

Control de *Naupactus xanthographus* y *Naupactus godmani* mediante el uso de formulados comerciales de hongos entomopatógenos (HEP)

Natalia Olivares P.* y Alejandro Morán V.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Entomología, La Cruz, Chile

*Autor para correspondencia: nolivare@inia.cl

RESUMEN

Naupactus godmani = *N. cervinus* (Coleoptera: Curculionidae) y *Naupactus xanthographus* (Coleoptera: Curculionidae) corresponden a plagas cuarentenarias para cítricos de exportación, representando pérdidas por causa de rechazos en diferentes mercados. Para su control, se evaluaron bajo condiciones de laboratorio y campo cinco formulados comerciales basados en hongos entomopatógenos (HEP) disponibles en nuestro país para el control de larvas de ambas especies de *Naupactus*. En laboratorio se obtuvieron mortalidades de un 87% sobre *Naupactus xanthographus* con el producto comercial Metagram Nx, alcanzando un TL_{90} a los 24 días. En relación a *Naupactus godmani*, el producto BioINIA HEP Nc obtuvo un 100% de mortalidad sobre las larvas, alcanzando el TL_{90} a los 6 días. En campo se utilizaron larvas centinelas, disponiéndolas a 20 cm de profundidad y aplicando los HEP mediante el sistema de riego. Los mismos productos alcanzaron las mayores mortalidades para cada especie de curculiónido. Sin embargo, éstas fueron más bajas, llegando a un 53% con Metagram Nx a los 30 días, y con Bio INIA HEP Nc a un 69,2% de mortalidad a los 15 días.

Palabras Claves: *Naupactus*, entomopatógenos, curculiónidos

ABSTRACT

Naupactus godmani = *N. cervinus* (Coleoptera: Curculionidae) and *Naupactus xanthographus* (Coleoptera: Curculionidae) correspond to quarantine pests for export citrus, representing losses due to rejections in different markets. In this study, the control over larvae of two *Naupactus* pest with commercial entomopathogenic fungi (EPF) available in our country was evaluated under laboratory and field conditions. In laboratory rearing larvae were used, obtaining mortalities of 87% on *Naupactus xanthographus* with the commercial product Metagram Nx, reaching a TL_{90} at 24 days. In relation to *Naupactus godmani*, the BioINIA HEP Nc product achieve 100% larvae mortality, reaching the TL_{90} at 6 days. Sentinel larvae were used in field at a depth of 20 cm and the application of EPF was through irrigation system. The same products achieved the highest mortalities for each curculionid species. However, these were lower, reaching 53% with Metagram Nx at 30 days, and with Bio INIA HEP NC a 69.2% mortality at 15 days.

Key Words: *Naupactus*, entomopathogenic, weevils

INTRODUCCIÓN

En cítricos, el control de las plagas *N. godmani* y *N. xanthographus* ha estado orientado principalmente al uso de insecticidas foliares que reducen la población de adultos, mediante aplicaciones realizadas durante su período de emergencia (Olivares et al., 2014). Sin embargo, la disponibilidad de ingredientes activos permitidos para los mercados de exportación progresivamente se ha visto limitada. En este escenario, como una medida de control complementaria, el control de larvas con hongos entomopatógenos corresponde a una herramienta a considerar dentro de una estrategia de Manejo Integrado de Plagas (Olivares y Morán, 2020).

Los hongos entomopatógenos (HEP) por lo general son microorganismos eucarióticos ramificados y a menudo filamentosos, que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa o ambos componentes. Son parásitos obligados o facultativos que producen enfermedad y muerte de los insectos. Tanto su crecimiento como su desarrollo se encuentran limitados por las condiciones ambientales externas, en particular alta humedad y temperaturas adecuadas para la esporulación y la germinación de las esporas. El género *Beauveria* es parásito de un gran número de artrópodos, afectando a más de 700 especies de insectos y ácaros. La infección ocurre normalmente a través del tegumento, lo que permite que el hongo germine entre 12 y 18 horas, dependiendo de la presencia de nutrientes, representados por nitrógeno orgánico, glucosa, glucosamina, quitina y almidón. La duración de las diferentes fases de la infección, depende de la especie de insecto y de las condiciones ambientales que ocurren durante su desarrollo. Las condiciones ambientales favorables para los hongos entomopatógenos corresponden a humedad relativa en torno al 90% y temperaturas entre 23 y 28 °C. El signo más característico de la colonización del hongo sobre sus hospederos es la presencia de colonias blancas o amarillentas.

