

Control biológico de plagas en horticultura

Experiencias argentinas de las últimas tres décadas

Luis Andrés Polack, Roberto Eduardo Lecuona y Silvia Noemí López
Compiladores





Control biológico de plagas en horticultura

Experiencias argentinas de las últimas tres décadas

Compiladores

Luis Andrés Polack, Roberto Eduardo Lecuona y

Silvia Noemí López



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Argentina

INTA Ediciones

Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola – IMYZA – CICVyA - CNIA

2020

Control biológico de plagas en horticultura : experiencias argentinas de las últimas tres décadas / Luis Andres Polack ... [et al.] ; compilado por Luis Andres Polack ; Roberto Eduardo Lecuona ; Silvia N. López ; editado por Lorena La Fuente ; Claudio Galamarino ; prólogo de Claudio Galmarino... [et al.].- 1a ed.- Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Ediciones INTA, 2020. Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-8333-43-4

1. Hortaliza. 2. Control Biológico. 3. Control de Plagas. I. Polack, Luis Andres, comp. II. Lecuona, Roberto Eduardo, comp. III. López, Silvia N., comp. IV. La Fuente, Lorena, ed. V. Galamarino, Claudio, ed.
CDD 632.96

Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto, queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899.

Compiladores:

Luis Andrés Polack, Roberto Eduardo Lecuona y Silvia Noemí López

Diseño:

Lorena La Fuente

*Este libro
cuenta con licencia:*



CAPÍTULO 7

USO DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL MICROBIANO DE ARTRÓPODOS EN CULTIVOS HORTÍCOLAS

Manfrino, R. G., D' Alessandro, C. P., Lecuona, R. E. y López Lastra, C. C.

HISTORIA DE LA PATOLOGÍA DE INSECTOS Y CONTROL MICROBIANO DE PLAGAS

La Patología de Insectos es una disciplina que proviene de la patología de invertebrados y se enfoca básicamente en el estudio de los patógenos que producen enfermedades en insectos, en la enfermedad en sí, sus signos y síntomas y métodos de identificación de los patógenos y diagnóstico. La principal aplicación es en entomología. Las enfermedades causadas por patógenos son conocidas desde hace miles de años, siendo las primeras observadas en China (2700 A.C.). Agostino Bassi, demostró que el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin provocaba una enfermedad en el gusano de seda que causaba su muerte y dejaba al cadáver con una pelusa de color blanca conteniendo las esporas del hongo (Dubos, 1985). Luego, en 1865, fue Louis Pasteur que estudió otra enfermedad del gusano de seda, en este caso provocada por el protozooario *Nosema bombycis* Naegeli. Además, determinó que había factores ambientales que influían en la susceptibilidad a la enfermedad (temperatura, humedad relativa, ventilación de salas de cría, las hojas de la morera), descubriendo así los principios de la Epidemiología, ciencia que fue explicada años más tarde por Steinhaus en 1949 (Fuxa y Tanada, 1987; Lecuona y Alves, 1996).

El principal aporte u objetivo de la Patología de Insectos es el Control Microbiano, rama del Control Biológico que utiliza microorganismos (hongos, bacterias, virus, protozoarios y nematodos) para reducir y estabilizar las poblaciones de artrópodos plaga (Lecuona, 1996). Se podría considerar a Pasteur también como precursor del Control Microbiano, ya que recomendó el uso de

microorganismos para el control de enfermedades en animales y vegetales, como por ejemplo a la filoxera (hemíptero plaga de la vid) (Dubos, 1985). Sin embargo, los padres de este Control Biológico son los rusos Elie Metschnikoff e Isaac Krassilstchik, por ser los primeros en producir y aplicar un micoplaguicida. En 1879 Metschnikoff aisló a *Entomophthora anisopliae* (= *Metarhizium*) proponiendo su uso para el control del escarabajo de los cereales *Anisoplia austriaca* Herbst y contra la plaga de la remolacha azucarera *Cleonus punctiventris* (Germar) aplicando al suelo cadáveres esporulados de la misma. Finalmente, en 1888, Krassilstchik produce 55 kg del hongo en Smela (Ucrania) para aplicarlo en el campo y obtuvo una mortalidad de 55 a 80 % (Dubos, 1985; Alves, 1998).

DESCRIPCIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Los hongos entomopatógenos (HE) son microorganismos que tienen la particularidad de parasitar a diferentes grupos de insectos y a otros artrópodos, como las arañas y los ácaros (Boucias y Pendland, 1998). Los HE pueden infectar a los insectos directamente a través de la penetración de la cutícula, son diseminados por el viento, la lluvia y otros insectos hospederos, presentan esporas de resistencia que toleran condiciones climáticas adversas, persisten en el medio ambiente y su manipulación en cultivos *in vitro* es relativamente fácil (Osborne y Landa, 1992; Lecuona, 1996; Shah y Pell, 2003; Hajek, 2004).

Los HE viven en una relación multitrófica entre los insectos, el suelo y las plantas (Hesketh *et al.*, 2010). El ciclo de vida de los hongos entomopatógenos consiste en una fase parasitaria (desde la infección del huésped hasta su muerte) y una fase saprofítica (después de la muerte del huésped). Los insectos muertos por los hongos entomopatógenos liberan conidios que pueden iniciar nuevos ciclos de infección en hospederos primarios o alternativos. Además, los hongos entomopatógenos pueden habitar en el suelo por largos períodos de tiempo (Meyling y Eilenberg, 2006; Medo y Cagán, 2011) y desarrollar asociaciones con las raíces de las plantas (St. Leger, 2008; Bruck, 2010).

Los HE han sido ampliamente estudiados en todo el mundo, habiéndose encontrado más de 750 especies reunidas en 100 géneros diferentes (Lecuona, 1996; Vega y Blackwell, 2005).

Los principales grupos de hongos patógenos de insectos se encuentran en Reino Mycota y se ubican en el Phylum Ascomycota y Phylum Zoopagomycota (Spatafora *et al.*, 2016).

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

El ciclo de infección de los hongos entomopatógenos HE y el consecuente desarrollo de una micosis, ocurre en una serie de etapas (Figura 1). El paso inicial en la infección de los insectos involucra la adhesión de los propágulos infectivos (conidios o esporas) a la cutícula del insecto, lo cual ocurre por las propiedades físicas, químicas y electrostáticas de la superficie del conidio y de la cutícula. Luego de la adhesión e hidratación de los conidios, ocurre la germinación de los mismos que originan un tubo germinativo y, en algunos casos, la formación de un apresorio. La germinación depende en gran parte de la humedad ambiental y de la temperatura, y en menor grado, de las condiciones de luz y nutrición (Tanada y Kaya, 1993). La siguiente etapa involucra la penetración del tegumento. El modo de penetración depende principalmente de las propiedades de la cutícula, del grosor, de la esclerotización y de la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales del tegumento del insecto (Charnley, 1984). En la penetración, participan dos mecanismos: uno físico y otro enzimático. El primero, consiste en la presión mecánica ejercida por el extremo de la hifa invasiva o por el apresorio, que origina el quiebre de las áreas esclerotizadas y membranosas y la consecuente deformación de la cutícula (Tanada y Kaya, 1993). El mecanismo enzimático consiste en la acción de proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales degradan la cutícula en la zona de penetración y facilita la penetración del tubo germinativo o hifa invasiva. A continuación, ocurre la multiplicación del hongo en el hemocele y muerte del insecto. Una vez en el interior del mismo, la mayoría de los hongos entomopatógenos convierten el crecimiento micelial en un crecimiento por gemación, dando lugar a formas miceliales unicelulares llamadas blastosporas (en Ascomycota), cuerpos hifales (en Entomophthorales) o protoplastos, que se multiplican y se dispersan rápidamente por el interior del insecto (Samson *et al.*, 1988; Murrin, 1996; Boucias y Pendland, 1998). Previo a la muerte del insecto, la multiplicación del hongo en el interior del hospedador origina cambios fisiológicos que se observan

como convulsiones, carencia de coordinación y comportamientos alterados (Lecuona, 1996). La muerte del insecto puede ocasionarse por la secreción de sustancias tóxicas denominadas micotoxinas (en Ascomycota) o por la depleción de los nutrientes de la hemolinfa y la invasión completa de los tejidos del insecto (en Entomophthorales) (Tanada y Kaya, 1993; Murrin, 1996; Boucias y Pendland, 1998). El tiempo que demanda la muerte del insecto dependerá del hongo entomopatógeno, del insecto hospedador y de los factores ambientales (Lecuona, 1996). En la siguiente etapa ocurre la emergencia del hongo y la dispersión de los propágulos infectivos. Después de la muerte del insecto, si las condiciones ambientales no son favorables, el hongo permanece en el interior del insecto y el tegumento se mantiene intacto. Sin embargo, si las condiciones de humedad relativa son altas, las estructuras fúngicas logran atravesar nuevamente el tegumento para emerger hacia el exterior del insecto. Generalmente, la emergencia del hongo ocurre por las regiones menos esclerosadas de la cutícula, como las membranas intersegmentales o los espiráculos (Lecuona, 1996). Los propágulos infectivos (esporas o conidios) producidos en el exterior del cadáver son dispersados por el viento, el agua o los animales, y cuando estos tienen contacto con otro insecto comienza nuevamente el ciclo de infección (Boucias y Pendland, 1998).

