



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales

Ocurrencia de hongos entomopatógenos en el Santuario de la Naturaleza Llancahue en tres temporadas estivales

Patrocinante: Sr. Cristian Montalva R.

Trabajo de Tesina presentado como parte
de los requisitos para optar al Título de
Ingeniera en Conservación de Recursos Naturales

JAVIERA VALENTINA GEBAUER ARANCIBIA

VALDIVIA

2025

	Índice de materias	Página
i	Calificación del Comité de Titulación	i
ii	Agradecimientos	ii
iv	Resumen	iii
1	INTRODUCCIÓN	1
2	ESTADO DEL ARTE	2
2.1	Santuario de la Naturaleza Llancahue	2
2.2	Enemigos naturales	3
2.3	Hongos entomopatógenos y su ciclo de vida	4
2.4	Importancia de los hongos entomopatógenos	5
3	MÉTODOS	6
3.1	Área de estudio	6
3.2	Prospección y colecta de hongos entomopatógenos	7
3.3	Procesamiento de muestras en el laboratorio y preservación de cepas	8
3.4	Identificación macroscópica	8
3.5	Análisis de Datos	9
4	RESULTADOS	10
4.1	Identificación Taxonómica de Hongos Entomopatógenos	11
4.2	Cepas aisladas	11
4.3	Análisis de rarefacción	12
4.4	Análisis NMDS relación hongo y estación estival	14
4.5	Análisis NMDS relación hongo y especie arbórea	15
5	DISCUSIÓN	16
6	CONCLUSIÓN	19
7	REFERENCIAS	20
Anexo	1 Proceso de infección por hongos entomopatógenos	
	2 Mediciones de las microestructuras taxonómicamente importantes para la identificación de las muestras.	
	3 Presencia de las morfoespecies de hongos entomopatógenos encontrados en las estaciones estivales	
	4 Cepas agregadas al Cepario de Laboratorio de salud de bosques.	
	5 Cálculo de cobertura de la muestra y frecuencia de abundancia de especies por Estación	
	6 Pruebas de PERMANOVA parar el análisis NMDS de estaciones estivales y especies arbóreas	
	7 Tabla de información de los Géneros reportados en este estudio	

Calificación del Comité de Titulación

	Nota
Patrocinante: Sr. Cristian Montalva	6,3
Informante: Sr. Francisco Tello	5,9
Informante: Sr. Cristian González	6,4

El Patrocinante acredita que el presente Trabajo de Titulación cumple con los requisitos de contenido y de forma contemplados en el Reglamento de Titulación de la Escuela. Del mismo modo, acredita que en el presente documento han sido consideradas las sugerencias y modificaciones propuestas por los demás integrantes del Comité de Titulación.

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, overlapping loops and strokes, positioned above a horizontal line.

Sr. Cristian Montalva R.

Agradecimiento

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, en especial a mis padres por apoyar siempre mis confiar en mí y nunca dudar de las tonteras que me pasaban. A mi hermano, Diego por su apoyo incondicional en cada nueva aventura de mi vida, por aconsejarme en el área laboral y acompañarme a la naturaleza que tanto nos gusta. A mi hermanito Benjamín por sus abrazos, él no se acuerda era muy pequeño cuando yo era una mechona estudiando, pero fue mi compañero en mis días largos de estudios. A todos mis amigos de la universidad (Los watones en pandemia) que hoy en día hemos separado nuestros caminos (Antay Sierra, Antonia Mondion, Bastián Palma, Fernando Riveros, Félix Zapata, Guillermo Alvarado, Javiera Manríquez, Javiera Abril Veloso, Romina Pulgar) pero sin ellos no hubiera llegado tan lejos sobre todo en las noches de estudios en la pandemia estoy profundamente agradecida por su apoyo. Y quiero dar un gran agradecimiento a mi pareja Misael Fuentes, quién siempre me apoyo en mis decisiones, me prestó su hombro para llorar y me daba aliento para seguir, quién tomó mi mano muchas veces cuando estuve cansada y ya no podía más, quien me apoyo 100% en esta tesis tan extraña, me escuchaba mis ideas locas y me llevaba a mi lugar de muestreo cada vez que debía ir.

Gracias al Laboratorio Salud de Bosques, por aceptar a esta alumna que no sabía nada de hongos ni de insectos, pero tenía muchas ganas de descubrir hongos entomopatógenos, agradezco las experiencias vividas como las idas a terreno y las celebraciones que hacían un ambiente maravilloso y por todo el aprendizaje entregado. A mi profesor patrocinante, Dr. Cristian Montalva por su guía, apoyo y su enorme paciencia. Quiero agradecer especialmente a Esteban Gallardo quien me enseñó toda la estadística que sé, me enseñó a aislar géneros que yo no tenía experiencia en aislar y me entregó sus conocimientos sobre mediciones de diferentes estructuras taxonómicas de hongos entomopatógenos. A Javiera Manríquez quien siempre me recordó que debía confiar en

mí, quien escuchó mis frustraciones y me daba los mejores consejos para seguir adelante. Agradezco a mi comisión, por confiar en mí, por confiar en mi pasión por los hongos entomopatógenos, por su enorme paciencia y por apoyarme en todo momento. Finalmente, quiero agradecer a una persona la cual nunca he conocido físicamente, pero espero conocerla algún día, agradezco profundamente a João Araújo quien me ayudo muchísimo en la identificación de mis hongos, espero que nuestros caminos se crucen algún día.

Resumen

Este estudio reporta por primera vez la diversidad de hongos entomopatógenos (HEPs) en el Santuario de la Naturaleza Llancahue, un ecosistema de bosque templado lluvioso en Chile. Se realizaron muestreos en primavera, verano y otoño de 2023-2024, recolectando 742 insectos infectados en una parcela de 500 m². A partir de estos, se lograron aislar 10 cepas puras pertenecientes a seis géneros diferentes, mientras que la identificación taxonómica permitió identificar 12 géneros en total, destacando la presencia de *Microcera* y *Conoideocrella*, cuyos reportes en América son limitados. Un resultado interesante de igual forma fue la primera detección en Chile de *Entomophthora culicis*, un hongo del orden Entomophthorales especializado en mosquitos y otros dípteros. El análisis de rarefacción indicó que la cobertura de muestreo fue representativa, aunque no se encontraron diferencias significativas en la diversidad estacional de HEPs. Sin embargo, el análisis NMDS mostró una relación significativa entre la composición de HEP y la especie arbórea hospedera, distinguiéndose la asociación de *Microcera* sp. con *Drimys winteri* (Canelo), donde se observó una epizootia afectando a cientos de hemípteros. Estos resultados refuerzan la importancia del santuario como reservorio de HEP y abren nuevas líneas de investigación sobre la ecología y potencial de estos hongos en el control biológico de insectos.

Palabras clave: Hongos entomopatógenos, epizootia, control biológico, diversidad, *Microcera* sp.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos entomopatógenos (HEP's) son microorganismos patógenos de insectos, para los cuales existe evidencia sobre su patogenicidad. Estos están ampliamente distribuidos en todo el mundo y desempeñan un papel crucial en la regulación de las poblaciones de los insectos en los ecosistemas, sus mecanismos de infección pueden ser vía ingestión o a través de la penetración directa de la cutícula por medio del uso de enzimas y estructuras. Actualmente, se conocen más de 750 especies a nivel mundial y la diversidad más alta de HEPs, se ha reportado en los bosques tropicales, además se ha descrito que pueden encontrarse en hábitats extremos como el Ártico y la Antártica. Entre los géneros más comunes de HEP's utilizados comercialmente para el control de insectos asociados al sector agrícola se encuentran *Beauveria* spp, *Metarhizium* spp, *Isaria* spp, y *Lecanicillium* spp.

Conocer e identificar cepas nativas de HEPs, analizar sus densidades poblacionales y estudiar sus patrones de aparición en la hojarasca forestal y el suelo puede proporcionar información valiosa sobre la ecología de este grupo de hongos. Además, esto podría ampliar el conjunto de especies potencialmente utilizables en programas de control biológico. En Chile, los estudios sobre HEP's son limitados, sin embargo, existen algunos reportes previos, se ha desarrollado investigación y generado publicaciones de trabajos con ensayos de evaluación de patogenicidad bajo condiciones de laboratorio tales como: los reportes realizados por Aruta *et al.* (1974), Aruta *et al.* (1984), Aruta y Carrillo. (1989), sobre insectos asociados al sector agrícola, así como estudios del INIA con estudios de HEP's sobre *Hylamorpha elegans* por Gerding *et al.* (2007) y en *Vespula germanica* por Estay *et al.* (2008). Montalva *et al.* (2010) identificaron hongos entomopatógenos aislados del pulgón del ciprés (*Cinara cupressi*), reportando la especie *Verticillium lecanii* y luego este grupo de investigadores realizó ensayos de patogenicidad en condiciones de laboratorio mediante el uso de *Lecanicillium attenuatum* sobre *C. cupressi* el año 2017. Posteriormente, el mismo año, Montalva *et al.* reportaron la presencia de una especie del género *Hirsutella* sp. afectando a *Vespula vulgaris*, constituyendo el primer reporte de este género de hongo en Chile. Por último, actualmente se ha generado una publicación sobre el aislamiento e identificación de HEPs nativos y su potencial como agentes de control en *Drosophila suzukii* bajo condiciones de laboratorio. Sin embargo, en Chile aún no se ha realizado y reportado un trabajo sobre la ocurrencia y diversidad de hongos entomopatógenos en ecosistemas forestales nativos

como el bosque templado lluvioso en un parque semi-urbano. En base a esto, el objetivo general de este trabajo es: Evaluar la ocurrencia de hongos entomopatógenos en el Santuario de la Naturaleza Llancahue durante tres temporadas estivales.

Cuyos objetivos específicos son:

1. Caracterizar taxonómicamente el ensamble de hongos entomopatógenos presentes en el Santuario de la Naturaleza Llancahue
2. Comparar la diversidad estacional de hongos entomopatógenos en Llancahue durante tres periodos estivales

2. ESTADO DEL ARTE

2.1 Santuario de la Naturaleza Llancahue

El Santuario de la Naturaleza Llancahue se ubica en la región de Los Ríos, comuna de Valdivia, y posee una superficie de 1300 ha. Está situado entre 181 a 424 m .s.n.m y con tres accesos ubicados a menos de un kilómetro del perímetro urbano de Valdivia (Díaz *et al.* 2018). Presenta características climáticas de costa occidental con influencia mediterránea, su precipitación media anual es de 2.347 mm, concentrada principalmente entre los meses de abril y octubre. La cobertura vegetal del santuario se compone en un 60% de bosque nativo adulto, incluyendo los tipos forestales siempreverde y roble-raulí-coihue, un 24% corresponde a renovales y un 13 % a matorrales y áreas abiertas (Donoso *et al.* 2013). Llancahue representa uno de los últimos remanentes de bosque primario siempreverde en la depresión intermedia, lo que la convierte en un área prioritaria para la conservación debido a su alta riqueza de especies arbóreas y diversidad de hábitat (Lizana *et al.* 2019).

Este tipo de bosque, conocido como roble-laurel-lingue, alguna vez cubrió gran parte del centro-sur de Chile, pero se ha reducido significativamente por los cambios en el uso del suelo (San Martín *et al.* 1991). La reserva alberga una alta biodiversidad, incluidas 38 especies de macrohongos (Díaz *et al.* 2018) y varias comunidades de plantas en diferentes etapas sucesionales (Donoso *et al.* 2018). El Santuario, se originó en la primera mitad del siglo XX con el propósito de

proteger la cuenca hidrográfica que abastece de agua potable a Valdivia, función que mantiene hasta la actualidad.