El hongo *Metarhizium anisopliae* también ataca a un amplio

número de insectos. Existen antecedentes que señalan que sólo del grupo de los coleópteros, 134 especies pueden ser afectadas. *M. anisopliae* penetra al insecto a través del tegumento y las condiciones ambientales para su desarrollo son similares a *B. bassiana*, pero los insectos infectados por *M. anisopliae* se endurecen y cubren por una capa verdosa y pulverulenta de conidias.

La utilización de hongos entomopatógenos para el control de insectos presenta ventajas asociadas a su especificidad y selectividad, multiplicación, dispersión y persistencia, si es que éstos encuentran las condiciones adecuadas para parasitar a su hospedero. Además, pueden ser compatibles con ciertos grupos de insecticidas, realizando una acción sinérgica. Sin embargo, presentan algunas desventajas, ya que son sensibles a las temperaturas extremas, poseen menor velocidad de acción al compararlos con insecticidas y requieren de condiciones de almacenamiento especiales para su conservación.

El uso de hongos entomopatógenos es reconocido como una alternativa eficiente para el control de plagas de importancia agrícola y su utilización ha ido en aumento, ya sea a través de formulaciones artesanales o comerciales (Sepúlveda, 2012). Entre ellos destaca el uso de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp., especies que se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo y son consideradas bajo formulación como inocuos para el medio ambiente. Entre las formulaciones, estas pueden ser sólidas, líquidas y pueden ser aplicadas al suelo en forma directa o previamente diluidas (Urtubia y France, 2007).

El mercado de exportación de cítricos en Chile ha experimentado un crecimiento sostenido durante los últimos 15 años, siendo los Estados Unidos el destino más importante para esta industria. En las últimas temporadas, las plagas más recurrentes casuales de rechazos, corresponden a ácaros y lepidópteros, mientras que la presencia de estados inmaduros de curculiónidos en fruta exige, para evitar rechazos, la identificación de la especie mediante pruebas moleculares (PCR en tiempo real). La

búsqueda de herramientas de control para curculiónidos en cítricos de exportación, fue abordada en el proyecto CORFO “Desarrollo y validación de alternativas de control biológico y convencional para el manejo de curculiónidos cuarentenarios presentes en cítricos de exportación, 17COTE-72543”. El objetivo fue evaluar el control sobre *Naupactus* con el uso de HEP comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el Laboratorio de Entomología de INIA La Cruz se establecieron crianzas de larvas de ambas especies de *Naupactus*, desde las que se obtuvo el material para la

ejecución de las evaluaciones de laboratorio y campo. Se seleccionaron hongos entomopatógenos comerciales registrados en el “Listado de insumos visados para uso en agricultura orgánica nacional”, de acuerdo al Decreto Supremo N° 2/2016 del Departamento de Agricultura Orgánica del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), y fueron adquiridos aquellos disponibles al momento de la ejecución de las evaluaciones (Tabla 1).

Evaluaciones de laboratorio

Se evaluó el uso de formulados de hongos entomopatógenos sobre la mortalidad de larvas de

Tabla 1

Formulados de hongos entomopatógenos seleccionados para evaluaciones de control de larvas de *Naupactus xanthographus* y *Naupactus godmani*.

Nombre comercial	Organismo activo	Distribuidor	Tipo de insumo	Acción sobre
Metagram NX	<i>Metarhizium anisopliae</i>	BIOGRAM/ANASAC	Controlador biológico	Larvas de burrito de la vid (<i>N. xanthographus</i>)
Metagram AC	<i>Metarhizium anisopliae</i>	BIOGRAM/ANASAC	Controlador biológico	Larvas de capachito de los frutales (<i>N. cervinus</i>)
Met 21*	<i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Beauveria bassiana</i>	Sociedad Agrícola Terragénesis	Controlador biológico	Estados larvales de burrito (<i>Naupactus xanthographus</i> , <i>Aegorhinus superciliosus</i> , <i>Aegorhinus nodipennis</i> , <i>Asynonychus cervinus</i>), pololo verde (<i>Hylamorphia elegans</i>), pololo dorado (<i>Sericoides viridis</i>) y pololo café (<i>Phytoloema hermanni</i>)
BioINIA HEP Nx Burrito de la vid (<i>N. xanthographus</i>)	Hongos entomopatógenos	INIA	Controlador biológico	Larvas de burrito de la vid (<i>N. xanthographus</i>)
BioINIA HEP Nc Capachito de los frutales (<i>N. cervinus</i>)	Hongos entomopatógenos	INIA	Controlador biológico	Larvas de capachito de los frutales (<i>N. cervinus</i>)

Nota. *Formulación de HEP comercial disponible hasta diciembre de 2017.

