

ARTÍCULO ORIGINAL

**Caracterización de aislados cubanos del complejo de especies *Metarhizium anisopliae* con actividad patogénica frente a *Cylas formicarius* Fabricius (Coleoptera: Brentidae)**

**Yohana Gato Cárdenas<sup>I</sup>, María E. Márquez Gutiérrez<sup>II</sup>, Yamilé Baró Robaina<sup>I</sup>,  
Ángela Porras González<sup>I</sup>, Yaremis Ulloa Martín<sup>I</sup>, Yuramis Quesada Mola<sup>I</sup>**

<sup>I</sup>Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). Calle 110 # 514 e/ 5ta B y 5ta F, Playa, La Habana, Cuba.  
Correo electrónico: [ygato@inísav.cu](mailto:ygato@inिसav.cu). <sup>II</sup>Dirección de Ciencia y Técnica. Universidad de la Habana. Calle M # 255 e/ 19 y 21, Vedado, La Habana, Cuba.

**RESUMEN:** El objetivo del presente trabajo fue determinar las características morfológicas, culturales y fisiológicas de siete aislados cubanos de *Metarhizium* spp. con actividad patogénica frente a *Cylas formicarius* Fabricius. Se describió la morfología de las colonias y se hallaron las dimensiones de los conidios. Se calculó la tasa de crecimiento y el nivel de esporulación en diferentes medios de cultivo. Además, se determinó el crecimiento y el efecto de la exposición a las temperaturas de 28, 30, 32, 34 y 37°C. Los aislados evidenciaron actividad patogénica frente a *C. formicarius* y se demostró, sobre la base de las descripciones obtenidas, que pertenecen al complejo de especies de *M. anisopliae*. Los resultados indicaron que el rango de temperatura favorable para el desarrollo de los cultivos fue de 28-30°C. Los aislados LBM-5 y LBM-10 mostraron mayor tasa de crecimiento a las temperaturas y medios de cultivo evaluados. La mayor concentración de conidios en los aislados LBM-5 y LBM-267 se produjo en Medio Completo, Agar Dextrosa de Saboraud y Extracto de Malta.

**Palabras clave:** *Metarhizium* spp., *Cylas formicarius*, control biológico.

---

**Characterization of Cuban isolates of the *Metarhizium anisopliae* species complex with pathogenic activity against *Cylas formicarius* Fabricius (Coleoptera: Brentidae)**

**ABSTRACT:** The objective of this work was to determine morphological, cultural, and physiological characteristics of seven Cuban isolates of *Metarhizium* spp. with pathogenic activities against *Cylas formicarius* Fabricius. Morphology of the colonies was described and conidia measured. Fungal growth rate and sporulation level on different culture media were calculated. Growth of the fungal isolates exposed to different temperatures (28, 30, 32, 34 and 37°C) was also determined. The isolates exhibited pathogenic activity against *C. formicarius*, and, according to their description, they were shown to belong to the *M. anisopliae* species complex. The most favorable temperature range for the isolates to grow was 28-30°C. LBM-5 A and LBM-10 were the isolates showing the highest growth rate at the temperatures and culture media evaluated. The highest conidium production by LBM-5 and LBM-267 was obtained on the Complete Medium, Saboraud Dextrose Agar, and Malt Extract Agar.

**Key words:** *Metarhizium* spp., *Cylas formicarius*, biological control.

---

**INTRODUCCIÓN**

El tetúan, *Cylas formicarius* Fabricius (Coleoptera: Brentidae), constituye una de las principales limitantes de la producción del cultivo del boniato (*Ipomoea batatas* L.), en Cuba y a nivel mundial, por los daños que

ocasiona al tubérculo (1, 2). Esta plaga se maneja de manera eficaz con hongos entomopatógenos, entre los que se encuentran *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff (Sorokin) y *Metarhizium brunneum* Petch (teleomorfo: *Metacordyceps* spp.).

