

Evaluación de la virulencia de dos cepas autóctonas y una comercial del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en larvas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera, Pyralidae)

S. Speranza & C. Pucci (Dipartimento di Protezione delle Piante, Sezione di Entomologia, Università della Tuscia, Viterbo, Italia)

P.H. Pizzuolo (Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina)

Es ya conocida la ubicuidad del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. En el presente trabajo ha sido comparada la virulencia de dos cepas de *B. bassiana* autóctonas del Alto Lazio y una cepa comercial (Naturalis®). Han sido utilizadas dos metodologías diferentes de bioensayo. Las pruebas han evidenciado una elevada patogenidad de la cepa comercial ya sea en porcentaje de mortalidad como en velocidad de muerte. El presente es un estudio preliminar que sólo pretende indagar la virulencia de distintas cepas del hongo autóctonas de la zona del Alto Lazio para poder continuar posteriormente con programas de investigación específicos.

PALABRAS CLAVES: control microbiológico, bioensayos, hongos entomopatógenos.

INTRODUCCIÓN

Es ya conocida la ubicuidad del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Descrito por primera vez por Bassi en 1835 durante el estudio de una enfermedad del gusano de seda (Bassi, 1836) en la cual intervenían varias toxinas producidas durante el proceso patogenético (ROBERTS, 1981). Este hongo puede ser aislado a partir de diferentes sustratos (tierra, insectos muertos, corteza, etc.), ya en 1987 habían sido descritas más de 700 especies de artrópodos hospedantes al mismo. Numerosos estudios en el ámbito agrícola han sido realizados utilizando a *B. bassiana* como agente de control biológico (DESEO & ROVESTI, 1982; FERRON *et al.*, 1991; PUTERKA *et al.*, 1994; WU-GUANG *et al.*, 1995; FERNÁNDEZ & COLMENARES, 1997; MOINO *et al.*, 1998; PAPARATTI & SPERANZA, 1999). Si bien han sido llevadas a cabo numerosas investigaciones sobre la virulencia de cepas autóctonas de *B. bassiana* (JONES *et al.*, 1996; PANE *et al.*, 1999) ninguna de ellas trata la problemática en Italia central y particularmente en la zona del Alto Lazio. El presente trabajo pretende evaluar la virulencia de cepas de *B. bassiana* autóctonas del Alto Lazio respecto a cepas comerciales (Naturalis®) de la misma especie fúngica entomopatógena.

Materiales y métodos

A partir de insectos muertos con la presencia evidente de signos del patógeno, han sido aisladas dos cepas de *B. bassiana*, específicamente la cepa I₁, ha sido aislada a partir de una larva de lepidóptero Arctidae, *Arctidia* spp. y la cepa I₂ de siete ejemplares de *Enoplopus dentipes* Rossi (Coleoptera: Tenebrionidae). La cepa comercial (JW-1, ATCC 74040) ha sido provista por la firma Bioln-trachem Italia. Para el bioensayo han sido utilizadas larvas del cuarta-quinta edad de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Todas las cepas fúngicas han sido oportunamente cultivadas, y conservadas *in vitro* en cápsulas de Petri con el substrato agar papa glucosado (PDA, Oxoid Unipath, England). Las colonias cultivadas en ese modo han sido utilizadas para la obtención del inóculo necesario para el bioensayo. Los bioensayos han sido planteados siguiendo dos metodologías: tratamiento en seco de la larva del lepidóptero, a través de la permanencia durante 10 minutos del insecto sobre la caja de Petri con el hongo esporulado (Metodología A); tratamiento líquido de las larvas a través de la pulverización de los insectos con una suspensión acuosa de conidias a una concentración conocida (1×10^8 conidios/ml) (Metodología B). Cada uno de los bioensayos contaba con un grupo de larvas testigo, sin inocular. Para cada una de las cepas fúngicas ensayadas y para cada metodología han sido utilizadas 50 larvas del insecto. Después de tratar las larvas con los conidias (Métodos A y B), éstas fueron dispuestas singularmente en cajas de Petri de 5 cm de diámetro vacías, debidamente identificadas para posteriormente ser colocadas en ambiente climatizado a $24^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ hasta el final de la prueba (20 días). La vitalidad de los individuos fue controlada cada dos días y las larvas muertas por la acción del patógeno fueron retiradas de la cámara climatizada. Los datos han sido elaborados estadísticamente utilizando el método exacto de Fisher.