Naupactus xanthographus y *Naupacus godmani* bajo condiciones de laboratorio. Para ello fueron utilizadas 50 larvas de *Naupactus xanthographus* de cinco meses de edad y 50 larvas de *Naupacus godmani* de dos meses de edad.

Los formulados se aplicaron sobre ambas especies mediante inmersión de las larvas en recipientes de vidrio que contenían la solución de hongos entomopatógenos, durante un tiempo de cinco segundos. Posteriormente fueron dispuestas individualmente en placas petri de 5 cm de diámetro sobre un papel absorbente. Las placas con las larvas inoculadas y las del testigo absoluto fueron mantenidas en sala de crianza en oscuridad, a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ y $50 \pm 3\%$ de humedad.

Las dosificaciones de las conidias para realizar las aplicaciones fueron diluidas en agua destilada, en un volumen equivalente a las dosis recomendadas comercialmente para aplicar en una hectárea del cultivo (Tablas 2 y 3).

La mortalidad de las larvas fue evaluada diariamente por un período de 30 días, determinándose su condición de viva o muerta, a través de la estimulación de su cuerpo con un pincel, siendo considerada muerta cuando la larva no presentó movilidad a la estimulación táctil y/o presentó sintomatología asociada a la acción de hongos entomopatógenos como es el oscurecimiento (melanización) o la aparición de micelio. Con los datos de mortalidad obtenidos fueron estimados los tiempos letales,

Tabla 2

Formulados evaluados para control de larvas de *N. xanthographus*.

Formulado	Especies de hongos	Dosis equivalente
Testigo absoluto	Sin hongos	No aplicado
Metagram NX	<i>Metarhizium anisopliae</i>	40 g/ha
Met 21	<i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Beauveria bassiana</i>	4 l/ha
BioINIA HEP Nx	Hongos entomopatógenos	20 g/ha

Tabla 3

Formulados evaluados para control de larvas de *N. godmani*.

Formulado	Especies de hongos	Dosis equivalente
Testigo absoluto	Sin hongos	No aplicado
Metagram AC	<i>Metarhizium anisopliae</i>	40 g/ha
Met 21	<i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Beauveria bassiana</i>	4 l/ha
BioINIA HEP Nc	Hongos entomopatógenos	20 g/ha



Figura 1. Larvas de *N. xanthographus* utilizadas como centinelas.

al cual murió el 50% de la población (TL_{50}) y el 90% de la población (TL_{90}), para cada uno de los formulados evaluados.

Evaluaciones de Campo

El ensayo fue realizado en un huerto comercial de naranjo *Citrus sinensis*, variedad New Hall, año 1994, ubicado en la Estación Experimental de la Palma, Quillota, perteneciente a la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Se encontraban presentes las especies de curculiónidos *N. xanthographus* y *N. godmani*, lo que indicaría la existencia de las condiciones adecuadas para el desarrollo de ambos curculiónidos.

Se evaluó la patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre larvas centinelas correspondientes a larvas de *N.*



Figura 2. Disposición de las larvas centinelas bajo los árboles.

xanthographus de cinco meses de edad (Figura 1) y larvas de dos meses de *N. godmani*, obtenidas desde la crianza establecida en INIA La Cruz.

Para cada especie, el número de individuos dispuesto fue de 15 larvas para cada fecha de evaluación, ubicados a 30 cm de su tronco y a 20 cm de profundidad. Las larvas centinelas fueron colocadas en bolsas de malla antiáfido de 3x5 cm, amarradas a un trozo de fibra de polietileno para facilitar su detección y recuperación (Figura 2).

La dosis de cada formulado correspondió a las recomendaciones de los fabricantes y se presentan para cada especie en las Tablas 4 y 5.

Tabla 4Formulados evaluados para el control de larvas de *N. xanthographus*.

Espece	Formulado	Dosis equivalente
<i>N. xanthographus</i>	Testigo absoluto	No aplicado
	Metagram NX	40 g/ha
	Met 21	4 l/ha
	BioINIA HEP Nx	20 g/ha

Tabla 5

Formulados evaluados para el control de larvas de capachito de los frutales.

