

## SELECCIÓN DE CEPAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS NATIVOS PARA EL CONTROL DE LA TUCURA *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae)

LUNA RODRÍGUEZ, J. A., LECUONA, R. E. (1)

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue la búsqueda de cepas nativas de hongos entomopatógenos para el control de tucuras, preferentemente de los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*. Se destaca que se citan por primera vez para la Argentina, la presencia de *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *M. anisopliae* var. *acridum* Driver & Milner sobre *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae). A partir de las tucuras *R. pictus* y *Dichroplus elongatus* Giglio Toss (Orthoptera: Acrididae) infectadas naturalmente en el campo, se obtuvieron 34 cepas de *B. bassiana* y 35 de *M. anisopliae* var. *acridum*, parte de las cuales fueron evaluadas sobre *R. pictus* para determinar su patogenicidad y virulencia. Los resultados obtenidos permitieron determinar que las cepas aisladas de tucuras así como algunos aislamientos provenientes

---

(1) INTA Castelar, CNIA, IMYZA. C.C. 25 (1712) Castelar, Buenos Aires, Argentina.  
E-mail: rlecuona@cnia.inta.gov.ar

del crisomélido *Deuterocampta quadrijuga* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae) fueron patógenos sobre *R. pictus*. Se seleccionaron 4 cepas de *B. bassiana* y 2 cepas de *M. anisopliae* var. *acidum* que mostraron mortalidad superior a 90% y Sobrevivencia Media entre 7,2 y 9,2 días.

**Palabras claves.** hongos entomopatógenos, patogenicidad, control biológico, tucuras, *Rhammatocerus pictus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* var. *acidum*.

## ABSTRACT

### SELECTION OF STRAINS OF NATIVE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI FOR THE CONTROL OF THE GRASSHOPPER *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae)

The aim of this paper was to search strains of native entomopathogenic fungi for the control of grasshoppers, preferably the genera *Beauveria* and *Metarhizium*. It is worth of mention that the presence of *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *M. anisopliae* var. *acidum* Driver & Milner on *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae) is cited for the first time in Argentina. From the grasshoppers *R. pictus* and *Dichroplus elongatus* Giglio Toss (Orthoptera: Acrididae) naturally infected in the field, it were obtained 34 strains isolated from *B. bassiana* and 35 from *M. anisopliae* var. *acidum*. Some of them were evaluated on *R. pictus* to determinate its pathogenicity and virulence. The obtained results demonstrated that the strains obtained from grasshoppers, as well as from the chrysomelid *Deuterocampta quadrijuga* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae) were pathogens to *R. pictus*. Four strains of *B. bassiana* and 2 strains of *M. anisopliae* var. *acidum*, showing a mortality higher than 90% and a media survival time between 7,2 and 9,2 days were selected.

**Key words:** entomopathogenic fungi, pathogenicity, biological control, grasshoppers, *Rhammatocerus pictus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* var. *acidum*.

## INTRODUCCION

Tucura (Orthoptera: Acridoidea) es una palabra guaraní que significa “parecido a la langosta” y se denominan así, a la mayoría de los acrididos autóctonos (Anónimo, 1957). La abundancia, diversidad e importancia económica de las principales especies de tucuras varía según las áreas de estudio y los años considerados (Sánchez y de Wysiecki 1993; Cigliano et al. 1995; Beltrame et al. 2000; Zequín et al. 1999) indicándose al género *Dichroplus* y a la especie *Rhammatocerus pictus* como los más perjudiciales en el país (Liebermann, 1944; Liebermann y Schiuma, 1946; Beltrame et al. 2000). Asimismo, según Liebermann (1944), 15 tucuras/m<sup>2</sup> consumen por día el equivalente a lo que ingiere un vacuno. Para la especie *Dichroplus pratensis* Bruner (Orthoptera: Acrididae), Sanchez y Wysiecki (1993) determinaron que un individuo por m<sup>2</sup> ocasionaría la pérdida de 25,20 kg de forraje por ha.

Scroggie (1996) señala que el momento de efectuar el control químico es cuando el 20% de las tucuras se encuentran en estado de ninfas/adultos y estableció que el umbral de daño en pasturas es de 10 tucuras/m<sup>2</sup>. Sin embargo, el uso inadecuado de insecticidas químicos es perjudicial para el ambiente, los organismos asociados, el personal aplicador y los consumidores (Dent, 1999b; Lomer *et al.* 2001). Un incidente remarcable sobre los efectos tóxicos por el uso incorrecto de insecticidas fue el daño a la fauna benéfica, representado por la muerte de aproximadamente 6.000 aguiluchos langosteros (*Buteo swainsonii* Bonaparte) (Woodbridge et al. 1995).

