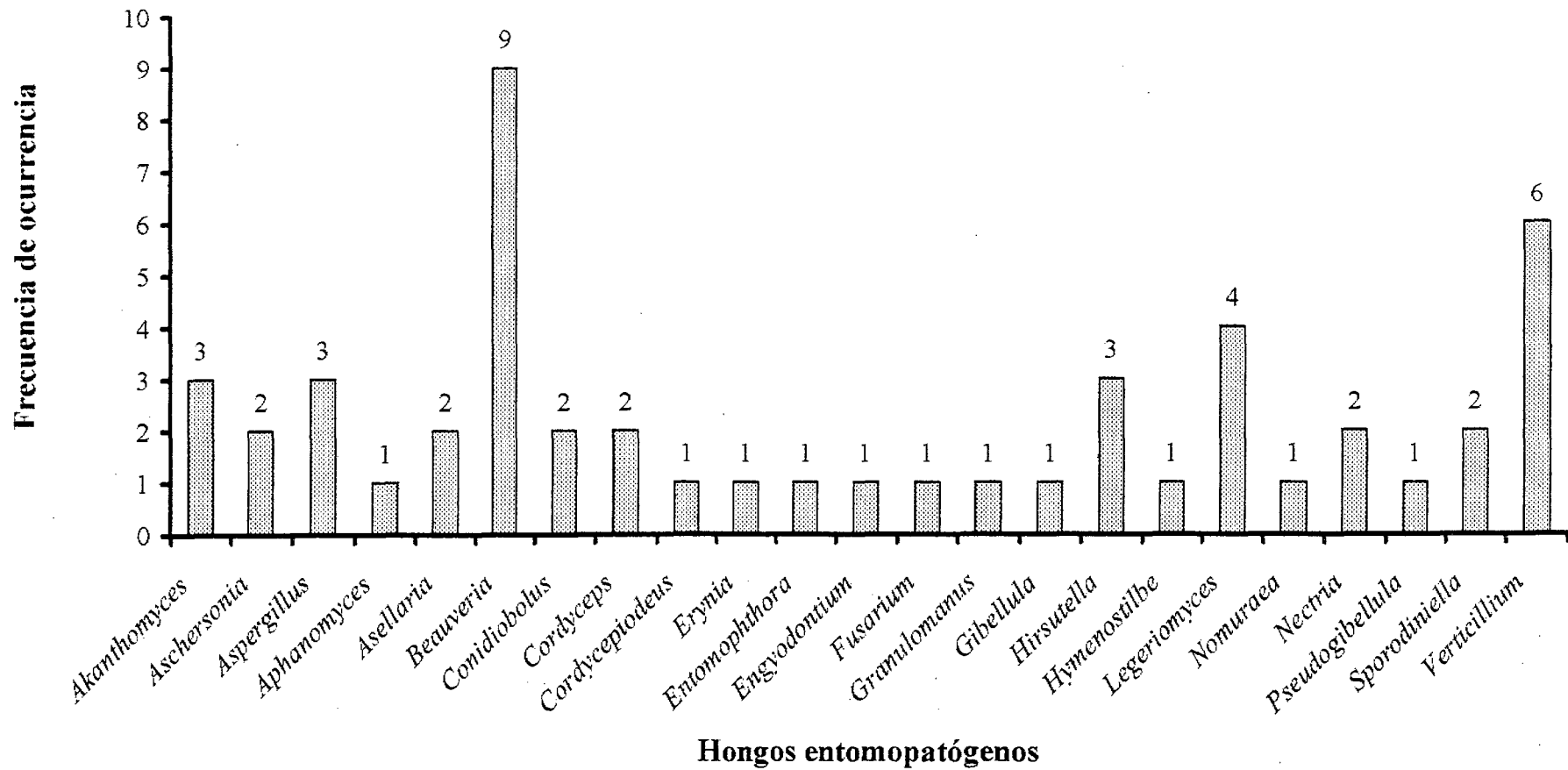
*Conidiobolus*, *Cordyceps* y *Legeriomyces*, con 20% cada uno y *Aphanomyces*, *Cordycepiodeus*, *Erynia*, *Entomophthora*, *Engyodontium*, *Fusarium*, *Granulomanus*, *Gibellula*, *Hymenostilbe*, *Nomuraea*, *Nectria*, *Pseudogibellula* y *Sporodiniella* con 10% de infestación.

Los resultados registrados para la frecuencia de ocurrencia de los géneros *Beauveria*, *Verticillium* y *Legeriomyces* y el porcentaje de infestación mostrados para *Beauveria*, *Verticillium* e *Hirsutella* son elevados a diferencia de los demás entomopatógenos que resultaron ser bajos. Esto se debe más que por acción de la temperatura y humedad relativa a la gran adaptabilidad y amplio rango de hospederos que poseen estos microorganismos, tal como lo reportan Samson *et al.* (1988); Lecuona (1995); Cave (1995); Bolaños (2002) y Vigiani (1990). Sin embargo, no se descarta que una posible influencia de los factores ambientales, podrían alterar el comportamiento del insecto y la habilidad del entomopatógeno para infectar, tal como lo manifiesta Lecuona (1995).