El género *Metarhizium* es uno de los más estudiados y empleados de manera intensiva como agente de control biológico de artrópodos plagas, por su amplia gama de organismos diana. Además, produce bajo impacto sobre el ambiente y la fauna benéfica (3). Los avances en el conocimiento de la ecología y la biología de este género fúngico (2) impulsaron su empleo como agente de control biológico.

En Cuba, los resultados de Castiñeiras *et al.* (4) y Luján *et al.* (5) permitieron la selección de la cepa LBMa-11 de *M. anisopliae*. Esta cepa se emplea hace varios años en el manejo de coleópteros, lepidópteros y tisanópteros en cultivos de importancia económica como son el boniato, el arroz, la papa y las hortalizas (6).

Las especies/cepas de *Metarhizium* poseen diferente susceptibilidad a factores como la temperatura y radiación solar, lo cual puede limitar su eficiencia en el control (7). De igual modo, manifiestan gran variabilidad en rango de hospedantes, velocidad de germinación, producción de conidios, crecimiento micelial, resistencia a diferentes temperaturas y virulencia (7). Por ello resulta necesaria la caracterización de los aislados depositados en colecciones, de manera que se puedan seleccionar los eficaces en su acción biorreguladora.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar las características morfológicas, culturales y fisiológicas de nuevos aislados nativos de *Metarhizium* spp. con actividad patogénica frente a *C. formicarius*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon, como materiales biológicos, los aislados LBM-5, LBM-10, LBM-12, LBM-41, LBM-42, LBM-146 y LBM-267 de *Metarhizium* spp. que pertenecen a la colección de cultivos del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), La Habana, Cuba.

Los aislados, conservados en aceite mineral, se transfirieron a Medio Completo (8) y se incubaron a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Se preparó una suspensión conidial de cada aislado a la concentración de  $10^7$  conidios.  $\text{ml}^{-1}$ .

La reactivación se realizó sobre 10 adultos jóvenes de segunda generación de *C. formicarius* provenientes de una cría de laboratorio mantenida en el INISAV, a  $28\text{-}30^\circ\text{C}$  y humedad relativa de 85%. Esto se hizo para probar y potenciar la acción entomopatogénica del hongo frente a esta plaga.

Posteriormente, los insectos muertos se colocaron en cámara húmeda a  $25^\circ\text{C}$ . Se realsó el hongo en medio de cultivo con antibióticos (rosa bengala y cloranfenicol) y se realizaron cultivos monoconidiales.

Los aislados se transfirieron a tubos de ensayo con Medio Completo y se guardaron a  $4^\circ\text{C}$  (10 réplicas por aislado) hasta la ejecución de los ensayos.

### Caracterización cultural y morfológica

Se preparó una suspensión conidial a  $10^7$  conidios.  $\text{ml}^{-1}$  de cada aislado; de cada una de las suspensiones se tomó 0,1 ml y se realizó la siembra de manera superficial con espátula de Drigalski. Se incubaron las placas Petri en la oscuridad a  $26^\circ\text{C}$ . A las 72 h se transfirieron los discos de 4 mm de diámetro de las colonias de los aislados de hongos, se ubicaron en el centro de la superficie de placas Petri de 9 cm de diámetro con Agar Papa Dextrosa (PDA). Se prepararon 5 réplicas por cada aislado y se incubaron bajo condiciones descritas anteriormente.

Se observó el crecimiento de los aislados a partir de las 72 horas y hasta los 14 días, momento en que se dio por concluido el estudio. Se determinaron, para cada uno las características culturales, el diámetro de la colonia, el color, el borde, la textura, la pigmentación del medio de cultivo y el patrón de esporulación.

Se describió la morfología de los conidios, fiálides, conidióforos y se midió su talla (largo x ancho) en microscopio de contraste de fase Karl Zeiss (Aumento: 400 y 1000x objetivo). Se midieron 50 conidios y fiálides por aislado y se consideraron los valores extremos y mínimos citados por Fernandes *et al.* (9).

La identificación de los aislados de *Metarhizium* se realizó con la ayuda de las descripciones de las especies (10, 11).