Por otro lado, los hongos son los microorganismos parásitos de insectos más frecuentemente encontrados en la naturaleza (Dent, 1999a). Son generalmente específicos (Johnson *et al.* 1992; Goettel et al. 1995) y pueden ser integrados con otros agentes de biocontrol (Goettel y Johnson, 1991). En la lucha contra la langosta, *Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp. son los entomopatógenos más destacados, porque adicionalmente a la mortalidad que provocan, su producción es económica. Ofrecen buenas posibilidades para ser usados en formulaciones oleosas y pueden ser pulverizados en ultra bajo volumen en aplicaciones aéreas (Prior y Greathead; 1989, Dent, 1999b).

Por ello, el objetivo de este trabajo fue la búsqueda de cepas nativas de hongos entomopatógenos que puedan ser empleadas para el desarrollo de un bioinsecticida eficaz para el control de tucuras.

## MATERIALES Y METODOS

**Obtención del hospedante.** Entre diciembre de 1998 y marzo de 1999, se recibió de la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) ubicada en la provincia de Santa Fe, 1.000 individuos, entre adultos y ninfas, de la tucura *Rammatocerus pictus*. Asimismo, de enero a marzo de 1999, del INTA General Villegas (Prov. Buenos Aires) se recibieron 300 individuos de diferentes estadios de la tucura *Dichroplus elongatus*. Finalmente, de enero a marzo de 2000, se recibieron 600 individuos de *R. pictus* provenientes del INTA Rafaela. Todos los insectos fueron mantenidos en cuarentena en el lugar de origen durante una semana y luego fueron enviados al IMYZA-INTA-Castelar donde permanecieron en jaulas de 1.600 cm<sup>3</sup>, en una segunda etapa cuarentenaria, por 15 días, a 30 ± 1°C y fotoperíodo 14:10 (L:O). Ambas especies fueron alimentadas diariamente con hojas frescas de *Paspalum dilatatum* (Pioret) Coste (Gramineae: Poacea) “pasto miel” y como dieta seca, se les proporcionó afrecho de trigo. Los desechos fueron removidos diariamente.

**Obtención de hongos entomopatógenos.** Parte de los insectos recibidos entre 1998 y 1999 fueron mantenidos en condiciones de alta densidad, para estimular la expresión de las infecciones latentes que pudieran traer del campo, tal como lo indican Madelin (1963) y Shah et al. (1997). Luego que los insectos murieron bajo estas condiciones, fueron colocados en cámaras húmedas, preparadas con recipientes herméticos conteniendo una porción de algodón humedecido en agua destilada. Posteriormente, se determinó que algunos de los agentes infectivos correspondían a las especies patógenas de insectos: *B. bassiana* y *M. anisopliae* var. *acidum*, la identificación definitiva de estas especies fue realizada por los Dres. R. Lecuona (IMYZA-INTA Castelar) y B. Magalhães (Cenargen-Embrapa, Brasil), respectivamente.

Las cepas se obtuvieron mediante el aislamiento monospórico de cada una de estas especies fúngicas. Estos aislamientos fueron realizados de acuerdo con la técnica descrita por Lecuona (1996). Para *B. bassiana* se preparó un medio de cultivo completo consistente en: 0,4 g de fosfato monopotásico, 1,4 g de fosfato disódico, 0,6 g de sulfato de magnesio, 1 g de cloruro de potasio, 0,7 g de nitrato de amonio, 10 g de glucosa, 5 g de extracto de levadura y 15 g de agar bacteriológico (cantidades por litro de agua). El medio fue esterilizado a 121°C durante 20 minutos y vertido en cajas de Petri en una cámara de flujo laminar vertical.

El aislamiento monospórico se realizó utilizando un ansa bacteriológica. Se tomó una fracción del hongo presente sobre el cuerpo del insecto y se lo dispersó en forma de estrías sobre el medio de cultivo, lográndose de esta manera, un crecimiento en masa al inicio y colonias separadas al final. Posteriormente, cada colonia fue sembrada individualmente en tubos con medio de cultivo completo agarizado (pico de flauta) y se incubaron durante 15 días en una estufa de cultivo a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se almacenaron en heladera a  $4^\circ\text{C}$  hasta el momento de su utilización en ensayos de patogenicidad y virulencia sobre *R. pictus*. *M. anisopliae* var. *acridum*, se cultivó en medio agar papa glucosado, según lo indicado por Lecuona (1996). El procedimiento para el aislamiento monospórico de esta especie fue el mismo que el descrito para *B. bassiana*.

**Evaluación de patogenicidad y virulencia sobre *R. pictus*.** Se evaluaron la patogenicidad y virulencia de 18 cepas de *M. anisopliae* var. *acridum* y 14 cepas de *B. bassiana* obtenidas de *R. pictus*, 15 cepas de *B. bassiana* aisladas de *D. elongatus* y 13 cepas de la micoteca del Laboratorio de Hongos Entomopatógenos (IMYZA-INTA-Castelar) (12 de *B. bassiana* y 1 de *M. anisopliae*) que fueron obtenidas sobre hospedantes no ortópteros. En todos los casos, el patógeno fue suministrado en una porción de hoja de "pasto miel" de  $2,5 \text{ cm}^2$  previa inmersión en una suspensión en agua destilada estéril del orden de  $1 \times 10^8$  conidios/ml, equivalente a  $1 \times 10^6$  conidios/insecto. Las tucuras no fueron alimentadas el día anterior al tratamiento, para asegurar el consumo de todo el material contaminado.