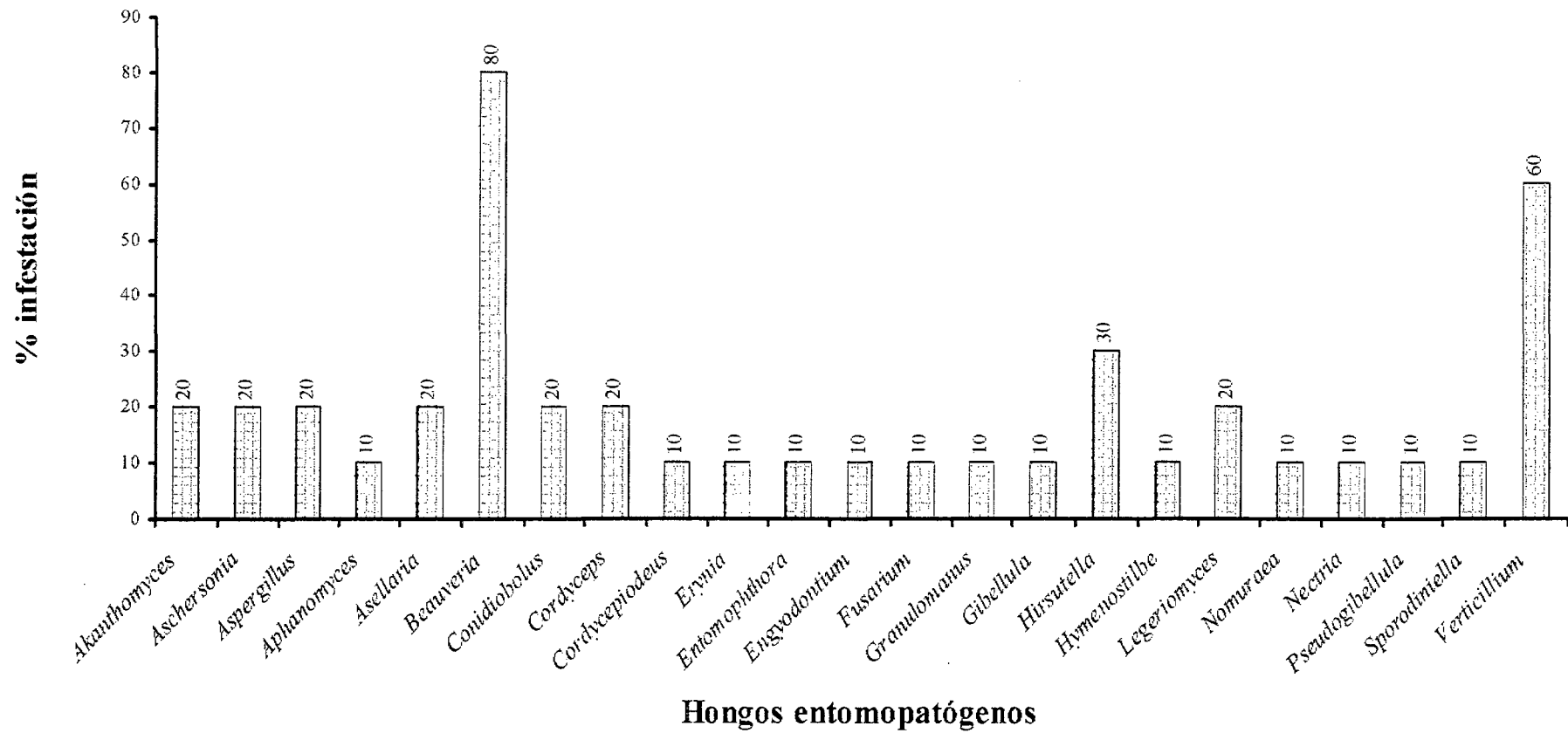
**Cuadro 6.** Población de hongos entomopatógenos identificados con sus hospedantes en 10 localidades de Leoncio Prado muestreadas en cultivos agrícolas (\*).

LOCALIDADES	HONGOS ENTOMOPATÓGENOS																						
	<i>Akanthomyces</i>	<i>Aschersonia</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Aphanomyces</i>	<i>Asellaria</i>	<i>Beauveria</i>	<i>Conidiobolus</i>	<i>Cordyceps</i>	<i>Cordycepiodeus</i>	<i>Erynia</i>	<i>Entomophthora</i>	<i>Engyodontium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Granulomacrus</i>	<i>Gibellula</i>	<i>Hirsutella</i>	<i>Hymenostilbe</i>	<i>Legeriomyces</i>	<i>Nomuraea</i>	<i>Nectria</i>	<i>Pseudogibellula</i>	<i>Sporodiniella</i>	<i>Verticillium</i>
Santa Rosa	1			1	1	1		1									1		1				
San Juan de Tulumayo		1	2		1	2	1			1	1	1		1	1	1				2		2	1
La Divisoria	2					1										1		2			1		1
Cayumba						1																	1
Guacamayo						1										1							1
Pueblo Nuevo						1							1										1
Cafetal UNAS (Tingo María)						1												2					1
Zoocriadero UNAS (Tingo María)								1															
Banco Germoplasma UNAS (Tingo María)		1																					
Fundo UNAS (Tingo María)			1			1	1		1														
Frecuencia de Ocurrencia	3	2	3	1	2	9	2	2	1	1	1	1	1	1	1	3	1	4	1	2	1	2	6
Infestación (%)	20	20	20	10	20	80	20	20	10	10	10	10	10	10	10	30	10	20	10	10	10	10	60

(\*). Expresados en hospedantes por hongo entomopatógeno.



**Figura 5.** Frecuencia de ocurrencia de los hongos entomopatógenos de acuerdo a sus hospedantes identificados en 10 localidades de Leoncio Prado muestreadas en cultivos agrícolas.



**Figura 6.** Porcentaje de infestación de los hongos entomopatógenos de acuerdo a sus hospedantes identificados en 10 localidades de Leoncio Prado muestreadas en cultivos agrícolas.

## **B. De la evaluación patogénica de los hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio**

En el Cuadro 7 y Figura 7, se muestra los porcentajes de control de cada uno de los hongos entomopatógenos en base a hospedantes muertos y esporulados, ubicándose en primer plano con 100% de control *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Beauveria-1*, *Beauveria-2*, *Beauveria-3*, *Beauveria-4*, *Erynia*, *Entomophthora*, *Legeriomyces-2*, *Sporodiniella-1*, *Sporodiniella-2*, y *Verticillium*. Mientras que en un segundo plano se encuentran con 90% *Cordyceps*, con 80% *Fusarium*, *Gibellula*, *Hirsutella* y *Pseudogibellula*, con 70% *Cordyceps*, con 60% *Conidiobolus-2*, *Engyodontium* y *Nomuraea*, 50% *Aphanomyces*, *Granulomanus*, *Hymenostilbe* y *Nectria-1*, y con 40% de control *Akanthomyces-1*, *Asellaria*, *Conidiobolus-1*, *Legeriomyces-1* y *Nectria-2* y cero % para *Akanthomyces-2*.

