

Patogenicidad del hongo *Beauveria brongniartii*, sobre el gorgojo de los Andes *Premnotrypes latithorax*

Alcira Vera Robles¹ Jesús Alcázar Sedaño² Alfonso Aréstegui P.³

RESUMEN

VERA A, ALCÁZAR J, ARÉSTEGUI A. 1995. Patogenicidad del hongo *Beauveria brongniartii*, sobre el gorgojo de los Andes *Premnotrypes latithorax*. Rev. per. Ent. 38.— Con cepas aisladas del hongo a partir de muestras procedentes de cinco localidades del distrito de Chincheros, se llevaron a cabo experimentos de patogenicidad sobre huevos, larvas pupas y adultos del gorgojo de los Andes, bajo condiciones de laboratorio. Las larvas fueron las más susceptibles y los huevos los más resistentes a la infección. El aislamiento del hongo procedente de la localidad Racchi fue el más patogénico.

Palabras clave: *Beauveria*, *Premnotrypes*, hongos entomopatógenos, gorgojo de los Andes, papa, Cusco.

SUMMARY

VERA A, ALCÁZAR J, ARÉSTEGUI A. 1995. Pathogenicity of the fungus *Beauveria brongniartii*, on the potato weevil *Premnotrypes latithorax*. Rev. per. Ent. 38.—From five different localities of Chincheros district, Cusco, were obtained samples of the fungus. The fungus was isolated in laboratory and applied to eggs, larvae, pupae and adults of the potato weevil. Larvae were the most susceptible and the eggs the most resistant. Samples from the locality of Racchi were the most pathogenic.

Key words: *Beauveria*, *Premnotrypes*, entomopathogenic fungi, potato weevil, potato, Cusco, Perú.

Introducción

En un trabajo anterior, los autores (ROBLES, ALCÁZAR Y ARÉSTEGUI 1995) trataron el aislamiento del hongo *Beauveria brongniartii* a partir de gorgojos infectados procedentes de almacenes de papa de la comunidad de Huatata, Chincheros, Cusco, como parte previa para determinar la importancia de los residuos de cosecha como sustrato para el crecimiento de este importante entomopatógeno.

El ingreso del hongo se realiza a partir de la conidia que penetra por las cavidades intersegmentarias del insecto (DEBACH 1964, ALVES 1986). La conidia germina y forma el tubo germinativo, en cuya parte apical se produce un abultamiento (*aprosorium*) apartir del cual emerge el micelio infectivo, ramificándose en toda el área (ROBERTS *et al* 1979) produciendo blastoporas y

micelio en la hemolinfa; así es transportado hacia todas las partes del cuerpo del insecto afectando y destruyendo los tejidos, sobre todo el sistema nervioso (RUNO Y DE HERNÁNDEZ 1982, DEBACH 1964, ROJAS 1979). Después de la muerte del insecto el hongo sale en forma de micelio a través de los espacios intersegmentarios; en ocasiones lo cubre completamente a manera de algodón y con los días adquiere un aspecto harinoso por la presencia de conidias (MACLEOD 1954). El insecto infectado adquiere la apariencia de momificado (DEBACH 1964).

Este trabajo debe considerarse como una continuación del anterior. En esta oportunidad los objetivos son dos: (a) determinar la patogenicidad de los cinco aislamientos del hongo, proveniente de cinco localidades diferentes del distrito Chincheros, Cusco, utilizando tres concentraciones; y (b) determinar el estado más susceptible y el tiempo de mortalidad en cada uno de los estados de desarrollo del gorgojo de los Andes.

Materiales y métodos

Se empleó material del hongo aislado proveniente de cinco localidades del distrito Chincheros, Cusco (3.300 a 3.760 msnm): Racchi (R), Huatata (H), Olones (O), Huaypo (W) y Simatucca (S) que se encontraba en placas petri (VERA, ALCÁZAR Y ARÉSTEGUI, en este mismo volumen).

1. Bióloga. Universidad Nacional San Antonio Abad, Cusco. Este trabajo es parte de su tesis titulada Patogenicidad de cinco aislamientos del hongo *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch en el gorgojo de los Andes *Premnotrypes latithorax* Pierce (Coleóptera: Curculionidae). Ganadora del PREMIO JOSÉ M. LAMAS 1993. XXXV Convención Nacional de Entomología. Noviembre 1993. Arequipa.
2. Cenu'o Internacional de la Papa. Casilla postal 5969. Lima 100.
3. Departamento de Biología. Universidad Nacional San Antonio Abad. Cusco.

Pruebas de patogenicidad

Dilución.- La cantidad de inóculo fue un volumen de propágulos incrementado bajo las mismas condiciones para los cinco aislamientos, obtenida a los 15 días.