### Caracterización fisiológica

#### • Evaluación de la tasa de crecimiento de los aislados y el nivel de esporulación en diferentes medios de cultivo

Se determinó la tasa de crecimiento en diferentes medios de cultivo según el método de Onofre *et al.* (12). Los medios empleados fueron: Agar Dextrosa de Saboraud (SDA), Agar Papa Dextrosa (PDA), Medio Completo (MC), Extracto de Malta (EM), Agar Czapek-Dox (ACD); todos producidos por el Centro Nacional de Biopreparados (BIOCEN), Cuba. Se describieron las características culturales de los aislados y se evaluó la producción de conidios (número de conidios.  $\text{mm}^{-2}$ ) según el procedimiento de Paccola-Meirelles y Azevedo (13).

#### • Evaluación de la tasa de crecimiento de los aislados a diferentes temperaturas

Se evaluó la tasa de crecimiento de los aislados en medio SDA a las temperaturas 28, 30, 32, 34 y  $37^\circ\text{C}$

en incubadora termostataada marca Heraeus, según procedimiento descrito por Rangel *et al.* (14).

### Análisis estadístico

Los datos del crecimiento de los aislados en diferentes medios de cultivo y temperaturas, así como el nivel de esporulación, se procesaron mediante el análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA). Se utilizó el programa StatSoft (versión 6.0). Las medias se compararon mediante la Prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reactivación de los aislados fue exitosa, pues se exhibieron la actividad patógena contra *C. formicarius*, con producción de micelio y la esporulación típica del hongo entomopatógeno en los cadáveres.

### Caracterización morfológica y cultural

Los aislados mostraron variabilidad morfológica entre ellos (Tabla 1). Se observaron diferencias en las características de las colonias en cuanto al color, el

**TABLA 1.** Características morfológicas y culturales de los aislados cubanos de *Metarhizium* en medio PDA./ *Morphological and cultural characteristics of Cuban Metarhizium isolates on PDA medium.*

Aislados	Morfometría	Características macroculturales
LBM-5	Conidios de cilíndricos a elipsoidales de 4,88-7,32 (5,94) x 2,44 - 4,88 (2,77) $\mu\text{m}$ .	Colonia de 7,8 cm diámetro; al inicio algodonosa, blanca, que se torna verde olivo con la esporulación, de aspecto costroso. Esporulación difusa, más abundante en el centro de la colonia. Micelio blanco hacia el borde de la colonia. Bordes regulares. No difunde pigmento al medio.
LBM-10	Conidios de cilíndricos a elipsoidales de 4,88-9,76 (7,07) x 2,44 - 4,88 (2,77) $\mu\text{m}$ .	Colonia de 6,1 cm de diámetro al inicio algodonosa, blanca y se torna verde olivo intenso con la esporulación. Presenta abundante micelio aéreo de color blanco y esporulación difusa más abundante en el centro de la colonia. Presenta crecimiento en altura. Micelio blanco hacia el borde de la colonia. Bordes regulares. No difunde pigmento al medio.
LBM-12	Conidios cilíndricos de 4,88 - 7,32 (5,53) x 2,44 $\mu\text{m}$ . (Fig. 2B)	Colonia de 7,9 cm diámetro; al inicio algodonosa, blanca, que se torna verde grisáceo con la esporulación en halos o anillos concéntricos, de color verde grisáceo, más concentrados en el centro, en estructuras conocidas como esporodoquios. Colonia con borde regular, algodonoso con abundante micelio aéreo. Difunde pigmento al medio de color carmelita.
LBM-41	Conidios en cadena, cilíndricos a elipsoidales de 4,88-7,32 (5,66) x 2,44 - 3,66 (2,71) $\mu\text{m}$ .	Colonia de 6,2 cm de diámetro, al inicio algodonosa, blanca, esporulación de color verde grisáceo en discos concéntricos más abundantes en el centro formando pequeñas pústulas. Colonia pegada al medio de cultivo, micelio blanco hacia el borde de la colonia. Borde irregular. Difunde pigmento al medio de color carmelita.
LBM-42	Conidios en cadena, abundantes, cilíndricos a elipsoidales de 4,88-7,32 (6,93) x 2,44 $\mu\text{m}$ .	Colonia de 4,4 cm de diámetro, al inicio algodonosa, blanca y se torna verde olivo oscuro con la esporulación, la cual es difusa y en pequeñas pústulas. Micelio aéreo blanco hacia el borde de la colonia, bordes regulares. Produce exudados. Difunde pigmento al medio color anaranjado.
LBM-146	Conidios de cilíndricos a elipsoidales de 2,44 -7,32 (4,11) x 2,44 - 3,66 (2,68) $\mu\text{m}$ .	Colonia de 7,4 cm diámetro, al inicio algodonosa, blanca y se torna verde olivo intenso con la esporulación. Micelio blanco hacia el borde de la colonia. Bordes irregulares. No difunde pigmento al medio.
LBM-267	Conidios cilíndricos de 4,88-7,32 (5,77) x 2,44 $\mu\text{m}$	Colonia en PDA de 7,8 cm diámetro, algodonosa, blanca y se torna verde olivo intenso con la esporulación, de apariencia costrosa, pegada al medio. Esporulación en anillos concéntricos. Colonia con borde regular, algodonoso con abundante micelio aéreo. No difunde pigmento al medio.