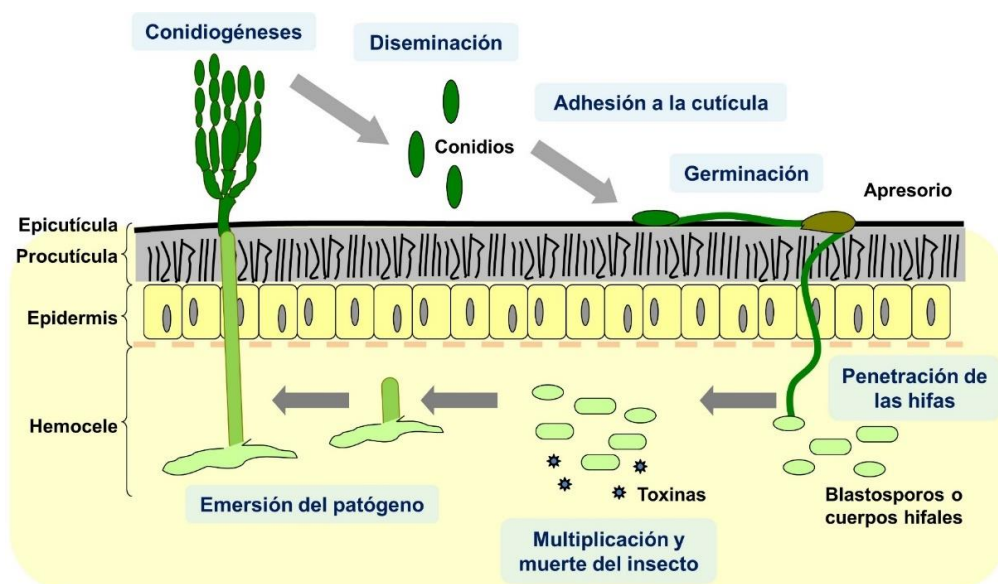


Figura 1. Esquema representativo del mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos (tomado y modificado de Mascarin y Jaronski, 2016).

En general, los hongos que se incluyen en el Phylum Ascomycota son considerados como patógenos facultativos, infectando un amplio rango de órdenes de insectos. La muerte del hospedador está asociada comúnmente a la producción de toxinas, a diferencia de los hongos del Phylum Entomophthoromycota, en los que la muerte del insecto hospedador ocurre debido a la colonización de tejidos (Humber, 1984).

Aun, cuando las condiciones ambientales sean las apropiadas, la patogenicidad del hongo dependerá del insecto hospedador. La defensa de los insectos contra las infecciones fúngicas puede estar dada a nivel cuticular, inmunológico o de comportamiento. Asimismo, el rango de especificidad puede variar desde una especie hasta una amplia diversidad de especies hospedadoras (Boucias y Pendland, 1998).

Dentro del grupo de los insectos, los HE infectan mayoritariamente los órdenes Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera y Orthoptera, donde la infección ocurre frecuentemente en los estados inmaduros (larvas o ninfas) y en los adultos (Tanada y Kaya, 1993).

Los hongos patógenos de insectos se encuentran representados en el Reino Mycota y ubicados en los Phyla: Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota y Zoopagomycota. La mayoría de los ejemplos de hongos patógenos de insectos y de otros artrópodos, se incluyen en los Phyla Zoopagomycota y Ascomycota. Sin embargo, representantes del Phylum Chytridiomycota, también se citan como patógenos de estados inmaduros de dípteros.

PHYLUM ASCOMYCOTA

Los hongos del Phylum Ascomycota, se caracterizan por presentar hifas septadas que se diferencian en conidióforos, células conidiógenas o fiálides y conidios los cuales corresponden a las estructuras reproductivas asexuales. La producción de los conidios ocurre en las células conidiógenas erectas del micelio aéreo y la dispersión de estos es de manera pasiva. En el ciclo de vida de los hongos de este Phylum la fase saprofitica ocurre en general en el suelo. Estos hongos, se encuentran en la naturaleza mayoritariamente en su estado asexual o conidial (anamorfo) más que en su estado sexual (teleomorfo). Por eso, antiguamente eran clasificados como “Imperfectos” y se encontraban dentro del

subphylum Deuteromycotina. Actualmente, los HE más importantes del Phylum Ascomycota, se ubican en Subphylum Pezizomycotina, Clase Sordariomycetes, Orden Hypocreales subdividido en tres familias. En la Familia Clavicipitaceae se encuentran los géneros *Aschersonia*, *Hypocrella*, *Metarhizium*; en la Familia Cordycipitaceae se hallan *Beauveria*, *Isaria*, *Lecanicillium* y en la Familia Ophiocordycipitaceae, se encuentran los géneros *Ophiocordyces*, *Hirsutella*, *Tolyposcladium*, *Haplosporium* (Samson *et al.*, 1988; Humber, 1997; Hodge, 2003; Sung *et al.*, 2007; Sosa-Gómez *et al.*, 2010).

PHYLUM ZOOPAGOMYCOTA (S. P. Entomophthoromycotina)

Dentro del Phylum Zoopagomycota, Orden Entomophthorales, se incluyen más de 200 especies patógenas, las cuales, generan epizootias en hemípteros, lepidópteros, ortópteros y dípteros. Las principales especies de Entomophthorales son: *Conidiobolus*, *Zoophthora*, *Pandora*, *Entomophaga*, *Entomophthora*, *Neozygites* (Papierok y Hajek, 1997; Humber, 1997; Benny *et al.*, 2001; Hibbett *et al.*, 2007; Sosa-Gómez *et al.*, 2010). Los hongos de este orden se caracterizan por presentar un conjunto de estructuras bien definidas, que se describen a continuación y se esquematizan en la Figura 2.

- ❖ **Protoplastos:** se forman dentro del cuerpo del insecto y se encargan del crecimiento vegetativo del hongo.
- ❖ **Cuerpos hifales:** están presentes en todas las especies, ya sea en la primera etapa del huésped infectado o se forman a partir de protoplastos. Tienen una pared celular que les da la forma típica. Los cuerpos hifales originan conidióforos, cistidios, rizoides y esporas de resistencia.
- ❖ **Conidióforos:** emergen desde los cuerpos hifales y pueden ser ramificados o no ramificados. Ambos, emergen desde un único tubo germinativo de un cuerpo hifal.
- ❖ **Conidios:** son esporas de origen asexual, no móviles. Su función es la diseminación de la enfermedad y la infección de nuevos hospedadores.
- ❖ **Núcleo:** los núcleos difieren en la forma en que se dividen (específico de la Familia), en el número por estructura, especialmente por conidio, y en su tamaño.

- ❖ **Esporas de resistencia:** son estructuras de paredes gruesas cuya función es asegurar la supervivencia del hongo en condiciones adversas.
- ❖ **Rizoides:** estas estructuras se encargan de fijar el hospedador al sustrato. Se forman en el lado ventral del hospedador poco antes de la muerte; por lo general surgen de las partes del cuerpo débilmente quitinizadas como membranas o articulaciones intersegmentales.
- ❖ **Cistidios:** su función es la ruptura de la cutícula del hospedador por presión mecánica. Contienen citoplasma y núcleos. En general, son de forma ahusada, rara vez con un extremo ensanchado o ramificado.

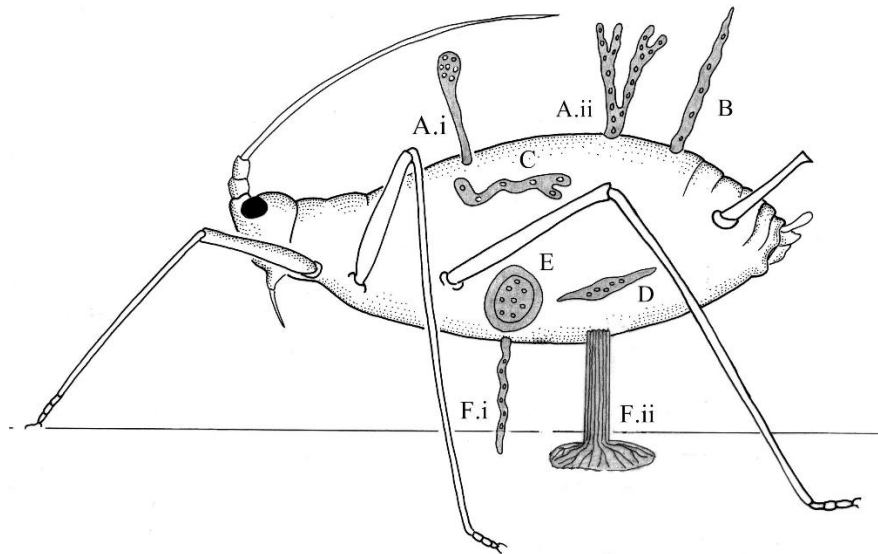


Figura 2. Esquema representativo de las estructuras típicas de los hongos entomofthorales. A.i: conidióforo simple; A.ii: conidióforo ramificado, B: cistidios; C: cuerpos hifales; D: protoplastos; E: esporas de resistencia; F.i: rizoides monohifales; F.ii: rizoides compuestos (tomado y modificado de Keller, 2007).

El ciclo de vida de los hongos Entomophthorales

Cada sistema patógeno-hospedador exhibe peculiaridades propias. Algunas especies de hongos por ejemplo tienen únicamente una única especie de hospedador, otras tienen muchas. Sin embargo, el ciclo de vida de los hongos entomopatógenos tiene muchas similitudes. Básicamente, puede ser dividido en un ciclo de conidios y uno de esporas de resistencia (Figura 3). El primero, facilita la propagación y la diseminación de la enfermedad y el último, sirve para la supervivencia bajo condiciones desfavorables. En muchas especies, las esporas de resistencia son desconocidas y otras estructuras deben ser capaces de resistir las condiciones adversas que pudieran ocurrir.

