

## ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE HONGOS Y BACTERIAS ENTOMOPATÓGENAS SOBRE *Diatraea saccharalis* Fabricius (LEPIDOPTERA: CRAMBIDE)

Marco Antonio Zúñiga-Oviedo<sup>1</sup> Alberto Soto-Giraldo<sup>2</sup> y Gabriel Cruz-Cerón<sup>3</sup>

### Resumen

*Diatraea saccharalis* es considerada la plaga más limitante del cultivo de caña de azúcar en América, causando grandes pérdidas en la producción. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de hongos entomopatógenos comerciales y nativos y de la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* como potenciales controladores biológicos de este insecto plaga. Se evaluó la patogenicidad y virulencia de 6 hongos entomopatógenos comerciales, 1 hongo nativo (Bb-HN1) y la bacteria *Bacillus thuringiensis* sobre larvas de primer instar de *Diatraea*; bajo condiciones de laboratorio y semicampo. Los productos Safer mix<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup>, Insecbiol<sup>®</sup> y el aislamiento nativo Bb-HN1 presentaron mortalidad del 100, 100, 62 y 70%, respectivamente. Los tratamientos más virulentos de acuerdo a su tiempo letal y concentración letal media fueron Dipel<sup>®</sup> (1,3 días y 1,6<sup>4</sup> ui/ml), Safer mix<sup>®</sup> (12,5 días y 5,3<sup>5</sup> ui/ml) y Bb-HN1 (22,3 días y 1,6<sup>6</sup> ui/ml) respectivamente. También se evidenció un posible sinergismo entre el hongo *B. bassiana* y la bacteria *B. thuringiensis*, y una disminución del daño causado por las larvas a las semillas de caña panelera tratadas con los productos Dipel<sup>®</sup> y Bb-HN1 en condiciones de semicampo. El producto *B. thuringiensis* (Dipel<sup>®</sup>) en mezcla con el hongo Bb-HN1 se presentan como alternativa para el manejo integrado de la plaga.

**Palabras clave:** control biológico, manejo integrado de plagas, caña panelera, *Bacillus thuringiensis*.

## BIOLOGICAL ACTIVITY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AND BACTERIA ON *Diatraea saccharalis* Fabricius (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

### Abstract

*Diatraea saccharalis* is considered the most limiting pest of sugarcane crops in America generating great losses in production. The main aim of this study was to evaluate the effect of

\* FR: 23-IX-16. FA: 18-X-16.

<sup>1</sup> Ingeniero Agrónomo. Universidad de Caldas, Colombia. E-mail: [meissen.3@hotmail.com](mailto:meissen.3@hotmail.com); ORCID: 0000-0002-9288-8515

<sup>2</sup> I.A., M.Sc., Ph.D. Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas, Colombia. E-mail: [alberto.soto@ucaldas.edu.co](mailto:alberto.soto@ucaldas.edu.co); ORCID: 0000-0002-9727-8919

<sup>3</sup> I.A., Ph.D. Departamento de Desarrollo Rural y Recursos Naturales, Universidad de Caldas, Colombia. E-mail: [gabocruz@ucaldas.edu.co](mailto:gabocruz@ucaldas.edu.co) ORCID: 0000-0003-1550-6517

### CÓMO CITAR:

ZUÑIGA-OVIEDO, M.A., SOTO-GIRALDO, A. & CRUZ-CERÓN, G., 2016.- Actividad biológica de hongos y bacterias entomopatógenas sobre *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambide). *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas*, 20 (2): 82-92. DOI : 10.17151/bccm.2016.20.2.6