Con cada una de las cepas, se trataron 10 individuos adultos de *R. pictus*, los cuales fueron mantenidos en recipientes individuales y

colocados en estufa de cultivo a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  y 12 horas de fotofase. Cuando el alimento contaminado fue consumido, 24 h después, se las alimentó con hojas de “pasto miel” sin hongo y se registraron las tucuras muertas hasta que el último de los individuos de cada tratamiento muriera. Fueron colocadas en cámara húmeda para confirmar la micosis ( $26^\circ\text{C}$  durante 7 días) y con la información obtenida, se realizó un análisis de sobrevivencia utilizando el programa informático ESTADISTICA, Edición 99.

**Crecimiento y producción de cepas en medio agarizado.** Para determinar el crecimiento radial y la producción de conidios de las cepas, se sembraron (3 ml de una suspensión de  $1 \times 10^7$  conidios/ml de cada uno de los aislamientos) en el centro de una caja de Petri, con medio completo o papa glucosado. Todas las cajas fueron mantenidas en estufa de cultivo a  $26^\circ\text{C}$  durante 9 días. Para cuantificar el crecimiento de las colonias, se realizaron mediciones con una regla milimetrada sobre dos diámetros perpendiculares en la base de las cajas de Petri. Se consideraron 4 repeticiones por cepa y posteriormente cada colonia fue suspendida en 10 ml de agua destilada con Tween 80 (polisorbato de sodio) al 0,1%. Se contó el número de conidios totales, utilizando una cámara de Neubauer, lo que permitió determinar la producción promedio de conidios por mililitro para cada aislamiento.

Estos datos fueron transformados a logaritmo y luego se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tuckey ( $\alpha = 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSION

**Aislamiento monospórico e identificación de hongos entomopatógenos.** Se registró baja infección fúngica en los insectos recolectados en el campo y mantenidos bajo cría (1.300), ya que se obtuvieron 25 (1,9%) tucuras infectadas con *B. bassiana* y 32 (2,46%) con *M. anisopliae* var. *acridum*. De las primeras 25 tucuras se obtuvieron 34 aislamientos de ese hongo (2,61%), siendo la mitad de ellos

procedentes de *R. pictus* y el resto de *D. elongatus*. Por otra parte, de las 32 tucuras con *M. anisopliae* var. *acridum*, se obtuvieron 35 aislamientos (2,69%) a partir de individuos de *R. pictus* procedentes de Rafaela (Santa Fe). Es importante destacar que esta es la primera cita argentina sobre la presencia de *B. bassiana* y *M. anisopliae* var. *acridum* sobre *R. pictus*. La baja frecuencia de infección encontrada también se ha presentado en otros países. Así, Shah et al. (1997) señalan que en la República de Benin (Africa) entre 1990 y 1992, se mantuvieron bajo cría masiva más de 23.000 insectos y obtuvieron 79 aislamientos siendo 8 de ellos de *B. bassiana* (0,03%) y 67 de *M. flavoviride* (0,29%).

Los resultados obtenidos en relación con el aislamiento de cepas provenientes de material del campo, permiten remarcar la presencia natural de los hongos entomopatógenos y la factibilidad de obtener cepas fúngicas nativas, a partir de insectos aparentemente sanos.

**Evaluación de patogenicidad y virulencia sobre *R. pictus* *Beauveria bassiana*.** En la selección realizada con las cepas de la Micoteca del Laboratorio de Hongos Entomopatógenos (IMYZA-INTA-Castelar), obtenidos de especies insectiles diferentes de los ortópteros, si bien fueron patógenas sobre *R. pictus*, no se obtuvieron porcentajes de virulencia superiores al 50%, con excepción de las cepas de *B. bassiana* aisladas del crisomélido *D. quadrijuga*.

En relación con los aislamientos provenientes de tucuras, el 90% de las cepas (25) de *B. bassiana* evaluadas provocaron una mortalidad superior al 80% sobre *R. pictus* en tanto que las cuatro cepas obtenidas del crisomélido *D. quadrijuga*, causaron 100% de mortalidad (Tabla 1). No se puede afirmar que estas últimas sean más virulentas, pues no se cuenta con un número suficiente de datos para realizar un análisis estadístico que permita dicha comparación.

Analizando los datos registrados de la mortalidad diaria causada por *B. bassiana*, se determinó que los insectos murieron entre los días 7,4 y 14,4, con una sobrevivencia media de 10,4 días.