Entre paréntesis los valores promedios de dimensiones de los conidios ( $\mu\text{m}$ ) de los aislados evaluados.

patrón de esporulación, la producción de exudados, la pigmentación del medio, así como en las dimensiones de los conidios.

Las características descritas están en correspondencia con los informes previos de Driver *et al.* (10) y Bischoff *et al.* (11) para el complejo de especies de *M. anisopliae*. Según estos autores, las colonias del complejo de especies de *M. anisopliae* son inicialmente blancas, amarillas durante el desarrollo temprano de los conidios (típicamente de 4-7 días) y se tornan verdes con la maduración de los conidios (10-14 días).

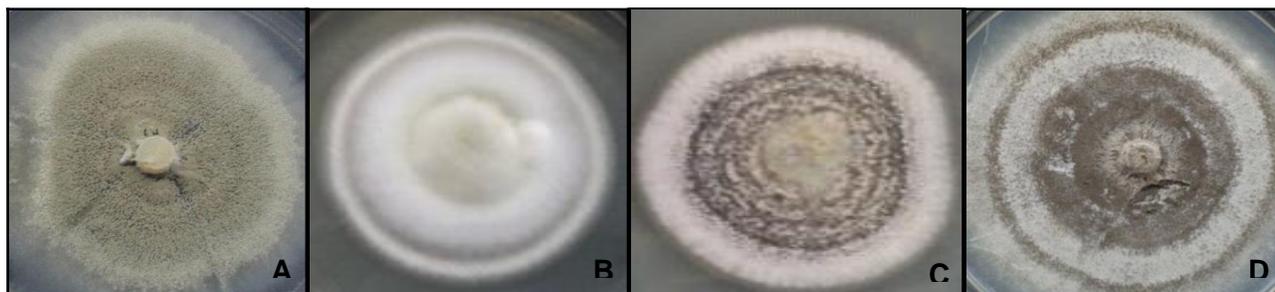
En nuestro estudio se observó que la coloración de la esporulación varía en diferentes tonalidades, desde verde grisáceo a verde olivo intenso (Fig. 1) y el tamaño de los conidios se mueve en intervalos de valores que se superponen entre los diferentes aislados (Tabla 1). La forma de los conidios fue similar y transitaron de cilíndricos a elipsoidales, lo que corresponde con lo informado (10, 11).

Se evidenció variabilidad en los aislamientos con relación al tamaño y forma de los conidios. Estos se

consideran de valor taxonómico (11) para la diferenciación entre especies y, en nuestro estudio, permitió la clasificación de todos los aislados dentro del complejo de especies de *M. anisopliae*. No obstante, resulta necesario el empleo de técnicas moleculares que complementan la diferenciación entre especies del complejo *M. anisopliae*, aspecto que será objeto de estudio en próximas investigaciones.