commercial and native entomopathogenic fungi and the bacterium *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* as potential biological controls of this insect pest. The pathogenicity and virulence of six commercial entomopathogenic fungi, one native fungus (Bb-HN1) and the bacterium *Bacillus thuringiensis* on first instar larvae of *Diatraea* under laboratory and field conditions was evaluated. The commercial products mix<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> and nsecbiol<sup>®</sup> as well as the native isolate Bb-HN1 showed mortality rates of 100, 100, 62 and 70%, respectively. The most virulent treatments according to their lethal and median lethal concentration were Dipel<sup>®</sup> (1.3 days and 1.6<sup>4</sup> IU/ml), Safer mix<sup>®</sup> (12.5 days and 5.3<sup>5</sup> IU/ml) and Bb-HN1 (22.3 days and 1.6<sup>6</sup> IU/ml) respectively. A possible synergism between the fungus *B. bassiana* and the bacterium *B. thuringiensis*, and a damage reduction caused by the larvae to sugarcane seeds treated with the products and a damage reduction caused by the larvae to sugarcane seeds treated with the products Dipel<sup>®</sup> and Bb-HN1 under semi-field conditions was also found. The product *B. thuringiensis* (Dipel<sup>®</sup>) mixed with the fungus Bb-HN1 is presented as an alternative for the integrated management of the pest.

**Key words:** biological control, integrated pest management, sugarcane, *Bacillus thuringiensis*.

## INTRODUCCIÓN

*Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) es una de las principales plagas que ataca la caña, causando grandes perjuicios a la producción final y su control implica directamente el aumento de la productividad (GALLO *et al.*, 2002; POLANCZYK *et al.*, 2004; VARGAS *et al.*, 2013). Las larvas de *D. saccharalis* ocasionan disminución en la germinación de la semilla, corazones muertos en las plantas jóvenes, cogollos muertos en las plantas más viejas, tallos quebrados y crecimiento reducido de los tallos atacados que sobreviven al ataque (MENDONÇA, 1996; BOTELHO & MACEDO, 2002; GALLO *et al.*, 2002; PARRA *et al.*, 2002; PINTO *et al.*, 2006).

Las pérdidas ocasionadas por *D. saccharalis* y la importancia que presenta el cultivo de caña panelera en nuestro país, conllevan a buscar alternativas para su manejo que sean ecológica y económicamente viables (MOJICA & PAREDES, 2004).

La necesidad de adoptar nuevas tecnologías para el control de plagas ha orientado las investigaciones hacia el uso de bioinsecticidas que, actuando de manera similar a los plaguicidas convencionales, no ocasionan problemas como la resurgencia de plagas, la inducción de nuevas plagas y la contaminación del medio ambiente, entre otras (CABRERA & PINEDO, 1994; ESTRADA *et al.*, 2004; BADII *et al.*, 2006; CRANSHAW, 2014).

Varios métodos de control son utilizados para minimizar las pérdidas ocasionadas por acción de la plaga, como el control cultural, por medio de la rotación de cultivos

y de la siembra de variedades resistentes; además de estos, el control biológico con los parasitoides *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), *Billaea claripalpis* y *Lydella minense* (Diptera: Tachinidae), con la bacteria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), o con hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (ALVES *et al.*, 1985; LECUONA *et al.*, 1996; WENZEL *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2008a, b; ZAPPELINI *et al.*, 2010; GUO *et al.*, 2012; SVEDESE *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2013). Diversos estudios de compatibilidad con productos fitosanitarios son realizados, en condiciones de laboratorio, para evaluar su selectividad a microorganismos y potencializar su acción en el manejo integrado de plagas (YASEM *et al.*, 2008; ISLAM *et al.*, 2010; BLANFORD *et al.*, 2011; SABBOUR & ABDEL-RAHMAN, 2013; ZAHNAN *et al.*, 2013).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de hongos entomopatógenos comerciales y nativos y de la bacteria *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* para el control de *D. saccharalis*, con el fin de incrementar la productividad del cultivo, además de asegurar el crecimiento sustentable del país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Entomología y en el Centro de Investigación y Cría de Enemigos Naturales de la Universidad de Caldas, ubicado en el municipio de Manizales (Coordenadas: 5° 05' N y 75° 40' W). Se evaluaron los siguientes productos comerciales sobre larvas de primer instar de *D. saccharalis*: Metaril® (*M. anisopliae*), Insecbiol® (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus*, *P. lilacinus*, *B. thuringiensis*, Baculovirus), Bauberiasil® (*B. bassiana*), Micosplag® (*P. lilacinus*, *M. anisopliae*, *B. bassiana*), Safer mix® (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *L. lecanii*, *B. thuringiensis*), Micosis® (*B. bassiana*), Dipel® (*B. thuringiensis var. kurstaki*) y Bb-HN1 (Cepa nativa de *B. bassiana* aislada de larvas de *Diatraea*, suministrada por el Centro Bekdau de la Universidad de Caldas).