Resultados

La muerte de los individuos inoculados con las distintas cepas del patógeno ocurría generalmente después de 3 días de la aparición de las típicas manchas pardas sobre el cuerpo del insecto, índice de la penetración efectiva del patógeno (SHTINKHAUZ, 1950; PAVLYUSHIN, 1999). Los datos presentados en la Figura 1, evidencian la muerte de la totalidad de las larvas infectadas con la cepa comercial (Na-

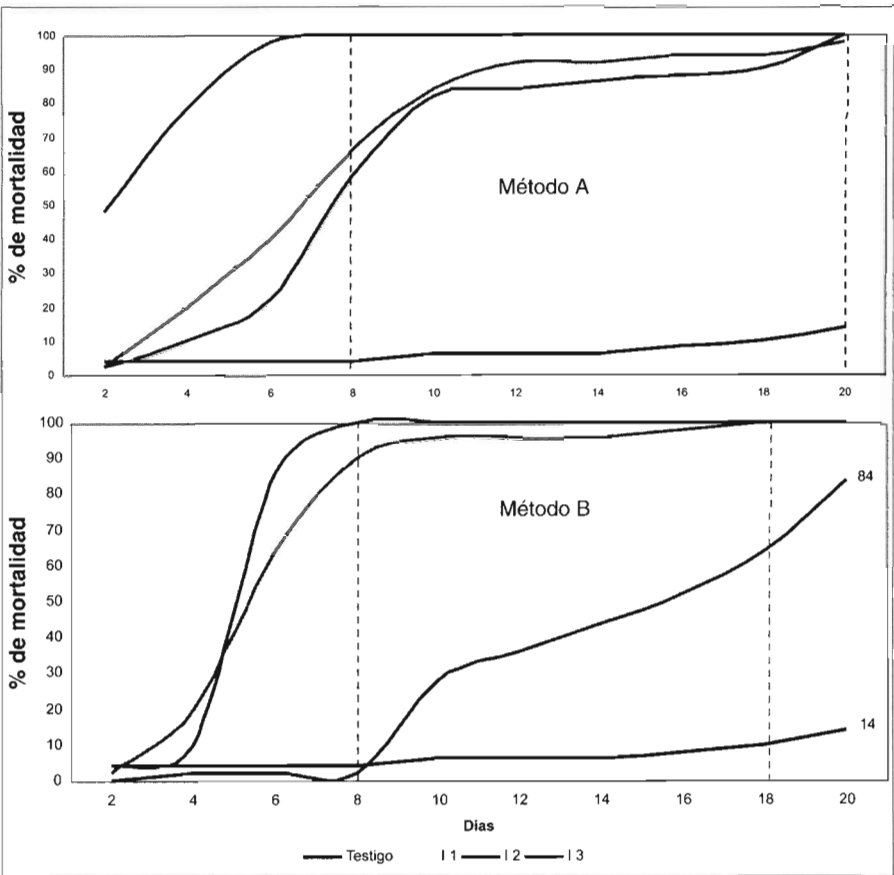


Figura 1. Dinámica de la mortalidad de las larvas de *Galleria mellonella* durante el bioensayo.

turalis®) tratadas con ambas metodologías luego de 8 días de inoculadas. En los grupos de larvas testigo hubo una mortalidad del 14%. Las larvas infectadas con la cepa autóctona I₁, tratadas con las metodologías A y B murieron en su totalidad luego de 20 días de ser inoculadas, mientras que las larvas infectadas con la cepa I₂ presentaron una mortalidad luego de 20 días de la inoculación del 84% y del 100% para las metodologías A y B respectivamente.

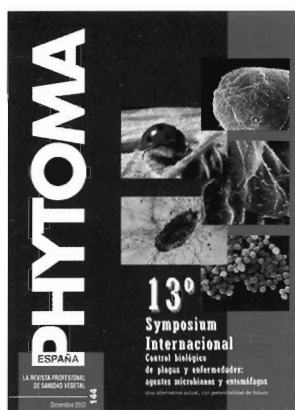
Discusión

Los datos muestran una elevada virulencia de la cepa comercial del entomopatógeno expresada tanto como porcentaje de mortalidad como en tiempo transcurrido entre inoculación y muerte. La inoculación de las larvas de *G. mellonella* efectuada utilizando la metodología A resultó eficaz en el caso del tratamiento con la cepa aislada a partir del lepidóptero Arctidae, produciéndose de hecho la muerte de casi la totalidad de las larvas luego del octavo día desde la inoculación (90%), cosa que no fue observada en el caso de las cepas au-