Las infecciones son siempre debidas a los conidios que se adhieren a la cutícula y forman un tubo de penetración. La penetración a través de la cutícula del hospedador usualmente deja un orificio triangular. La multiplicación dentro del hospedador se desarrolla por protoplastos o por cuerpos hifales. Estas estructuras colonizan el abdomen o, más comúnmente, todo el cuerpo del hospedador. El agotamiento de nutrientes detiene el crecimiento vegetativo. Los hospedadores de la mayoría de las especies mueren en esta etapa. Algunas especies, sin embargo, esporulan mientras el hospedador aún está vivo y móvil.

Normalmente, los cuerpos hifales comienzan a formar un solo conidióforo. Los conidióforos penetran la cutícula del hospedador por presión mecánica y forman los conidios primarios, que son activamente proyectados.

Se estima que el ciclo de esporas de resistencia comienza, generalmente, de la misma manera que el ciclo conidial. Se desconoce en qué etapa es inducida la formación de esporas de resistencia y si hay cambios a nivel nuclear durante su formación y maduración. Las esporas de resistencia pueden ser cigosporas o acigosporas. Su germinación y la formación de conidios germinales son conocidas únicamente para unas pocas especies.

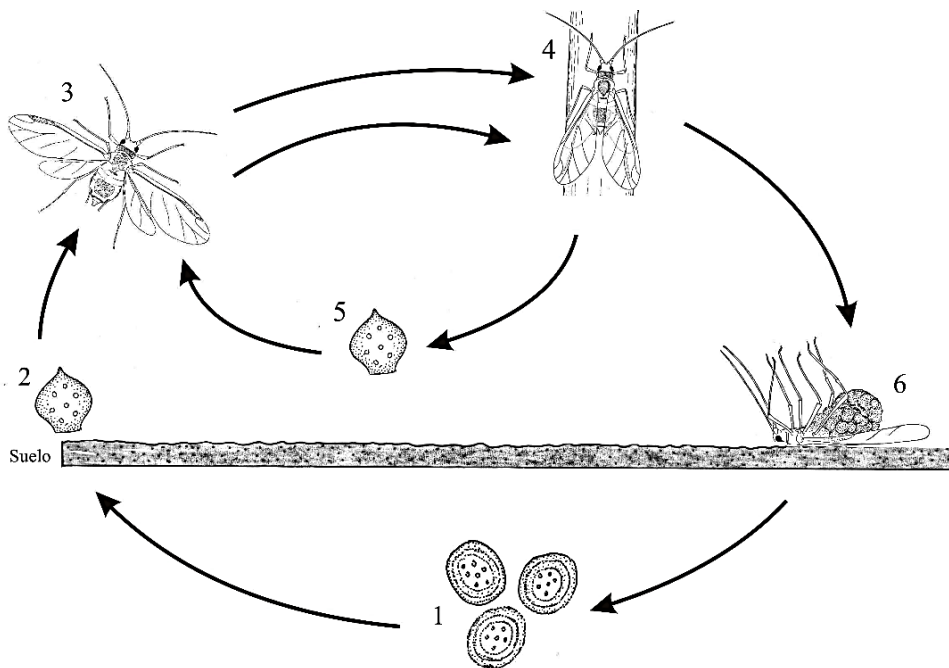


Figura 3. Ciclo de vida de *Entomophthora* sp. en áfidos. 1: Esporas de resistencia en el suelo; 2: Conidios asexuales infectivos son producidos por la estructura de supervivencia del hongo; 3: conidios asexuales infectan estados susceptibles del hospedador; 4: luego de un período de incubación el hospedador muere manteniéndose adherido al sustrato por rizoides; 5: desde el hospedador esporulado son producidos conidios que volverán a infectar a nuevos hospedadores; 6: cuando el número de hospedadores susceptibles disminuye o cuando las condiciones ambientales son desfavorables algunos individuos infectados no producen conidios infectivos, sino estructuras de supervivencia (esporas de resistencia). Las esporas de resistencia sobreviven durante las condiciones desfavorables en el suelo y producirán conidios infectivos el próximo año (tomado y modificado de Keller, 2007).

IMPORTANCIA DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

En la búsqueda de alternativas al control químico, se ha promovido el estudio y uso de organismos entomopatógenos en programas de control de insectos plagas a nivel mundial (Shah y Pell, 2003). Entre estos organismos, los HE constituyen un importante grupo de patógenos de insectos plaga. Algunas de las ventajas que presentan estos microorganismos son: alta especificidad, dispersión natural, posibilidad de cultivo *in vitro* manteniendo la patogenicidad, inocuidad para vertebrados y la posibilidad de provocar un control permanente una vez establecidos en el ambiente. Asimismo, otra ventaja importante que presentan estos patógenos es que la infección, generalmente, se produce por contacto, a través del tegumento de los insectos, no necesitando ser ingeridos por los mismos, siendo este, un factor importante en programas de control de insectos hemípteros.

FACTORES INVOLUCRADOS EN LOS PROCESOS EPIZOOTIOLÓGICOS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

La epizootiología es la ciencia que estudia la dinámica de las enfermedades en las poblaciones de insectos presentes en un ecosistema, no es un fenómeno individual sino, un proceso de múltiples interacciones dentro y entre las poblaciones tanto de los insectos como de los microorganismos, estando ambas íntimamente relacionadas con el resto de los factores ambientales (Lecuona, 1996). Esta ciencia, no solo comprende el estudio de las enfermedades infecciosas sino también, el de las no infecciosas que son, el resultado de diferentes causas: nutricionales, genéticas, fisiológicas, físicas, etc. (Tanada, 1963). En ciertos casos, ambas enfermedades pueden estar presentes al mismo tiempo en una población de insectos. El principal objetivo, de la epizootiología, es la explicación de la distribución de la enfermedad o de su ausencia dentro de la población de insectos.

La transmisión es un factor ecológico clave que debe ser comprendido antes que los entomopatógenos puedan ser manipulados. "La comprensión de los mecanismos de transmisión de un entomopatógeno dado permitirá la predicción de su capacidad de propagarse dentro de una población huésped y, en algunos casos, de su potencial como agente de control microbiano aplicado" (Harper, 1987). Según Hajek y St. Leger (1994), la dispersión de propágulos infectivos a un nuevo huésped representa la parte más arriesgada del ciclo de vida del hongo. Los procesos de producción de esporas, la descarga, dispersión, la supervivencia y la germinación de las mismas, con frecuencia, dependen de las condiciones ambientales.

Los factores que intervienen en el desarrollo de una enfermedad en artrópodos son muy variados y están relacionados tanto con características del hospedante como del patógeno y ambos con los factores ambientales (Tabla 1).

Tabla 1. Factores que influyen en el desarrollo de enfermedades en artrópodos.

Relacionados con la población del hospedante	Factores del hospedante que afectan la susceptibilidad del patógeno	Endógenos (fisiológicos y genéticos) Exógenos (temperatura y alimentación)
	Parámetros poblacionales relacionados con la densidad del patógeno	Comportamiento Densidad Relación con otros organismos
Relacionados con la población del patógeno	Propiedades individuales del patógeno	Patogenicidad, Virulencia, Agresividad
	Características de la población del patógeno	Densidad, Dispersión, Sobrevivencia, Transmisión
Factores ambientales		Temperatura
		Humedad relativa
		Precipitaciones
		Radiación solar
		Fotoperíodo, Suelo, Agroquímicos, Especie Vegetal

1. Factores relacionados con el hospedador

Entre estos, se incluyen el efecto de la biología y morfología de los insectos y los efectos del estado de desarrollo del insecto en la transmisión. Respecto al primero, los áfidos constituyen un buen ejemplo de un taxón que es exitosamente explotado por hongos entomopatógenos. Muchas características de los áfidos juegan un rol en el desarrollo de epizootias de hongos. Los áfidos son pequeños, insectos hemimetábolos, de cuerpos blandos, con ciclos de vida rápido, esperanza de vida relativamente corta, a menudo partenogenéticos y vivíparos, que producen formas sin alas (ápteros) y formas aladas. Debido a que los áfidos son hemimetábolos, las ninfas viven y se alimentan en colonias con los adultos, resultando que toda la población es susceptible al ataque por patógenos fúngicos. Esto se diferencia de la dinámica de los patógenos en insectos pertenecientes a los Ordenes Hymenoptera, Lepidoptera, Diptera, y otros insectos hemimetábolos en los cuales,

los entomopatógenos usualmente se restringen al estado de larva o adulto. Los cuerpos pequeños y blandos (débilmente esclerotizados) de los áfidos hacen que presenten relativamente pocas barreras a la penetración de hongos patógenos. El pequeño tamaño de los áfidos puede también estar relacionado con el poco tiempo requerido por algunos hongos patógenos para matar a su hospedador.

En relación a la densidad de la población hospedadora, las poblaciones densas de insectos, favorecen la rápida diseminación del patógeno. La densidad de la población hospedadora ha sido considerada como el principal factor que determina los niveles de infección en algunos sistemas de cultivo-insecto-patógeno (Robert *et al.*, 1973; Rabasse y Robert, 1975; Wilding y Perry, 1980; Soper y MacLeod, 1981; Feng *et al.*, 1992).