Debido a la importancia científica e interés público en el año 2005 fue categorizada como un Bien Nacional Protegido (BNP) por el Decreto N° 634. Posteriormente el año 2008, se incorporó a la Estrategia Regional de Desarrollo 2009-2019 de la Región de Los Ríos, estableciéndose como un parque periurbano (Díaz *et al.* 2018). Ese mismo año, el Ministerio de Bienes Nacionales otorgó una concesión a la Universidad Austral de Chile (UACH) por un período de 20 años (hasta 2028), con el objetivo de desarrollar un Plan de Manejo Integrado de la Cuenca Llancahue, promoviendo la conservación de los recursos hídricos y ecosistemas, así como el uso público y el desarrollo local (UACH, 2016). Finalmente, el año 2022 por el Decreto N° 29, el área fue oficialmente declarada Santuario de la Naturaleza, reconociendo su valor como una de las últimas reservas de bosque valdiviano antiguo en buen estado de conservación en la Depresión Intermedia del centro-sur de Chile. En 2023, la concesión fue transferida a la Municipalidad de Valdivia, con el objetivo de continuar con su protección y gestión.

2.2 Enemigos naturales

Los enemigos naturales juegan un papel crucial en la regulación de las poblaciones de plagas en los ecosistemas naturales. Estos incluyen depredadores, parasitoides y patógenos (Badii *et al.* 2015). Los depredadores, consumen múltiples presas a lo largo de su vida (Cevallos *et al.* 2021). Los parasitoides, como ciertas avispas, ponen huevos sobre o dentro de un huésped, y sus larvas se desarrollan a expensas de este (Barrios *et al.* 2004). Los patógenos, incluidas las bacterias, los virus y los hongos, causan enfermedades (Badii *et al.* 2015). Actualmente, el uso de enemigos naturales en el control biológico se considera una alternativa sostenible a los pesticidas químicos, ofreciendo un gran potencial para su integración en programas de manejo integrado de plagas (Hajek *et al.* 2010).

Los hongos entomopatógenos (HEP's) desempeñan un papel importante en la regulación de las poblaciones de artrópodos. Si bien los HEP's se han estudiado ampliamente para el biocontrol en entornos agrícolas, su impacto en los ecosistemas naturales sigue siendo poco estudiado (Roy *et al.* 2009). La prevalencia media de infecciones fúngicas en poblaciones de

insectos se estima en un 8,2%, lo que sugiere tasas de mortalidad más bajas en comparación con los depredadores y parasitoides (Gielen *et al.* 2024). Sin embargo, se estima que en la Tierra hay entre 1,5 y 5,1 millones de especies de hongos, muchos de las cuales siguen sin describirse, por lo que existe un potencial significativo para descubrir nuevos HEP's en hábitats inexplorados (Hawksworth y Rossman *et al.* 1997; Blackwell *et al.* 2011).

2.3 Hongos entomopatógenos y su ciclo de vida

El término hongo entomopatógeno (HEP) históricamente se ha empleado para describir cualquier tipo de asociación entre hongos e insectos, aunque estos también se asocian a ácaros, arañas y otros artrópodos (Humber *et al.* 2009). Hoy en día se sabe que los hongos entomopatógenos infectan a insectos y lo hacen a través de un proceso bien definido que implica la adhesión de conidios, la germinación, la formación del apresorio, la penetración de la cutícula y la colonización (Anexo 1) (Arruda *et al.* 2005; Güerri *et al.* 2010). La infección fúngica comienza con la germinación al recibir estímulos de compuestos lipídicos presentes en la epicutícula del hospedero, los cuales activan la formación del apresorio (Santosh *et al.* 2021). Los apresorios secretan enzimas que degradan la cutícula, como quitinasas, proteasas y lipasas, para descomponer la cutícula del insecto (Khan *et al.* 2012; Mishra *et al.* 2013). Esta acción enzimática, combinada con la presión mecánica, permite la penetración en el hemocoele (Leger *et al.* 1989). Una vez las hifas penetran la endocutícula y crecen a través de la epidermis, aquí es donde las hifas experimentan una transición y se transforman en blastoesporas unicelulares las cuales no tienen pared celular, esto con el fin de aumentar la absorción de nutrientes de su hospedero y a su vez aumentar las tasas de multiplicación dentro del hemocoele (Xia *et al.* 2013; Gabarty *et al.* 2014).

Una vez dentro del hemocoele, el hongo prolifera como hifas o cuerpos hifales cortos en gemación, utilizando nutrientes del huésped para su desarrollo (Díaz *et al.* 2008). En esta etapa los HEP's emplean varias estrategias para superar las defensas del huésped como la explotación de la inmunidad antibacteriana del propio huésped para eliminar las bacterias competidoras como una interrupción mínima de la biosíntesis de proteínas del huésped con el objetivo de reducir la competencia con otros microorganismos saprófitos o bacterias presentes en el intestino (Humber *et al.* 2009). El crecimiento de los hongos se puede observar en diversos tejidos, incluidos músculos, cuerpos grasos y hemocitos (Díaz *et al.* 2008).

La muerte del hospedero para la posterior fructificación del hongo depende de múltiples factores, principalmente ambientales, sin embargo, uno de los más determinantes es la temperatura (Rizal *et al.* 2022). A temperaturas óptimas (25-30 °C), algunas combinaciones de hongo-huésped pueden causar mortalidad en un plazo de 2 a 5 días, mientras que las temperaturas más bajas pueden prolongar la supervivencia a 9-14 días. Después de la muerte del huésped, las blastosporas crecen hasta convertirse en hifas y el hongo vuelve a emerger del cadáver del insecto (Butt *et al.* 2016). Las hifas crecen hasta convertirse en hilos miceliales que producen células conidiógenas en las que se producen conidios mitóticamente y, de este modo, contribuyen al siguiente ciclo de vida (Pöggeler *et al.* 2002).

2.4 Importancia de los hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos (HEP) son agentes de control biológico para las plagas de insectos y ofrecen una alternativa sostenible a los pesticidas químicos (Singha *et al.* 2017; Güner *et al.* 2023). Los HEP's como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* han demostrado ser eficaces contra una amplia gama de plagas de insectos (Mahankuda y Bhatt. 2019). En general, contribuyen a la regulación natural de la población de plagas y pueden inducir epizootias (Dar *et al.* 2017). Las ventajas de los HEP incluyen una alta especificidad del hospedador, un impacto mínimo en organismos no objetivo y compatibilidad con estrategias integradas de manejo de plagas (Singha *et al.* 2017). Sin embargo, aún existen desafíos para ampliar las aplicaciones comerciales y mejorar las formulaciones para que resistan las condiciones ambientales. Las investigaciones en curso se centran en mejorar la eficacia de los HEP's, comprender las interacciones entre hospedador y patógeno y explorar su potencial en la agricultura sostenible (Vivekanandhan *et al.* 2024). Además de ser una alternativa sustentable los HEP's han demostrado un potencial en el área de estudios médicos produciendo una amplia gama de metabolitos secundarios con importantes propiedades bioactivas, como efectos antimicrobianos, anticancerígenos e inmunomoduladores. Por ejemplo, el metabolito secundario beauvericina de *Beauveria* spp y la cordicepina de *Cordyceps* sp presentan actividades anticancerígenas y antiinflamatorias (Tuli *et al.* 2013). La exploración de los metabolitos secundarios fúngicos ofrece prometedoras vías para el descubrimiento de fármacos, en particular para abordar la resistencia a los antibióticos y desarrollar nuevos agentes antimicrobianos y antitumorales (Conrado *et al.* 2017; Ajadi *et al.* 2024).

3. METODOS

3.1. Área de estudio

La ciudad de Valdivia presenta una precipitación anual promedio de 2.307 mm, con un régimen hídrico que alcanza los 2.956 mm/año, según datos de la Dirección General de Aguas (DGA), lo que influye en la estabilidad de los ecosistemas del santuario (CNR, 2012). Además, el sistema hidrográfico del área es crucial para la regulación del ciclo del agua y la provisión de servicios ecosistémicos esenciales para la región (Donoso *et al.* 2013). Este estudio se realizó en el sendero "Lomas del Sol" dentro del Santuario de la Naturaleza Llancahue (Figura 1), una zona representativa de los bosques valdivianos en estado de conservación. Este santuario es considerado una de las últimas reservas de bosque nativo antiguo en buen estado dentro de la Depresión Intermedia del centro-sur de Chile, con una vegetación que alberga una alta diversidad de flora y fauna nativa, destacando una población de rana *Insuetophrynus acarpicus* la cual está en peligro crítico de extinción (Matamala y Ruiz. 2002; Rabanal y Nuñez, 2012).

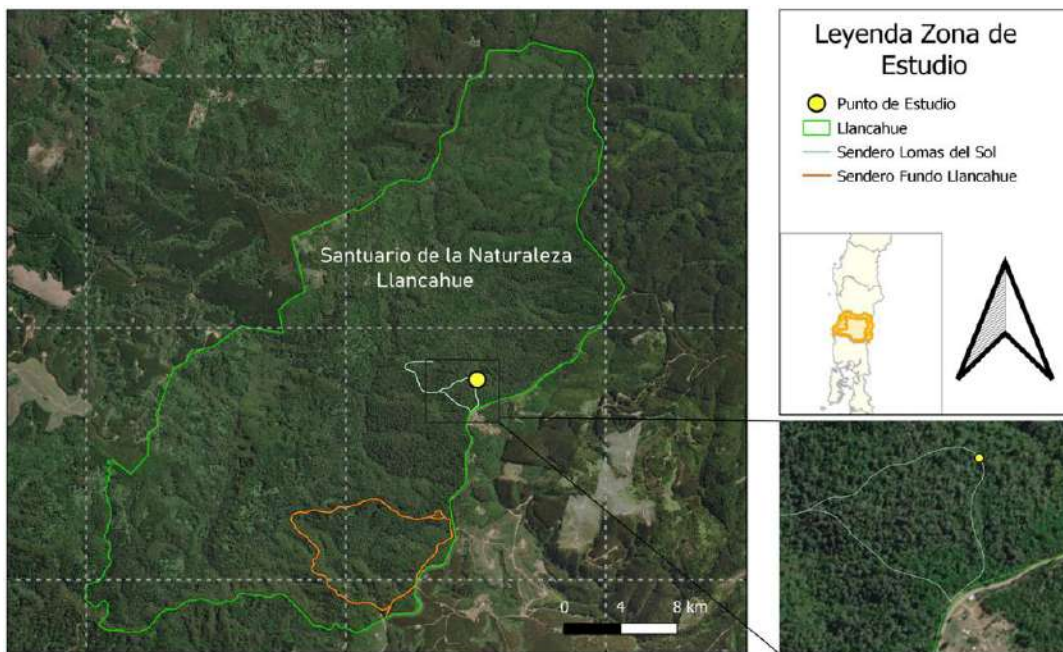


Figura 1. Mapa indicando la ubicación espacial del punto de estudio en el sendero “Lomas del sol” del Santuario de la naturaleza Llancahue (región de Los Ríos).

3.2 Prospección y colecta de hongos entomopatógenos

Se estableció una parcela rectangular de 500 m² (50 m x 10 m), la cual fue monitoreada en seis ocasiones entre septiembre de 2023 y mayo de 2024, realizando dos visitas por estación: primavera, verano y otoño. Durante cada visita, se llevó a cabo una búsqueda activa y exhaustiva de hongos entomopatógenos durante 45 minutos, recolectando insectos infectados y/o cadáveres esporulados tanto en el follaje de los árboles como en el sotobosque. Las muestras se depositaron individualmente en bolsas de papel Kraft (15,5 cm x 29,5 cm) debidamente rotuladas y se transportaron en un cooler a 4 °C para su posterior procesamiento en el laboratorio de Salud de Bosques de la Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales de la Universidad Austral de Chile.