tóctonas infectadas con la metodología B. El análisis estadístico evidencia la elevada virulencia de la cepa comercial, la significación de las comparaciones de las distintas cepas fúngicas y las dos metodologías utilizadas resultan muy altas ($P < 0,001$) y solamente después de pasados 12 días desde la inoculación el valor desciende a $P < 0,05$. La investigación permite evidenciar una óptima eficiencia de la cepa comercial, la cual luego de solamente ocho días después de la inoculación produjo la muerte de la totalidad de las larvas tratadas tanto con la metodología A como la B. Sin embargo, no hay que olvidar que en la formulación de las estrategias de lucha microbiológicas, dada la competencia que se establece entre las cepas de hongos importadas (comerciales) y las poblaciones fúngicas autóctonas, pueden verse favorecidas en condiciones de pleno campo éstas últimas (CHANDLER *et al.*, 1997). Este trabajo presenta sólo un estudio preliminar de la virulencia de cepas autóctonas de *Beauveria bassiana* presentes en la zona del Alto Lazio y será profundizado en ulteriores actividades específicas de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. **BASSI, A.** 1835-36 – *Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi da seta e sul modo di liberarne le bigattaie anche le più infestate.* (Orcesi, Lodi) I. 1835 Teoria; pp 67; II. 1836 Pratica; pp. 57.
2. **CHANDLER, D., HAY, D., REID, A.P.** 1997. *Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils.* Applied Soil Ecology, 5: 133-141.
3. **DESEÖ KOVACS, K.V., ROVESTI, L.** 1992. *Lotta microbiologica contro i fitofagi: teoria e pratica.* Edagricole, Bologna. 296 pp.
4. **FERNÁNDEZ, S.A., COLMENARES, X.** 1997. *Evaluación de Beauveria spp. Para el control de Premnotrypes vorax Hustache (Coleoptera: Curculionidae) en el cultivo de la papa.* – Agron. Trop. Maracay, 47(3): 249-257.
5. **FERRON, P., FARGUES, J., RIBA, G.,** 1991. *Fungi as microbial insecticides against pests.* In: Arora, D.K., Ajello, L., Mukerji K.G. (Eds.), Handbook of Applied Mycology: Humans, Animals and Insects. Vol. 2. Marcel Dekker, New York. 665-706.
6. **JONES, W.E., GRACE, J.K., TAMASHIRO, M.,** 1996. *Virulence of seven isolates of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae to Coptotermes formosanus (Isoptera: Rhinotermitidae).* Environ. Entomol., Apr. 1996, 25(2): 481-487.
7. **LI, Z.,** 1987 – *A list of insect hosts of Beauveria bassiana.* 1ª Nat. Symp. Entomogenous Fungi, Gongzhuling, Jilin (People's Rep. Of China); 1-10.
8. **MOINO, JR. A., ALVES, S.B., PERIERA, R.M.,** 1998. *Efficacy of Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pest.* Journal of Applied Entomology. 122: 301-305.
9. **PANE, A., TROPEA GRAZIA, G., CACCIOLA, S.O., MAGNANO DI SAN LIO, G., GRASSO, S., PERROTTA, G.,** 1999. *Impiego di funghi entomopatogeni nella lotta contro fitofagi delle colture agrarie.* Phytophaga, IX (1999) Supplemento: 105-115.
10. **PAPARATTI, B., SPERANZA, S.,** 1999 – *Biological control of chestnut weevil (Curculio elephas Gyll.; Coleoptera, Curculionidae) with the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana (Balsamo) Vuill. (Deuteromycotina, Hyphomycetes)* Proc. 2nd Int. Symp. On Chestnut. Ed. G. Salese. Acta Horticulturae n. 494: 459-464.
11. **PUTERKA, G. J., HUMBER, R. A., POPRAWSKI, T.J.** 1994. *Virulence of fungal pathogens (imperfect fungi: Hyphomycetes) to pear psylla (Homoptera: Psyllidae).* – Environ. Entomol., Apr. 1994, 23(2): 514-520.
12. **ROBERTS, D.W.** 1981. *Toxins of entomopathogenic fungi.* In Burges, H.D. (ed.); 441-465.
13. **ROBERTS, D.W., HUMBER, R.A.** 1984. *Entomopathogenic fungi.* In: Roberts D.M. e Aist J.R. (eds), Infection processes of fungi. The Rockefeller Foundation, Stati Uniti, pp 1-12.
14. **WU-GUANG YUAN, SUN-JIAO DE, ZENG-MING SHEN, LIN-AXIANG, XU-DEYUAN, WANG-QUING SHEN, WU-GY, SUN-JD, ZENG-MS, LIN-AX, XU-DY, WANG-QS.** 1995. *Application of Beauveria bassiana strain 871 in controlling tea weevil (Myloecerus aurilineatus).* – Journal of Fujian Academy of Agricultural Sciences, 10(2): 39-43.