### Evaluación de la patogenicidad

Se determinó la patogenicidad que ejercen dichos productos microbiológicos sobre larvas de *Diatraea*, para lo cual se infestaron 5 larvas de primer instar de *Diatraea* por caja Petri previamente esterilizada, por tratamiento, y se aplicaron los productos a una concentración de  $2 \times 10^6$  unidades infectivas/ml (ui/ml) de agua, para lo cual se utilizó un hemocitómetro marca Boeco para el conteo de las esporas. La cepa del hongo nativo (*Beauveria bassiana* Bb-HN1) se aplicó a la misma concentración de los productos comerciales ( $2 \times 10^6$  ui/ml de agua). La inoculación de las larvas se realizó mediante la inmersión de las mismas en la suspensión correspondiente al tratamiento evaluado durante un minuto, salvo el tratamiento testigo cuyos insectos

se sumergieron en agua destilada estéril. Las larvas se ubicaron en una incubadora marca Scientific a temperatura de  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa de  $70\pm 10\%$ . Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SAS 9.1 y se realizaron pruebas de Tukey al 5%.

### **Evaluación de la virulencia**

A los tratamientos que presentaron mayor patogenicidad en la fase anterior, se les evaluó la virulencia ocasionada a las larvas de *Diatraea*, para lo cual se infestaron 10 larvas de primer instar de *Diatraea* por caja Petri, por tratamiento, y se aplicaron los productos a concentraciones de  $5 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$  y  $4 \times 10^6$  ui/ml de agua, para lo cual se usó un hemocitómetro marca Boeco para el conteo de las esporas. Igual que en el experimento anterior, la inoculación de las larvas se realizó mediante la inmersión de las mismas en la suspensión correspondiente al tratamiento evaluado durante un minuto, salvo el tratamiento testigo cuyos insectos se sumergieron en agua destilada estéril. Las larvas se ubicaron en una incubadora marca Scientific a temperatura de  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa de  $70\pm 10$ . Se utilizó el diseño completamente al azar, con 7 repeticiones por tratamiento y se realizaron pruebas de Tukey al 5%. Los datos se procesaron por los modelos de regresión Probit y Logit, y se utilizaron los programas estadísticos SAS 9.1 y Curve Expert Profesional 2.0.

### **Evaluación del sinergismo ocasionado por los productos**

Debido a que los productos utilizados están compuestos por mezcla de hongos entomopatógenos y otro producto a base de la bacteria *B. thuringiensis*, se evaluó el posible sinergismo que existe entre ellos. Los productos a base de hongos se ajustaron a una concentración de  $2 \times 10^8$  ui/ml ( $CL_{90}$ ), y el producto que contenía la bacteria se aforó a una concentración de  $1 \times 10^4$  ui/ml. Se emplearon 10 larvas por caja Petri, con 10 repeticiones por tratamiento, las cuales se ubicaron en incubadora marca Scientific a  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$  de temperatura y humedad relativa del  $70 \pm 10\%$ . La inoculación de las larvas se realizó mediante la inmersión en la suspensión correspondiente al tratamiento evaluado durante un minuto, los insectos correspondientes al tratamiento testigo se sumergieron en agua destilada estéril durante un minuto. Se utilizó el diseño completamente al azar y para el análisis los programas estadísticos SAS 9.1 y Curve Expert Profesional 2.0.4.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Patogenicidad de los aislamientos**

Todos los tratamientos evaluados fueron patogénicos a las larvas de *D. saccharalis*, ocasionando mortalidad entre el 30 y 100%. El 25% de los tratamientos del bioensayo

ocasionaron más del 95% de mortalidad (Safer mix® y Dipel®), mientras que el otro 75% no superaron el 70% de mortalidad (Insecbiol, Bauberiasil, Micosplag, Micosis y Bb-HN1); el producto Metaril no superó el 50% de larvas muertas de *Diatraea*.