3.3 Procesamiento de muestras en el laboratorio y preservación de cepas

Los insectos muertos y sus patógenos fúngicos fueron fotografiados bajo el estereomicroscopio Olympus SZ51 y posteriormente examinados microscópicamente para identificar características morfológicas de importancia para su clasificación taxonómica. Las conidias fúngicas extraídas se inocularon en el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (APD; 39 g/L agar) suplementado con cloranfenicol (0,25 g/L) en placas de Petri (60 x 15 mm). Las placas fueron selladas con Parafilm y se incubaron a 20 ± 1 °C bajo oscuridad. El crecimiento fúngico y posibles contaminantes se evaluaron cada dos días. En caso de contaminación, se realizaron transferencias de las áreas no contaminadas del hongo patógeno a nuevos medios de cultivo. Una vez que se estableció un cultivo puro, todas las transferencias posteriores se realizaron en medio APD sin antibiótico adicional. Los cultivos puros fueron preservados a corto plazo en el Laboratorio de Salud de Bosques, siguiendo los protocolos de López-Lastra *et al.* (2002) y Humber (2012). Durante el periodo de crecimiento en la incubadora, se monitoreo regularmente el desarrollo de los hongos aislados, realizándose la transferencia de estos a medios de cultivo fresco, para garantizar la pureza de los cultivos.

3.4. Identificación macroscópica

Las muestras colectadas en terreno fueron examinadas y analizadas, basándose en características morfológicas clave. Se prepararon montajes semi-permanentes en portaobjetos utilizando azul de lactofenol-cotton como tinción, de acuerdo con los protocolos indicados por Humber (2012). Posteriormente, se selló la preparación a largo plazo con el cubreobjeto y barniz de uñas transparente. El azul de lactofenol-cotton fue usado para dar contraste a las estructuras hialinas y para teñir diferencialmente las cubiertas mucosas de las conidias y las paredes celulares de las hifas jóvenes (Hajek y Humber 1997). Las preparaciones fueron observadas bajo un microscopio óptico Nikon Eclipse E600, examinándose las principales microestructuras fúngicas importantes para la identificación del género (células conidiogénicas y conidias, entre otras). Estas estructuras fueron fotografiadas con una cámara digital (Nikon DS-Fi1) y las medidas tomadas utilizando el software ImageJ (versión 1.53), previamente calibrado con una escala micrométrica. Se midieron entre 30 – 50 conidias dependiendo del género, así como 15 células conidiogénicas en el caso del género de *Hirsutella*. A partir de estas mediciones, se calcularon los valores medios, el error estándar de la media (\pm SEM), y un rango con los valores máximos y mínimos. Estas mediciones para la identificar los géneros se utilizaron las claves taxonómicas establecidas por Chaverri *et al.* (2008), Freire (2015), Humber (2012), Keller (2005), Kepler y Petrini (2018), Leslie y Summerell (2008), MingJun *et al.* (2022), Mongkolsamrit *et al.* (2022) y Liu *et al.* (2023).

3.5 Análisis de datos

Para estimar y comparar la diversidad de un ensamble de HEP's en las temporadas estivales, se utilizaron curvas de acumulación de especies, basadas en extrapolación e interpolación (Gotelli y Colwell 2001). Este análisis se llevó a cabo en RStudio utilizando el paquete iNEXT y la Curva R/E basada en el tamaño de la muestra (Chao *et al.* 2012; Hsieh *et al.* 2016). Dicha curva permitió estimar la diversidad con intervalos de confianza al 95%, proyectando los resultados hasta el doble del tamaño de la muestra de referencia. La línea continua representa la rarefacción, mientras que la línea discontinua indica la extrapolación de la diversidad esperada. Las bandas de sombra alrededor de las curvas corresponden a los intervalos de confianza del 95%. (Gotelli y Colwell, 2001). Para este propósito se utilizó el Número de Hill 1, equivalente a $q = 1$. La visualización de la curva se

realizó mediante *ggplot2*, ajustando las escalas para facilitar la interpretación de los resultados (Chao *et al.* 2014).

Para determinar si existen diferencias significativas de la composición de especies de hongos entomopatógenos en relación con las temporadas estivales y la especie arbórea (OE 2), se llevó a cabo un análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS, por sus siglas en inglés). Este análisis fue implementado en RStudio con el paquete *vegan* y la función *metaMDS*, la cual genera una ordenación no métrica basada en una matriz de disimilitud previamente calculada con la distancia de Raup-Crick (k=2) (Borcard *et al.* 2018). La visualización se realizó con *ggplot2*, representando la estructura comunitaria en un espacio bidimensional. Adicionalmente, se aplicó un PERMANOVA (añadir referencia) para evaluar la influencia de la estación y/o la asociación arbórea sobre la composición de las especies, utilizando la misma matriz de disimilitud empleada en el NMDS.

4. RESULTADOS

Durante las seis salidas a terreno en el Santuario de la Naturaleza Llancahue, se recolectaron un total de 742 cadáveres de insectos infectados por HEPs, distribuidos en las tres estaciones estivales: primavera (642), verano (64) y otoño (54). Durante la temporada estival de primavera se observó una epizootia de *Microcera* sp. la cual afectó a cientos de individuos pertenecientes a la familia *Coccoidea* (Hemíptera), los cuales se encontraron en su mayoría adheridos en el envés de las hojas de la especie arbórea de Canelo (*Drimys winteri*) la cual representaba un 15% de las especies arbóreas en la parcela de investigación (Figura 2).

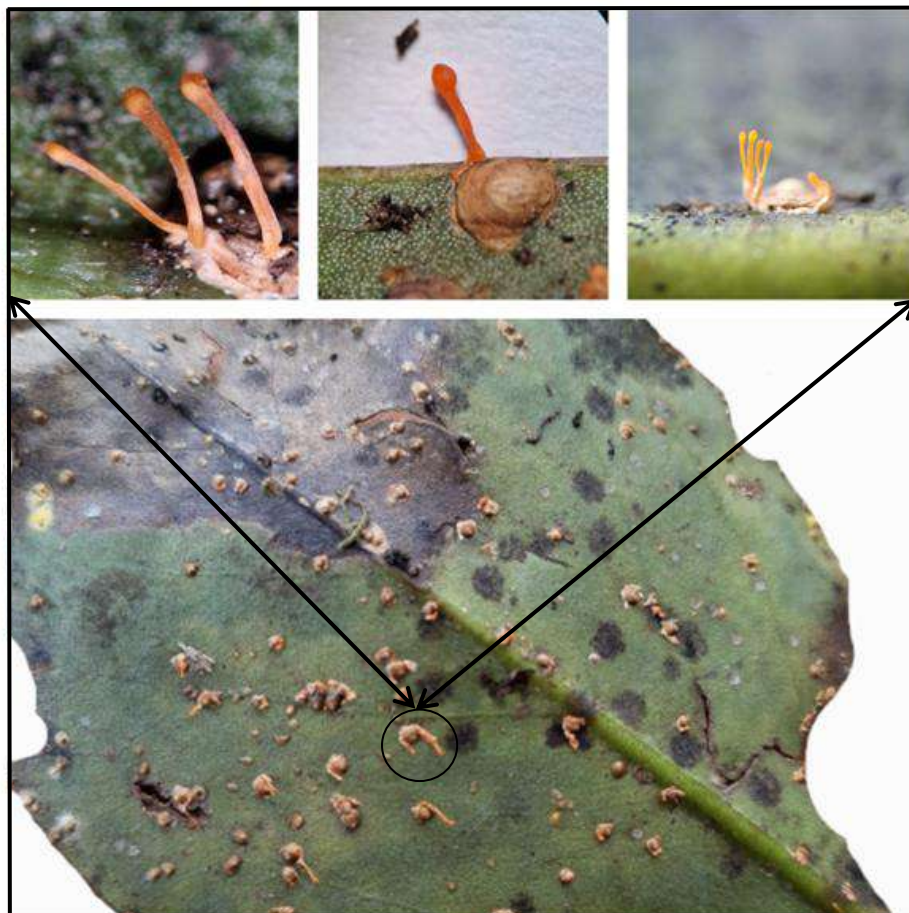


Figura 2. Epizootia de *Microcera* sp. sobre individuos de insectos adultos pertenecientes a la familia *Coccoidea* ubicados en el envés de hoja de las hojas de *Drimys winteri*.

4.1 Identificación taxonómica de los hongos

A partir de las mediciones morfológicas se identificaron 12 géneros de hongos entomopatógenos figura 3 y Anexo 2, que mediante el uso de claves taxonómicas específicas permitieron mediante la comparación de estructuras morfológicas dividir, clasificar e identificar 34 morfoespecies, a excepción de 4 morfoespecies que no pudieron ser identificadas, debido a la falta de estructuras y a la ausencia de referencias específicas para su clasificación. Los géneros colectados e identificados son: *Aschersonia*, *Akanthomyces*, *Beauveria*, *Conoideocrella*, *Fusarium*, *Entomophthora*, *Gibellula*, *Hevansia*, *Hirsutella*, *Microcera*, *Ophiocordyceps* y *Torrubiella* (Figura 3; Anexo 3).

4.1.2 Cepas Aisladas

Del total de intentos de aislamientos de las muestras colectadas del área de estudio en las temporadas estivales, se logró aislar con éxito 10 cepas puras correspondientes a seis géneros: dos *Aschersonia* (2), *Conoideocrella* (1), *Gibellula* (2), *Hirsutellas* (3), *Ophiocordyceps* (1) y una *Microcera* (1). Las cuales, han sido preservadas y depositadas para su mantención en el Laboratorio de Salud de bosques y se le asignaron sus respectivos códigos (Anexo 4).



Figura 3. Hongos entomopatógenos colectados en el Santuario de la Naturaleza Llancahue en las tres estaciones estivales investigadas. **A)** *Aschersonia* sp., **B)** *Akanthomyces* sp., **C)** *Beauveria* sp., **D)** *Conoideocrella* sp., **E)** *Entomophthora* sp., **F)** *Gibellula* sp., **G)** *Hevansia* sp., **H)** *Hirsutella* sp., **I)** *Isaria* sp., **J)** *Microcera* sp., **K)** *Ophiocordyceps* sp., **L)** *Torribiella* sp. Escala de barras: (A, B, I); 4 µm; (B, E, F, G, H, J, K, L) 10 µm.

4.2 Análisis de rarefacción

La Figura 4 muestra las curvas de rarefacción y extrapolación de la diversidad de géneros en función de la acumulación de número de individuos muestreados para las estaciones estivales de otoño, primavera y verano. En la figura 5 se muestra el gráfico de rarefacción y extrapolación de la diversidad de géneros en función de la completitud de la muestra para las estaciones estivales otoño, primavera y verano. Este gráfico muestra la cobertura de la muestra la cual es mayor al 60% en las tres estaciones estivales (Anexo 5), lo que indica un muestreo representativo para la estimación de la diversidad de géneros.