Espece	Formulado	Dosis equivalente
<i>N. godmanni</i>	Testigo absoluto	No aplicado
	Metagram AC	40 g/ha
	Met 21	4 l/ha
	BioINIA HEP Nc	20 g/ha

La aplicación de los formulados de hongos entomopatógenos se realizó a través de un sistema de riego portátil, construido bajo las mismas características del utilizado en el huerto. La alimentación del sistema de riego y la distribución de la solución de hongos entomopatógenos se realizó mediante la utilización de un pulverizador hidráulico con capacidad de 100 l.

La mortalidad fue evaluada a los 15 y 30 días post aplicación (dpa), oportunidad en la cual se recuperaron las larvas y se trasladaron a laboratorio para determinar su mortalidad y verificar la causa en relación a la aparición de signos de los formulados aplicados.

Al retirar las larvas se determinó si estas se encontraban vivas o muertas, dependiendo si generaba o no algún

movimiento como respuesta a un estímulo táctil o a la presencia de sintomatología asociada a la acción de hongos entomopatógenos correspondiente a un oscurecimiento notorio, melanización o la aparición de micelio (Figura 3).

Análisis estadístico

Las mortalidades de las evaluaciones de campo se corrigieron utilizando la fórmula de Abbott, definida para infestaciones realizadas con poblaciones uniformes (Abbott, 1925). Para detectar diferencias entre los formulados, se sometieron a un análisis de varianza ANDEVA mediante el test de comparaciones múltiples DGC con significación del 5%.



Figura 3. Signos de mortalidad de larvas asociada a hongos entomopatógenos: A) melanización (Metagram NX); B) aparición de micelio (Met 21).

RESULTADOS

Evaluación de laboratorio

Los resultados de mortalidad de *N. xanthographus* visualizados a través de la colonización sobre las larvas de los hongos entomopatógenos utilizados (Figura 4), mostraron variabilidad entre los tratamientos. La mayor mortalidad fue alcanzada por Metagram NX con un 87%, a los 27 días post inoculación (Figura 5). La Tabla 6 presenta los tiempos letales TL_{50} y TL_{90} para los distintos

tratamientos, los que son menores en el caso de este mismo producto.

Cuando los formulados de hongos entomopatógenos fueron aplicados sobre *N. godmani* también colonizaron las larvas (Figura 6), generando mortalidades variables de acuerdo al tratamiento. BioINIA HEP produjo un 100% de mortalidad a los 23 días post inoculación (Figura 7). Los tiempos letales TL_{50} y TL_{90} fueron alcanzados para este mismo producto a los tres y seis días, respectivamente (Tabla 7).

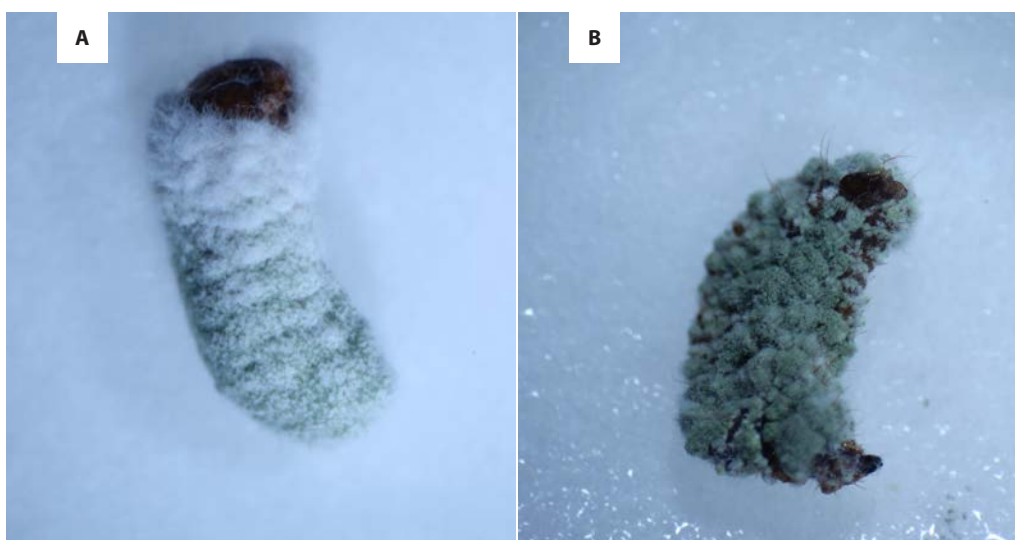


Figura 4. Signos de hongos entomopatógenos sobre larvas de *Naupactus xanthographus*: A) Metagram NX; B) BioINIA HEP Nx.