Lloyd et al. (1997) en ensayos con *B. bassiana*, aislada de *Schizaphis graminium* Rodani (F), obtuvieron sobre la tucura *Melanoplus sanguinipes* (F) una mortalidad del 96% y 91,6%, cuando estos acrididos ingirieron  $5,4 \times 10^6$  y  $1,1 \times 10^7$  conidios/individuo, respectivamente, mientras que el  $TL_{50}$  fue estimado en 12,5 y 9,6 días para cada una de esas dosis. Sin embargo, Sieglaff et al. (1997) utili-

**Tabla 1.** Origen de las cepas, mortalidad confirmada (%) y sobrevivencia media (SM) de *R. pictus* tratada con cepas de *Beauveria bassiana* (Bb).

| Cepa   | Hospedante y lugar de origen               | Mortalidad confirmada <sup>1</sup> | SM <sup>2</sup>   |
|--------|--|------------------------------------|-------------------|
| Bb 169 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 30                                 | 7,60              |
| Bb 110 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 80                                 | 10,60             |
| Bb 172 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 100                                | 13,00             |
| Bb 111 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 80                                 | 7,40              |
| Bb 112 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 100                                | 9,00 <sup>3</sup> |
| Bb 113 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 80                                 | 10,40             |
| Bb 114 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 100                                | 9,70              |
| Bb 115 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 100                                | 12,30             |
| Bb 116 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 90                                 | 14,40             |
| Bb 117 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 90                                 | 10,40             |
| Bb 118 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 60                                 | 9,90              |
| Bb 119 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 80                                 | 10,50             |
| Bb 120 | <i>R. pictus</i> - Rafaela/Santa Fe        | 100                                | 10,90             |
| Bb 121 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 90                                 | 10,40             |
| Bb 122 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 70                                 | 10,96             |
| Bb 123 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 90                                 | 10,20             |
| Bb 140 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 90                                 | 10,20             |
| Bb 141 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 80                                 | 9,70              |
| Bb 142 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 90                                 | 9,20 <sup>3</sup> |
| Bb 143 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 90                                 | 9,30              |
| Bb 144 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 80                                 | 11,00             |
| Bb 145 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 90                                 | 9,70              |
| Bb 146 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 100                                | 13,50             |
| Bb 148 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 90                                 | 9,70              |
| Bb 149 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 100                                | 8,30 <sup>3</sup> |
| Bb 150 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 100                                | 12,50             |
| Bb 151 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 100                                | 12,10             |
| Bb 152 | <i>D. elongatus</i> - Gral Villegas/Bs. As | 80                                 | 11,00             |
| Bb 130 | <i>D. quadrijuga</i> - Alta Gracia/Cba     | 100                                | 10,90             |
| Bb 131 | <i>D. quadrijuga</i> - Alta Gracia/Cba     | 100                                | 8,50 <sup>3</sup> |
| Bb 132 | <i>D. quadrijuga</i> - Alta Gracia/Cba     | 100                                | 9,30              |
| Bb 138 | <i>D. quadrijuga</i> - Alta Gracia/Cba     | 100                                | 9,50              |

<sup>1</sup> Mortalidad con confirmación de la esporulación: Porcentaje sobre 10 individuos adultos de *R. pictus* tratados a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/ml.

<sup>2</sup> Sobrevivencia media en días de la mortalidad confirmada.

<sup>3</sup> Cepas seleccionadas.



zando una cepa de *B. bassiana* aislada del acridido *Ornithacris cavroisi* (Finot), en infecciones tópicas sobre *M. sanguinipes* y *Schistocerca americana* (Drury), con 10 ml de una suspensión  $1 \times 10^5$  conidios/insecto, obtuvieron 30% y 7,5% de mortalidad, respectivamente, 14 días después del tratamiento.

Comparando los resultados aquí obtenidos con los de Lloyd et al. (1997) se observa que con dosis 5 ó 10 veces menores ( $1 \times 10^6$  conidios/tucura) a las evaluadas por estos autores, se registraron valores de mortalidad y sobrevivencia media semejantes. Por otro lado, las diferencias que se observan con los resultados reportados por Sieglaff et al. (1997), podrían explicarse por la mayor dosis utilizada, por el modo en que fue suministrado el patógeno en los bioensayos y por la diferente especie de tucura tratada.

Feng et al. (1994) señalan que en general las cepas de *B. bassiana*, tienden a mostrar gran virulencia sobre su hospedante original o sobre especies cercanamente relacionadas, pero existen excepciones. Esto explicaría la virulencia presentada por las cepas heterólogas aisladas del crisomélido *D. quadrijuga* sobre *R. pictus*, así como fue el caso de una cepa aislada del lepidóptero *Diatraea saccharalis* (F.) que causó 97% de mortalidad sobre *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae) (Lecuona et al. 2001).