- A cada una de las cinco placas petri conteniendo el hongo, se añadió 10 ml de agua destilada y con un hisopo se separaron las colonias existentes en la superficie del medio de cultivo;

- Esta dilución se colocó en tubos de ensayo, para la primera dilución (D₁);

- Para las dos diluciones siguientes (D₂ y D₃), se utilizaron 10 tubos de ensayo que contenían 9 ml de agua destilada estéril; colocados los tubos en la gradilla, previamente rotulados con la inicial del lugar de colección (R, H, O, W, S) y con la letra D y el subfijo 1, 2, 3 para las diluciones.

- Del tubo D₁ se añadió 1.0 ml a los tubos conteniendo 9 ml de agua destilada; del mismo modo se transfirió de los tubos D₂, un mililitro a los tubos D₃.

Finalmente había tres tubos (uno por cada dilución) para cada localidad, haciendo un total de quince tubos de ensayo.

Gorgojos.- Se utilizaron insectos vivos en sus cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, pupa, adulto. Todos fueron colectados en los almacenes de los agricultores de Chincheros. Se inició el trabajo de patogenicidad en octubre 1990, fecha en que se colectaron las pupas; y se volvió a repetir la prueba en junio 1991.

Inoculación en pupas.- Se utilizó 600 pupas, distribuidas en número de 10 por placa petri conteniendo papel filtro en la base, hicieron un total de 60 placas. Para cada una de las cinco localidades o aislamiento, se requirió 12 placas, con 10 pupas cada una, (una por cada dilución (= 3), por 3 repeticiones (= 9) + 3 del testigo (= 12)). Con una pipeta se vertió 1.5 ml de inóculo sobre las 10 pupas de cada placa. En el testigo se aplicó agua destilada. Se sellaron las placas con cinta parafilm y se rotularon con iniciales de los lugares de procedencia, sus diluciones y la fecha de inoculación.

Inoculación en huevos.- Se utilizó 50 huevos por placa petri, totalizando 3.000 huevos en las 60 placas. El inóculo se aplicó de la misma manera que las pupas. Se realizó en enero 1991, cuando las hembras ovipositan. Para la prueba se obtuvo huevos de una crianza hecha en tapers de plástico que contenían papel toalla en la base y papa partida como alimento.

Inoculación en adultos.- Se utilizó un total de 600 adultos distribuidos como en el caso de las

pupas. El ensayo se hizo paralelamente al de los huevos. Los adultos recién emergidos se obtuvieron de un almacén de agricultores. En las placas ya inoculadas y rotuladas, recibieron una hoja fresca de papa para su alimentación, según la consumían.

Inoculación en larvas.- Se utilizó un total de 600 larvas IV, distribuidas como en el caso de las pupas. Esta prueba se realizó en mayo 1991; las larvas se obtuvieron de tubérculos 90 a 100% dañados procedentes de Chincheros, que se colocaron en bolsas de papel contenidas en una bolsa de plástico y al cabo de una semana salieron las larvas IV. Al terminar esta prueba se hizo un experimento adicional referido a la inoculación del suelo.

Aplicación del hongo en la tierra.- En 200 g de tierra estéril, en 20 tapers, a 15 de los cuales se aplicó 50 ml de hongo incrementado en el medio PD para los 5 aislamientos con 5 repeticiones, el resto para el testigo, con agua destilada. Se obtuvo larvas de tubérculos dañados, y se colocó un total de 10 portaper. A los 15 días se hizo la evaluación, utilizando una pinza.

Incubación.- Se hizo al medio ambiente.

Evaluación.- La observación de los diferentes estados de desarrollo y el progreso de la infección se hizo diariamente. Las evaluaciones fueron tres. *Parapupas*, a los 3, 10, 15 días hasta que uno de los aislamientos llegó al 100% de mortalidad. *Para los huevos*, a los 20, 40 y 60 días, hasta la eclosión de las larvas en las placas petri del testigo. *Para adultos*, a los 10, 20 y 30 días hasta que uno de los aislamientos llegó a 100% de mortalidad. *Para larvas*, a los 4, 8 y 12 días hasta que uno de los aislamientos llegó al 100% de mortalidad.

Diseño experimental.- Se empleó diseño completamente randomizado (DCR) para los cuatro estados de desarrollo, con arreglo factorial 5 x 3 x 3 x 3; 5 tratamientos o aislamientos; 3 concentraciones o diluciones; 3 evaluaciones y 3 repeticiones. Se utilizó la fórmula de Abbott:

$$Me = \frac{Mo - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

Me = porcentaje de mortalidad corregida
Mo = porcentaje de mortalidad observada
Mt = porcentaje de mortalidad del testigo

Resultados y discusión

El resultado comparativo del porcentaje de mortalidad de los cuatro estados de desarrollo del

gorgojo de los Andes *Premnotrypes latithorax* por acción del hongo *Beauveria brongniartii* se da en el cuadro 1 y en la figura 1.