Con respecto al estado de desarrollo del hospedador, Kim y Roberts (2012) sugirieron que los estados ninfales tempranos de áfidos del algodón son menos susceptibles porque pueden escapar a la infección fúngica debido, al menos en parte, a la combinación de tres factores: bajo número de conidios adheridos a sus cutículas, a los bajos niveles de germinación de conidios y a la rápida muda que remueven los conidios antes de que el tubo germinativo penetre dentro de la hemolinfa del hospedador. En el caso de los pulgones, la alta susceptibilidad a la infección de las formas aladas es muy importante en la transmisión de los patógenos, ya que estas formas infectadas pueden volar y dispersar los patógenos entre sitios. Esto ha sido demostrado en China (Feng *et al.*, 2004). Además, la habilidad de volar largas distancias mientras están infectados es un factor importante en el desarrollo de epizootias (White *et al.*, 2000).

2. Factores relacionados con el patógeno

Entre los factores relacionados con el patógeno, los siguientes pueden tener un efecto en la transmisión: descarga activa o pasiva de conidios; tamaño, forma y número de conidios, mecanismos de fijación y mecanismos de supervivencia.

3. Efectos relacionados con la planta hospedadora

La presencia de tricomas en las hojas y tallos, la arquitectura y tamaño de la planta, la presencia de ceras superficiales, los compuestos químicos de las plantas y la existencia de plantas “refugio” son algunas de las características que pueden tener efectos en la transmisión (Duetting *et al.*, 2003).

4. Efectos relacionados con los factores ambientales

El ambiente juega el principal rol en la supervivencia y transmisión de todos los patógenos. La humedad relativa, la luz del sol, la temperatura, la lluvia, el viento y las sustancias químicas artificiales afectan la transmisión de los hongos patógenos. Cada especie de hongo tiene diferentes requerimientos de humedad y temperatura. Algunas especies de Entomophthorales son más comunes en regiones tropicales y subtropicales, mientras que otras predominan en zonas templadas o frías.

❖ **Efecto de la temperatura y de la luz:** los extremos de temperatura tienen un efecto en la supervivencia de los patógenos, y su capacidad para crecer, esporular y germinar. Se ha demostrado que la luz tiene efectos en la producción y germinación de esporas. Respecto a la temperatura, Glare *et al.* (1986) demostraron que afecta la producción y la descarga de conidios primarios de *Zoophthora phalloides* Batko desde cadáveres de *Myzus persicae* (Sulzer) esporulados, con grandes cantidades de conidios producidos a 10, 15 y 20 °C, pero muy pocos a 4 o 25 °C.

❖ **Agroquímicos:** las sustancias químicas aplicadas a los cultivos pueden afectar la transmisión de los hongos patógenos (Steinkraus, 2006). Los insecticidas pueden alterar la dinámica de la transmisión de los hongos patógenos al reducir a densidades muy bajas las poblaciones de insectos, afectando el potencial de transmisión y el desarrollo de epizootias. Respecto a los fungicidas, varios autores indican que estos pueden suprimir el desarrollo de epizootias de hongos entomopatógenos (Kish y Allen, 1978; Smith y Hardee, 1993; Wells *et al.*, 2000, Ruano-Rossil *et al.*, 2002).

❖ **Humedad relativa (HR):** es el factor más crítico en la transmisión de hongos patógenos. Los hongos, generalmente, requieren alta humedad para sobrevivir, germinar y esporular (Steinkraus, 2006). Glare *et al.* (1986) demostraron que la esporulación de *Zoophthora phalloides* Batko desde cadáveres de *M. persicae*

ocurrió únicamente con porcentajes de humedad relativa del 100 %. Los mismos autores mostraron que la humedad relativa influyó en la germinación de conidios primarios de *Z. phalloides*. Altos porcentajes de conidios germinaron a 98 y 100 %, mientras que no se registró germinación a 94 o 91 % de HR. Wilding (1969), Steinkraus y Slaymaker (1994) y Brobyn *et al.* (1985) demostraron que la HR es un factor clave en la esporulación y germinación de las especies *Entomophthora thaxteriana* Hall & Bell, *Pandora neoaphidis* (Remaudière and Hennebert) Humber y *Neozygites fresenii* (Nowak.) Remaud. & Keller. Estos autores coincidieron en que elevados porcentajes de HR favorecieron la esporulación y germinación de las especies de hongos.

PREVALENCIA DE LAS INFECCIONES FÚNGICAS

Los hongos entomopatógenos y particularmente los hongos Entomophthorales son importantes factores de mortalidad de insectos en el campo (Keller, 2006). Estudios intensivos de hongos Entomophthorales contribuyen al entendimiento de su potencial epizootológico, fenología y manejo en cultivos agrícolas (Pell *et al.*, 2001). Con frecuencia causan epizootias que pueden rápidamente reducir las densidades de insectos (Steinkraus *et al.*, 1995), esta característica los convierte en excelentes candidatos para ser utilizados como agentes de control biológico de insectos plaga.

El término prevalencia es definido como “*el número de hospedadores afectados con la enfermedad en un momento y tiempo determinados*” (Fuxa y Tanada, 1987). Se calcula como el porcentaje de insectos infectados respecto del número total de insectos en la muestra.

La prevalencia de los hongos Entomophthorales en poblaciones de insectos puede alcanzar niveles muy altos en ciertas épocas del año y pueden permitir la eliminación de las poblaciones de insectos plaga. Esta observación sugiere que existe un alto potencial de utilización de hongos Entomophthorales para control microbiano/biológico de insectos y ácaros, es especial en tácticas de Control Biológico Conservativo (CBC). Este tipo de control es una elección adecuada para hongos Entomophthorales, pero a la vez es desafiante ya que se respalda en un profundo conocimiento de la biología y ecología del hospedador y del patógeno,

así como de los efectos e interacciones entre los factores ambientales y prácticas de manejo que se realizan en relación con el insecto “blanco”.

Estacionalidad de infecciones fúngicas

Estudios previos referidos a la estacionalidad de hongos entomopatógenos en poblaciones de insectos en la Argentina documentan que las infecciones fúngicas son más comunes en las estaciones otoño-invierno (desde marzo hasta agosto) (López Lastra *et al.*, 2003; 2006; López Lastra y Scorsetti 2006; Toledo *et al.*, 2008) cuando prevalecen condiciones de temperaturas relativamente bajas y porcentajes de humedad elevados.

POTENCIAL DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN TÁCTICAS DE CONTROL MICROBIANO

El Manejo Integrado de Plagas es una estrategia que contempla el empleo de diferentes tácticas de control con el fin de reducir las poblaciones de las plagas. El Control Biológico (CB) es una de ellas, ya sea mediante el uso y/o manejo de entomófagos o de entomopatógenos (Control Microbiano). Mediante estrategias de CB los agentes de control biológico pueden ser introducidos en un área donde no estaban presentes, para lograr su establecimiento y colonización en el agroecosistema. También, se podría considerar favorecer el desarrollo de epizootias en el campo o desarrollar prácticas agronómicas de manejo para favorecer el mantenimiento e incremento de los HE presentes. Es evidente entonces, que el conocimiento de los principios de la epizootiología y su aplicación en el campo, jugarán un importante papel en el mantenimiento sostenido de la reducción poblacional de la plaga a controlar. A continuación, se citan estrategias de CB mediante la utilización de hongos entomopatógenos:

❖ **Liberación inoculativa e inundativa de hongos entomopatógenos:** la liberación inoculativa hace referencia a los casos de liberación de un entomopatógeno limitada a una estación o ciclo anual. El objetivo es aumentar la cantidad de inóculo de un patógeno ya presente en el área, con la finalidad de inducir una epizootia, aunque en ciertos casos, luego de algunos años puede lograr establecerse en el agroecosistema y mantener la plaga en un nivel enzoótico. De forma general, las epizootias naturales que se presentan en el

agroecosistema ocurren luego que los insectos han provocado un daño considerable al cultivo. Para subsanar en parte este desfase entre el daño y el nivel epizootico, los entomopatógenos pueden ser liberados al agroecosistema en forma temprana, cuando la población de la plaga es aún baja, ya sea durante la primera generación de ella o cuando otras especies susceptibles a ese patógeno preceden a la plaga principal.

La liberación inundativa refiere a la aplicación de un patógeno en el agroecosistema para aumentar su población y obtener un efecto en muy corto tiempo, independientemente de la densidad poblacional del hospedante. En esta estrategia, no se pretende que el microorganismo se establezca y se recicle en el hábitat. El efecto logrado es semejante al de un insecticida químico, de manera que esta alternativa corresponde al empleo de insecticidas microbianos o bioinsecticidas.

❖ **Control Biológico Conservativo (CBC):** es una estrategia de control biológico en la que las prácticas de manejo son alteradas para incrementar las condiciones de vida de los enemigos naturales de las plagas (Barbosa, 1998; Eilenberg *et al.*, 2001). Hasta la fecha, la mayoría de los ejemplos de CBC involucran artrópodos (depredadores y parasitoides) (Landis *et al.*, 2000; Gurr *et al.*, 2004; Wade *et al.*, 2008; Zumoffen *et al.*, 2012) con pocos estudios relacionados a entomopatógenos (Fuxa, 1998; Ekesi *et al.*, 2005).