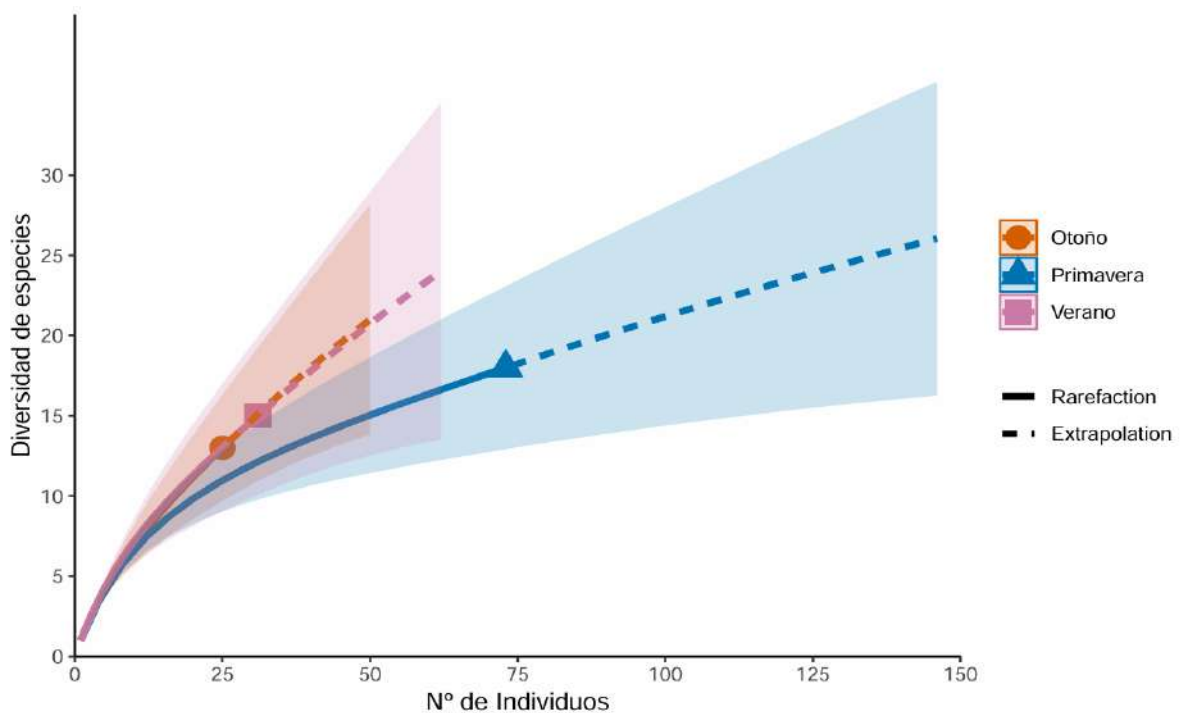


Figura 4. Curvas de rarefacción y extrapolación de la diversidad de géneros en 3 temporadas estivales estudiadas.

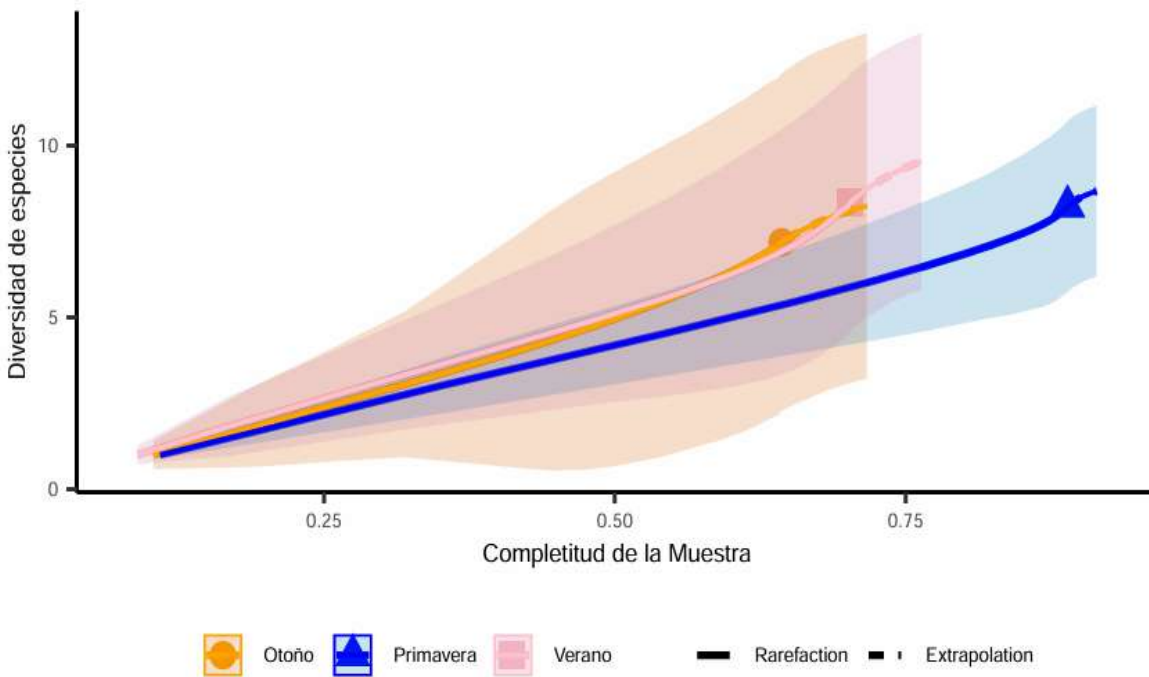


Figura 5. Curvas de Rarefacción y Extrapolación en función de la completitud de la muestra.

4.2.1 Análisis NMDS relación entre estaciones del año y hongos entomopatógenos

La ordenación NMDS realizada mediante el índice de Raup-Crip con datos de presencia/ausencia para estimar los cambios en la composición entre estaciones mostró que no existen diferencias significativas a nivel estacional (Anexo 5; Figura 6). Adicionalmente, el análisis de PERMANOVA resultó no significativo ($gl = 2$; $Pr(>F) = 0.006$) y con bajo R^2 (0.0452), indicando que la estacionalidad explica solamente un 4,52% de la variabilidad de los datos.

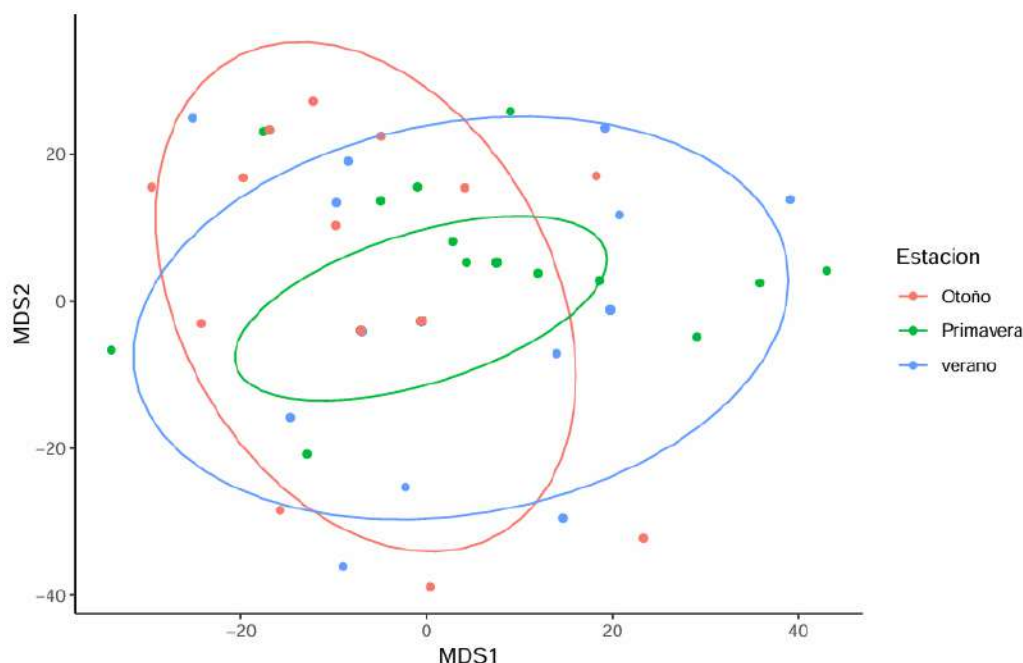


Figura 6. Ordenación NMDS de la composición de especies según estación estival. Estrés: 0.000139

4.2.2 Análisis NMDS relación entre especies arbórea y hongos entomopatógenos

La ordenación NMDS realizada mediante el índice de Raup-crip con datos de presencia/ausencia de hongos entomopatógenos para determinar su distribución en función de diferentes especies arbóreas mostró que existe relación significativa (Anexo 5. Figura 7). Adicionalmente el análisis de PERMANOVA resultó significativo ($gl = 7$; $Pr(>F) = 0.001$ y con un alto R^2 (0.3645), indicando que la estacionalidad explica solamente un 36,45% de la variabilidad de los datos.

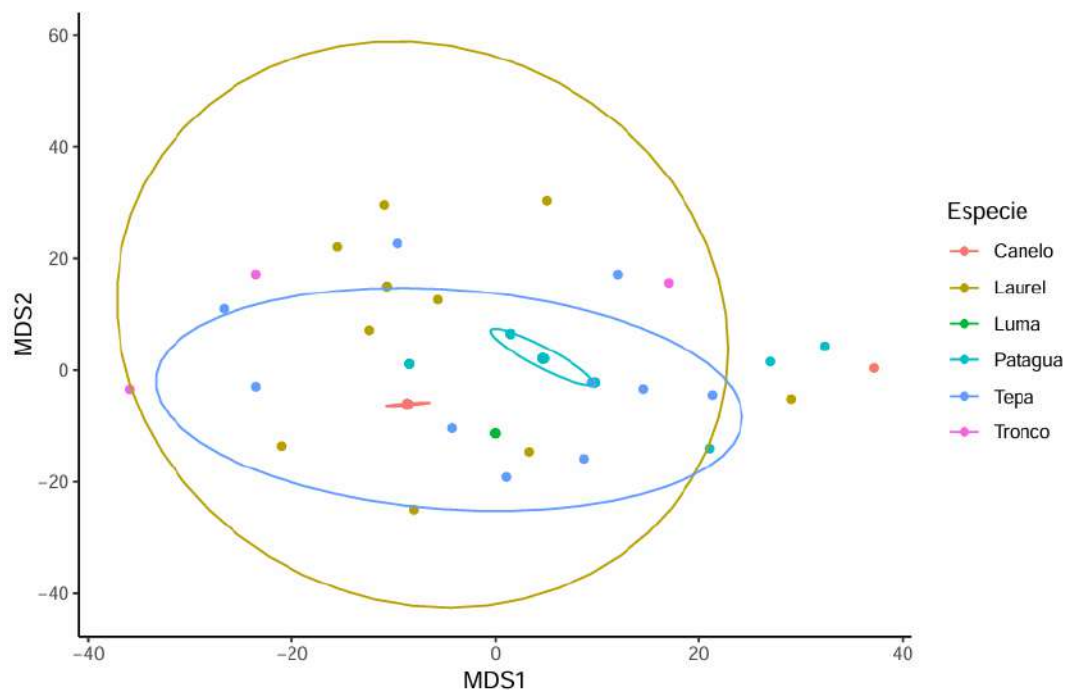


Figura 7. Gráfico NMDS de composición de comunidades entre especies arbóreas y morfoespecies de hongos entomopatógenos. Estrés: 0.0002539.

5. DISCUSIÓN

Los resultados confirman la presencia de una importante comunidad de hongos entomopatógenos presentes en el Santuario de la Naturaleza Llancahue, los cuales en general se describen en ambientes tropicales y neotropicales, lo que se diferencia al tipo de clima templado lluvioso de Valdivia, sobre todo por sus bajas temperaturas (Anexo 6). El santuario, actúa como reservorios clave para la diversidad de hongos entomopatógenos, concordando con estudios previos que indican una mayor riqueza de estos microorganismos en ecosistemas naturales en comparación con sistemas agrícolas (Chandler *et al.* 1997). Se identificaron géneros pertenecientes a ambos órdenes principales de hongos entomopatógenos: Entomophthorales e Hypocreales. Sin embargo, la predominancia de Hypocreales en este estudio no implica su dominio absoluto en la región, ya que futuros esfuerzos de muestreo podrían revelar la presencia de otros órdenes. El orden

Entomophthorales posee una importancia ecológica debido a su papel en la regulación de las poblaciones de insectos (Barta y Cagán 2006, Montalva *et al.* 2010; Zhou *et al.* 2018). Sin embargo, los intentos de aislar hongos del orden Entomophthorales a partir de los insectos hospedadores colectados de terreno no tuvieron éxito.