Dirección Editorial: Gonzalo Iranzo Pous

Directora: Lola Ortega Colomar

Redactor Jefe: Joan Benlloch Alcañiz

Secretaria de Redacción: Carolina Pérez Carbo

Consejo de Redacción: Manuel Arroyo Varela (Madrid), Antonio Bello Pérez (Madrid), Juan Antonio Batalla (Valencia), Juan Ignacio Caballero García de Vinuesa (Sevilla), Domingo Cadahia Cicuendez (Madrid), Pedro Castañera (Madrid), José Ramón Díaz (Madrid), Miguel Esparza (Pamplona), Alberto García de Luján y Gil de Bernabé (Jerez), Luis Navarro Lucas (Valencia), Luis de la Puerta (Valencia), Ricardo de Sebastián (Madrid), Juan José Tuset Barrachina (Valencia), José M.ª Vives de Quadras (Barcelona).

Departamento Editorial: Javier Sabater Pérez

Departamento Financiero: Susana Milán y Mar Díaz



PHYTOMA-España

C/ San Jacinto, 1 - 3 • 46008 Valencia

Tel.: (96) 382 65 11 - Fax.: (96) 382 65 15

Email.: phytoma@phytoma.com

Internet: www.phytoma.com

Edita: M. V. Phytoma España, S.L.

Traductores: William Vansteenberghe.

Fotomecánica y fotocomposición: Gráficas Papallona, S.C.V.

Imprime: Signo Gráfico (Alboraya).

Depósito legal: V-1.042-1988

ISSN: 1131-8988

Portada diseño: Ibán Ramón Rodríguez

Fotografías portada: Pedro Del Estal, L.V. López-Llorca, Fernando García del Pino y Primitivo Caballero.

PHYTOMA ESPAÑA, independientemente de los esfuerzos que realiza para verificar y asegurar la exactitud de la información aparecida en sus páginas, no se responsabiliza de la opinión o inexactitud de los autores.

Diciembre 2002

144 Sumario

13º SYMPOSIUM INTERNACIONAL SOBRE CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES: AGENTES MICROBIANOS Y ENTOMÓFAGOS

- 6 Desarrollo de aplicaciones y protección legal de microorganismos para el control biológico de enfermedades y plagas
Emilio Montesinos Seguí
- 13 Los principales organismos entomopatógenos y su potencial como insecticidas microbianos
Primitivo Caballero
- 20 Características y potencial bioinsecticida de los protozoos entomopatógenos
Jerzy J. Lipa
- 24 Diseño y aplicación de los bioinsecticidas basados en baculovirus
Trevor Williams
- 28 Presente y futuro de *Bacillus thuringiensis* en el control de plagas
Baltasar Escribá y Juan Ferré
- 31 Utilidad de BORNEO® en el manejo integrado de plagas de cítricos, frutales y algodón
Pedro B. Fuchs, Silvia Hinarejos, Josep Saltor y Abel Zaragoza
- 35 Utilización de *Bacillus thuringiensis* en la lucha contra la polilla del racimo de la vid
Ramón Coscollá
- 41 Los hongos entomopatógenos en el control de las plagas de insectos
E. Quesada-Moraga
- 49 Aproximación al control biológico de plagas y enfermedades de las palmeras por hongos entomopatógenos
L. V. López-Llorca, L. Asensio-Berbegal, S. Gómez-Vidal, T. Carbonell-Carbonell, J. Salinas y J. A. López
- 53 Estado actual y perspectivas del control biológico de mosca blanca mediante el uso de hongos entomopatógenos en Canarias
A. Padilla, M. Martín, E. Hernández-Suárez, S. Amador, A. Carnero, L. Asensio y L. López-Llorca y C. Fernández