Entre los hongos entomopatógenos, el Orden de los Entomophthorales ofrece un alto potencial para explotar en estrategias de CBC contra insectos (Powell *et al.*, 1986; Steenberg y Eilenberg, 1995; Barta y Cagán 2003; Shah y Pell, 2003; Ekesi *et al.*, 2005; Steinkraus, 2006). La importancia de estos organismos como enemigos naturales reside en su habilidad para suprimir las poblaciones de insectos con condiciones de humedad y frío, en contraste con los requerimientos para la actividad de parasitoides y depredadores (Pell, 2007). Estudios del rol de hospedadores alternativos como recursos de inóculo fúngico han sido realizados en Europa (Carruthers y Soper, 1987; Eilenberg, 1988; Powell *et al.*, 2003; Pell, 2007), en África (Hatting *et al.*, 1999) y en la Argentina con muy buenos resultados (Manfrino *et al.*, 2013).

PROCESO DE DESARROLLO DE UN PLAGUICIDA BIOLÓGICO A BASE DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

La producción masiva de hongos entomopatógenos tiene como objetivo la multiplicación a gran escala de las estructuras fúngicas, como micelio, conidios o blastosporas, para luego ser empleadas en la formulación de micoinsecticidas. El punto de partida para la producción de un micoinsecticida es contar con una cepa que reúna las siguientes condiciones: abundante producción de conidios, elevada virulencia, ser fácilmente cultivable, no ser tóxica para el hombre ni para ningún animal de sangre caliente y ser económicamente rentable (Goettel, 1984). Además, se debe tener en cuenta su crecimiento, esporulación, estabilidad genética, capacidad de supervivencia y persistencia en el medio ambiente (Jaronsky, 1986).

La producción masiva puede clasificarse según el método de multiplicación en: producción *in vitro* o producción *in vivo*. La producción *in vitro* es el método mayormente utilizado en la multiplicación de los hongos con requerimientos nutricionales menos exigentes, como por ejemplo, los hongos del orden Hypocreales (Goettel y Roberts, 1991). En cambio, la producción *in vivo* es llevada a cabo con patógenos obligados que tienen requerimientos nutricionales complejos y, por lo tanto, la única alternativa para propagarlos es a través de pasajes por insectos susceptibles a éstos (Ignoffo, 1981).

La producción *in vitro* puede llevarse a cabo en sustratos sólidos, líquidos o en sistemas bifásicos. La fermentación en sustratos sólidos es la alternativa más utilizada para el crecimiento y producción de conidios de los hongos entomopatógenos a escala industrial. Se utilizan en general granos de plantas de gramíneas, como por ejemplo arroz, cebada y trigo, los cuales pueden ser colocados en botellas de vidrio, bolsas de polipropileno o bandejas metálicas (Alves, 1986; 1998). Al inicio de las investigaciones sobre la fermentación en sustratos sólidos, se utilizaban botellas de vidrio para la multiplicación de las estructuras fúngicas, pero este sistema de producción fue progresivamente descartado por los costos elevados de las botellas, su fragilidad y las dificultades para su reutilización. Se plantearon dos procedimientos de fermentación sólida que introdujeron mejoras en la economía del proceso: uno de ellos es llevado a cabo en bolsas de polipropileno autoclavables (Aquino *et al.*, 1977) y el otro mediante la utilización de bandejas (Alves y Pereira, 1989).

Otra manera de producción *in vitro* es llevada a cabo en base a cultivos líquidos, la cual permite realizar un estricto control de las condiciones fisicoquímicas. Sin embargo, la mayoría de los hongos del orden Hypocreales no producen conidios en cultivos líquidos a pesar de crecer abundantes cantidades de blastosporas (Roberts y Sweeney, 1982). Estas blastosporas son fragmentos de micelio de pared delgada y aspecto levaduriforme, las cuales resultan infectantes, pero tienen un tiempo de vida medio corto y no soportan condiciones ambientales extremas como los conidios (Roberts y Sweeney, 1982).

La producción *in vitro* en sistemas bifásicos, aprovecha las ventajas de la producción en medios sólidos y la fermentación en medio líquido. Esta producción consta de dos etapas: la primera de multiplicación en medios líquidos para obtener abundante micelio, seguida de una segunda etapa en donde el micelio es distribuido en bandejas, las que son alojadas en un cuarto con temperatura y humedad controlada hasta alcanzar la esporulación.

Una vez obtenidos los conidios por producción masiva, el siguiente paso es la formulación, la cual consiste en mezclar el ingrediente activo, es decir los conidios, con materiales inertes (agentes emulsionantes, humectantes, protectores de luz UV, etc) que protejan al hongo y faciliten el almacenamiento (Monzón, 2001). Existen dos tipos de formulaciones: seca o líquida. En las formulaciones secas o como polvo mojable se utiliza un vehículo de origen mineral o vegetal, que ayuda a absorber la humedad de los conidios y mantiene la viabilidad de estos por un tiempo considerable. Estas formulaciones no cuentan con gran aceptación del mercado, ya que traen serios problemas de aplicación y ocasionan alergia al usuario (Lecuona, 1996). Las formulaciones líquidas utilizan un líquido emulsionante que tiene la función de mantener suspendidos los conidios en una mezcla homogénea y que garantice una adecuada aplicación mediante mochilas pulverizadoras (Monzón, 2001).

Previo a la comercialización de los micoinsecticidas se requiere un control de las propiedades biológicas, físicas y químicas de los formulados. Para esto, se realizan pruebas microbiológicas que establezcan la concentración de conidios, la germinación de las esporas y la pureza del formulado. Además, se determina el pH, el porcentaje de humedad y el tamaño de las partículas que aseguren al usuario un producto con la máxima eficacia de control en el campo (Vélez *et al.*, 1997).

Las formulaciones comercializadas a base a HE están siendo elaboradas con conidios, blastosporas o micelio, los cuales son mezclados con diferentes materiales, tales como aceite vegetal, medios de cultivos, agua y estabilizantes. En América Latina, la formulación de conidios en granos de arroz precocidos fue ampliamente desarrollada en industrias privadas y públicas, sin embargo, la comercialización de estos formulados presentó varias complicaciones a la hora de la preparación de la suspensión de conidios, el almacenamiento de las bolsas de arroz y en la aplicación en el campo. Dentro de las formulaciones más avanzadas en América Latina se encuentra el aceite emulsionante que puede ser preparado como una suspensión concentrada de conidios y es estable en el medio ambiente, ya que protege a los conidios de la desecación y de la radiación solar (Alves y López, 2008).

Actualmente, en el mercado mundial existen varios micoinsecticidas a base de hongos entomopatógenos para controlar las plagas de importancia económica (Charnley, 1997). En América Latina, la mayoría de los micoinsecticidas están siendo elaborados por Brasil seguido por Colombia, México, Cuba, Venezuela y Costa Rica (Alves y López, 2008). Algunos ejemplos de bioinsecticidas a base de *B. bassiana* son: Mycotrol, Naturalis-L, Betel, Ostrinil, Boverin, Boverol y Boverosil, los cuales son producidos en Estados Unidos, Alemania, Francia, Rusia, República Checa y China. Los nombres comerciales para las formulaciones a base de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin son: BIO 1020, Biogreen, Metaquino, Bio-Path, elaborados en Alemania, Australia, Brasil y Estados Unidos. Los bioinsecticidas en base de *Lecanicillium lecanii* (Zimmerm.) Zare & W. Gams, *Isaria fumosorosea* Wize y *Isaria javanica* (Frieder & Bally) Samson & Hywel-Jones han sido recientemente producidos para combatir las plagas agrícolas. Las formulaciones de *L. lecanii* son producidas en Holanda. Los nombres comerciales son Mycotol y Vertalec. Asimismo, los productos a base de *I. fumosorosea* se denominan PFR-97 y PreFeRal, elaborados en Bélgica (Charnley, 1997). Recientemente en Brasil, fue registrado un nuevo bioplaguicida en base de *I. fumosorosea* (cepa ESALQ 1296) para el control de una de las principales plagas de cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama por la empresa Koppert Brasil (<https://www.koppert.com.br/challenger/>).

USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL MICROBIANO DE PLAGAS HORTÍCOLAS EN LA ARGENTINA

En la Argentina, las investigaciones acerca de la ocurrencia y uso de los hongos como agentes de control se han enfocado principalmente en hemípteros, abarcando principalmente a insectos pertenecientes a las Familias Aleyrodidae, Aphididae y Cixiidae, algunos de los cuales representan en la actualidad un serio problema de plagas en cultivos hortícolas.

Los estudios de los hongos patógenos de la mosca blanca (Hemiptera: Aleyrodidae) involucran estudios de ocurrencia natural y de patogenicidad de hongos Hypocreales. Scorsetti *et al.* (2008) y Toledo *et al.* (2004) citan a las especies *L. lecanii*, *L. muscarium* (Petch) Zare & W. Gams, *L. longisporum* (Petch) Zare & W. Gams, *I. fumosorosea* infectando a *Trialeurodes vaporariorum* Westwood y *Bemisia tabaci* (Gennadius) en cultivos de *Apium graveolens* L. (apio), *Beta vulgaris* var. *cicla* L. (acelga), *Beta vulgaris* var. *conditiva* L. (remolacha), *Capsicum annuum* L. (pimiento), *Cucumis sativus* L. (pepino), *Cynara scolymus* L. (alcaucil), *Lactuca sativa* L. (lechuga), *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate) y *Solanum melongena* L. (berenjena). Asimismo, D'Alessandro (2011) reportó la ocurrencia de epizootia natural del *I. fumosorosea* en adultos de *T. vaporariorum* provenientes de cultivos de chaucha de la provincia de Buenos Aires. En el Capítulo 14 se citan los estudios realizados con mosca blanca en la Argentina.