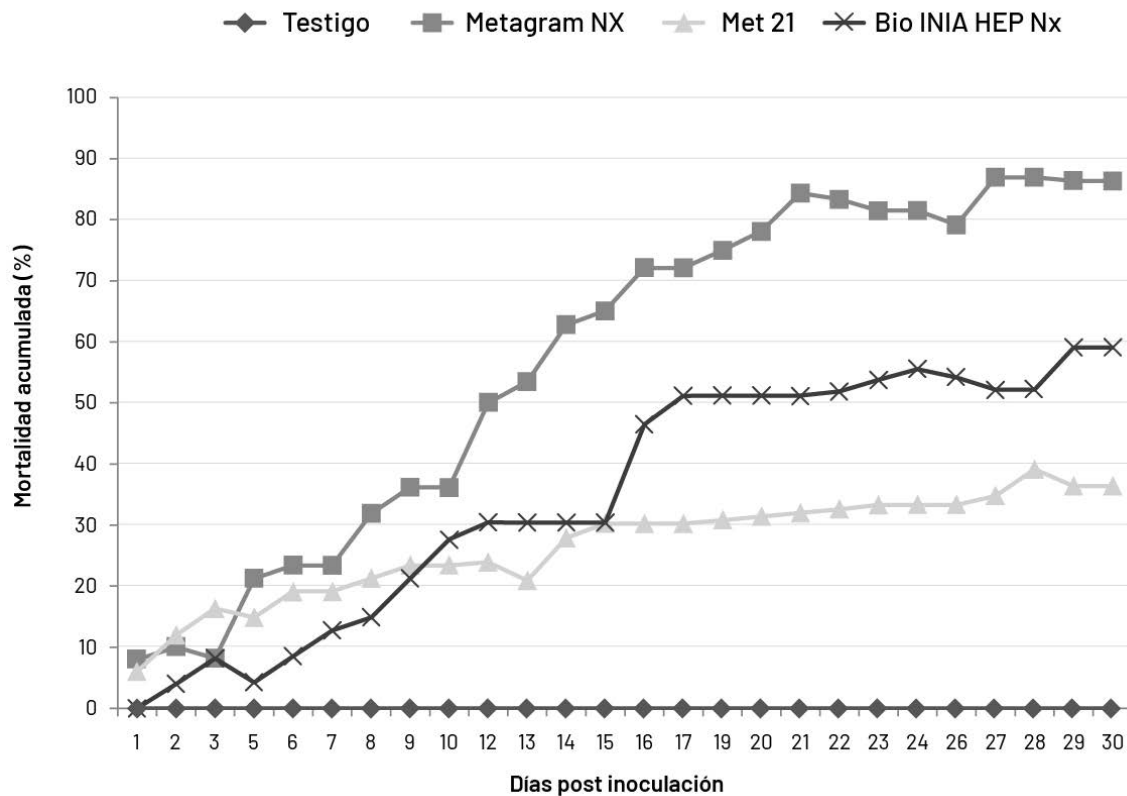


Figura 5. Mortalidad acumulada de larvas de *Naupactus xanthographus* por acción de hongos entomopatógenos en condiciones de laboratorio.

Tabla 6

Tiempos letales según formulado para *Naupactus xanthographus*.

Tratamiento	TL ₅₀ (días)	TL ₉₀ (días)
Metagram NX	12	24
Met 21	37	76
BioINIA HEP Nx	20	37

Evaluación de campo

En relación a la mortalidad de las larvas centinelas de *N. xanthographus*, se observó efecto de los tratamientos aplicados a los 15 y 30 días post inoculación. A los 15 días

los tratamientos Met 21 y BioINIA HEP Nx presentaron diferencias con el testigo, alcanzando una mortalidad de un 40% y un 30,8%, respectivamente. A los 30 días, todos los tratamientos presentaron diferencias con el testigo. En