También se observó que *B. bassiana* mostró mayor capacidad de esporulación que *M. anisopliae* var. *acidum* sobre los cadáveres de las tucuras de manera tal que, si las condiciones ambientales son apropiadas, podría incrementar la fuente de inóculo en el campo, sin llegar necesariamente a constituirse en una epizootia, como sucede con *Nomuraea rileyi* (Farlow) la cual es capaz de diezmar a las poblaciones de *Anticarsia gemmatalis* Hübn en EE.UU., Brasil y Argentina (Lecuona y Alves, 1996).

***Metarhizium anisopliae* var. *acidum*.** Se registró que *B. bassiana* presenta una mortalidad superior a la obtenida con *M. anisopliae* var. *acidum*. Sin embargo, en las tucuras tratadas con este último hongo se observó una coloración rojiza característica causada posiblemente por sustancias similares a la oosporeína para el caso de infecciones con *Beauveria* (Lecuona, 1990; Khachatourians, 1996). Sin embargo, no se observó la esporulación de *M. anisopliae* var. *acidum*

sobre todos los insectos. Por esta razón el registro de mortalidad por micosis (con confirmación de la esporulación) es menor a la mortalidad real (con esporulación + coloración rojiza) causada por esta especie entomopatógena. Los datos de mortalidad real no son considerados para las comparaciones que se realizarán posteriormente, debido a que previamente se estableció como confirmación de mortalidad por infección fúngica, la esporulación del hongo sobre el cadáver.

En principio, esta menor capacidad de esporulación de *M. anisopliae* var. *acridum*, podría estar indicando que la mortalidad fue causada por la actividad de alguna sustancia tóxica, tal como indica Jaronski (1997), aspecto interesante para su posterior investigación en el desarrollo de formulaciones de productos insecticidas. De todos modos, el hecho de no esporular no invalida a las cepas para ser empleadas como micoinsecticidas.

Se determinó que todas las cepas de *M. anisopliae* var. *acridum* evaluadas sobre *R. pictus*, son patógenas para esta especie y se registró que el 72% de las cepas provoca mortalidad por encima del 70% en las tucuras tratadas (Tabla 2). Además, se observó una reducción en el tiempo de sobrevivencia de los individuos tratados con *M. anisopliae* var. *acridum*, con respecto al registrado para los aislamientos de *B. bassiana*. Las cepas de *Metarhizium* provocaron mortalidad entre los días 5,4 y 7,9, siendo el tiempo de sobrevivencia media de 7 días frente a los 10,4 días de *B. bassiana*. Esto demuestra que *M. anisopliae* var. *acridum* es más agresiva que *B. bassiana*.

Los datos obtenidos podrían compararse con los de Prior (1991), quien en una selección sobre *Schistocerca gregaria* (Forskål), con cepas de *Metarhizium* spp. obtenidas de ortópteros como *Patanga guttulosa* (Walker), *Ornithacris cavroisi* (Finot), *Zonocerus elegans* (Linnaeus), *S. gregaria* y *Acrotylus humbertianus* Saussure, registró a los 6 días, 88, 96, 72, 56 y 0% de mortalidad, respectivamente.

Moore et al. (1992) en ensayos en el laboratorio utilizando concentraciones de  $1,6 \times 10^7$  y  $1,6 \times 10^8$  conidios/ml, aplicando 5ml de suspensión en el pronoto de *S. gregaria* (método de inoculación diferente al empleado en el presente trabajo), registraron 100% de mortalidad a los 6 y 5 días, respectivamente. Además observaron que el consumo total de los individuos tratados con la dosis mayor, fue equivalente al consumo de 3 días de los individuos en el tratamiento

testigo. Asimismo, Bateman et al. (1993) aplicando topicalmente 2ml de una suspensión de conidios en agua y Tween 80 (0,05%) sobre *S. gregaria*, estimaron una  $DL_{50}$  de  $1,3 \times 10^6$  conidios/insecto con 35% de humedad relativa y  $1,6 \times 10^7$  conidios/insecto en condiciones de alta humedad.

Las diferencias que se observan con los resultados aquí obtenidos y los de Moore *et al.* (1992) y Bateman *et al.* (1993) posiblemente se deben al modo en que fueron realizados los tratamientos, las dosis

**Tabla 2.** Mortalidad real (%), mortalidad confirmada (% de cadáveres esporulados) y sobrevivencia media (SM) de *R. pictus* tratado con cepas de *M. anisopliae* var. *acidum* (Mava).