Los resultados de la prueba patogénica para *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Beauveria-1*, *Beauveria-2*, *Beauveria-3*, *Beauveria-4*, *Erynia*, *Entomophthora*, *Legeriomyces-2*, *Sporodiniella-1*, *Sporodiniella-2* y *Verticillium* son elevados a diferencia de los demás entomopatógenos que resultaron ser bajos. Esto se debe más que por efecto de los medios de cultivo sobre el vigor de los entomopatógenos a la gran adaptabilidad y amplio rango de hospedantes que poseen éstos microorganismos como también la estabilidad del medio ambiente puede ser incluso más importante que la patogenicidad de la cepa en condiciones de laboratorio, como lo reportan Samson *et al.*, (1988); Lecuona (1995); Cave (1995); Bolaños (2002); Vigiani (1990); Orietta y Larrea (2003). Así mismo *Akanthomyces-2* no mostró ningún potencial de control, debiéndose posiblemente a que éste hongo sea saprofito para *Coccus* sp., y parásito para otros hospedantes, como afirma Samson *et al.*, (1988).

Por otra parte los hospedantes (insectos y arácnidos) muertos y que no mostraron esporulación, se cree en la posibilidad de que hayan sido afectados por otros microorganismos patógenos que no causan esporulación como virus, rickettsias, bacterias y protozoarios, tal como lo refieren Cisneros (1980) y PNCB (2003).

**Cuadro 7.** Patogenicidad de los hongos entomopatógenos sobre sus hospedantes a nivel de laboratorio.

Hongos	Hospedantes		Nº	Nº	Nº	Nº	%	%	% Insectos muertos
	Entomopatógenos	Insectos y Arácnidos		Insectos	Insectos	Insectos	Insectos	Mortalidad	Control
		Familia	Especie	Inoculados	Muertos	Vivos	Esporulados		
<i>Akanthomyces</i> - 1	Noctuidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	8	2	4	80	40	40
<i>Akanthomyces</i> - 2	Coccidae <sup>(1)</sup>	<i>Coccus</i> sp. <sup>(*)</sup>	10	10	0	0	100	0	100
<i>Aschersonia</i>	Aleyrodidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Aspergillus</i>	Aphelinidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Aphanomyces</i>	Gracilariidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	7	3	5	70	50	20
<i>Asellaria</i>	Sciaridae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	8	2	4	80	40	40
<i>Beauveria</i> - 1	Scolytidae <sup>(1)</sup>	<i>Hypothenemus hampei</i> <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Beauveria</i> - 2	Formicidae <sup>(1)</sup>	<i>Atta</i> sp. <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Beauveria</i> - 3	Brassicidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(**)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Beauveria</i> - 4	Chrysomelidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Conidiobolus</i> - 1	Sciaridae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	6	4	4	60	40	20
<i>Conidiobolus</i> - 2	Noctuidae <sup>(1)</sup>	<i>Spodoptera frugiperda</i> <sup>(**)</sup>	10	10	0	6	100	60	40
<i>Cordyceps</i>	Noctuidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	9	1	7	90	70	20
<i>Cordycepiodeus</i>	Cercopidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	9	100	90	10
<i>Erynia</i>	Diaspididae <sup>(1)</sup>	<i>Pinnaspis aspidistrae</i> <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Entomophthora</i>	Aphididae <sup>(1)</sup>	<i>Aphis spiraeicola</i> <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Engyodontium</i>	Lampyridae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	9	1	6	90	60	30
<i>Fusarium</i>	Cercopidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	8	100	80	20
<i>Granulomanus</i>	Salticidae <sup>(A)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	8	2	5	80	50	30
<i>Gibellula</i>	Salticidae <sup>(A)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	9	1	8	90	80	10
<i>Hirsutella</i>	Vespidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	8	100	80	20
<i>Hymenostilbe</i>	Pyrilidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	7	3	5	70	50	20
<i>Legeriomyces</i> - 1	Lyonetiidae <sup>(1)</sup>	<i>Leucoptera coffeella</i> <sup>(*)</sup>	10	6	4	4	60	40	20
<i>Legeriomyces</i> - 2	Coccidae <sup>(1)</sup>	<i>Saissetia coffeae</i> <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Nomuraea</i>	Gelechidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	8	2	6	80	60	20
<i>Nectria</i> - 1	Sciaridae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	9	1	5	90	50	40
<i>Nectria</i> - 2	Diaspididae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(**)</sup>	10	7	3	4	70	40	30
<i>Pseudogibellula</i>	Salticidae <sup>(A)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	8	100	80	20
<i>Sporodiniella</i> - 1	Cercopidae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Sporodiniella</i> - 2	Sciaridae <sup>(1)</sup>	n.d. <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0
<i>Verticillium</i>	Coccidae <sup>(1)</sup>	<i>Coccus</i> sp. <sup>(*)</sup>	10	10	0	10	100	100	0