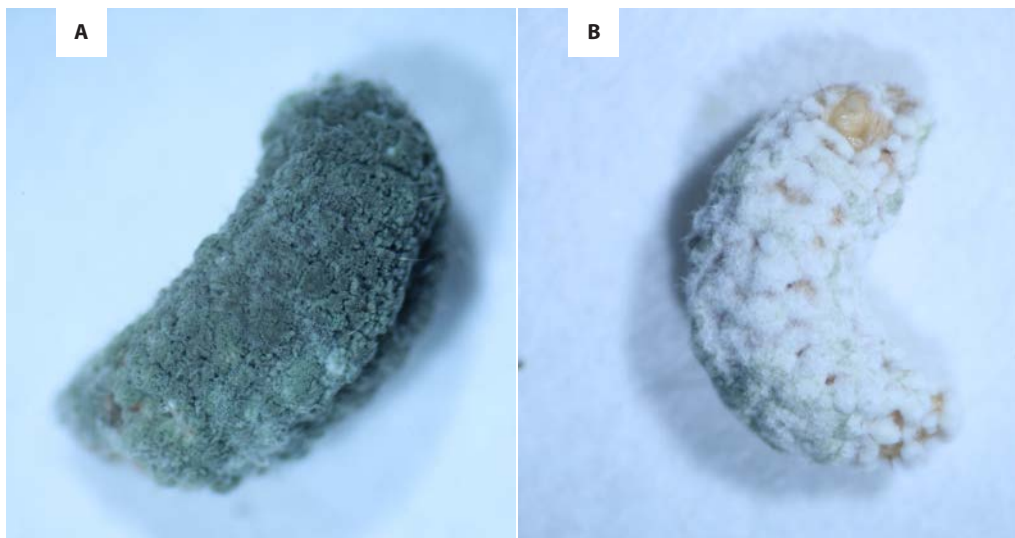


Figura 6. Signos de hongos entomopatógenos sobre larvas de *Naupactus godmani*: A) BioINIA Hep Nc; B) Metagram AC.

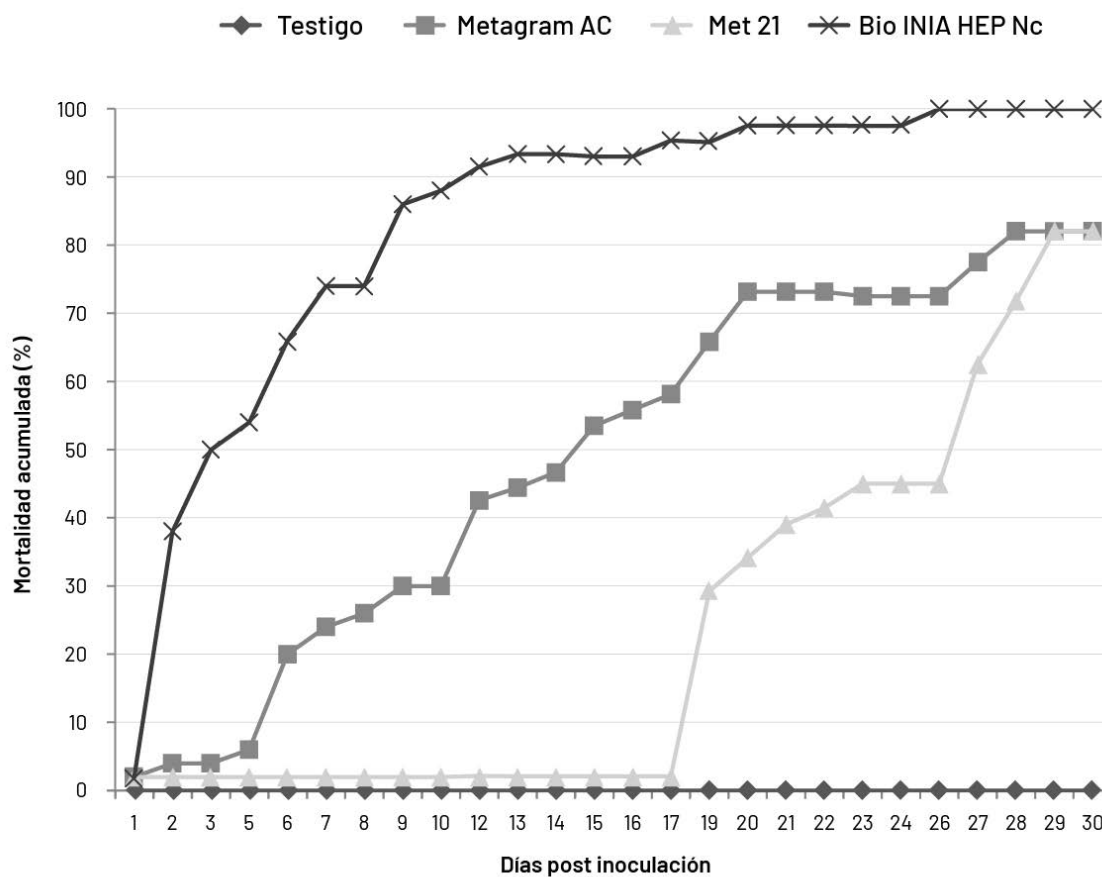


Figura 7. Mortalidad acumulada de larvas de *Naupactus godmani* por acción de hongos entomopatógenos en condiciones de laboratorio.