- 63 Características de los nematodos entomopatógenos como bioinsecticidas. Selección de especies y ensayos de eficacia
Fernando García del Pino
- 77 Nematodos entomopatógenos para el control de insectos
Ralf-Udo Ehlers
- 82 Utilización de microorganismos antagonistas para el control de enfermedades de plantas: factores que influyen sobre la eficacia de biocontrol
Rafael M. Jiménez Díaz
- 86 Elictores biológicos de las plantas: beneficios y limitaciones potenciales
Peter Kaul y Félix Martínez
- 91 Nueva cepa bacteriana biofungicida para el control biológico de podredumbres fúngicas en postcosecha de fruta
Anna Bonaterra, Jesús Manuel Francés, Esiher Badosa, Jordi Cabrefiga, Emilio Montesinos y María Mari
- 95 Prospección, selección y ensayos de control biológico del fuego bacteriano mediante bacterias antagonistas
J. Cabrefiga, A. Bonaterra y E. Montesinos
- 99 Uso de agentes de biocontrol para la implementación de una estrategia de control integrado de la Fusariosis Vascular del garbanzo
Blanca B. Landa del Castillo, Juan A. Navas Cortés y Rafael M. Jiménez Díaz
- 103 *Pseudomonas* spp. asociadas a raíces de olivo controlan eficientemente la verticilosis del olivo
Jesús Mercado Blanco, Dolores Rodríguez Jurado, Ana Hervás Vargas, Elena Tejedor González y Rafael M. Jiménez Díaz
- 107 Producción, formulación y mejora de bacterias y levaduras para su aplicación en el control biológico de enfermedades
Inmaculada Viñas, Neus Teixidó, Maribel Abadías, Elena Costa, Josep Usall
- 116 Control biológico de los tumores causados por *Agrobacterium tumefaciens*: treinta años de eficacia basada en el conocimiento del patógeno, del agente de biocontrol y de su interacción
María Milagros López, Begonya Vicedo y Ramón Peñalver
- 121 Control biológico de enfermedades vegetales con hongos antagonistas
P. Melgarejo, A. De Cal, I. Larena, B. Guijarro, P. Sabuquillo y Mar Liñán