(1) Insecto (A) Arácnido (\*) Estado adulto (\*\*) Estado larval

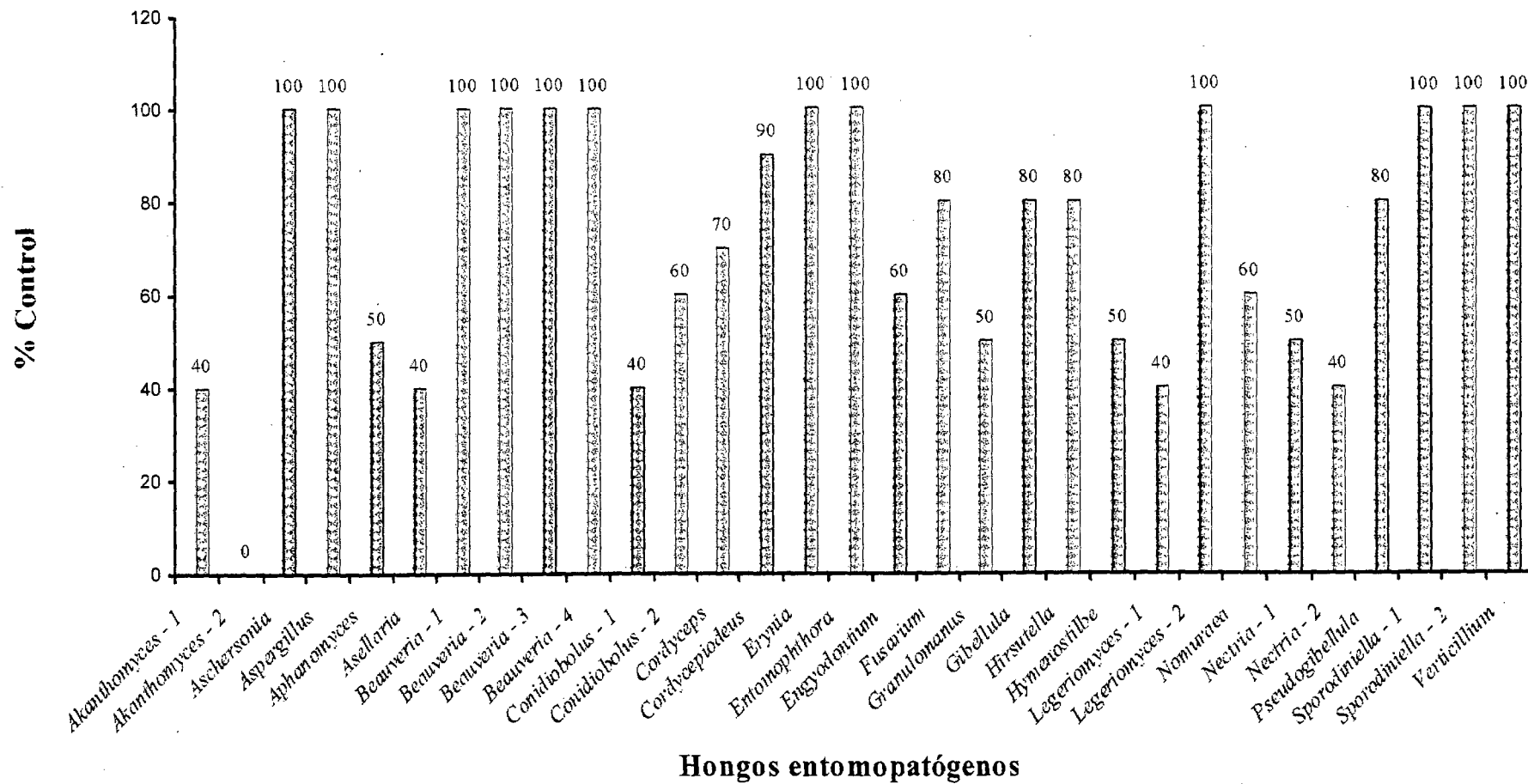


Figura 7. Porcentaje de control de los hongos entomopatógenos sobre sus hospedantes a nivel de laboratorio.

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye de la forma siguiente:

1. Se identificaron 23 géneros de hongos entomopatógenos: *Akanthomyces*, *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Aphanomyces*, *Asellaria*, *Beauveria*, *Conidiobolus*, *Cordyceps*, *Cordycepiodeus*, *Erynia*, *Entomophthora*, *Engyodontium*, *Fusarium*, *Granulomanus*, *Gibellula*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Legeriomyces*, *Nomuraea*, *Nectria*, *Pseudogibellula*, *Sporodiniella* y *Verticillium*.
2. Los entomopatógenos *Aphanomyces*, *Conidiobolus*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Sporodiniella*, *Legeriomyces*, *Asellaria*, *Cordycepiodeus*, *Cordyceps*, *Nectria*, *Akanthomyces*, *Aschersonia*, *Engyodontium*, *Gibellula*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Nomuraea*, *Pseudogibellula*, *Verticillium*, *Granulomanus* se registran por primera vez para la zona de Tingo María.
3. Se identificaron 18 familias de insectos y una de arácnidos como hospedantes, entre los que destacan: Noctuidae (*Spodoptera frugiperda*), Coccidae (*Coccus* Sp., *Saissetia coffeae*), Aleyrodidae, Gracilariidae, Sciaridae, Scolytidae (*Hypothenemus hampei*), Formicidae (*Atta cephalotes*), Brassolidae, Cercopidae, Diaspididae (*Pinnaspis aspidistrae*), Aphididae (*Aphis spiraecola*), Lampyridae, Pyralidae, Lyonetiidae (*Leucoptera coffeella*), Gelechidae, Chrysomelidae.

4. Los hongos entomopatógenos con mayor frecuencia de ocurrencia son: *Beauveria* (9); *Verticillium* (6); *Legeriomyces* (4), y menores para *Akanthomyces*, *Aspergillus*, *Hirsutella* (3); *Aschersonia*, *Asellaria*, *Conidiobolus*, *Cordyceps*, *Nectria*, *Sporodiniella* (2) y los géneros *Aphanomyces*, *Cordycepiodeus*, *Erynia*, *Entomophthora*, *Engyodontium*, *Fusarium*, *Granulomanus*, *Gibellula*, *Hymenostilbe*, *Nomuraea* y *Pseudogibellula* (1).
5. Los hongos entomopatógenos con mayor porcentaje de infestación son: *Hirsutella* (30%), *Verticillium* (60%) y *Beauveria* (80%), siendo menores para *Akanthomyces*, *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Asellaria*, *Conidiobolus*, *Cordyceps* y *Legeriomyces* (20%) y finalmente *Aphanomyces*, *Cordycepiodeus*, *Erynia*, *Entomophthora*, *Engyodontium*, *Fusarium*, *Granulomanus*, *Gibellula*, *Hymenostilbe*, *Nomuraea*, *Nectria*, *Pseudogibellula* y *Sporodiniella* (10%).
6. Los entomopatógenos con mayores niveles de patogenicidad son: *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Beauveria*-1, *Beauveria*-2, *Beauveria*-3, *Beauveria*-4, *Erynia*, *Entomophthora*, *Legeriomyces*-2, *Sporodiniella*-1, *Sporodiniella*-2 y *Verticillium* con 100%; *Cordycepiodeus* con 90%; *Fusarium*, *Gibellula*, *Hirsutella* y *Pseudogibellula* con 80%; *Cordyceps* con 70%; *Conidiobolus*-2, *Engyodontium* y *Nomuraea* con 60%; *Aphanomyces*, *Granulomanus*, *Hymenostilbe* y *Nectria*-1 con 50%; *Akanthomyces*-1, *Asellaria*, *Conidiobolus*, *Legeriomyces*-1 y *Nectria*-2 con 40%.

## VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados y conclusiones alcanzados se sugieren las siguientes recomendaciones:

1. Continuar con las colecciones de hongos entomopatógenos con la finalidad de tener un inventario de la biodiversidad de géneros que tienen acción patogénica sobre insectos plagas en el ámbito de Leoncio Prado.
2. Con nuevas colecciones identificar los hongos entomopatógenos y sus hospedantes respectivos hasta nivel de especie y verificar su rango de hospedantes en la zona de estudio.
3. Las especies de hongos entomopatógenos que se lograrán identificar, deben someterse a prueba de patogenicidad utilizando hospedantes de distintos órdenes para ver su afinidad por otros hospedantes.

## VII. RESUMEN

El presente trabajo se realizó en campos agrícolas de la provincia de Leoncio Prado y en los ambientes del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, en el lapso comprendido de julio a octubre del 2001; cuyos objetivos fueron los siguientes: Identificar hongos entomopatógenos de insectos y arácnidos que se encuentran en diferentes cultivos tropicales y su patogenicidad bajo condiciones de laboratorio.

Las recolecciones de éstos hongos se realizaron en los diferentes campos agrícolas y fueron trasladados a los ambientes del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

En laboratorio los hongos se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 0.3%, para ser sembrados en PDA (Papa – Dextrosa - Agar), o ser puestos en cámara húmeda hasta obtener la esporulación respectiva y ser sembrados. Paralelamente se han identificado los hospedantes (insectos y arácnidos) y los hongos entomopatógenos con la ayuda del Blgo. José L. Gil Bacilio y las claves de Barnett and Hunter (1978), Lecuona (1995), Gilman (1975), Toussoun and Nelson (1978), Samson *et al.* (1988) y Raper and Fenell (1965), respectivamente.

Obtenido los cultivos puros se realizó la formulación de cada uno de los hongos entomopatógenos, utilizándose arroz precosido como sustrato en bolsas de polipropileno (3 pulg x 8 pulg) conteniendo 20 g del sustrato con 5 ml de agua destilada, las que fueron selladas con grapas en la parte superior para su esterilización en autoclave a 120°C por 30 minutos. Una vez enfriado, se adicionó 4 a 5 discos (1 cm de diámetro) del cultivo puro en cada bolsa, las que se movieron para distribuir uniformemente el inóculo y se incubaron de 7 a 15 días.

Se disolvió 2 g del sustrato arroz en 4 ml de agua estéril (Proporción 1:2) y cosechar esporas o conidias de cada aislamiento. La inoculación se realizó por medio de un baño total, con una jeringa de inyección. En cada uno de los envases de plástico (tapers), se consideró para cada tratamiento 10 hospedantes (insectos o arácnidos) vivos a los que se les proporcionó su alimento respectivo.

Las evaluaciones se realizaron diariamente, el número de insectos o arácnidos muertos por tratamientos fueron colocados individualmente en cámara húmeda para favorecer la esporulación del hongo, permitiéndonos confirmar la muerte del insecto se debe a la acción parasítica del hongo.

Los hongos que esporularon sobre la superficie del insecto o arácnido muerto fueron reaislados sus estructuras propagativas (conidias y esporas) y observados al microscopio para reconfirmar la presencia del entomopatógeno.

Los parámetros que se han estudiado son: frecuencia de ocurrencia y porcentaje de infestación de los hongos entomopatógenos.

Al finalizar el estudio, se identificaron 23 géneros de hongos entomopatógenos, 18 familias de insectos y una de arácnidos como hospedantes. Los hongos entomopatógenos con mayor frecuencia de ocurrencia son: *Beauveria* (9); *Verticillium* (6); *Legeriomyces* (4) y con mayor porcentaje de infestación: *Hirsutella* (30%), *Verticillium* (60%) y *Beauveria* (80%). Así mismo los mayores niveles de patogenicidad corresponden a *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Beauveria*-1, *Beauveria*-2, *Beauveria*-3, *Beauveria*-4, *Erynia*, *Entomophthora*, *Legeriomyces*-2, *Sporodiniella*-1, *Sporodiniella*-2 y *Verticillium* (100%); *Cordycepiodeus* (90%); *Fusarium*, *Gibellula*, *Hirsutella* y *Pseudogibellula* (80%).

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar, F.P. 1968. Araneida frecuentes en el algodonero. Rev. Peruana de Entomología. Lima – Perú., 1 (1): 92 – 95.
2. Aguilar, F.P.; Beingolea, G.O.; Brack, A. y Cevallos, I. 1977. Vertebrados importantes en la agricultura peruana. Rev. Peruana de Entomología. Lima – Perú., 20 (1): 25 – 32.
3. Alata, J. 1973. Lista de insectos y otros animales dañinos a la agricultura en el Perú. Min. Agricultura. Dir. Gen. Inv. Agr. Lima – Perú., 38: 176
4. Alves, B.S. and Lecuona, E.R. 1995. Utilización de hongos entomopatógenos. Edit. Imyza - Cicainta Castelar. Castelar Argentina, Esalq / Usp. Dpto. Entomologia. Piracicaba, sp. Brasil. 237 p.
5. Ames, T. 1974. Fitopatología general. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima – Perú. 150 p.
6. Barnett, H. L. and Hunter, B. B., 1978. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. Printed in the United States of América 218 p.
7. Beingolea, G.O. 1963. Lista de insectos y otros animales que atacan las plantas cultivadas en el Perú. Soc. Ent. Agr., del Perú. Lima – Perú. 22 p.
8. Beingolea, G.O. 1967. Control biológico de las plagas de los cítricos en el Perú. Rev. Peruana de Entomología. Lima – Perú. 10 (1): 67 – 81.
9. Bolaños, T.J.F. 2002. Hongos entomopatógenos: *Nomuraea*. [En línea]: (<http://www.iicanet.org/>, documento, 15 Feb. 2003).