| Cepa    | Mortalidad real <sup>1</sup> | Mortalidad confirmada <sup>2</sup> | SM <sup>3</sup>   |
|---------|------------------------------|------------------------------------|-------------------|
| Mava 1  | 100                          | 70                                 | 7,20              |
| Mava 2  | 90                           | 60                                 | 7,30              |
| Mava 3  | 90                           | 60                                 | 6,90              |
| Mava 4  | 100                          | 80                                 | 7,40              |
| Mava 5  | 100                          | 70                                 | 7,40              |
| Mava 6  | 100                          | 30                                 | 7,90              |
| Mava 7  | 100                          | 90                                 | 7,30 <sup>4</sup> |
| Mava 8  | 100                          | 50                                 | 5,40              |
| Mava 9  | 80                           | 80                                 | 6,90              |
| Mava 10 | 100                          | 80                                 | 6,80              |
| Mava 16 | 100                          | 90                                 | 7,20 <sup>4</sup> |
| Mava 17 | 100                          | 70                                 | 6,10              |
| Mava 18 | 100                          | 80                                 | 6,90              |
| Mava 19 | 100                          | 80                                 | 7,20              |
| Mava 20 | 100                          | 70                                 | 6,60              |
| Mava 22 | 100                          | 40                                 | 6,60              |
| Mava 23 | 100                          | 80                                 | 7,10              |
| Mava 24 | 90                           | 70                                 | 6,60              |

<sup>1</sup> Porcentaje de mortalidad real: mortalidad con cadáveres rojizos + cadáveres esporulados

<sup>2</sup> Mortalidad con confirmación de la esporulación: Porcentaje sobre 10 individuos adultos de *R. pictus* tratados con concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/ml

<sup>3</sup> Sobrevivencia media en días del porcentaje de mortalidad confirmada

<sup>4</sup> Cepas seleccionadas

empleadas así como por la respuesta a las infecciones por parte de la especie de insecto sobre la que se realizaron los bioensayos.

Por otra parte, Prior (1991) y Sieglaff *et al.* (1997) señalan que las especies del género *Metarhizium* son más virulentas que las de *Beauveria*. Los datos obtenidos en relación con la virulencia de *M. anisopliae* var. *acridum* concuerdan con esta aseveración, sólo si se considera la mortalidad real causada por esta especie (Tabla 2).

Los resultados indican también que las cepas obtenidas de dos especies diferentes de acrididos (*R. pictus* y *D. elongatus*), son virulentas al menos sobre una de ellas. En relación con este aspecto, en un ensayo contra la langosta del desierto (*S. gregaria*), se concluyó que las cepas más virulentas, posiblemente, se encontrarían entre los aislamientos obtenidos a partir de ortópteros (Prior, 1991). Además, Lomer *et al.* (1997) manifiestan que las cepas de *M. flavoviride* obtenidas de acrididos son virulentas a un amplio rango de especies de acrididos, y señalan que en este caso, la especificidad de los hongos entomopatógenos opera por sobre el nivel de la especie. Esta es una razón importante al momento de seleccionar una cepa para ser utilizada como agente de control.

Los resultados obtenidos con ambas especies de hongos permitieron seleccionar dos cepas de *M. anisopliae* var. *acridum* (Mava 7 y 16) y cuatro de *B. bassiana* (Bb 112, 131, 142 y 149). Los aspectos considerados para la selección fueron la virulencia y la agresividad, es decir, el alto porcentaje de mortalidad y el menor tiempo de sobrevivencia de los insectos frente a la infección provocada por estas cepas.

**Crecimiento y producción de cepas en medio agarizado.** Con las cepas seleccionadas, se analizaron dos características microbiológicas: crecimiento radial de las colonias y la producción de conidios de las mismas. En relación con el primer parámetro, la cepa Bb 142 se diferencia significativamente del resto de las cepas de *Beauveria* y *Metarhizium*. Las cepas Mava 16 y 7 no se diferencian entre sí, pero son significativamente diferentes de las cepas de *B. bassiana* (Tabla 3). Con respecto a la producción de conidios, la cepa Bb 112 se diferencia significativamente de las cepas Bb 131 y 149 y Mava 16 y 7, pero entre las cepas de *M. anisopliae* var. *acridum* no se observan

**Tabla 3.** Crecimiento radial y número de conidios de las cepas seleccionadas de *B. bassiana* (Bb) y *M. anisopliae* var. *acridum* (Mava) en medio agarizado

| Cepa    | Crecimiento radial <sup>1</sup> |                | Cepa    | Número de conidios <sup>2</sup> |                |
|---------|---------------------------------|----------------|---------|---------------------------------|----------------|
| Bb 142  | 3,68                            | a <sup>3</sup> | Bb 112  | 26,3                            | a <sup>3</sup> |
| Bb 131  | 3,21                            | b              | Bb 142  | 11,5                            | ab             |
| Bb 112  | 3,15                            | b              | Bb 131  | 6,64                            | bc             |
| Bb 149  | 2,81                            | c              | Mava 16 | 4,22                            | bc             |
| Mava 16 | 2,58                            | d              | Mava 7  | 4,14                            | bc             |
| Mava 7  | 2,40                            | d              | Bb 149  | 2,84                            | c              |