Tabla 7

Tiempos letales según formulado para *Naupactus godmani*.

Tratamiento	TL ₅₀ (días)	TL ₉₀ (días)
Metagram AC	16	27
Met 21	27	45
BioINIA HEP Nc	3	6

orden decreciente, las mortalidades observadas fueron con Metagram Nx de un 53%; con BioINIA HEP Nx de un 46,7%; y con Met 21 de un 33,3% (Figura 8).

Respecto de la mortalidad de larvas de *N. godmani*, a los 15 días post aplicación con BioINIA HEP Nc alcanzó un 69,2%, con Met 21 un 38,5% y con Metagram AC un 30,8%. A los 30 días post aplicación el efecto se mantuvo con BioINIA HEP y Metagram AC con un 50% y 40%, respectivamente (Figura 9).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos tanto a nivel de laboratorio, como de campo muestran que los HEP comerciales, disminuyen la población de larvas de las dos especies de *Naupactus* estudiadas. Bajo condiciones de laboratorio la mortalidad alcanzada fue mayor en un menor tiempo, expresando el potencial de los formulados, sin embargo, la efectividad expresada en campo demostró una disminución significativa después de 30 días post aplicado los HEP.

Diferentes estudios realizados en curculiónidos han demostrado el efecto de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, sobre larvas y adultos. Gyeltshen y Hodges (2016), señalan que *B. bassiana* parasita larvas y *M. anisopliae* adultos de *Naupactus godmani*. Por su parte Zuluaga et al. (2015), señalan un 100% de mortalidad sobre adultos del picudo de los cítricos *Compsus viridivittatus* con *B. bassiana* comercial

lo cual es alcanzado en un período entre 4 y 4,3 días. Asimismo, France et al. (2002), lograron altas mortalidades sobre *Asynonychus cervinus* = *N. godmani*, con diferentes concentraciones de *B. bassiana*, reconociendo efecto hasta los 90 días después de su aplicación en el campo. Evidencias presentadas por Mander et al. (2006), indican presencia de *B. bassiana* hasta 6 meses después de inoculados en el suelo, situación deseada para el control de larvas de *Naupactus*, considerando que *N. godmani* se encuentra al menos 3 meses en estado de larva y *N. xanthographus* alrededor de 9 meses.

CONCLUSIONES

Los HEP comerciales disponibles en Chile, corresponden a una herramienta de control biológico que contribuyen efectivamente a la reducción de las poblaciones de *N. xanthographus* y *N. godmani*, mediante el control de larvas.

AGRADECIMIENTOS

INNOVA CORFO Proyecto “Desarrollo y validación de alternativas de control biológico y convencional para el manejo de curculiónidos cuarentenarios presentes en cítricos de exportación (17COTE-72543)”.

LITERATURA CONSULTADA

Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.