10. Bondar, G. 1939. Insectos danninhos e parasitos do cacau na Bahia. Inst. Cacau Bahia. Inst. Cacau Bahia. Brasil. Bol. Tecn. V. 112 p.
11. Boucias, D.G. and Latgé, P.J. 1986. Adhesion of entomopathogenic fungi on their host cuticle. Wageningen. Foundation of the at international coiloquium invertebrate pathology. p. 432 – 433.
12. Cabezas, H.O. 1995. Caracterización morfológico y patológico del *Fusarium oxysporum* Schlect. Emend Snyct & Hons agente causal de la marchitez de la coca. Tesis Ing. Agrónomo. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 115 p.
13. Cabezas, M.; Duarte, H.W.; Estupiñán, H.L.; Alvarez, J.A. 2003. Brassolidae. [En línea]:([http://www.socolon.com.co/imagenes/notas.htm#\\_Anot#Anot](http://www.socolon.com.co/imagenes/notas.htm#_Anot#Anot), documento, 15 Feb. 2003).
14. Campos, P.J. 1965. Investigaciones sobre el control biológico del “cogollero” del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) y otros noctuideos. Rev. Peruana de Entomología. Lima – Perú. 8 (1): 126 – 131.
15. Carrasco, Z.F. 1962. La hormiga “coqui” *Atta sexdens fuscata* Santschi (Formicidae) grave problema entomológico para los cultivos tropicales. Rev. Peruana de Entomología Agrícola. Lima – Perú. 5 (1): 94 – 97.
16. Cave, R.D. 1995. Manual para la enseñanza del control biológico en América Latina. Edit. Zamorano, Honduras. 187 p.
17. Cerna, G. G. 1993. Hongos antagonistas a *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, agente causal de la “escoba de bruja del cacao” en la zona del alto Huallaga. Tesis Ing. Agrónomo. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 45 p.

18. Cisneros, V. F. 1980. Control de las plagas agrícolas. Edit. Gráfica Pacific Press, S.A. Lima – Perú. 190 p.
19. Coaguila, R.P. 2001. Efecto de dos cepas de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill en el control de gorgojo negro (*Cosmopolitas sordidus* Germar) y gorgojo rayado (*Metamasius hemipterus* Seriseus) en el cultivo de plátano en Tingo María. Tesis Ing. Agrónomo. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 88 p.
20. Cornell, A. 2003. Cultivos afectados por plagas. [En línea]: (<http://arneson.cornell.edu/ZamoPlagas/Principal.htm>, documento, 15 Feb. 2003).
21. De Ingunza, S.M. 1966. La “broca del café” (*Hypothenemus hampei* ferr.): Importancia, distribución geográfica, forma de ataque e influencia de la altitud en el grado de ataque. Rev. Peruana de Entomología. Lima – Perú. 9 (1): 89 - 93.
22. Dunn, P.H. and Mechales, B.J. 1963. The potencial of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as a microbial insecticides. Journal of insect pathology. 4 p.
23. Enríquez, E.; Bejarano, S. y Vila, V. 1975. Observaciones sobre avispas predadores de la *Leucoptera coffeella* Staint en el centro y sur del Perú. Rev. Peruana de Entomología. Lima – Perú. 18 (1): 82 - 83.
24. Evans, J.W. 1966. The leafhopper and froghoppers of Australia and New Zeland (Homoptera: Cicadelloidea and Cercopoidea). 8 p.
25. Fedepalma - Cenipalma. 1997. Control biológicos de plagas. Edit. Kimpres. Santa Fe De Bogotá - Colombia. Vol. 18. 88 p.
26. Forsythe, T. G. 1992. Plagas del campo y control biológico. Edit. Ceac S.A. Edit. Puresa, S.A. España. 131 p.

27. France, A. 2003. Hongos entomopatógenos. [En línea]: IIA, (<http://www.Hongosentomopatógenos>, documento, 20 Nov. 2001).
28. French, E.R. y Teddy, H.T. 1980. Métodos de investigación fitopatológico Edit. IICA. San José - Costa Rica. 289 p.
29. Garcia, A.R. 1978. Cuatro estudios sobre avispas sociales del Perú. (Hymenoptera: Vespidae). Rev. Peruana de Entomología. Lima – Perú. 21 (1):1-22.
30. Gerding, P.M. y France, I.A. 2003. Hongos entomopatógenos. [En línea]: (<http://www.Hongosentomopatógenos.com>, documento, 15 Feb. 2003).
31. Gil, B. J. 2003. Ocurrencia poblacional de las moscas de las frutas del género *Anastrepha* en Zapote (*Matisia cordata* Humb. & Bompl.) en Tingo María-Huánuco. Tesis Magíster Scientae. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú. 140 p.
32. Gilman, J.C. 1975. A manual of soil fungi second. Edition the IOW. 392 p.
33. Goettel, M.S. and Roberts, D.W. 1991. Mass production, formulation and field application of entomopathogenic fungi. In Lomer, C. J and Prior, C. eds. Biological control of locusts and grasshoppers. Wallingford. 230 – 238 p.
34. Hassell, M.P. y Varley, G.C. 1969. New inductive population model for insect parasites and its bearing on biological control nature. London. P. 223: 1133 – 1137.
35. Ignoffo, C.M. and Hink, W.F. 1971. Propagation of arthropod pathogenic in living systems. In Burges H, D. and Hussey N, W. eds. Microbial control of insects and mites. London, Academic Press. 541 – 580 p.

36. Infoagro. 2002. Control de áfidos o pulgones. [En línea]: (<http://www.abcagro.com/hortalizas/pulgones1.asp#inicio#inicio>, documento, 15 Feb. 2003).
37. Instituto Nacional Control Biológico (INB). 1997. Géneros de Lepidopteros. [En línea]: (<http://www.inbio.accr/papers/coleoptera/lampyr.html>, documento, 15 Feb. 2003).
38. Jara, C.J. 2003. Evaluación de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin en el control biológico de gorgojo negro (*Cosmopolitas sordidus* Germar) en condiciones de laboratorio. Tesis Ing. Agrónomo. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 72 p.
39. Lecuona, E. R. 1995. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plagas. Edit. Imyza – Cicainta Castellar. Castellar. Argentina, Esalq/Usp. Dpto. Entomología. Piracicaba, sp. Brasil. 237 p.
40. López, LL.L. 2002. Control biológico de plagas y enfermedades vegetales. [En línea]: ([http://www.ua.es/otri/servicios/oferta\\_cientifica/ot\\_ual/plagas](http://www.ua.es/otri/servicios/oferta_cientifica/ot_ual/plagas), documento, 15 Feb. 2003).
41. Luque, Q. 2003. Gelechiidae. [En línea]: (<http://www.internatura.uji.es/estudios/listas/lmaripo.html>, documento, 15 Feb. 2003).
42. Moreira, M. y Maldonado, J. 1980. Gelechiidae. [En línea]: ([http://www.redpav-fpolar.info.vc/agrotrop/v35\\_1-3/v353a010.html](http://www.redpav-fpolar.info.vc/agrotrop/v35_1-3/v353a010.html), documento, 15 Feb. 2003).