<sup>1</sup>Media del crecimiento en centímetros

<sup>2</sup>Media del número de conidios por colonia expresado como  $N \times 10^7$

<sup>3</sup>Letras iguales no difieren significativamente por el test de Tuckey ( $\alpha=0,05$ ).

diferencias significativas. Se puede observar que la cepa con mayor crecimiento (Bb 142) no es la que mayor cantidad de conidios produce (Tabla 3). Estos resultados confirman que el crecimiento de las colonias y la producción de conidios sobre medio agarizado no siempre se relacionan, y que la variabilidad intraespecífica de las cepas define su comportamiento productivo (Díaz y Lecuona, 1995). Considerando el parámetro de producción de conidios, se podría considerar como la más promisorio entre las cepas de *B. bassiana* a Bb 112 y entre las de *M. anisopliae* var. *acridum* a Mava 16 y 7.

## CONCLUSIONES

La presencia de *B. bassiana* y *M. anisopliae* var. *acridum* sobre la tucura *R. pictus* es citada por primera vez en la Argentina.

Es posible obtener elevados valores de virulencia sobre la tucura *R. pictus* con cepas de *B. bassiana* aisladas de hospedantes heterólogos.

Todas las cepas de *B. bassiana* aisladas de *R. pictus* y *D. elongatus* son patógenas sobre *R. pictus*.

Las cepas analizadas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* var. *acridum* son altamente virulentas sobre *R. pictus*, siendo *M. anisopliae* var. *acridum* más agresiva que *B. bassiana*.

Las cepas de *B. bassiana* tienen mayor capacidad de esporulación sobre los cadáveres de los tucuras que las cepas de *M. anisopliae* var. *acridum*.

Se han seleccionado cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* var. *acridum*, que son candidatas para evaluaciones posteriores con el fin de desarrollar un micoinsecticida destinado al control de tucuras.

## BIBLIOGRAFIA

ANÓNIMO. (1957). Las tucuras, conocimientos generales sobre esta plaga. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección General de Sanidad Vegetal. Dirección de Acridiología. Buenos Aires, 43 p.

BATEMAN, R.; CAREY, M; MOORE, D. Y PRIOR, C. (1993). The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locust at low humidities. Ann. Appl. Biol. 122: 145-152.

BELTRAME, R.; LUISELLI, S.; ZEQUÍN, L.; SIMIONI, S. Y SALTO, C. (2000). Tucuras (Orthoptera: Acridoidea) en agroecosistemas de Santa Fe. En Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral VII. Resúmenes. Santa Fe, 13-15 de Setiembre, pp. 19.

CIGLIANO, M. M.; WYSIECKI, M. L. Y LANGE, C. E. (1995). Disminución de la abundancia de *Dichroplus maculipennis* (Orthoptera: Acridoidea) en comunidades del sudoeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argentina 54 (1-4): 41-42.

DENT, D. (1999A). Biological agents as biopesticides. CABI Bioscience Biopesticide Programme. Programme Briefing Paper/1. 3 p.

DENT, D. (1999B). Biopesticide as alternatives to chemical pesticides. CABI Bioscience Biopesticide Programme. Programme Briefing Paper/2. 4 p.

DÍAZ, B. M. Y LECUONA, R. E.. 1995. Evaluación de cepas nativas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Bals. (Vuill.) (Deuteromycotina) como

base para la selección de bioinsecticidas contra el barrenador *Diatraea saccharalis* (F.). Agriscientia XII: 33-38.

**FENG, M. G.; POPRAWASKY, T. J. Y KHACHATOURIANS, G. C. (1994).** Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current Status. Biocontrol Science and Technology 4: 3-34.

**GOETTEL, M. S. Y JOHNSON, D. L. (1991).** Environmental impacts and safety of fungal biocontrol agents. En Lomer C. J. and Prior, C. (Eds.). Biological Control of Locust and Grasshoppers. Proceedings of Workshop Held at the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Benin, 29 April – 1 May. pp. 297-361.

**GOETTEL, M. S.; JOHNSON, D. L. Y INGLIS, G. D. (1995).** The role of fungi in the control of grasshoppers. Can. J. Bot. 73(Suppl. 1): S71-S75.

**JARONSKI, S. T. (1997).** New paradigms in formulating mycoinsecticides. En Goss, G.; Hopkinson, M. and Collins, H. (Eds.) Pesticide Formulations and Application Systems, 17<sup>th</sup> Volume, ASTM STP 1328. pp. 99-112.

**JOHNSON, D. L.; GOETTEL, M. S.; BRADLEY, C.; VAN DER PAAUW, H. Y MAIGA, B. (1992).** Field trials with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against grasshoppers in Mali, West Africa, July, 1990. En Lomer C. J. and Prior, C. (Eds.). Biological Control of Locust and Grasshoppers. Proceedings of Workshop Held at the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Benin, 29 April – 1 May. pp. 297-310.