Los estudios realizados con hongos para el control de áfidos (Hemiptera: Aphididae) involucran a microorganismos pertenecientes tanto al Orden Hypocreales como al Orden Entomophthoromycota. Scorsetti *et al.* (2012) han probado la patogenicidad de cepas de *L. lecanii*, *L. muscarium* y *L. longisporum* contra diferentes especies de áfidos y han evaluado la interacción de estos agentes de control con un predador común de áfidos, *Eriopsis connexa* (Germar). En relación al control de pulgones mediante microorganismos pertenecientes al Orden Entomophthorales los estudios realizados citan hasta el momento, siete especies de entomophthorales infectando diferentes especies de áfidos en cultivos intensivos (Scorsetti *et al.*, 2006; López Lastra y Scorsetti, 2006, 2007; Jensen *et al.*, 2009; Manfrino *et al.*, 2013; 2014, a b; 2015, Scorsetti *et al.*, 2012). Scorsetti *et al.* (2006) citan a las especies *Aphis fabae* (Scopoli), *Aphis gossypii* (Glover), *Brevicoryne brassicae* L., *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach), *Macrosiphum*

euphorbiae (Thomas), *Myzus* sp., *M. persicae*, *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) y *Capitophorus elaeagni* (del Guercio) como hospedadores de seis especies de hongos patógenos. *Conidiobolus obscurus* (Hall & Dunn) Remaud. & Keller, *Entomophthora planchoniana* Cornu, *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Batko, *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko y *Zoophthora* sp. Estos autores citaron a *Pandora neoaphidis* Humber como el patógeno predominante de áfidos. Manfrino *et al.* (2014, 2016) citan a las especies de hongos entomophthorales *P. neoaphidis*, *Z. radicans*, *E. planchoniana* y *Zoophthora* sp. como patógenos de *M. persicae*, *B. brassicae*, *N. ribisnigri*, *Aphis* sp. y *M. euphorbiae* en cultivos de *B. oleracea* var. *capitata* L., *B. oleracea* var. *botrytis* L., *B. oleracea* var. *italica* Plenck, *L. sativa*, *S. melongena* y *C. annuum* en el cinturón hortícola santafesino. Asimismo, en otros estudios realizados se citan importantes niveles de infección fúngica en poblaciones de pulgones. Entre ellos, Scorsetti *et al.* (2010) registraron *P. neoaphidis* en *N. ribisnigri* en cultivo de lechuga en La Plata (Buenos Aires) con una prevalencia de 56,6 % (n = 30). Manfrino *et al.* (2014b) registran a las especies *P. neoaphidis* y *E. planchoniana* causando epizootias en *M. persicae* alcanzando niveles de 45,5 % (n = 2296) y 98,1 % (n = 15) en *S. melongena* y en *C. annuum*, respectivamente. Estas especies de hongos parecen desempeñar un rol en la disminución de las poblaciones de *M. persicae*. Es notable destacar que las epizootias ocurrieron entre los meses de octubre-febrero (primavera y verano en la Argentina). *Pandora neoaphidis*, aparentemente, infecta áfidos más frecuentemente en zonas templadas (Keller, 1991) y ha sido citada causando epizootias en *M. persicae* sobre espinaca en Arkansas (McLeod *et al.*, 1998) mientras que *E. planchoniana* es más frecuente en hábitats secos (Keller, 1987; Bałazy, 1993). Por otro lado, Manfrino *et al.* (2016) han observado frecuentes epizootias de *Z. radicans* en *B. brassicae* alcanzando niveles de hasta el 96 % (n=75) en *B. oleracea* var. *botrytis* durante el año 2011.

En relación a lepidópteros plaga de cultivos hortícolas se ha citado a las especies de hongos *Z. radicans* (Zygomycetes: Entomophthorales) y *Metarhizium rileyi* (Farlow) Samson (Ascomycetes: Clavicipitaceae) como patógenos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) (Manfrino *et al.*, 2018), importante insecto plaga de cultivos de brasicáceas. Las infecciones de *Z. radicans* han sido registradas desde larvas, pupas y adultos de *P. xylostella*, destacándose la importancia y la capacidad del patógeno de infectar a los diferentes estados de

desarrollo del insecto (Manfrino *et al.*, 2018). Por otro lado, *Z. radicans* ha sido registrado provocando infecciones en *T. absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) en la provincia de Buenos Aires (Lopez Lastra y Scorsetti, 2006), importante insecto plaga en cultivos de tomate.

En relación a los hongos patógenos de ácaros, en nuestro país se ha informado la presencia del hongo entomopatógeno *Neozygites cf. floridana* (Zoopagomycota: Zygomycetes: Neozygiales) como patógeno de la “arañuela roja”, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), importante plaga de cultivos de tomate, pimiento, berenjena, y otras hortalizas (Scorsetti y López Lastra, 2007) en el cinturón hortícola del Gran La Plata.

BIBLIOGRAFÍA

- Alves, S.B. & López, R.B. (2008). *Controle microbiano de pragas na America Latina: avanços e desafios*. Vol. 14. 414 p. Piracicaba, Sao Pablo, Brasil: FEALQ.
- Alves, S.B. & Pereira, R.M. (1989). Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em bandejas. *Ecosistema*, 14, 188-192.
- Alves, S.B. (1998). Fungos entomopatogenicos. *Em: Alves, S.B. (Ed.), Controle microbiano de insetos*. 2nd Ed. pp. 289-370. Piracicaba, Sao Pablo, Brasil: FEALQ.
- Aquino, M.L., Vital, A.F., Cavalcanti, V.L.B. & Nascimento, M.G. (1977). Cultura de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin em sacos de polipropileno. *Bol. Téc. Com. Exec. Defesa Fitosanitária da Lavoura Canavieira de Pernambuco* (CODECAP), 5, 11.
- Balazy, S. (1993). *Flora of Poland. Fungi* (Mycota), vol. 24: Entomophthorales. 356 p. Cracovia, Polonia: Polish Acad. Science, W. Szafer Inst. Botany.
- Barbosa, P. (1998). *Conservation Biological Control*. 396 p. San Diego, USA: Academic Press.
- Barta, M. & Cagán, L. (2003). Entomophthoralean fungi associated with common nettle aphid (*Mircrolophium carnosum* Buckton) and the potential role of nettle patches as reservoirs for the pathogens in landscape. *J. Pest. Sci.*, 76, 6-13.
- Benny, G.L., Humber R.A. & Morton, J.B. (2001). Zygomycota: Zygomycetes. *In: McLaughlin, D.J., McLaughlin, E.G. & Lemke, P.A. (Eds.). The Mycota VII. Systematics and Evolution. Part A*. pp. 113-146. New York, USA: Springer-Verlag.
- Boucias, D. & Pendland, J.C. (1998). *Principles of insect pathology*. 537 p. Boston, USA: Kluwer Academic Publishers.
- Brobyn, P.J., Wilding, N. & Clark, S.J. (1985). The persistence of infectivity of conidia of the aphid pathogen *Erynia neoaphidis* on leaves in the field. *Ann. Appl. Biol.*, 107, 365-376.
- Bruck, D.J. (2010). Fungal entomopathogens in the rhizosphere. *Biocontrol*, 55, 103-112.
- Carruthers, R.I. & Soper, R.S. (1987). Fungal diseases. *In: Fuxa, J.R. & Tanada, Y. (Ed.). Epizootiology of insect diseases*. pp. 357-416. 576 p. New York, USA: Wiley.
- Charnley, A.K. (1984). Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: A speculative review. *In: Anderson, J., Rayner, A. & Walton, D. Invertebrate-microbial Interactions*. pp. 229-270. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Charnley, A.K. (1997). Entomopathogenic fungi and their role in Pest Control. *In: Wicklow, D.T., & Söderström, B. (Eds.) (1997). Environmental and Microbial Relationships. (The Mycota; Vol. IV)*. pp. 185-201. 373 p. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Alemania.
- D'alessandro, C.P. (2011). *Hongos patógenos de la "mosca blanca" (Hemiptera: Aleyrodidae). Diversidad, patología y variación estacional en cultivos hortícolas*. (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina. 192 p.
- Dubos, R.J. (1985). *Pasteur*. 369 p. Barcelona, España: Salvat.
- Duetting, P.S., Ding, H., Neufeld, J. & Eigenbrode, S.D. (2003). Plant waxy bloom on peas affects infection of pea aphids by *Pandora neoaphidis*. *J. Invertebr. Pathol.*, 84, 149-158.
- Eilenberg, J. (1988). Occurrence of fungi from Entomophthorales in a population of carrot flies (*Psila rosae* F.) Results 1985 and 1986. *IOBC Bull.*, 11, 53-59.