En cuanto a la mortalidad de las larvas de *D. saccharalis* ocasionada por los diferentes productos en la fase de laboratorio, el análisis de varianza indica que se presentaron efectos estadísticamente diferentes de los tratamientos ( $Pr < .0001$ ). Los productos Safer mix, Dipel, Bb-HN1 e Insecbiol ocasionaron la mayor mortalidad a las larvas de *D. saccharalis* (100, 100, 70 y 62%), respectivamente. Aunque estadísticamente los productos Insecbiol y Bb-HN1 no presentaron diferencia estadística significativa con respecto a los tratamientos Micosis, Micosplag y Bauberiasil. El tratamiento con menor acción bioinsecticida fue Metaril, ya que ocasionó el 30,92% de mortalidad (Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de mortalidad ocasionado a las larvas de *Diatraea* por los diferentes productos.

Producto	Tukey agrupación	% Mortalidad promedio
Safer mix	A*	100
Dipel	A	100
Bb-HN1	B	70
Insecbiol	B	62
Micosis	B	59,06
Micosplag	B	58,64
Bauberiasil	B	55,26
Metaril	C	30,92

(\*) Tratamientos con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas.

En la Figura 1 se puede observar el efecto de las aplicaciones de los productos sobre las larvas de *D. saccharalis*. En todas las larvas esporuló el hongo *B. bassiana*.

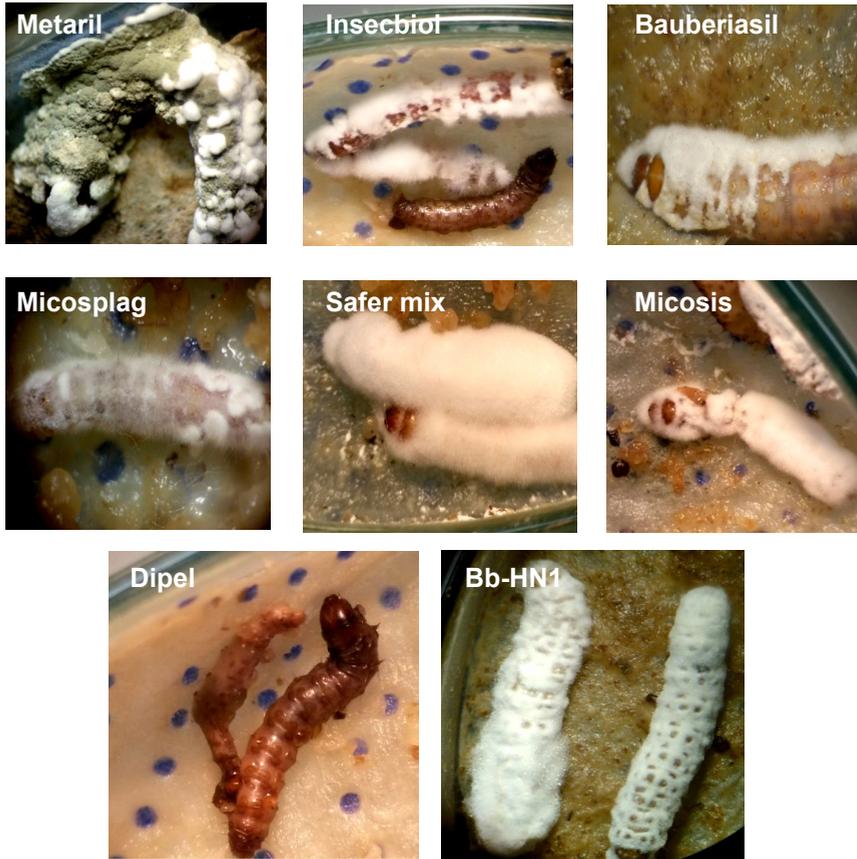
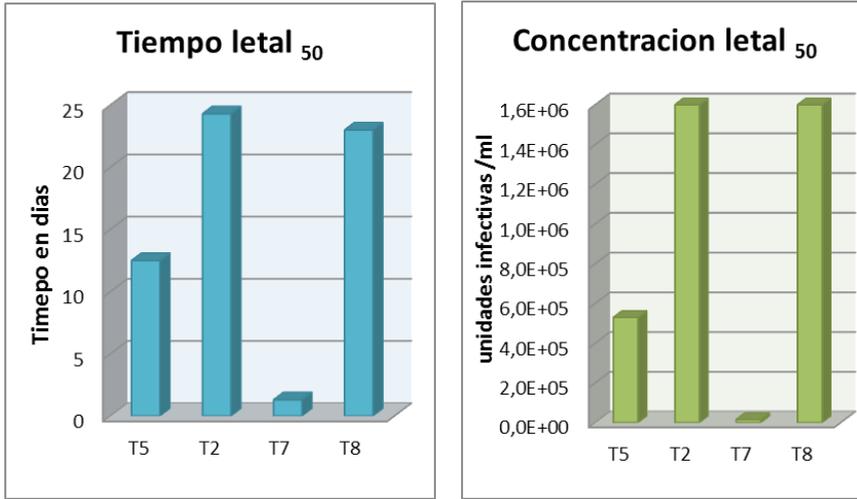