43. Orius Biotechnology. 2001. Ciclo biológico de los entomopatógenos. [En línea]: (<http://www.ciclobiológicodelosentomopatógenos.com>, documento, 20 Nov. 2001).
44. Orietta, F. y Larrea, V. 2003. Tecnologías para la producción de biopesticidas a base de hongos entomopatógenos y su control de la calidad. [En línea]:(<http://www.aguascaliente.gob.mx/agro/produce/cursocuba.html>, documento, 15 Feb. 2003).
45. Pereira, R.M. and Roberts, D.W. 1990. Dry mycelium preparations of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Journal of invertebrate Pathology. p. 56: 39 – 46.
46. Pérez, M.I. 1999. Plagas introducidas en España Peninsular en la segunda mitad del siglo XX. [En línea]: (<http://entomologia.rediris.es/aracnet/num4/index.htm>, documento, 15 Feb. 2003).
47. Programa Nacional Control Biológico (PNCB). 2003. Hongos entomopatógenos. [En línea]: PNCB, (<http://www.Hongosentomopatógenos.com>, documento, 15 Feb. 2003).
48. Pekar, S. and Grula, E.A. 1979. Mode of infection of the corn earworm (*Heliothis zea*) by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy. Journal of invertebrate pathology. p. 34: 238 - 247.
49. Raven, B. G. K. 1993. Díptera III. Universidad Nacional Agraria La Molina. Departamento de Entomología. 143 p.
50. Ramírez, F. O. 2001. Distribución y frecuencia de ocurrencia de nemátodos de café (*Coffea arabica* L.) en la Provincia de Leoncio Prado. Tesis Ing. Agrónomo. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 81 p.

51. Raper, B. and Fenell, D. 1965. The genus *Aspergillus*. The willians y wilkins co. Baltimore. 636 p.
52. Samson, A.R.; Evans, C.H. y Latgé, P.J. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Wetenschappelijke Uitgererij Bunge. Printed in the Netherlonds. 187 p.
53. Salazar, T.J. 1964. Avances en el control biológico de queresas *Lecaniinae* *Saissetia* Oleae Bern y *Saissetia hemisphaerica* Targ. Rev. Peruana de Entomología. Lima – Perú. 7 (1):8 - 12.
54. Soper, R.S. and Ward, M.G. 1981. Production, formulation and application of fungi for insect control. Barc Symposium N° 5. Allanneld, Osnum, Totawa. New Yersey – USA. p. 161 - 180.
55. Streets, R.B. 1992. Diagnóstico de enfermedades de las plantas. Manual de campo y laboratorio, con énfasis en los métodos más prácticos para identificación rápida. Edit. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires - Argentina. 231 p.
56. Toussoun, T.A. and Nelson, P.E. 1978. A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species according to the taxonomy susten of snyder and hanser the pensylvania st. Univ. Pres. London. 42 p.
57. Webcolombia. (2003). Enemigos naturales, alelopatia. [En línea]: (<http://www.mailto:gisaza@webcolombia.com> documento, 15 Feb. 2003).
58. Vásquez, M.L. 2003. Control biológico de plagas del cafeto. [En línea]: (<http://www.àguascalientes.gob./agro/produce/cursocuba.html>, documento, 15 Feb. 2003)
59. Vey, A. and Gotz, P. 1986. Antifungal cellular defense mechanisms in insects. New York – USA., Jhon wiley. 89 – 115 p.

60. Vergara, C. 2000. Orden lepidoptero. Universidad Nacional Agraria la Molina. Departamento de Entomología y Fitopatología. Lima - Perú. 72 p.
61. Vigiani, A.R. 1990. Hacia el control integrado de plagas. 2<sup>da</sup> Edic. Hemisferio sur S.A. Argentina. 124 p.
62. Zavala, B.J. 2002. Estudio de la familia lampyridae (coleoptero) (<http://jzavalab.tripod.com/lampyridae.htm>, documento, 15 Feb. 2003)

**IX. ANEXO**

## MEDIOS DE CULTIVOS SÓLIDOS

### AGAR PAPA DEXTROSA

Papa.....	200 g
Agar.....	20 g
Dextrosa.....	20 g
Agua.....	1 L

### SDA (SABOURAUD DEXTROSA AGAR)

Dextrosa.....	200 g
Agar.....	15 g
Peptona.....	20 g
Agua.....	1 L

### MEDIO COMPLETO

Fosfato monopotásico, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....	0.4 g
Fosfato disódico, $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .....	1.4 g
Sulfato de magnesio, $\text{MgSO}_4$ .....	0.6 g
Cloruro de potasio, $\text{KCl}$ .....	1.0 g
Nitrato de Amonio, $\text{NH}_4$ .....	0.7 g
Glucosa.....	10.0 g
Agar.....	15.00 g
Extracto de Levadura.....	5.0 g
Agua.....	1.0 L

### SMAY (SABOURAUD MALTOSA AGAR LEVADURA)

Maltosa..... 40 g  
Agua..... 1 L  
Peptona..... 10 g  
Agar..... 15 g  
Extracto de Levadura..... 10 g

### SABOURAUD DEXTROSA AGAR – YEMA DE HUEVO

#### Primer Recipiente

Agua Destilada..... 200 ml  
Glucosa..... 4 g  
Extracto de Levadura..... 2 g

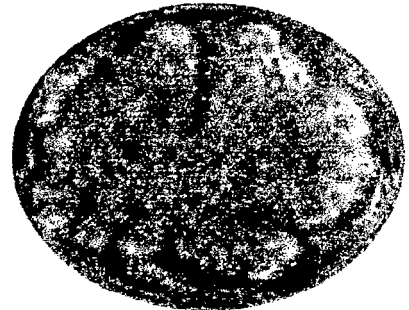
Esterilizar a 121 °C por 30 min.