Con relación a las concentraciones se aprecia que existe diferencias significativas para huevos, pupas y adultos, siendo la más efectiva la de $3,35 \times 10^7$.

Con relación a las fechas de evaluación, se debe tener en cuenta que la tercera evaluación refleja la infección final, es decir, que las dos evaluaciones anteriores son parciales. La tercera evaluación es estadísticamente superior a las anteriores. Esto indica que la mortalidad se incrementa con los días.

Con respecto a los aislamientos, se aprecia que el correspondiente a la localidad de Racchi fue el más patógeno (fig. 2), existiendo diferencias significativas con el aislamiento Simataucca que es el menos patógeno (fig. 3). Podría tratarse de una raza diferente, ya que las condiciones del experimento fueron comunes para los cinco aislamientos correspondientes a las cinco localidades del distrito de Chincheros, Cusco.

Finalmente, se aprecia que en la última fecha de evaluación, todos los aislamientos llegan a su

máxima patogenicidad. Se puede ver que con el aislamiento Racchi se tiene 100% de mortalidad para los estados de larva, pupa y adulto; pero en el estado de huevo alcanza sólo 9,6%. Probablemente la consistencia del corium ejerza resistencia a la germinación de la conidia.

Del ensayo llevado a cabo en frascos con tierra a la que se inoculó el hongo en medio líquido, el resultado fue que el patógeno se distribuyó homogéneamente en la tierra y causó 100% de mortalidad en las larvas, a los 15 días.

Conforme puede apreciarse en el cuadro 1 y en la figura 1, los huevos tuvieron mortalidad muy baja.

Conclusiones

1. El hongo *Beauveria brongniartii*, que se encuentra en forma natural en el campo cultivado de papa en el Cusco, infecta a todos los estados de desarrollo del gorgojo de los Andes *Premnotrypes latithorax*.

2. Se obtuvo 100% de mortalidad, a los 12 días en larvas; a los 15 días a la pupa y a los 30 días del adulto.

CUADRO 1.- Porcentaje de mortalidad en los cuatro estados de desarrollo de *P. latithorax* por acción del hongo *B. brongniartii*. Se consideran los cinco aislamientos, tres concentraciones en número de conidias por mililitro; tres evaluaciones, su promedio y el resultado de la última evaluación.

DATOS TOMADOS EN CUENTA	POR CEN TAJE DE MORTALIDAD							
	La rva		Pupa		Adulto		Huevo	
	Datos transí.	Datos orig.	Datos transí.	Datos orig.	Datos transí.	Datos orig.	Datos transí.	Datos orig.
Concentración								
$3,35 \times 10^7$	58,69 A	65,78	55,36 A	60,67	53,68 A	59,56	14,26 A	6,533
$8,35 \times 10^7$	57,97 A	64,89	59,07 A	59,56	49,96 B	55,78	13,53 AB	5,978
$8,78 \times 10^8$	56,09 A	63,24	52,08 B	57,49	47,36 C	52,00	12,80 C	5,467
Evaluaciones								
Tercera	84,60 A	96,80	83,80 A	96,60	77,08 A	92,22	17,89 A	9,556
Segunda	58,04 B	71,56	51,36 B	60,89	49,42 B	57,56	13,78 B	5,933
Primera	30,12 C	25,56	26,36 C	20,22	24,49 C	17,56	8,916 C	2,489
Aislamientos (% promedio)								
Racchi	63,17 A	71,48	55,47 A	60,37	55,51 A	59,63	15,09 A	7,111
Huatata	59,93 AB	67,00	54,44 AB	58,89	45,64 D	50,37	13,39 B	6,074
Olonos	56,78 BC	63,70	53,93 AB	60,00	52,00 AB	58,52	13,63 B	6,074
Huaypo	59,09 C	60,67	54,18 AB	60,33	50,99 BC	57,04	12,49 B	5,185
Simataucca	53,95 C	60,33	51,17 B	56,59	47,57 D	53,33	12,84 B	5,593
Aislamientos (%3ra.eval.)								
Racchi	90,00 A	100,00	87,96 A	98,89	90,00 A	100,00	17,90 AB	9,556
Huatata	87,84 AB	97,67	87,96 A	98,89	70,18 C	86,67	18,14 A	9,778
Olonos	83,87 BC	96,67	81,82 B	95,56	77,73 B	93,33	17,62 AB	9,333
Huaypo	81,71 C	95,14	81,71 B	95,44	76,82 B	92,22	17,71 AB	9,333
Simataucca	79,56 C	94,22	79,56 B	94,22	70,69 C	88,89	18,18 A	9,778

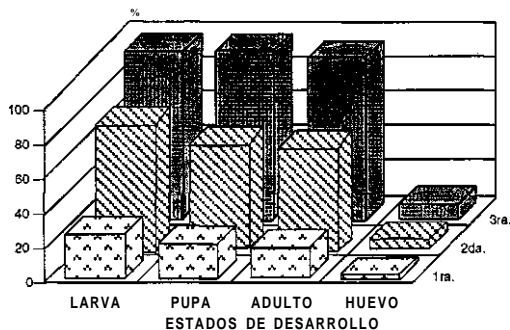


FIGURA 1.- Porcentaje de mortalidad en laboratorio, de *P. latithorax* por el hongo *B. brongniartii* en cada estado de desarrollo y en tres evaluaciones sucesivas.