Figura 1. Larvas de *D. saccharalis* afectadas por los productos, 15 días después de la aplicación.

### Virulencia de los productos

De acuerdo con el tiempo letal 50 ( $TL_{50}$ ) a una concentración de  $2 \times 10^6$ , los productos Dipel y Safer mix presentaron mayor virulencia, menor a 13 días (Figura 2). Un menor tiempo letal indica no solo una mayor virulencia, sino que también reduce el daño causado por la plaga hasta el momento de la muerte.



**Figura 2.** Tiempo y concentración necesaria para ocasionar la muerte del 50% de larvas de *D. saccharalis* (T5: Safer mix; T2: Insecbiol; T7: Dipel; T8: Bb-HN1).

Los productos Safer mix y Dipel, con  $CL_{50}$  de  $5,3 \times 10^5$  y  $1,6 \times 10^4$ , respectivamente, presentaron mayor virulencia que los productos Insecbiol y Bb-HN1 con  $CL_{50}$  de  $1,6 \times 10^6$  cada uno (Tabla 2). Una menor  $CL_{50}$  indica una mayor virulencia del producto, de manera que se requiere una menor concentración para eliminar el 50% de la población plaga.

**Tabla 2.**  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  de los productos aplicados sobre larvas de *D. saccharalis*.

Producto	Tukey agrupación	$CL_{50}$ (ui/ml)	$T_{UKEY}$ agrupación	$CL_{90}$ (ui/ml)
Safer mix	B	$5,3 \times 10^5$	C	$1,1 \times 10^6$
Insecbiol	A	$1,6 \times 10^6$	A	$1,3 \times 10^9$
Dipel	C	$1,6 \times 10^4$	C	$3,3 \times 10^4$
Bb-HN1	A	$1,6 \times 10^6$	B	$1,2 \times 10^8$

(\*) Tratamientos con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Para controlar el 90% de la población, los productos que presentan mayor virulencia son el Dipel y el Safer mix a concentraciones de  $3,3 \times 10^4$  y  $1,1 \times 10^6$  ui/ml, respectivamente. El producto que requiere aplicar la mayor concentración es el Insecbiol a  $1,3 \times 10^9$  ui/ml (Tabla 2).

En investigación realizada por RAMOS *et al.*, (2004) obtuvo una mortalidad del 90% con la aplicación del producto Dipel sobre larvas de *D. saccharalis*; también observó que a una concentración subletal del producto se ejerce un efecto negativo sobre el crecimiento de las larvas, afectando directamente la capacidad para completar con éxito el proceso de metamorfosis, además influye sobre su viabilidad y por lo tanto en la población del insecto. En la presente investigación se observó que el único hongo en donde se cumplieron los postulados de Koch sobre las larvas de *D. saccharalis* fue *B. bassiana*, lo que indica que este hongo es patógeno para el insecto, y por lo tanto se debe tener en cuenta para involucrarlo en el manejo integrado de la plaga.