#### Segundo Recipiente

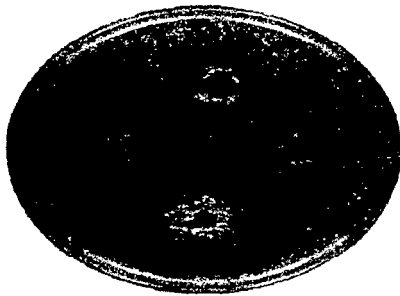
Agua Destilada..... 400ml  
Sabouraud Pasteur (Peptona: 10 g/l; Glucosa: 20 g/l; Agar 15 g/l; pH 6 – 6.3)..... 18 gr.



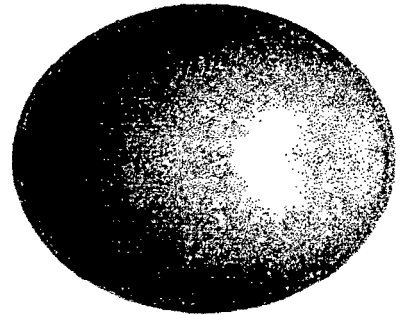
*Akanthomyces*



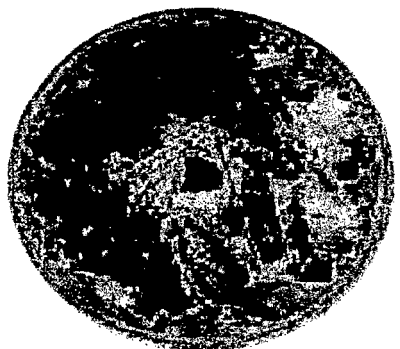
*Aschersonia*



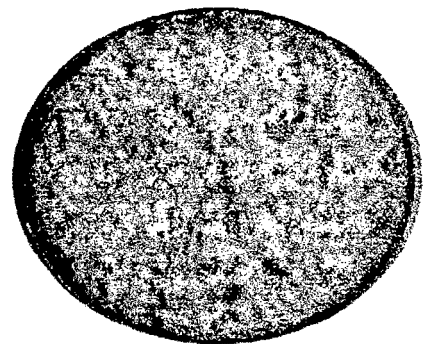
*Aspergillus*



*Sporodiniella*



*Nomuraea*



*Beauveria*

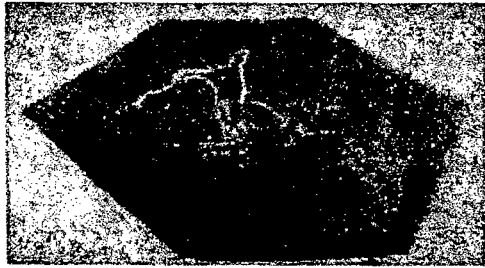
**Figura 8.** Cultivos puros de hongos entomopatógenos.



*Beauveria*



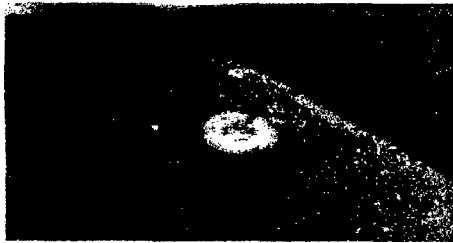
*Sporodiniella*



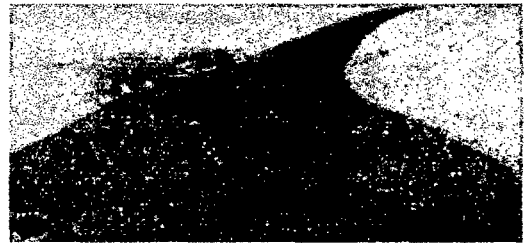
*Pseudogibbellula*



*Aphanomyces*



*Aschersonia*



*Hirsutella*

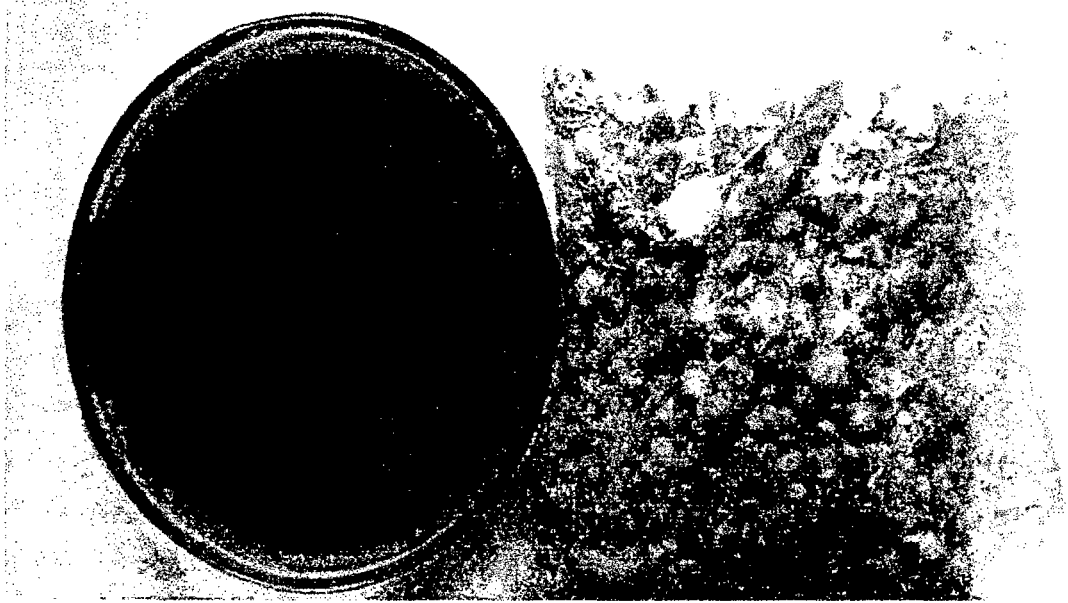


*Verticillium*



*Beauveria*

**Figura 9.** Colonización de hongos entomopatógenos sobre sus hospedantes (insectos ó arácnidos).



*Aspergillus*

**Figura 10.** Formulación del entomopatógeno en sustrato de arroz.