Dentro de los géneros mantenidos y preservados en el Cepario del Laboratorio de Salud de Bosques se distingue *Microcera* sp. (Hypocreales: Nectriaceae), una especie cuya presencia no ha sido previamente reportada en América del Sur y que cuenta con menos de diez especies descritas a nivel mundial (Liu *et al.* 2023). Hasta ahora, las especies de *Microcera* han sido reportadas en América del Norte, Europa y algunos países de Asia y Oceanía, como Tailandia, Nueva Zelanda y China (Liu *et al.* 2023). Además, se logró un aislamiento exitoso de *Conoideocrella* sp. (Hypocreales: Clavicipitaceae), el cual sería en este estudio un nuevo reporte de igual forma para América del Sur, cuya distribución actual son climas tropicales y templados (Anexo 7), este hongo ha sido reportado para los países de Tailandia, Yunnan, China y Estados Unidos. Este género posee solo tres especies: *Conoideocrella tenuis*, *Conoideocrella krungchingensis* y *Conoideocrella luteorostrata* (Schoch *et al.* 2020).

Los géneros *Gibellula* y *Hevansia*, pertenecientes a la familia Cordycipitaceae, han sido ampliamente reportados como parásitos especializados de arañas y otros artrópodos, destacándose por su capacidad de esporulación sobre los exoesqueletos de sus hospedadores (Mongkolsamrit *et al.* 2022). *Torrubiella*, otro género de la misma familia, ha sido descrito infectando insectos en hábitats húmedos y ha demostrado potencial como agente de control biológico debido a su especificidad y persistencia en el ambiente (Lacey *et al.* 2001). En cuanto a los géneros más estudiados sobre hongos entomopatógenos, *Beauveria* y *Akanthomyces* fueron también identificados en este trabajo. *B. bassiana* es uno de los hongos entomopatógenos más utilizados en estrategias de control biológico, con un amplio rango de hospedadores y formulaciones comerciales ya disponibles (Korosi *et al.* 2019). *Akanthomyces*, previamente clasificado dentro de *Lecanicillium* y *Verticillium*, ha sido descrito en múltiples estudios por su capacidad para infectar insectos y desempeñar un papel ecológico clave en la regulación de plagas agrícolas (Montalva *et al.* 2024). Otro resultado interesante fue la identificación de *Entomophthora culicis*, un hongo entomopatógeno del orden Entomophthorales especializado en la infección de mosquitos y otros

dípteros acuáticos. *E. culicis* ha sido ampliamente reportado en ecosistemas con alta humedad relativa y se caracteriza por la proyección activa de conidias, un mecanismo eficiente de dispersión en ambientes húmedos (Keller, 2005). La presencia de este hongo en el ecosistema estudiado sugiere un papel importante en la regulación de poblaciones de mosquitos, lo que podría tener implicaciones en la dinámica ecológica y en la transmisión de enfermedades vectoriales. Por otro lado, la presencia de *Fusarium*, un género conocido mayormente por su papel en patologías vegetales, pero que en los últimos años ha sido reportado como un posible entomopatógeno, afectando diversas especies de insectos a través de mecanismos como la producción de micotoxinas (Santos *et al.* 2020, Wakil *et al.* 2013). Finalmente, *Aschersonia*, patógeno especializado en hemípteros, ha sido ampliamente estudiado en el contexto del control biológico de moscas blancas y áfidos, demostrando alta efectividad bajo condiciones controladas (Aragão *et al.* 2021). La coexistencia de estos diversos géneros en un mismo ecosistema sugiere un equilibrio entre especies generalistas y especialistas, lo que puede estar condicionado por factores ambientales como la disponibilidad de hospederos y las condiciones microclimáticas del bosque templado lluvioso (Yaginuma *et al.* 2007; Thakur *et al.* 2010).

La presencia de estos géneros de hongos entomopatógenos en Llancahue no constituye un evento aislado, sino que refleja la compleja historia ecológica y biogeográfica de la región, sugiriendo posibles procesos de dispersión, adaptación y coevolución en este ecosistema biogeográfico del bosque templado lluvioso valdiviano (Villagrán y Armesto, 2005). Durante el período Terciario, hace aproximadamente 65 millones de años, el sur de Chile albergaba una flora de origen tropical que, a lo largo de sucesivos eventos de cambio climático y glaciaciones del Pleistoceno, fue transformándose en el ecosistema templado lluvioso que conocemos hoy (Luebert y Weigend, 2014). En este contexto, Llancahue se ha mantenido como un refugio de biodiversidad en la Depresión Intermedia del sur de Chile, protegiendo especies relictas y endémicas, tanto en su flora como en su microbiota (Donoso *et al.* 2013). En base a esto, será de suma importancia que mediante herramientas moleculares a futuro se pueda determinar las especies de los géneros aislados, con el fin de determinar si son nuevos reportes de distribución o si existirían nuevas especies nativas no descritas pertenecientes a los géneros aislados en el Santuario.

Con respecto a los análisis de datos, en el análisis de rarefacción se observa que no existe una diferencia significativa entre las estaciones estivales estudiadas. Este resultado puede deberse a diversos factores, entre ellos el hecho de que en el presente estudio la identificación taxonómica se realizó únicamente hasta el nivel género, es necesario de mejorar el diseño de la metodología tanto implementar extracción de ADN, como la posible incorporación de técnicas complementarias de prospección para hacerla más efectiva. Asimismo, la ampliación del área de muestreo incluyendo de un mayor número de puntos de muestreo podrían contribuir a obtener una representación más completa de la diversidad presente. Además, complementarlo con agregar más variables para hacer los análisis de datos como un monitoreo de temperatura, humedad relativa, mm caídos en el lugar de estudio (Wang *et al.* 2020).

Esta diferenciación se evidenció en la distribución de los puntos y en la forma de la elipse de confianza del gráfico NMDS relación entre estaciones estivales. El solapamiento parcial de las elipses de confianza sugiere que, aunque hay algunas variaciones estacionales en la composición de hongos entomopatógenos, estas diferencias no son lo suficientemente marcadas como para establecer patrones de diferenciación estrictos entre estaciones, se necesitan más estudios para poder determinar si no existe una variación significativa entre estaciones. Sin embargo, en el gráfico de NMDS entre géneros de hongos y especies arbóreas, se evidenció que si existe una relación significativa. Por ejemplo, el Laurel mostró una amplia superposición con otros árboles, evidenciando un nicho compartido entre insectos y a su vez por géneros de hongos entomopatógenos. Por el contrario, el Canelo presentó la menor diversidad asociada, lo que sugiere características específicas de esta especie que podrían limitar la colonización fúngica u hospederos que solo se asocian a esta especie. En diferentes estudios las diversas especies de árboles nativos de Chile han demostrado propiedades insecticidas a través de sus compuestos químicos.

En este estudio, cabe resaltar que en *D. winteri* solo se observó una epizootia de *Microcera* sp la cual incluyo a 242 cadáveres de hemípteros lo que concuerda con un estudio sobre sus volátiles, los cuales tienen propiedades insecticidas, antifúngicas y antimicrobianas debido a sus particulares sesquiterpenos, flavonoides y aceites esenciales (Rebolledo *et al.* 2012; Muñoz *et al.* 2020) y en otro estudio los sesquiterpenos y lignanos de tipo driman de *Drimys winteri* mostraron actividades antifúngicas e insecticidas (Muñoz *et al.* 2015). Estos hallazgos destacan la importancia

de las interacciones en la dinámica ecológica de los hongos entomopatógenos. Este estudio sirve como un reporte preliminar sobre los hongos entomopatógenos asociados al Santuario de la naturaleza Llancahue. La epizootia observada, *Microcera* sp, destacan el posible rol ecológico de estos hongos en la regulación de las poblaciones de hemípteros. Sin embargo, debido a la naturaleza exploratoria de este trabajo, se requieren estudios adicionales que incorporen confirmación molecular para lograr una comprensión más completa de su identificación.

6. CONCLUSIÓN

Este estudio reportó por primera vez la ocurrencia y diversidad de hongos entomopatógenos en el Santuario de la Naturaleza Llancahue, contribuyendo al conocimiento sobre su presencia en ecosistemas templados lluviosos. A partir del análisis taxonómico, se identificaron 12 géneros de hongos entomopatógenos, destacando la presencia de *Microcera* sp y *Conoideocrella* sp, ambos géneros poco reportados en Sudamérica y característicos de regiones tropicales. Los resultados sugieren que las condiciones ambientales de Llancahue pueden favorecer la persistencia de estos hongos, a pesar de estar fuera de su distribución tradicional o son especies nativas no descritas.

El análisis estacional no evidenció diferencias significativas en la diversidad y abundancia de estos hongos, posiblemente debido a la disponibilidad de hospederos y condiciones climáticas favorables. El análisis PERMANOVA no mostró diferencias estadísticamente significativas entre estaciones, lo que indica que la comunidad de hongos entomopatógenos se mantiene relativamente estable a lo largo del tiempo, aunque con variaciones en su composición específica. No obstante, el análisis PERMANOVA mostró una relación significativa entre las especies arbóreas y el género de HEP's presente.

7. REFERENCIAS

- Ajadi AA, Darby SM, Adams DJ, De Vries RP, Seiboth B, Bignell EM. 2024. Fungal-bacterial interactions in plant and animal hosts: Insights into pathogenesis and microbial ecology. *Current Opinion in Microbiology* 79:102321. DOI: 10.1016/j.mib.2024.102321.
- Aragão TMS, dos Santos JVFC, Santos TS, Souto EB, Severino P, Jain S, Mendonça MC. 2021. Scientific-technological analysis and biological aspects of entomopathogenic fungus *Aschersonia*. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 24:100562.
- Arruda W, Lübeck I, Schrank A, Henning Vainstein M. 2005. Morphological alterations of *Metarhizium anisopliae* during penetration of *Boophilus microplus* ticks. *Experimental and Applied Acarology* 37:231–244.
- Aruta CM, Carrillo RL, González SM. 1974. Determinación para Chile de hongos entomopatógenos del género *Entomophthora*. I. *Agro Sur* 2(2):62–70.
- Aruta CM, Carrillo RL, Montealegre JA. 1984. Determinación para Chile de hongos del Orden Entomophthorales (*Zygomycetes*). *Agro Sur* 12(1):36–42.
- Aruta C, Carrillo R. 1989. Identificación de hongos del orden *Entomophthorales* en Chile III. *Agro Sur* 17:10–18.
- Badii MH, Flores AE, García Salas JA, Ponce G, Foroughbakhch R. 2015. Formas de evaluar los enemigos naturales en control biológico. *CULCyT* Año 1(2).
- Barrios Díaz B, Alatorre Rosas R, Bautista Martínez N, Calyecac Cortero HG. 2004. Identificación y fluctuación poblacional de plagas de col (*Brassica oleracea* var. *capitata*) y sus enemigos naturales en Acatzingo, Puebla. *Agrociencia* 38(2):239–248.
- Barta M, Cagán L. 2006. Aphid-pathogenic Entomophthorales (their taxonomy, biology and ecology). *Biologia, Bratislava* 61(Suppl. 21): S543-S616. DOI: 10.2478/s11756-007-0100-x.
- Butt TM, Coates CJ, Dubovskiy IM, Ratcliffe NA. 2016. Entomopathogenic fungi: New insights into host-pathogen interactions. *Advances in Genetics* 94:1-39. DOI:

- 10.1016/bs.adgen.2016.01.006 Borcard D, Gillet F, Legendre P. 2018. *Numerical Ecology with R*. Springer International Publishing. 517 p. DOI: [10.1007/978-3-319-71404-2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-71404-2).
- Blackwell M. 2011. The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species?. *American Journal of Botany* 98(3):426–438.
- Cevallos D, Santana JC, Chirinos DT. 2021. Los depredadores y el manejo de algunas plagas agrícolas en Ecuador. *Manglar* 18(1):51-59
- Conrado L, Alves SB, Silva ES, Marsaioli AJ. 2017. Biochemical analysis of secondary metabolites in *Metarhizium anisopliae* and their role in pathogenicity. *Journal of Invertebrate Pathology* 146:20-30. DOI: 10.1016/j.jip.2017.03.002.
- Chandler D, Hay D, Reid AP. 1997. Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils. *Applied Soil Ecology* 5(2):133-141.
- Chaverri P, Liu M, Hodge KT. 2008. A taxonomic revision of the insect biocontrol fungus *Aschersonia aleyrodis*, its allies with white stromata and their *Hypocrella* sexual states. *Mycological Research* 110:537-554. DOI: 10.1016/j.mycres.2006.01.013.
- Chao A, Gotelli NJ, Hsieh TC, Sander EL, Ma KH, Colwell RK, Ellison AM. 2014. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecological Monographs* 84:45–67. DOI: 10.1890/13-0133.1.
- Chao A, Jost L. 2012. Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. *Ecology* 93:2533–2547. DOI: 10.1890/11-1952.1.
- Dar SA, Rather BA, Kandoo AA. 2017. Insect pest management by entomopathogenic fungi. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 5(3):1185-1190.
- Díaz MP, Flores Macías A, Rodríguez Navarro S, de la Torre M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia* 31(12):856-860. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33901204>.
- Díaz, M. P. (2008). *Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico*. KUXULKAB' Revista de Divulgación de la División Académica de Ciencias Biológicas, XV (27), 25-27

- Díaz J. 2018. Antecedentes básicos para la generación de un Plan de Ordenación Predial para el fundo Llancahue, Cordillera de la Costa, provincia de Valdivia. Tesis Ingeniero Forestal. Valdivia, Chile. Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Universidad Austral de Chile. 10 p.
- Donoso PJ, Ponce DB, Pinto JB, Triviño IL. 2018. Cambios en cobertura y regeneración arbórea en bosques siempreverdes en diferentes estados sucesionales en el sitio experimental de Llancahue, Cordillera de la Costa de Valdivia, Chile. *Gayana Botánica* 75(2):657-662.
- Donoso P, C Frêne, M Flores, M Moorman, C Oyarzún, J Zavaleta. 2013. Balancing water supply and old-growth forest conservation in the lowlands of south-central Chile through adaptive co-management. *Landscape Ecology* 29(2):245-260.
- Feng Liu, Deng Y, Wang F-H, Jeewon R, Zeng Q, Xu X-L, Liu Y-G, Yang C-L. 2023. Morphological and molecular analyses reveal two new species of *Microcera* (Nectriaceae, Hypocreales) associated with scale insects on walnut in China. *MycKeys* 98:19–35. DOI: [10.3897/mycokeys.98.103484](https://doi.org/10.3897/mycokeys.98.103484).
- Freire, F. M. (2015). *Taxonomia e distribuição de Ophiocordyceps dipterigena (Ophiocordycipitaceae, Hypocreales)*. Dissertação de mestrado ou tese de doutorado, Nome da Universidade.
- Gabarty A, Salem HM, Fouda MA, Abas AA, Ibrahim AA. 2014. Pathogenicity induced by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in *Agrotis ipsilon* (Hufn.). *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 7(1):95-100. DOI: [10.1016/j.jrras.2013.12.004](https://doi.org/10.1016/j.jrras.2013.12.004).
- Gerding M, France A, Sepulveda ME, Campos J. 2007. Use of chitin to improve a *Beauveria bassiana* alginate-pellet formulation. *Biocontrol Science and Technology* 17(1):103-108. DOI: [10.1080/09583150600937717](https://doi.org/10.1080/09583150600937717)
- Gielen R, Ude K, Kaasik A, Põldmaa K, Teder T, Tammaru T. 2024. Entomopathogenic fungi as mortality agents in insect populations: A review. *Ecology and Evolution* 14(12):e70666. DOI: [10.1002/ece3.70666](https://doi.org/10.1002/ece3.70666).
- Gotelli, N. J., & Colwell, R. K. 2001. Quantifying biodiversity: Procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters*, 4(4), 379–391

- Güerri-Agulló B, Gómez-Vidal S, Asensio L, Barranco P, López-Llorca LV. 2010. Infection of the red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: A SEM study. *Microscopy Research and Technique* 73(8):714–725. DOI: 10.1002/jemt.20812.
- Güner P, Aşkun T, Er A. 2023. Entomopathogenic fungi and their potential role in the sustainable biological control of storage pests. *Commagene Journal of Biology* 7(1):90–97. DOI: [10.31594/commagene.1284354](https://doi.org/10.31594/commagene.1284354).
- Hajek AE, Delalibera I. 2010. Fungal pathogens as classical biological control agents against arthropods. *BioControl* 55(1):147–158.
- Hajek AE, Humber RA. 1997. Formation and germination of *Entomophaga maimaiga* azygospores. *Canadian Journal of Botany* 75(11):1739–1747.
- Hawksworth DL, Rossman AY. 1997. Where Are All the Undescribed Fungi?. *Phytopathology*, 87(9), 888–891.
- Humber RA. 2009. Entomogenous fungi. *Encyclopedia of Microbiology*. 3: 443–456.
- Humber RA. 2012. Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. p.151–187.
- Hsieh TC, Ma KH, Chao A. 2016. iNEXT: An R package for interpolation and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods in Ecology and Evolution* 7:1451–1456. DOI: 10.1111/2041-210X.12613.
- Jackson TA, Alves SB, Pereira RM. 2000. Success in biological control of soil-dwelling insects by pathogens and nematodes. In: Gurr G, Wratten S, eds. *Biological Control: Measures of Success*. Dordrecht, Netherlands. Springer. p. 271–296. DOI: 10.1007/978-94-011-4014-0_9.
- Khan S, Guo L, Maimaiti Y, Mijit M, Qiu D. 2012. Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agents. *Molecular Plant Breeding* 3(7):63–79. DOI: 10.5376/mpb.2012.03.0007.

- Kepler RM, Luangsa-Ard JJ, Hywel-Jones NL, Quandt CA, Sung GH, Rehner SA, Aime MC, Henkel TW, Samjuan T, Zare R, Chen MJ, Li ZZ, Rossman AY, Spatafora JW, Shrestha B. 2017. A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*). *IMA Fungus* 8:335–353. DOI: [10.5598/imafungus.2017.08.02.08](https://doi.org/10.5598/imafungus.2017.08.02.08).
- Keller S, Petrini O. 2005. Keys to the identification of the arthropod pathogenic genera of the families Entomophthoraceae and Neozygitaceae (Zygomycetes), with descriptions of three new subfamilies and a new genus. *Sydowia* 57(1):23-53.
- Korosi GA, Wilson BAL, Powell KS, Ash GJ, Reineke A, Savocchia S. 2019. Occurrence and diversity of entomopathogenic fungi (*Beauveria* spp. and *Metarhizium* spp.) in Australian vineyard soils. *Journal of Invertebrate Pathology* 164:69–77.
- Lacey LA, Grzywacz D, Shapiro-Ilan DI, Frutos R, Brownbridge M, Goettel MS. 2015. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology* 132:1-41.
- Lacey LA, Kaya HK. 2007. *Field manual of techniques in invertebrate pathology*. Springer Science & Business Media.
- Lacey LA, Frutos R, Kaya HK, Vail P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? *Biological Control* 21(3):230–248.
- Leger RJ, Butt TM, Goettel MS, Staples RC, Roberts DW. 1989. Production *in vitro* of appressoria by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Experimental Mycology* 13:274-288.
- Leslie JF, Summerell BA. 2008. *The Fusarium Laboratory Manual*. Ames, Iowa, USA. Blackwell Publishing. 388 p.
- Liu F, Deng Y, Wang FH, Jeewon R, Zeng Q, Xu XL, Liu YG, Yang CL. 2023. Morphological and molecular analyses reveal two new species of *Microcera* (*Nectriaceae*, *Hypocreales*) associated with scale insects on walnut in China. *MycoKeys* 98:19–35. DOI: [10.3897/mycokeys.98.103484](https://doi.org/10.3897/mycokeys.98.103484).

- Lizana CA, Gutiérrez AG. 2019. Sitios prioritarios para la recuperación de bosque nativo intervenido en la Región de Los Ríos, Chile. *Investigaciones Geográficas* 57:4-17. DOI: [10.5354/0719-5370.2019.51052](https://doi.org/10.5354/0719-5370.2019.51052).
- Luebert F, Weigend M. 2014. Phylogenetic biogeography of the South American Atacama and Peruvian deserts. *Frontiers in Plant Science* 5:351.
- López-Lastra CC, AE Hajek, RA Humber. 2002. Comparing methods of preservation for cultures of entomopathogenic fungi. *Canadian Journal of Botany* 80(10):1126-1130.
- Mahankuda B, Bhatt B. 2019. Potentialities entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* as a biocontrol agent: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 7(5):870-874.
- Matamala S, J Ruiz. 2002. Diagnóstico y propuesta de desarrollo ecoturístico para la creación del parque provincial Llancahue, provincia de Valdivia. Chile. Tesis. Escuela de turismo, facultad de ciencias económicas y administrativas. Universidad austral de Chile.
- MingJun C, Wang T, Lin Y, Huang B. 2022. Morphological and molecular analyses reveal two new species of *Gibellula* (Cordycipitaceae, Hypocreales) from China. *MycoKeys* 90:53–69. DOI: 10.3897/mycokeys.90.83801
- Mongkolsamrit S, Noisripoom W, Tasanathai K, Kobmoo N, Thanakitpipattana D, Khonsanit A, Petcharad B, Sakolrak B, Himaman W. 2022. Comprehensive treatise of *Hevansia* and three new genera on spiders in *Cordycipitaceae* from Thailand. *MycoKeys* 91:113–149. DOI: 10.3897/mycokeys.91.83091
- Montalva C, Valenzuela E, Barta M, Rojas E, Arismendi N, Rodrigues J, Humber RA. 2017. *Lecanicillium attenuatum* isolates affecting the invasive cypress aphid (*Cinara cupressi*) in Chile. *BioControl* 62:625-637. DOI: 10.1007/s10526-017-9817-9.
- Montalva C, Gutiérrez M, Rojas E, Lanfranco D, Valenzuela E. 2010. Prospección de hongos entomopatógenos del pulgón del ciprés en dos regiones ecológicas de Chile. *Boletín Micológico* 25:1-7
- Muñoz O, Tapia-Merino J, Nevermann W, San-Martín A. 2020. Phytochemistry and biological properties of *Drimys winteri* var. *chilensis*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 20(5):443-462. DOI: 10.37360/blacpma.21.20.5.33