### Caracterización fisiológica

El diámetro de las colonias presentó diferencias significativas entre los aislados en los diferentes medios de cultivo. Los aislados LBM-5 y LBM-10 obtuvieron los mayores valores de crecimiento de la colonia, sin diferencias significativas entre ellos en los medios SDA, EM, MC y PDA. El menor diámetro de la colonia se registró en el medio ACD para todos los aislados, excepto para LBM-41 y LBM-42, los cuales tuvieron su menor crecimiento en EM. El medio de cultivo SDA permitió la obtención de valores elevados de diámetro de la colonia para todos los aislados evaluados (Tabla 2).



**FIGURA 1.** Características culturales de los aislados en PDA a los 14 días de crecimiento. A) LBM-5, B) LBM-10, C) LBM-42 y D) LBM-146./ *Cultural characteristics of isolates on PDA at 14 days of growth. A) LBM-5, B) LBM-10, C) LBM-42 y D) LBM-146.*

**TABLA 2.** Diámetro de las colonias (cm  $\pm$  error estándar) de los aislados cubanos del complejo de especies *M. anisopliae* en diferentes medios de cultivo./ *Colony diameter (cm  $\pm$  standard error) of Cuban isolates of the *M. anisopliae* species complex on different culture media.*

Aislados	Medios de cultivo				
	SDA	PDA	MC	EM	ACD
LBM-5	5,17 $\pm$ 0,83abc	4,80 $\pm$ 1,76ab	4,97 $\pm$ 0,44abc	4,73 $\pm$ 0,57ab	2,67 $\pm$ 0,16c
LBM-10	5,22 $\pm$ 0,86ab	4,98 $\pm$ 1,80a	5,12 $\pm$ 0,70ab	4,82 $\pm$ 0,50a	2,76 $\pm$ 0,21c
LBM-12	3,30 $\pm$ 0,44e	4,90 $\pm$ 1,70ab	3,93 $\pm$ 0,25ef	4,47 $\pm$ 0,33abc	2,83 $\pm$ 0,18c
LBM-41	4,62 $\pm$ 0,57cd	3,78 $\pm$ 0,45c	4,78 $\pm$ 0,65bcd	3,04 $\pm$ 0,30d	4,12 $\pm$ 0,35a
LBM-42	3,48 $\pm$ 0,46e	3,10 $\pm$ 0,40d	3,68 $\pm$ 0,35f	3,02 $\pm$ 0,40d	3,58 $\pm$ 0,32b
LBM-146	4,13 $\pm$ 0,40d	4,57 $\pm$ 0,53ab	3,53 $\pm$ 0,30f	3,90 $\pm$ 0,51c	3,03 $\pm$ 0,45bc
LBM-267	4,27 $\pm$ 1,09d	4,60 $\pm$ 0,62ab	4,07 $\pm$ 0,55def	4,10 $\pm$ 1,09bc	2,43 $\pm$ 0,30c

Las letras comunes en las columnas indican que no hay diferencias significativas en esas variantes. Test de significación 0,05.

Se evidenciaron diferencias significativas entre los aislados en relación con la concentración de los conidios que se producen en los diferentes medios de cultivo. Los medios SDA, EM y MC fueron los más favorables para la esporulación. En el caso de los aislados LBM-267 y LBM-5 se alcanzó mayor nivel de esporulación en todos los medios, sin diferencias significativas entre ellos y en SDA se obtuvo el valor más elevado. De manera general, el menor nivel de esporulación se registró con los cultivos de LBM-12 (Tabla 3).