Sumario

- 124** Control biológico de *Meloidogyne* en cultivos hortícolas mediante hongos nematófagos
S. Verdejo-Lucas, M. Galeano, F. J. Sorribas, C. Ornat y L. V. López-Llorca
- 128** La introducción de enemigos naturales exóticos para control biológico: ¿un riesgo controlado?
Josep-Anton Jacas Miret
- 134** El control biológico en hortícolas
Juan Antonio Sánchez Sánchez
- 139** *Eretmocerus mundus*: control biológico de *Bemisia tabaci*
Alberto Urbaneja, Javier Calvo, David Beltrán, Lidia Lara y Jan van der Blom y Phil Stansly
- 143** Los depredadores y parasitoides como agentes de control de plagas de cultivos frutícolas
J. Avilla, D. Bosch y M.J. Sarasa
- 146** Control biológico de plagas de cítricos
F. García Marí
- 154** Uso conjunto de enemigos naturales y plaguicidas: necesidad de establecer la compatibilidad de los plaguicidas
Elisa Viñuela
- PÓSTERS TÉCNICOS**
- 160** Efecto de las aplicaciones de nematodos entomopatógenos para el control de la mosca del mediterráneo
R. Laborda, L. Bagues, C. Navarro, E. Montoro, E. Llopis, O. Barajas, M. Arroyo, E. M. García, A. Martínez y J. M. Sayagués
- 162** Control biológico del Gusano cabezudo (*Capnodis tenebrionis*) mediante la aplicación de "Biorend R" (formulado a base de nematodos entomopatógenos + quitosano)
O. Barajas, M. Arroyo, E.M. García, A. Martínez, J.M. Sayagués, E. Montoro y P. Llopis
- 164** Efecto del Tinopal UPNA sobre la infectividad, productividad y estabilidad genética del nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua*
Rosa Murillo, Rodrigo Lasa, Trevor Williams, Delia Muñoz, Primitivo Caballero y Dave Goulson
- 166** Efectos de un abrillantador óptico sobre la aparición de resistencia al SMNPV y los efectos subletales en *Spodoptera frugiperda*
A. M. Martínez, M. Villanueva, N. Miralles, I. San Martín, T. Williams y P. Caballero
- 168** β-Exotoxina de *Bacillus thuringiensis*: ¿bioinsecticida o metabolito no deseable?
Carmen Sara Hernández, Juan Ferré, Clara Martínez, Manuel Porcar y Primitivo Caballero
- 170** Uso de *Bacillus thuringiensis* en el control de plagas del algodón
Anna Estela, Joel González-Cabrera, Baltasar Escriche y Juan Ferré
- 172** Pruebas de control microbiológico y químico del escarabajo de la patata, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), en Italia Central
A.F. Spanedda y C. Pucci
- 174** Desarrollo de un nuevo bioinsecticida para el control de mosca blanca: Ensayos preliminares de eficacia bajo condiciones de laboratorio
César Ornat, Xavier Sorribas, Robert Gerger, Magda Grifoll, Carolina Fernández y Robert Gerger
- 176** Aproximaciones al control biológico de plagas de las palmeras datileras
L. Asensio-Berbegal, S. Gómez-Vidal, T. Carbonell-Carbonell, L. V. López-Llorca
- 178** Desarrollo de un formulado comercial a base de *Beauveria bassiana* para el control de insectos de interés agrícola
Cándido Santiago, Enrique Quesada, Elizabeth Araujo, Pablo Valverde, Francisco Román, Manuel Chaves y Allonso Rodríguez
- 180** Detección de *Beauveria bassiana* en *Xylotrechus arvicola* Ol.
Perspectivas sobre su utilidad
A. García Calleja y R. Sánchez Urraca
- 184** Evaluación de la virulencia de dos cepas autóctonas y una comercial del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en larvas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera, Pyralidae)
S. Speranza, C. Pucci y P.H. Pizzuolo
- 187** Producción de nematodos (entomopatógenos) en cultivo líquido
Ralf-Udo Ehlers and Arne Peters
- 188** Proteína verde fluorescente aplicada al estudio in situ de la localización y actividad de células bacterianas en la rizostera
Cayo Ramos
- 190** Antagonismo de aislados bacterianos de suelo de bosque y formulados comerciales de biocontrol frente a *Phytophthora cinnamomi* Rands
P. Domínguez Correa, S. González González, A. Rodríguez Pérez, L. Gallo Llobet, F. Siverio de la Rosa y A. Rodríguez Pérez
- 193** Evaluación in vitro de hongos micoparásitos y bacterias antagonistas para el control del oídio de cucurbitáceas
Diego Romero, Francisco M. Cazorla, M. Eugenia Rivera, Alejandro Pérez-García y Antonio de Vicente
- 196** Interacciones in vitro entre *Trichoderma harzianum* y *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici*
M.P. Santamarina, C. Asensi y J. Roselló
- 198** Comportamiento del hongo nematólogo *P. chlamydosporia* en la rizostera
J. G. Maciá-Vicente, E. Monfort-Prieto, J. Salinas-Calvete, L. V. López-Llorca
- 200** La posible aportación de los modelos fenológicos en el biocontrol del piojo rojo de California en los huertos de cítricos
Salvatore Arpaia, Ferdinando Baldacchino, Maria Antonietta Carboni
- 202** *Minotetrastichus ecus* y *Closterocerus trifasciatus* dos parasitoides importantes de *Cameraria ohridella*
Daniela Lupi y Costanza Jucker
- 204** Control biológico de la cochinilla roja de la palmera, *Phoenicococcus marlatti* Cockerell (Homoptera: Phoenicococcidae), mediante la suelta masiva del coccinélido *Rhyzobius lophanthae* Blaisdell (Coleoptera: Coccinellidae)
Susi Gómez Vives, Luisa Iborra Ferrández
- 209** Presente y futuro de los composts como biopesticidas en el control biológico de enfermedades de plantas
J.A. Pascual, M. Ros, C. García, T. Hernández y J.L. Moreno
- 212** Estrategias de Control Integrado de *Agriotes* spp. (*O. Coleoptera*, *F. Elateridae*) en el cultivo de la patata
Ana Ruiz de Azúa, Arturo Golderazena, Amaia Ortiz y Javier Pascualena
- 214** Aplicación del método de confusión sexual contra el agusanado (*Cydia pomonella* L.) en una plantación de peral en agricultura ecológica en las Vegas del Guadiana (Extremadura)
J.I. de la Cruz, A. Guisado, M.A. Martínez, J. Reyes, M.A. Galera, J.A. García, L. García, R. García, V. Garlitos, J.L. Muñoz y M. Torres
- 218** Control biológico e integrado de las enfermedades de postcosecha en la zona del empaquetado de la línea de confección: ensayos en cítricos
Giovanni Arras y Antonio Petretto
- 220** PANORAMA EMPRESARIAL