- Eilenberg, J., Hajek, A.E. & Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*, 46, 387-400.
- Ekesi, S., Shah, P.A., Clark, S.J. & Pell, J.K. (2005). Conservation biological control with the fungal pathogen *Pandora neoaphidis*, implications of aphid species, host plant and predator foraging. *Agric. Forest. Entomol.*, 7, 21-30.
- Feng, M.G., Chen, C. & Chen, B. (2004). Wide dispersal of aphid-pathogenic Entomophthorales among aphids relies upon migratory alates. *Environ. Microbiol.*, 6, 510-516.
- Feng, M.G., Nowierski, R.M., Johnson, J.B. & Poprawski, T.J. (1992). Epizootics caused by entomophthoralean fungi (Zygomycetes, Entomophthorales) in populations of cereal aphids (Homoptera, Aphididae) in irrigated small grains of southwestern Idaho, USA. *J. Appl. Entomol.*, 113, 376-390.
- Fuxa, J.R. & Tanada, Y. (1987). Epidemiological concepts applied to insect epizootiology. pp. 3-21. *In: Fuxa, J.R. & Tanada, Y. (Eds.), Epizootiology of insect diseases*. 576 p. New York, USA: Wiley.
- Fuxa, J.R. (1998). Environmental manipulation for microbial control of insects. *In: Barbosa, P. (Ed.) (1998), Conservation Biological Control*. pp. 255-268. 396 p. San Diego, USA: Academic Press.
- Glare, T.R., Milner, R.J. & Chilvers, G.A. (1986). The effect of environmental factors on the production, discharge, and germination of primary conidia of *Zoophthora phalloides* Batko. *J. Invertebr. Pathol.*, 48, 275-283.
- Goettel, M.S. & Robert, D.W. (1991). Mass production formulations and field applications of entomopathogenic fungi. *In: Lomer, C.J. & Prior, C. (Eds.), Biological control of locusts and grasshoppers*. Wallingford, U.K. pp. 230-238.
- Goettel, M.S. (1984). A simple method for mass culturing entomopathogenic Hyphomycete fungi. *J. Microbiol. Met.*, 3, 15-20.
- Gurr, G.M., Wratten, S.D. & Altieri, M.A. (2004). Ecological engineering for pest management: advances in habitat manipulation for arthropods. 232 p. Collingwood, Australia: CSIRO Publishing.
- Hajek, A.E. & St. Leger, R.J. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Ann. Rev. Entomol.*, 39, 293-322.
- Hajek, A.E. (2004). *Natural enemies: An introduction to biological control*. 378 p. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Harper, J.D. (1987). Applied epizootiology: microbial control of insects. *In: Fuxa, J.R. & Tanada, Y. (Eds.), Epizootiology of insect diseases*. pp. 473-496. 576 p. New York, USA: Wiley.
- Hatting, J.L., Humber, R.A., Poprawski, T.J. & Miller, R.M. (1999). A survey of fungal pathogens of aphids from South Africa, with special reference to cereal aphids. *Biological Control*, 16, 1-12.
- Hesketh, H.E., Roy, H., Eilenberg, J.K., Pell, J. & Hails, R.S. (2010). Challenges in modelling complexity of fungal entomopathogens in semi-natural populations of insects. *BioControl*, 55, 55-73.
- Hibbett, D.S., Binder, M., Bishoff, J.F., Blackwell, M., Cannon, P.F., Eriksson, O.E.,... Zhang, N. (2007). Higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol. Res.*, 111(5), 509-547.

- Hodge, K.T. (2003). Clavicipitaceous Anamorphs. *In*: White, J.F., Bacon, C.W., Hywel Jones, N.L. & Spatafora, J.W. (Eds.), *Clavicipitaceous fungi, evolutionary biology, chemistry biocontrol and cultural impacts*. pp. 75-123. 640 p. New York, USA: Marcel Dekker.
- Humber, R.A. (1984). Foundations for an evolutionary classification of the Entomophthorales (Zygomycetes). *In*: Wheeler, Q. & Blackwell, M. (Eds.) *Fungus insect relationships*. pp. 166-183. New York, USA: Columbia University Press.
- Humber, R.A. (1997). Fungi: Identification. *In*: Lacey, L. (Ed.), *Manual of Techniques in Insect Pathology*. pp. 53-185. 409 p. San Diego, California, USA: Academic Press.
- Ignoffo, C.M. (1981). The fungus *Nomuraea rileyi* as microbial insecticide. *In*: Burges, H.D. (Ed.), *Microbial control of pest and plant diseases*. pp. 513-538. London, UK: Academic Press.
- Jaronsky, S.T. (1986). Commercial development of Deuteromycetous fungi of Arthropods: A critical appraisal. *In*: Samson, R.A., Vlask J.M. & Peters, D. (Eds.), *Fundamental and applied Aspect of Invertebrate Pathology*. pp. 653-656. 711 p. Wageningen, Netherlands: Foundation of the Fourth International Colloquium of Invertebrate Pathology.
- Jensen, A., Eilenberg, J. & López Lastra, C.C. (2009). Differential divergences of obligatory insect-pathogenic *Entomophthora* species from fly and aphid hosts. *FEMS Microbiol. Let.*, 300, 180-187.
- Keller, S. (1987). Arthropod-pathogenic Entomophthorales of Switzerland. I. Conidiobolus, Entomophaga and Entomophthora. *Sydowia*, 40, 122-167.
- Keller, S. (2006). Species of Entomophthorales attacking aphids with description of two new species. *Sydowia*, 58, 38-74.
- Keller, S. (2007). Arthropod-pathogenic Entomophthorales from Switzerland. III. First additions. *Sydowia*, 59, 75-113.
- Kim, J.J. & Roberts, D.W. (2012). The relationship between conidial dose, moulting and insect developmental stage on the susceptibility of cotton aphid, *Aphis gossypii*, to conidia of *Lecanicillium attenuatum*, an entomopathogenic fungus. *Biocontrol. Sci. Techn.*, 22, 319-331.
- Kish, L.P. & Allen, G.E. (1978). The biology and ecology of *Nomuraea rileyi* and a program for predicting its incidence on *Anticarsia gemmatalis* in soybean. Bulletin, 795. 48 p. Gainesville, Fl., USA: Univ. of Fl., Agric. Exp. Stations.
- Landis, D.A., Wratten, S.D. & Gurr, G.M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Ann. Rev. Entomol.*, 45, 175-201.
- Lecuona, R.E. (Ed.). (1996). *Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga*. 338 p. Buenos Aires, Argentina: Mariano Mas.
- Lecuona, R.E. & Alves, S.B. (1996). Epizootiología. *En*: Lecuona, R.E. (Ed.) *Microorganismos patógenos empleados en el Control Microbiano de insectos plaga* (pp. 17-34). 338 p. Buenos Aires, Argentina: Mariano Mas.
- López Lastra, C.C. & Scorsetti, A.C. (2006). Hongos Entomophthorales patógenos de insectos de la República Argentina. *Rev. Biol. Trop.*, 54, 311-315.
- López Lastra, C.C. & Scorsetti, A.C. (2007). Revisión de los hongos entomophthorales (Zygomycota: Zygomycetes) patógenos de insectos de la República Argentina. *Bol. Soc. Bot. Arg.*, 42, 33-37.

- López Lastra, C.C., Mazzucchelli, M.G. & Dikgolz, V. (2003). Temporal changes in the prevalence of three species of Trichomycetes (Zygomycota: Zygomycotina) in Dipteran aquatic larvae from Argentina. *Fungal Diversity*, 14, 87-95.
- López Lastra, C.C., Siri, A., García, J.J., Eilenberg, J. & Humber, R.A. (2006). *Entomophthora ferdinandii* (Zygomycetes: Entomophthorales) causing natural infections of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Argentina. *Mycopathologia*, 161, 251-254.
- Manfrino, R.G., Gutiérrez, A.C., Rueda Páramo, M.E., Salto, C.E. & López Lastra C.C. (2016). Prevalence of entomophthoralean fungi (Entomophthoromycota) of aphids in relation to developmental stages. *Pest Management Science*, 72(8), 1566-1571.
- Manfrino, R.G., Gutiérrez, A.C., Steinkraus, D., Salto, C.E. & López Lastra, C.C. (2014b). Prevalence of entomophthoralean fungi (Entomophthoromycota) of aphids (Hemiptera: Aphididae) on solanaceous crops in Argentina. *J. Invertebr. Pathol.*, 121, 21-23.
- Manfrino, R.G., Hatting, J.L., Humber, R., Salto, C.E. & López Lastra, C.C. (2014a). Natural occurrence of entomophthoroid fungi (Entomophthoromycota) of aphids (Hemiptera: Aphididae) on cereal crops in Argentina. *Ann. Appl. Biol.*, 164, 151-158.
- Manfrino, R.G., Zumoffen, L., Salto, C.E. & López Lastra, C.C. (2013). Potential plant-aphid-fungal associations aiding conservation biological control of cereal aphids in Argentina. *Int. J. Pest Manage.*, 59, 314-318.
- Mascarin, G.M. & Jaronski, S.T. (2016). The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 177, 1-26.
- Mcleod, P.J., Steinkraus, D.C., Correll, J.C. & Morelock, T.E. (1998). Prevalence of *Erynia neoaphidis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) infections of green peach aphid (Homoptera: Aphididae) on spinach in the Arkansas River Valley. *Environ. Entomol.*, 27, 796-800.
- Medo, J. & Cagán, L. (2011). Factors affecting the occurrence of entomopathogenic fungi in soils of Slovakia as revealed using two methods. *Biological Control*, 59(2), 200-208.
- Meyling, N.V. & Eilenberg, J. (2006). Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 113, 336-341.
- Monzón, A. (2001). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, 63, 95-103.
- Murrin, F. (1996). Fungi and insects. In: Howard, D.H. & Miller, J.D. (Eds.), *The Mycota VI. Human and Animal Relationship*. (pp. 365-388). Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Alemania.
- Osborne, L.S. & Landa, Z. (1992). Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Fla. Entomol.*, 75, 456-471.
- Papierok, B., Hajek, A.E. (1997). Fungi: Entomophthorales. In: Lacey, L. (Ed.), *Manual of Techniques in Insect Pathology*. pp. 187-212. 409 p. Londres, UK: Academic Press.
- Pell, J.K. (2007). Ecological approaches to pest management using entomopathogenic fungi: concepts, theory, practice and opportunities. In: Ekesi, S. & Maniania, N. (Eds.), *Use of entomopathogenic fungi in biological pest management*. pp. 145-177. 333 p. Kerala, India: Research Signpost.