Las diferencias entre los aislados de *Metarhizium* estudiados pueden deberse a la composición y la cantidad de nutrientes presentes en cada medio de cultivo, además de la presencia de fuentes de carbono y nitrógeno, así como sales minerales en los medios que regulan la germinación del hongo, su crecimiento hifal y la emergencia del tubo germinativo (15,16). Asimismo, Onofre *et al.* (12) plantearon que existen factores promotores del crecimiento que están presentes en los diferentes medios de cultivo empleados, los cuales pueden ser los responsables del mejor comportamiento y el crecimiento de las colonias en medios con un alto contenido de nutrientes, cuando se compara con un medio de pobre composición como el Czapeck, en el que los constituyentes son únicamente sacarosa, agar y minerales. Estos investigadores expusieron que los medios naturales o semisintéticos proveen ciertas sustancias que pueden mantener y permitir demandas de nutrición para un mayor crecimiento y esporulación que en medios sintéticos.

En las características estudiadas, además de influir la composición de nutrientes en el medio de cultivo, hay que tener presente la variabilidad genética de los aislados de *Metarhizium*, ya que un mismo aisla-

miento presentó características culturales diferentes en los medios de cultivo ensayados. Las diferencias más notables se evidenciaron en el patrón de esporulación, pigmentación del medio de cultivo y la morfología de la colonia. Otros aspectos importantes que pueden estar incidiendo son las diferencias en la producción de enzimas, la absorción de nutrientes y el metabolismo de los aislados (18).

Los resultados obtenidos permitieron conocer la respuesta diferencial de cada aislado de *Metarhizium* y el nivel de esporulación de los mismos en un medio de cultivo determinado, lo que facilita su caracterización en función de la obtención de conidios. Además, presenta utilidad práctica, pues permite conocer los medios de cultivo que garantizan una mayor producción de conidios para cada aislado en particular.

Las temperaturas de 28 y 30°C fueron favorables para el crecimiento de los aislados de *Metarhizium*. Se observó una disminución de la tasa de crecimiento micelial a temperaturas superiores a los 30°C; esta afectación se hizo marcada a 34°C y no se observó crecimiento alguno a 37°C (Tabla 4).

A 28 y 30°C se registraron diferencias significativas en la tasa de crecimiento entre los aislados; para LBM-5, LBM-10 y LBM-41 se evidenció un comportamiento semejante y mejor desarrollo a esas temperaturas. A 32°C se observó que LBM-5 tuvo mayor desarrollo de las colonias, con diferencias significativas con el resto de los aislados. Con respecto a la tasa de crecimiento, cuando los aislados se expusieron a 34°C, se produjo menor crecimiento en comparación con las temperaturas inferiores. En el caso de LBM-10, este obtuvo mayor tasa de crecimiento, mientras que LBM-41 y LBM-42 manifestaron crecimiento incipiente en el centro de las placas a esta temperatura (Tabla 4).

**TABLA 3.** Nivel de esporulación ( $10^5$ .conidios.mm<sup>-2</sup>) de los aislados de *Metarhizium* evaluados en diferentes medios de cultivo./ *Sporulation level* ( $10^5$ .conidia.mm<sup>-2</sup>) of *Metarhizium* isolates evaluated on different culture media

Medios de cultivo	Aislados						
	LBM-5	LBM-10	LBM-12	LBM-41	LBM-42	LBM-146	LBM-267
SDA	466,2c	126,3b	76,9ab	145ab	141,9bc	134,3a	568,8c
PDA	36,7 <sup>a</sup>	13,8a	4,58a	6,7c	12,5a	61,7c	37,9a
MC	251,2b	300,6c	298,3c	330,3d	308,3d	187d	326,3b
EM	350,4bc	166,7b	151,3b	174,9b	199,9c	107,5a	379,6b
ACD	15,4 <sup>a</sup>	31,7a	23,8ab	83,5a	78,5ab	157,5b	5,4a

Las letras comunes en las columnas indican que no hay diferencias significativas en esas variantes. Test de significación 0,05.