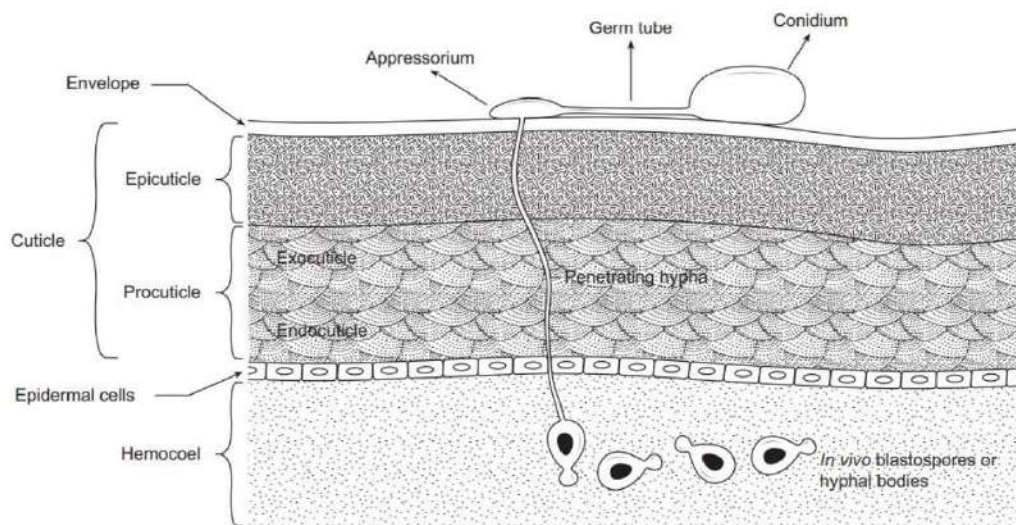
- Mazet I, Boucias DG. 1996. Effects of the fungal pathogen, *Beauveria bassiana*, on protein biosynthesis of infected *Spodoptera exigua* larvae. *Journal of Insect Physiology* 42(2):91-99.
- Mishra S, Kumar P, Malik A. 2013. Effect of process parameters on the enzyme activity of a novel *Beauveria bassiana* isolate. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2(9):49-56.
- Muñoz O, Gutierrez M, Gonzalez R, Hammann S, Vetter W. 2015. Antifungal and insecticidal properties of the phytoconstituents of *Drimys winteri* (Winteraceae) growing in Chiloe Island (Chile). *Natural Products Chemistry & Research* 3(4). DOI: 10.4172/2329-6836.1000182.
- Pöggeler S. 2002. Genomic evidence for mating abilities in the asexual pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Current Genetics* 42(3):153-160. DOI: 10.1007/s00294-002-0338-3.
- Rebolledo R, Abarzúa J, Zavala A, Quiroz A, Alvear M, Aguilera A. 2012. The effects of the essential oil and hydrolate of canelo (*Drimys winteri*) on adults of *Aegorhinus superciliosus* in the laboratory. *Ciencia e Investigación Agraria* 39(3):481-488.
- Rizal LM, Furlong MJ, Walter GH. 2022. Responses of diamondback moth to diverse entomopathogenic fungi collected from non-agricultural habitats - Effects of dose, temperature and starvation. *Fungal Biology* 126:648-657. DOI: [10.1016/j.funbio.2022.08.005](https://doi.org/10.1016/j.funbio.2022.08.005).
- Roy HE, Brodie EL, Chandler D, Goettel MS, Pell JK, Wajnberg E, Vega FE. 2009. Deep space and hidden depths: Understanding the evolution and ecology of fungal entomopathogens. *BioControl* 55:1-6. DOI: 10.1007/s10526-009-9244-7.
- Santos ACS, Diniz AG, Tiago PV, Oliveira NT. 2020. Entomopathogenic *Fusarium* species: A review of their potential for the biological control of insects, implications and prospects. *Fungal Biology Reviews* 34:41-57.
- Santosh AV. 2021. Insights into fungal mechanisms: Pathogenesis and pest control applications. *Journal of Mycology Research* 15(3):215-230.

- San Martín C, Ramírez C, Figueroa H, Ojeda N. 1991. Estudio sinecológico del bosque de roble-laurel-lingue del centro-sur de Chile. *Bosque* 12(2):11-27.
- Singha D, Raina TK, Singh J. 2017. Entomopathogenic fungi as biocontrol agents in sustainable agriculture. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 9(6):830-839.
- Schoch CL, Ciufo S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R, Leipe D, McVeigh R, O'Neill K, Robbertse B, Sharma S, Soussov V, Sullivan JP, Sun L, Turner S, Karsch-Mizrachi I. 2020. NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database* 2020:baaa062. DOI: [10.1093/database/baaa062](https://doi.org/10.1093/database/baaa062).
- Tuli HS, Sandhu SS, Sharma AK. 2014. Pharmacological and therapeutic potential of *Cordyceps* with special reference to Cordycepin. *3 Biotech* 4:1–12. DOI: 10.1007/s13205-013-0121-9.
- Thakur R, Sandhu SS. 2010. Distribution, occurrence and natural invertebrate hosts of indigenous entomopathogenic fungi of Central India. *Indian Journal of Microbiology* 50(1):89–96.
- UACH (Universidad Austral de Chile). 2016. *Informe de gestión Reserva Llancahue*. Chile. 10 p.
- Villagrán C, Armesto JJ. 2005. Fitogeografía histórica de la Cordillera de la Costa de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 78:323-336.
- Vivekanandhan P, Alford L, Krutmuang P. 2024. Role of entomopathogenic fungi in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology* 15:1504175. DOI: [10.3389/fmicb.2024.1504175](https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1504175)
- Wakil W, Ghazanfar MU, Riasat T, Kwon YJ, Qayyum MA, Yasin M. 2013. Occurrence and diversity of entomopathogenic fungi in cultivated and uncultivated soils in Pakistan. *Entomological Research* 43(1):70–78.
- Wang JL, Sun J, Song YJ, Zheng HH, Wang GJ, Luo WX, Li L, Liu XS. 2024. Morphological and phylogenetic analyses reveal three new species of entomopathogenic fungi. *Journal of Fungi* 10(423):1-22. DOI: 10.3390/jof10060423
- Wang L, Walter GH, Furlong MJ. 2020. Temperature, deltamethrin-resistance status and performance measures of *Plutella xylostella*: complex responses of insects to environmental variables. *Ecological Entomology* 45:345–354.

- Xia J, Zhang CR, Zhang S, Li FF, Feng MG, Wang XW. 2013. Analysis of whitefly transcriptional responses to *Beauveria bassiana* infection reveals new insights into insect-fungus interactions. *PLoS ONE* 8(7):e68185. DOI: 10.1371/journal.pone.0068185.
- Yaginuma K. 2007. Seasonal occurrence of entomopathogenic fungi in an apple orchard not sprayed with insecticides. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 51:213–220.
- Zhou J, Yu HY, Zhang W, Ahmad F, Hu SN, Zhao LL, Zou Z, Sun JH. 2018. Comparative analysis of the *Monochamus alternatus* immune system. *Insect Science* 25:581–603. DOI: [10.1111/1744-7917.12453](https://doi.org/10.1111/1744-7917.12453).

ANEXOS

Anexo 1. Proceso de infección por hongos entomopatógenos (Vega y Kaya 2012).



Anexo 2. Mediciones de las microestructuras taxonómicamente importantes para la identificación de las muestras.

Tabla 1. Mediciones de conidias para la identificación de los géneros taxonómico.

Especie	Largo conidia (µm)	Ancho conidia (µm)	Referencia
<i>Akanthomyces</i> sp 1	8,1 ± 0,1 (6,6 – 9,7)	1,9 ± 0,03 (1,5 – 2,2)	Kepler, 2018.
<i>Akanthomyces</i> sp 2	8,1 ± 0,2 (6,5 – 10,1)	2,6 ± 0,07 (1,9 – 3,2)	Kepler, 2018.
<i>Aschersonia</i> sp	6,1 ± 1,6 (5,0 – 7,5)	2,4 ± 0,1 (1,9 – 2,7)	Chaverri, 2008.
<i>Entomophthora</i> sp	19,8 ± 0,2 (17,9 – 22,1)	15,5 ± 0,3 (13,3 – 18,1)	Keller, 2005
<i>Beauveria</i> sp 1	1,8 ± 0,02 (1,4 - 2,1)	1,4 ± 0,02 (1,0-1,9)	Humber, 1997.
<i>Beauveria</i> sp 2	2,0 ± 0,02 (1,7 - 2,3)	1,6 ± 0,02 (1,2-1,9)	Humber, 1997.
<i>Fusarium</i> sp	38 ± 0,5 (30,2 - 44,3)	4,0 ± 0,07 (3,0 – 4,8)	Leslie, 2008
<i>Gibellula</i> sp 1	6,7 ± 0,1 (4,8 - 8,1)	2,2 ± 0,04 (1,8- 2,8)	MingJun, 2022.
<i>Gibellula</i> sp 2	6,3 ± 0,07 (5,1 - 7,4)	1,6 ± 0,03 (1,3-2,1)	MingJun, 2022.
<i>Gibellula</i> sp 3	6,4 ± 0,1 (4,9 – 7,8)	2,2 ± 0,04 (1,8 – 3,0)	MingJun, 2022.
<i>Hevansia</i> sp 1	8,3 ± 0,2 (6,9 – 14,3)	2,0 ± 0,04 (1,4 – 3,1)	Mongkolsamrit, 2022.
<i>Hevansia</i> sp 2	8,5 ± 0,2 (6,2 – 10,1)	1,8 ± 0,05 (1,2 – 2,5)	Mongkolsamrit, 2022.
<i>Hevansia</i> sp 3	7,7 ± 0,1 (6,4 – 8,7)	2,2 ± 0,04 (1,5 – 2,6)	Mongkolsamrit 2022.
<i>Ophiocordyceps</i> sp 1	6,2 ± 0,1 (4,9 – 7,5)	1,0 ± 0,04 (0,6 – 1,6)	Freire, 2015
<i>Ophiocordyceps</i> sp 2	6,9 ± 0,1 (1,8 – 8,7)	1,7 ± 0,04 (1,2 – 2,3)	Freire, 2015
<i>Ophiocordyceps</i> sp 3	6,0 ± 0,1 (4,4 – 8,6)	1,6 ± 0,03 (1,2 – 2,2)	Freire, 2015
<i>Ophiocordyceps</i> sp 4	8,2 ± 0,1 (7,1 – 9,6)	2,2 ± 0,1 (1,4 – 3,0)	Freire, 2015
<i>Ophiocordyceps</i> sp 5	8,3 ± 0,1 (6,3 – 9,9)	2,4 ± 0,05 (1,8 – 3,1)	Freire, 2015
<i>Isaria</i> sp	1,8 ± 0,02 (1,5 - 2,0)	1,2 ± 0,02 (1,0-1,5)	Humber, 1997
<i>Microcera</i> sp	80,4 ± 1,1 (64,5 - 92,9)	5,3 ± 0,07 (4,3 - 6,1)	Liu, 2023

Los valores se expresan como Media ± error estándar (rango).

Tabla 2. Descripción de las microestructuras taxonómicamente importantes para la identificación del género *Hirsutella* sp1, *Hirsutella* sp2, *Hirsutella* sp3.

Estructura	<i>Hirsutella</i> sp 1	<i>Hirsutella</i> sp 2	<i>Hirsutella</i> sp 3
Célula conidiogénica			
Largo (µm)	27,4 ± 0,3 (23,7-30,8)	23,4 ± 0,31 (18,9 – 26,7)	29,8 ± 0,56 (24,7-36,6)
Ancho (µm)	1,3 ± 0,04 (1,0-2,1)	1,2 ± 0,03 (1,0 – 1,6)	1,4 ± 0,03 (1,0 – 1,6)
Ancho base (µm)	4,1 ± 0,08 (2,9 – 5,5)	4,1 ± 0,07 (3,2 – 4,7)	3,3 ± 0,04 (3,0 – 4,0)
Conidia			
Largo (µm)	6,8 ± 0,2 (4,6 – 8,8)	6,6 ± 0,1 (5,3 – 7,5)	6,8 ± 0,1 (6,0 – 7,8)
Ancho (µm)	3,9 ± 0,08 (2,9 – 4,7)	4,0 ± 0,07 (3,3 – 4,7)	4,0 ± 0,09 (3,0 – 5,1)

Los valores se expresan como Media ± error estándar (rango).

Tabla 3. Descripción de las microestructuras taxonómicamente importantes para la identificación del género *Hirsutella* sp4, *Hirsutella* sp5, *Hirsutella* sp6.

Estructura	<i>Hirsutella</i> sp 4	<i>Hirsutella</i> Sp 5	<i>Hirsutella</i> sp 6
Célula conidiogénica			
Largo (µm)	30 ± 0,5 (27,4 – 36,9)	25,9 ± 0,39 (22,5 – 30,2)	28,1 ± 0,7 (15,7 – 33,9)
Ancho (µm)	1,5 ± 0,05 (1,1 – 2,3)	1,2 ± 0,03 (0,8 – 1,6)	1,3 ± 0,05 (0,9 – 2,2)
Ancho base (µm)	5,3 ± 0,1 (2,2 – 6,2)	3,8 ± 0,11 (2,3 – 5,2)	4,6 ± 0,1 (3,1 – 6,2)
Conidia			
Largo (µm)	7,3 ± 0,09 (6,2 – 8,4)	6,2 ± 0,11 (5,5 – 7,8)	7,3 ± 0,1 (5,8 – 8,5)
Ancho (µm)	4,0 ± 0,07 (3,5 – 5,0)	4,0 ± 0,07 (3,3 – 5,1)	4,4 ± 0,1 (3,5 – 5,6)

Los valores se expresan como Media ± error estándar (rango).