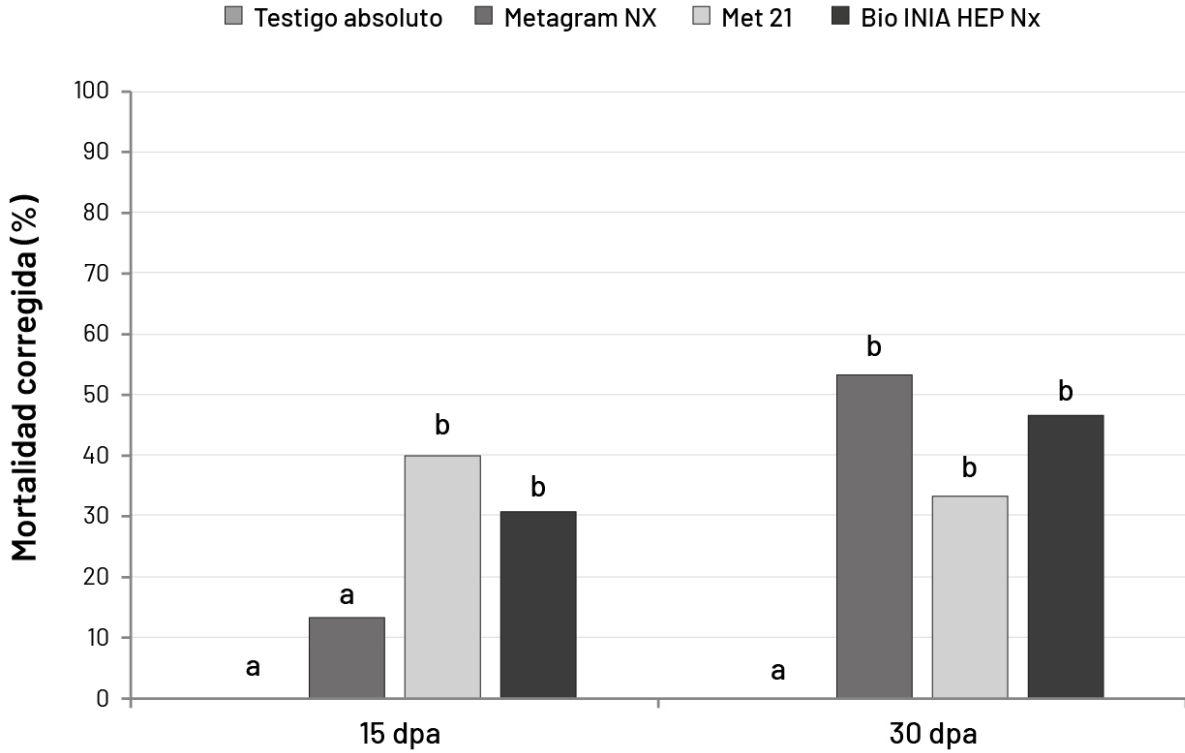


Figura 8. Mortalidad de larvas de *Naupactus xanthographus* por acción de hongos entomopatógenos en condiciones de campo.

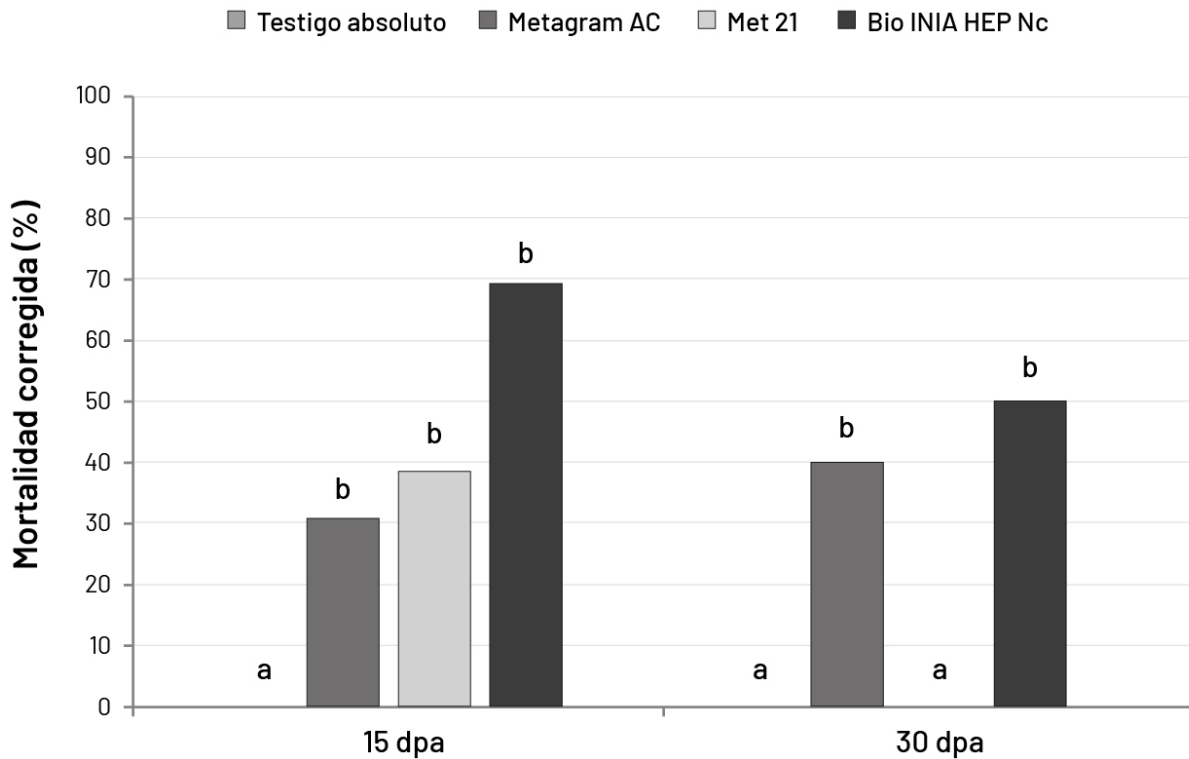


Figura 9. Mortalidad de larvas de *Naupactus godmani* por acción de hongos entomopatógenos en condiciones de campo.