**TABLA 4.** Diámetro de la colonia ( $\text{cm} \pm$  error estándar) de los aislados cubanos del complejo de especies de *M. anisopliae* a las temperaturas ensayadas./ *Colony diameter ( $\text{cm} \pm$  standard error) of Cuban isolates of the *M. anisopliae* species complex at the different temperatures tested*

Aislados	Temperaturas				
	28°C	30°C	32°C	34°C	37°C
LBM-5	5,40±0,80ab	5,40±0,80a	4,40±0,55a	1,90±0,18b	-
LBM-10	5,16±0,82b	5,16±0,82ab	3,35±0,22b	2,92±0,20a	-
LBM-12	3,97±0,55cd	3,77±0,42c	1,97±0,20e	0,77±0,10d	-
LBM-41	5,92±1,09a	5,08±0,70ab	2,78±0,25cd	*	-
LBM-42	4,44±0,60c	4,18±0,60c	2,60±0,16cd	*	-
LBM-146	3,70±0,44d	4,33±0,62bc	2,47±0,22cde	1,40±0,15c	-
LBM-267	4,00±0,32cd	4,33±0,62bc	3,07±0,30bc	0,70±0,12d	-

(\*) solo hubo crecimiento y esporulación en el ponchete.

(-) ningún aislado creció a esa temperatura.

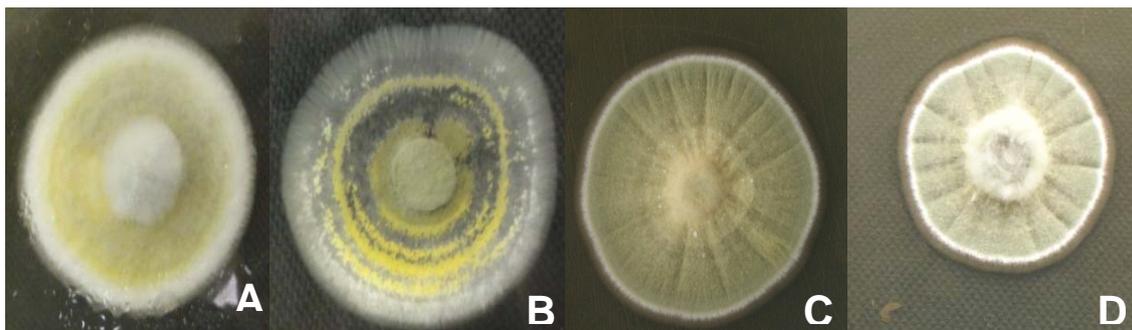
Las letras comunes en las columnas indican que no hay diferencias significativas en esas variantes. Test de significación 0,05.

La temperatura incidió en el crecimiento micelial de los aislados evaluados y en caracteres culturales como el patrón de esporulación y la morfología de la colonia, lo cual se hizo marcado a 34°C. La Figura 2 muestra las características culturales del aislado LBM-10 en las diferentes temperaturas ensayadas. Souza *et al.* (3) plantearon que la resistencia a temperaturas superiores a 30°C está estrechamente relacionada con la presencia de proteínas hidrofóbicas de la pared celular de los conidios, que protegen al hongo del estrés térmico.

Carrillo-Rayas y Blanco-Labra (18) señalaron que la temperatura se considera un punto de partida para la selección de cepas con potencial para el control biológico. Este factor ambiental es relevante para la eficacia de agentes microbianos fúngicos, como son

las especies del género *Metarhizium*, por incidir en su crecimiento vegetativo y persistencia en el campo.

Se constató la variabilidad intraespecífica de aislados cubanos del complejo *M. anisopliae* patogénicos a *C. fomicarius* y evaluados con respecto a la producción de conidios, la tasa de crecimiento y la respuesta a diferentes temperaturas. El estudio de los caracteres evaluados, mediante el empleo de técnicas de caracterización morfológicas, fisiológicas y culturales, constituye una importante herramienta para diferenciar cepas con potencialidades para el control de *C. fomicarius* y amplía los conocimientos básicos para el desarrollo de bioproductos agrícolas. Estos resultados pueden tener implicaciones en el comportamiento y la adaptabilidad de los nuevos aislados a las condiciones edafoclimáticas actuales en Cuba.