Tabla 4. Descripción de las microestructuras taxonómicamente importantes para la identificación del género *Hirsutella* sp7, *Hirsutella* sp8, *Hirsutella* sp9.

Estructura	<i>Hirsutella</i> sp 7	<i>Hirsutella</i> sp 8	<i>Hirsutella</i> sp 9
Célula conidiogénica			
Largo (µm)	30,3 ± 0,5 (24,3 – 37,2)	28,2 ± 0,5 (22,2 – 32,6)	29,5 ± 0,7 (22,7 – 38,2)
Ancho (µm)	1,4 ± 0,06 (0,8 – 2,1)	1,0 ± 0,04 (0,7 – 1,6)	1,2 ± 0,04 (0,7 – 1,8)
Ancho base (µm)	4,8 ± 0,1 (3,6 – 6,1)	3,6 ± 0,1 (2,3 – 5,1)	4,0 ± 0,08 (3,1 – 4,9)
Conidia			
Largo (µm)	7,3 ± 0,09 (6,2 – 8,4)	6,9 ± 0,09 (5,9 – 8,2)	6,7 ± 0,1 (5,1 – 8,1)
Ancho (µm)	4,0 ± 0,07 (3,5 – 5,0)	4,5 ± 0,09 (3,8 – 5,8)	4,5 ± 0,1 (3,5 – 5,9)

Los valores se expresan como Media ± error estándar (rango).

Tabla 5. Descripción de las microestructuras taxonómicamente importantes para la identificación del género *Hirsutella* sp4, *Hirsutella* sp5, *Hirsutella* sp6.

Estructura	<i>Hirsutella</i> sp 10	<i>Hirsutella</i> sp 11	<i>Hirsutella</i> sp 12
Célula conidiogénica			
Largo (µm)	25,7 ± 0,6 (18,0 – 30,5)	28,2 ± 0,8 (20,2 – 35,9)	28,9 ± 0,6 (22,1 – 34,6)
Ancho (µm)	1,2 ± 0,04 (0,7 – 1,6)	1,4 ± 0,06 (0,8 – 2,2)	1,3 ± 0,04 (0,9 – 1,8)
Ancho base (µm)	3,6 ± 0,1 (2,6 – 5,0)	4,2 ± 0,2 (2,5 – 6,1)	3,8 ± 0,09 (3,0 – 4,6)
Conidia			
Largo (µm)	6,7 ± 0,09 (5,8 – 7,5)	6,9 ± 0,2 (4,4 – 8,4)	6,7 ± 0,1 (5,0 – 8,0)
Ancho (µm)	3,9 ± 0,05 (3,2 – 4,4)	4,3 ± 0,1 (3,3 – 4,9)	4,3 ± 0,07 (3,3 – 5,1)

Tabla 6. Descripción de las microestructuras taxonómicamente importantes para la identificación del género *Conoideocrella*.

Estructura	Largo	Ancho	Referencia
Ascos	228, 3 ± 9,1 (164 – 378)	4,6 ± 0,2 (3,3 – 6,1)	Wang, 2024
Ascospora	7,0 ± 0,1 (5,2 – 9,5)	0,91 ± 0,02 (0,7 – 1,1)	Wang, 2024

Anexo 3. Presencia de las morfoespecies de hongos entomopatógenos encontrados en las estaciones estivales.

Morfoespecie	Hospedero	Lugar	Primavera	Verano	Otoño
<i>Aschersonia</i> 1	<i>Coccoidea</i> sp	Hoja Canelo	1	1	1
<i>Aschersonia</i> 2	<i>Coccoidea</i> sp	Hoja Canelo	1	0	0
<i>Aschersonia</i> 3	<i>Coccoidea</i> sp	Hoja Canelo	1	1	0
<i>Aschersonia</i> 4	<i>Coccoidea</i> sp	Hoja Laurel	1	0	0
<i>Akanthomyces</i> 1	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	1	0	0
<i>Akanthomyces</i> 2	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	0	1	0
<i>Beauveria</i> 1	<i>Blattodea</i> sp	Suelo	0	0	1
<i>Beauveria</i> 2	<i>Hemiptera</i> sp	Suelo	0	0	1
<i>Conoideocrella</i>	<i>S/I</i>	Hoja Patagua	1	1	1
<i>Entomophthora</i>	<i>Diptera</i> sp	Hoja Laurel	1	0	0
<i>Fusarium</i>	<i>Diptera</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
<i>Gibellula</i> 1	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	0	1	0
<i>Gibellula</i> 2	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
<i>Gibellula</i> 3	<i>Araneae</i> sp	Hoja Tapa	0	0	1
<i>Hevansia</i> 1	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
<i>Hevansia</i> 2	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
<i>Hevansia</i> 3	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
<i>Hirsutella</i> 1	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Laurel	1	0	0
<i>Hirsutella</i> 2	<i>Hymenoptera</i> sp	Hoja Laurel	1	0	0
<i>Hirsutella</i> 3	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Laurel	1	0	0
<i>Hirsutella</i> 4	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Tapa	1	0	0
<i>Hirsutella</i> 5	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Laurel	0	1	0
<i>Hirsutella</i> 6	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Tapa	0	1	0
<i>Hirsutella</i> 7	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Laurel	0	1	0
<i>Hirsutella</i> 8	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
<i>Hirsutella</i> 9	<i>Hymenoptera</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
<i>Hirsutella</i> 10	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1

<i>Hirsutella</i> 11	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Tapa	0	0	1
<i>Hirsutella</i> 12	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Tapa	0	0	1
<i>Isaria</i>	S/I	Suelo	0	0	1
<i>Microcera</i>	<i>Coccoidea</i> sp	Hoja Canelo	1	0	0
<i>Ophiocordyceps</i> 1	<i>Araneae</i> sp	Hoja Tapa	1	0	0
<i>Ophiocordyceps</i> 2	<i>Araneae</i> sp	Hoja Tapa	0	1	0
<i>Ophiocordyceps</i> 3	<i>Araneae</i> sp	Hoja Patagua	0	0	1
<i>Ophiocordyceps</i> 4	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	0	1	0
<i>Ophiocordyceps</i> 5	<i>Cicadidae</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
<i>Torrubiella</i>	<i>Araneae</i> sp	Hoja Laurel	0	0	1
S/I	<i>Coccoidea</i> sp	Hoja Luma	1	0	0
S/I	<i>Coccoidea</i> sp	Hoja Patagua	1	0	0
S/I	<i>Coccoidea</i> sp	Hoja	0	0	1
S/I	<i>Araneae</i> sp	Suelo	1	0	0

Anexo 4. Cepas mantenidas y preservadas en el cepario del Laboratorio de salud de bosques.

Código LSB	Género	Hospedero	Aislamiento	Tubo inclinado
LSB 264	<i>Microcera</i> sp.	<i>Coccoidea</i>	10/10/2023	10/05/204
LSB 265	<i>Conoideocrella</i> sp.	S/I	10/10/2023	20/06/2024
LSB 266	<i>Microcera</i> sp.	<i>Coccoidea</i>	10/10/2023	07/06/2024
LSB 267	<i>Hirsutella</i> sp.	<i>Cicadidae</i>	13/11/2023	20/06/2024
LSB 268	<i>Aschersonia</i> sp.	<i>Coccoidea</i>	13/11/2023	14/06/2024
LSB 269	<i>Aschersonia</i> sp.	<i>Coccoidea</i>	13/11/2023	14/06/2024
LSB 270	<i>Ophiocordyceps</i> sp.	<i>Cicadidae</i>	13/11/2023	10/05/2024
LSB 271	<i>Hirsutella</i> sp.	<i>Cicadidae</i>	27/11/2023	04/05/2024
LSB 272	<i>Conoideocrella</i> sp.	<i>Araneae</i>	27/11/2023	17/07/2024
LSB 273	<i>Gibellula</i> sp.	<i>Araneae</i>	23/03/2024	05/07/2024
LSB 274	<i>Gibellula</i> sp.	<i>Araneae</i>	17/04/2024	17/07/2024

Anexo 5. Cálculo de Cobertura de la Muestra y Frecuencias de Abundancia de Especies por Estación

	Assemblage	n	S.obs	SC	f1	f2	f3	f4	f5	f6	f7	f8	f9	f10
1	Otoño	25	13	0.6433	9	1	1	1	0	0	1	0	0	0
2	Primavera	72	17	0.8893	8	1	0	3	0	1	1	1	0	0
3	Verano	30	14	0.7023	9	1	1	0	2	1	0	0	0	0

Anexo 6. Pruebas de PERMANOVA para el análisis NMDS de estaciones estivales y especies arbóreas.

Análisis PERMANOVA para NMDS estaciones estivales					
	DF	SumOfSqs	R2	F	Pr (>F)
Modelo	2	1.9313	0.0452166	2.2731	0.006
Residual	96	40.7826	0.9547834	NA	NA
Total	98	42.7139	1.0000000	NA	NA

Análisis PERMANOVA para NMDS especies arbóreas					
	DF	SumOfSqs	R2	F	Pr (>F)
Modelo	7	15.57110	0.3645434	7.4522	0.001
Residual	91	27.14289	0.6354566	NA	NA
Total	98	42.71399	1.0000000	NA	NA

Anexo 7. Tabla de información de los géneros reportados en este estudio.

Género	Insectos Hospedadores	Distribución Geográfica
<i>Aschersonia</i>	Cochinillas, Aphididae y Aleyrodidae	Principalmente en regiones tropicales de Asia y América, se registran adaptaciones de especies en climas templados. Reportada en América del Sur, América del Norte, Asia, África y Oceanía.
<i>Akanthomyces</i>	Diversos insectos, incluyendo arañas y otros artrópodos.	Distribución Cosmopolita, con presencia notable en regiones tropicales.
<i>Conoideocrella</i>	Hemipteras, especialmente familias de Cicadellidae, Fulgoridae, Coccoidea, Pseudococcidae.	Distribución en regiones templadas y tropicales Reportadas en Tailandia, Yunnan, China y Estados Unidos.
<i>Entomophthora</i>	Moscas domésticas (<i>Musca domestica</i>), moscas de la fruta, dípteros en general y otros insectos como áfidos en algunas especies.	Distribución cosmopolita, reportados principalmente en climas templados y húmedos
<i>Torrubiella</i>	Arañas, especialmente de la familia <i>Salticidae</i> .	Principalmente en selvas tropicales y bosques húmedos en regiones tropicales de Asia y América.
<i>Hevansia</i>	Arañas y cochinillas.	Distribución en regiones tropicales y subtropicales, reportadas en China, Papua Nueva Guinea, Sri Lanka, Taiwán, Tailandia y Japón
<i>Hirsutella</i>	Hemipteras principalmente áfidos cochinillas, coleópteros y lepidópteros.	Distribución Cosmopolita, principalmente en ambientes tropicales y subtropicales,

		incluyendo suelos y bosques, donde se encuentra alta humedad.
<i>Ophiocordyceps</i>	Principalmente hormigas, pero también otros insectos.	Amplia distribución, especialmente en regiones tropicales y subtropicales.
<i>Fusarium</i>	Amplio rango de hospedadores, incluyendo plantas e insectos.	Distribución cosmopolita en diversos hábitats.
<i>Beauveria</i>	Rango amplio de hospederos, Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Diptera, Orthoptera, Hymenoptera.	Distribución cosmopolita, común en suelos y hábitats ricos en insectos.
<i>Microcera</i>	Insectos, especialmente hemípteros.	Principalmente en regiones tropicales y subtropicales, reportadas en Nueva Zelanda, Australia y China.