- Pell, J.K., Eilenberg, J., Hajek, A.E. & Steinkraus, D.S. (2001). Biology, ecology and pest management potential of Entomophthorales. *In: Butt, T.M., Jackson, C. & Magan, N. (Eds.), Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential.* pp. 71-154. Wallingford, Oxon, UK: CAB International.
- Powell, W., Walters, K., A'hara, S., Ashby, J., Stevenson, H. & Northing, P. (2003). Using field margin diversification in agri-environment schemes to enhance aphid natural enemies. *IOBC/WPRS Bulletin*, 26(4), 123-128.
- Powell, W., Wilding, N., Brobyn, P.J. & Clark, S.J. (1986). Interference between parasitoids (Hym, Aphidiidae) and fungi (Entomophthorales) attacking cereal aphids. *Entomophaga*, 31, 193-199.
- Rabasse, J.M. & Robert, Y. (1975). Facteurs de limitation des populations d'*Aphis fabae* Scop. Dans l'ouest de la France. II- Incidence des mycoses à *Entomophthora* sur les populations des hôtes primaires et de la féverole de printemps. *Entomophaga*, 20, 49-63.
- Robert, Y., Rabasse, J.M. & Scheltes, P. (1973). Facteurs de limitation des populations d'*Aphis fabae* Scop. Dans l'ouest de la France. *Entomophaga*, 18, 61-75.
- Roberts, D.W. & Sweeney, A.W. (1982). Production of fungi imperfecti with vector control potential. *In: Third International Colloquium on Invertebrate Pathology.* pp. 409-413. Brighton, UK: Society for Invertebrate Pathology.
- Ruano-Rossil, J.M., Radcliffe, E.B. & Ragsdale, D.W. (2002). Disruption of entomopathogenic fungi of green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), by fungicides used to control potato late blight. *In: Simon, J.C., Dedryver, C.A., Rispe, C. & Hullé, M. (Eds.), Aphids in a New Millennium.* (pp. 365-370). Paris, Francia: Institut National de la Recherche Agronomique.
- Samson, R.A., Evans, H.C. & Latgé, J.P. (1988). *Atlas of Entomopathogenic Fungi.* 300 p. Berlin, Alemania: Springer-Verlag.
- Scorsetti, A.C., García, J.J., Humber, R.A. & López Lastra, C.C. (2006). Natural occurrence of entomopathogenic fungi (Zygomycetes: Entomophthorales) of aphid (Hemiptera: Aphididae) pests of horticultural crops in Argentina. *BioControl*, 52, 641-655.
- Scorsetti, A.C., Humber, R.A., De Gregorio, C. & López Lastra, C.C. (2008). New records of entomopathogenic fungi infecting *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum*, pests of horticultural crops, in Argentina. *BioControl*, 53, 787-796.
- Scorsetti, A.C., Jensen, A.B., López Lastra, C.C. & Humber, R.A. (2012). First report of *Pandora neophidius* resting spore formation *in vivo* in aphid hosts. *Fungal Biol.*, 116, 196-203.
- Shah, P.A. & Pell, J.K. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 61, 413-423.
- Smith, M.T. & Hardee, D.D. (1993). Influence of fungicides applied at planting on seasonal development of the entomopathogenic fungus, *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Batko in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *In: Proceedings of the Beltwide Cotton Conference.* (pp. 744-746). Memphis, TN, USA: Nat. Cotton Council America.
- Soper, R.S. & McLeod, D.M. (1981). Descriptive epizootiology of aphid mycosis. USDA Tech. Bul., 1632. 17 p. Washington, D.C.: USDA.
- Sosa-Gómez, D.R., López Lastra, C.C. & Humber R.A. (2010). An overview of Arthropod-Associated Fungi from Argentina and Brazil. *Mycopathologia*, 170, 61-76.

- Spatafora, J.W., Chang, Y., Benny, G.L., Lazarus, K., Smith, M.E., Berbee, M.L.,... & Stajich, J.E. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108, 1028-1046.
- St. Leger, R. (2008). Studies on adaptations of *Metarhizium anisopliae* to life in the soil. *J. Invertebr. Pathol.*, 98, 271-276.
- Steenberg, T. & Eilenberg, J. (1995). Natural occurrence of entomopathogenic fungi on aphids at an agricultural field site. *Czech Mycology*, 48(2), 89-96.
- Steinkraus, D.C. & Slaymaker, P.H. (1994). Effect of temperature and humidity on formation, germination, and infectivity of conidia of *Neozygites fresenii* (Zygomycetes: Neozygitaceae) from *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae). *J. Invertebr. Pathol.*, 64, 130-137.
- Steinkraus, D.C. (2006). Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids. *J. Invertebr. Pathol.*, 92, 125-131.
- Steinkraus, D.C., Hollingsworth, R.G. & Slaymaker, P.H. (1995). Prevalence of *Neozygites fresenii* (Entomophthorales: Neozygitaceae) on cotton aphids (Homoptera: Aphididae) in Arkansas cotton. *Environ. Entomol.*, 24, 465-474.
- Sung, G.H., Hywel-Jones, N.L., Sung, J.M., Luangsa-Ard, J.J., Shreshtha, B. & Spatafora, J.W. (2007). Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the Clavicipitaceous fungi. *Stud. Mycol.*, 57, 5-59.
- Tanada, Y. & Kaya, H. (1993). *Insect Pathology*. 666 p. San Diego, California, USA: Academic Press.
- Tanada, Y. (1963). Epizootiology of Infectious Diseases. In: Steinhaus, E. (Ed.), *Insect Pathology. An advanced Treatise. Vol. 2*. pp. 423-475. New York and London: Academic Press.
- Toledo, A.V., Giambelluca, L., Marino De Remes Lenicov, A.M. & López Lastra C.C. (2008). Pathogenic fungi of planthoppers associated with rice crops in Argentina. *Int. J. Pest. Manage.*, 54, 363-368.
- Toledo, A.V., Scorsetti, A.C., Dikgolz, V.E. & López Lastra, C.C. (2004). *Paecilomyces fumosoroseus* y *Nomuraea rileyi* (Deuteromycotina: Hyphomycetes), hongos patógenos de insectos plaga de la agricultura en la Argentina. *Bol. Soc. Arg. Bot.*, 39(1-2), 21-26.
- Vega, E.F. & Blackwell, M. (2005). *Insect fungal associations: ecology and evolution*. 333 p. New York, USA: Oxford University Press.
- Vélez, P., Posada, F., Marin, P., González, M., Osorio, E. & Bustillo, A. (1997). Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. 37 p. Chinchiná, Caldas, Colombia: Cenicafé - Federación Nac. de Cafeteros de Colombia.
- Wade, M.R., Zalucki, M.P., Wratten, S.D. & Robinson, K.A. (2008). Conservation Biological Control of arthropods using artificial food sprays: current status and future challenges. *Biological Control*, 45, 185-199.
- Wells, M.L., Mcpherson, R.M., Ruberson, J.R. & Herzog, G.A. (2000). Effect of fungicide application on activity of *Neozygites fresenii* (Entomophthorales: Neozygitaceae) and cotton aphid (Homoptera: Aphididae) suppression. *J. Econ. Entomol.*, 93, 1118-1126.
- White, A., Watt, A.D., Hails, R.S. & Hartley, S.E. (2000). Patterns of spread in insect-pathogen systems: the importance of pathogen dispersal. *Oikos*, 89, 137-145.
- Wilding, N. & Perry, J.N., (1980). Studies on *Entomophthora* in populations of *Aphis fabae* on field beans. *Ann. App. Biol.*, 94, 367-378.

- Wilding, N. (1969). Effect of humidity on the sporulation of *Entomophthora aphidis* and *E. thaxteriana*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 53, 126-131.
- Zumoffen, L., Salto, C. & Salvo, A. (2012). Preliminary study on parasitism of aphids (Hemiptera: Aphididae) in relation to characteristics of alfalfa fields (*Medicago sativa* L.) in the Argentinean Pampas. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 159, 49-54.

Los cambios tecnológicos que acompañaron a la producción hortícola y las consecuencias de ese manejo impactaron negativamente en diversos niveles de la producción. Uno de los problemas a resolver es el de las plagas y enfermedades. Para diseñar sistemas hortícolas sustentables, el control biológico es una alternativa viable que se presenta como un desafío en nuestro país.

Este libro compila escritos y trabajos específicos de destacados especialistas argentinos relacionados con alternativas biológicas para el control de plagas en cultivos hortícolas.

Creemos que estas páginas son un aporte para el perfeccionamiento en técnicas de manejo más sustentables con ejemplos concretos para el control de las plagas agrícolas en la producción hortícola.

ISBN 978-987-8333-43-4



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Argentina