**KHACHATOURIANS, G. G. (1996).** Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. En Howard and Miller (Eds.) The Mycota VI: Human and Animal Relationships. Berlin, pp. 331-363.

**LECUONA, R. (1990).** El control microbiano como regulador poblacional de insectos plaga. En Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. Agricultura Sostenible. Publicación N° 4.

**LECUONA, R. (1996).** Técnicas empleadas con hongos entomopatógenos. *Err.* Lecuona, R. (Ed.) Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga. M. Mas, Buenos Aires. pp. 143-150.

**LECUONA, R. Y ALVES, S. B. (1996).** Epizootiología. En Lecuona, R. (Ed.) Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga. M. Mas, Buenos Aires. pp. 17-34.

**LECUONA, R.; EDELSTEIN, J.; BERRETTA, M.; LA ROSA, R. Y ARCAS, J. (2001).** Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycete) strains as potential agents for control of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J. Med. Entomol.* 38(2): 172-179.

**LIEBERMANN, J. (1944).** Algunas consideraciones sobre los campos invadidos por langostas o tucuras. Dirección de Agricultura y Ganadería e Industria. Ministerio de Obras Públicas. Buenos Aires. 8 p.

**LIEBERMANN, J. Y SCHIUMA R. (1946).** Las “ Tucuras ” más perjudiciales de nuestra agricultura y ganadería. Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación. Dirección General de Laboratorios e Investigaciones. Instituto de Sanidad Vegetal, Buenos Aires. 63p.

**LLOYD, B. J.; FENG, M. G; FALKOWSKY, J. E. Y KHACHATOURIANS, G. G. (1997).** Infection of the migratory grasshopper (Orthoptera: Acrididae) by ingestion of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *J. Econ. Entomol.* 90 (2): 383-390.

**LOMER, C. J.; BATEMAN, R. P.; JOHNSON, D. L.; LANGEWALD, J. Y THOMAS, M. (2001).** Biological control of locust and grasshoppers. *Annu. Rev. Entomol.* (46): 667-702.

**LOMER, C. J.; PRIOR, C. Y KOOYMAN, C. (1997).** Development of *Metarhizium* spp. for the control of grasshoppers and locust. In: Goettel, M. and Johnson D. (Eds). *Microbial Control of Grasshoppers and Locusts.* Mem. Entom. Soc. Can. 171: 265-286.

**MADLIN, M. F. (1963).** Diseases caused by Hyphomycetous fungi. En Steinhaus, E. A. (Ed.). *Insect Pathology. An Advanced Treatise.* New York and London Vol. 2. 687 p.

**MOORE, D.; REED, M.; LE PATOUREL, G.; ABRAHAM, Y. Y PRIOR, C. (1992).** Reduction of feeding by the desert locust, *Schistocerca gregaria*, after infection with *Metarhizium flavoviride*. *J. Invertebr. Pathol.* 60: 304-307.

**PRIOR, C. (1991).** Discovery and characterisation of fungal pathogens for locust and grasshopper control. En Lomer, C. J. and Prior, C. (Eds.). *Biological Control of Locusts and Grasshoppers.* Wallingford, UK. C.A.B. International, pp. 159-179.



**PRIOR, C. Y GREATHEAD, D. J. (1989).** Biological control of locust: The potential for the exploitation of pathogens. *FAO Plant. Prot. Bull.* 37 (1): 37-48.

**SÁNCHEZ, N. E. Y DE WYSIECKI, M. L. (1993).** Abundancia y diversidad de acridios (Orthoptera: Acridinae) en pasturas de la provincia de La Pampa, Argentina. *RIA*, 24 (1): 29-39.

**SCROGGIE, M. (1996).** Se viene la tucura. *Infotambo*, X (90): 66-67.

**SHAH, P. A.; KOOYMAN, C. Y PARAISO, A. (1997).** Surveys for fungal pathogens of locust and grasshoppers in Africa and Near East. *En* Goettel, M. and Johnson D. (Eds). *Microbial Control of Grasshoppers and Locusts*. Mem. Entom. Soc. Can. 171: 27-35.

**SIEGLAFF, D. H.; PEREIRA, R. M. Y CAPIERA J. L. (1997).** Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina) to *Schistocerca americana* (Orthoptera: Acrididae). *J. Econ. Entom.* 90(6): 1539-1545.

**WOODBRIDGE, B., FINLEY, K.F. Y SEAGER, S.T. (1995).** An investigation of the swainson's hawk in Argentina. *J. Raptor Res.* 29(3):202-204.

**ZEQUÍN, L.; BELTRAME, R.; LUISELLI, S.; SALTO, C. Y STRASSER, R. (1999).** Abundancia y diversidad de tucuras (Orthoptera: Acridoidea) en el centro oeste de Santa Fe y centro este de Córdoba. *En* Anuario 1999 INTA Rafaela, pp. 113-120.