FIGURA 2.- Larvas de *Premnotrypes latithorax* infectadas por el hongo *B. brongniartii* a los 20 días. Aislamiento de Racchi. Concentración $3,4 \times 10^7$ conidias por mililitro.



FIGURA 3.- Larvas de *Premnotrypes latithorax* infectadas por el hongo *B. brongniartii* a los 20 días. Aislamiento de Simatauca. Concentración $3,4 \times 10^7$ conidias por mililitro.

3. La larva es el estado más susceptible, siguen la pupa y el adulto. El menos susceptible es el huevo.

4. El aislamiento del hongo obtenido de la comunidad de Racchi resultó ser el más patogénico, y el de Simatauca fue el menos infectivo.

5. La mayor concentración de conidias del hongo causa mayor porcentaje de mortalidad.

6. El hongo propagado en medio líquido se distribuye homogéneamente en la tierra, llegando a causar 100% de mortalidad en larvas a los 15 días.

7. *Beuveria brongniartii* tiene gran potencial para ser empleado como controlador biológico del gorgojo de los Andes.

Agradecimientos.-Al Dr. FAUSTO CISNEROS y al Dr. K. V. RAMAN por sus sugerencias y apoyo; a los profesores NORA UGARTE, EFRAÍN MOLLEAPAZA, RENE ROMERO, POMPEYO COSÍO por sugerencias y facilidades. Al Dr. PEDRO G. AGUILAR por revisión del manuscrito y trabajo editorial.

Literatura

- Alcázar J. 1976. Biología y comportamiento del «gorgojo de los Andes» *Premnotrypes suturicallus* Kuschel (Coleoptera: Curculionidae). Tesis para ingeniero agrónomo. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo. 90 pp.
- Alves S B. 1986. Controle microbiano de insetos. Ed. Manóe. Brasil. 407 pp.
- De Bach P. 1964. Control biológico de insectos y malas hierbas. Ed. Continental. México. 149 pp.
- Ferron P. 1983. Induction artificielle d'une epizootie a *Beauveria brongniartii* dans une population de *Meioloncha meioloncha*. Symbiosis. France. XV(2):75-83.
- French E, Heber T. 1986. Métodos de investigación fitopatológica. IICA. San José. Costa Rica. 289 pp.
- Kawakami K. 1987. The use of an entomogenous fungus *Beauveria brongniartii* to control the yellow spotted logicorn beetle *Psacotheta hilaris*. International Seminar in Biological Control. Japón. 38-39.
- Keller S, Keller G, Auden J A L. 1986. Control of the cockchofer *Meioloncha meioloncha* L. with the fungus *Beauveria brongniartii*. Bol. Soc. Ent. Suiza. 50:47-56.
- Kuno M, De Hernández. 1982. Patología de insectos con énfasis en las enfermedades infecciosas y sus aplicaciones en el control biológico. 2da. ed. Ed. Universidad del Valle. Cali: 25-42 y 125-136.
- Macleod D M. 1954. Investigations on the genere *Beauveria* Vuill and *Tritirachium* Limber. Canadian Journal of Botany. 32: 818-890
- Roberts D W *et al.* 1979. Control of the Colorado potato beetle with fungí. Advances in potato pest management. Rusia: 119-137.
- Rojas J. 1979. Estudio de la susceptibilidad del gorgojo de los Andes *Premnotrypes suturicallus* Kuschel al hongo *Beauveria* sp. Tesis para ingeniero agrónomo. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo. 43 pp.
- Vera A, Alcázar J, Aréstegui A. 1995. Restos vegetales como sustrato del hongo *Beauveria brongniartii*, patógeno del gorgojo de los Andes. Rev. per. Ent. 38:xx-xx
- Yábar E. 1988. Integración de prácticas culturales para el control del gorgojo de los Andes. Revista latinoamericana de la papa. 1 (1):120-131.
- Zúñiga D, Redolfi de Huiza I. 1981. Infección de *Beauveria basiana* (Bals.) (Deuteromycetes: Moniliales) sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith) en laboratorio. Rev. per. Ent. 24:106-106.