**FIGURA 2.** Características culturales de LBM-10 a diferentes temperaturas. A) 28°C, B) 30°C, C) 32°C, D) 34°C./ *Cultural characteristics of LBM-10 at different temperatures A) 28°C, B) 30°C, C) 32°C, D) 34°C.*

## REFERENCIAS

1. Maza N, Morales A, Ortiz O, Winters P, Alcázar J, Scott G. Impacto del manejo integrado del tetuán del boniato (*Cylas formicarius*) en Cuba. Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT) Centro Internacional de la Papa (CIP). 2000: 5-8.
2. Reddy G, Zhao Z, Humber R. Laboratory and field efficacy of entomopathogenic fungi for the management of sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Coleoptera: Brentidae). Journal of Invertebrate Pathology. 2014;122:10-15.
3. Souza R, Azevedo R, Lobo A, Rangel D. Conidial water affinity is an important characteristic for thermotolerance in entomopathogenic fungi. Biocontrol Science and Technology. 2014;24(4):448-461.
4. Castiñeiras A, López M, Calderón A, Cabrera T, Luján M. Virulencia de 17 aislamientos de *Beauveria bassiana* y 11 de *Metarhizium anisopliae* sobre adultos de *Cosmopolites sordidus*. Ciencia y Técnica en la Agricultura, Protección de Plantas. 1990;13(3):45-51.
5. Luján M, Cabrera T, Vázquez T, Sánchez E. Metodología para la reproducción de *Metarhizium anisopliae*, virulencia y conservación. Ciencia y Técnica en la Agricultura, Protección de Plantas. 1990;13(4):43-49.
6. Vázquez LL, Caraballo S, Carr A, Gil J, Armas JL, Rodríguez A, et al. Diagnóstico de la utilización de entomófagos y entomopatógenos para el control biológico de insectos por los agricultores en Cuba. Fitosanidad. 2010;14(3):159-169.
7. Torres M, Cortéz H, Ortiz C, Capello S, de la Cruz A. Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae* y su patogenicidad hacia *Aneolamia postica*, en Tabasco, México. Revista Colombiana de Entomología. 2013;39(1):40-46.
8. Romero M, Estrada M, Castañeda R, Luján M. Caracterización morfológica y patogénica de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Caña de Azúcar. 1988;15(1):17-25.
9. Fernandes É, Keyser CA, Chong JP, Rangel D, Miller M, Roberts D. Characterization of *Metarhizium* species and varieties based on molecular analysis, heat tolerance and cold activity. Journal for Applied Microbiology. 2009;108:115-128.
10. Driver F, Milner R, Trueman J. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. Mycol Res. 2000;104:134-150.
11. Bischoff J, Rehner S, Humber R. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. Mycologia. 2009;100(4):512-530.
12. Onofre S, Miniuk C, Monteiro N, Azevedo J. Grow and sporulation of *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* on culture media and lighting regimens. Scientia Agricola. 2001;58(3):613-616.
13. Paccola-Meirelles LD, Azevedo JL. Variabilidae natural no fungo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. Arq Biol Tecnol. 1990;33(3):657-672.
14. Rangel DE, Fernandes ÉK, Dettenmaier SJ, Roberts DW. Thermotolerance of germlings and mycelium of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium* spp. and mycelial recovery after heat stress. Journal of Basic Microbiology. 2010;50:344-350.
15. Chan-Cupul W, Ruiz E, Cristibal J, Pérez A, Mungía R, Lara R. Desarrollo *in vitro* de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces fumosoroseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. Agroteciencia. 2010;44(5):587-597.
16. Obando J, Bustillo A, Castro U, Mesa N. Selección de cepas de *Metarhizium anisopliae* para el control de *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae). Revista Colombiana de Entomología. 2013;39(1):26-33.
17. Zimmermann G. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Biocontrol Science and Technology. 2007;17(9):879-920.
18. Carrillo-Rayas MT, Blanco-Labra A. Potencial y algunos mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga. Acta Universitaria. 2009;19(2):40-49.

Recibido: 18-2-2015.  
Aceptado: 8-9-2015.