WENZEL (2006) obtuvo mortalidad de larvas de *D. saccharalis* entre el 65 y 89% con la aplicación de dos aislamientos de *B. bassiana* a concentraciones de  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  y  $5 \times 10^8$  ui/ml; igualmente obtuvo  $CL_{50}$  con la aplicación de  $1,58 \times 10^7$  ui/ml. SANTILLANA (2002) registró un 26%, 32% y 40% de mortalidad sobre larvas de *D. saccharalis* con la aplicación de *B. thuringiensis* en la  $DL_{50}$  a las 24h, incrementándose a 88, 99 y 100% la mortalidad a los 7 días después de la aplicación. ARGUETA *et al.* 2011 obtuvo resultados similares con los de la presente investigación, concluyendo que el bioplaguicida más efectivo para el control de *D. saccharalis* fue Dipel (*B. thuringiensis* var. *kurstaki*), el cual alcanzó 90% de mortalidad sobre la población tratada, aproximadamente a los 5 días después de aplicación. En trabajos realizados por RAMOS *et al.*, (2004), afirman que *B. thuringiensis* variedad *kurstaki* es un excelente biocontrolador de larvas de *D. saccharalis*.

ESTRADA *et al* (1997), en aplicación de *B. bassiana* para el control de *D. saccharalis* en un cultivo de caña, obtuvo 30% menos de infestación de la plaga y 27% menos de daño a las plantas, lo que demuestra que este microorganismo disminuye las poblaciones del insecto, y por consiguiente, reduce los niveles de daño producidos en el cultivo.

### **Sinergismo entre *B. bassiana* y *B. thuringiensis***

Cuando se aplicaron los productos en mezcla: Dipel ( $1 \times 10^4$  ui/ml) con Bb-HN1 ( $2 \times 10^8$  ui/ml) y Dipel ( $1 \times 10^4$  ui/ml) con Micosis ( $2 \times 10^8$  ui/ml), ocasionaron mortalidad a las larvas de *Diatraea* del 100 y 77,14%, respectivamente. Los productos aplicados de manera individual en las mismas concentraciones anteriores (Dipel, Bb-HN1 y Micosis), ocasionaron mortalidad a las larvas del 44,28; 20,14 y 8,5%, respectivamente (Tabla 3). Los resultados anteriores indican que existe sinergismo entre la bacteria *B. thuringiensis* y el hongo entomopatógeno en el control de la plaga.

**Tabla 3.** Porcentaje de mortalidad ocasionada a las larvas de *Diatraea* por la aplicación de los productos.

Tratamiento	Tukey agrupación	% Mortalidad (promedio)
Bb-HN1 x Dipel	A	100
Micosis x Dipel	B	77,14
Dipel	C	44,28
Bb-HN1	D	20,14
Micosis	E	8,5

(\*) Tratamientos con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Con respecto al  $TL_{50}$ , cuando se aplicó la mezcla de los productos Bb-HN1 x Dipel, en las concentraciones anteriores, el 50% de la muerte de las larvas de *Diatraea* se alcanzó a los 7,07 días después de la aplicación, mientras que los productos Micosis, Bb-HN1 y Dipel aplicados de manera individual, la mortalidad de las larvas se presentó a los 23,57; 15,14 y 13,21 días, respectivamente (Tabla 4).

**Tabla 4.**  $TL_{50}$  (días) de la mortalidad ocasionada a larvas de *Diatraea* por la aplicación de los productos.

Tratamiento	Tukey agrupación	Días (promedio)
Micosis	A	23,57
Bb-HN1	B	15,14
Dipel	B	13,21
Dipel x Micosis	C	8,42
Bb-HN1 x Dipel	C	7,07

(\*) Tratamientos con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Es evidente observar la viabilidad que se presenta al aplicar la mezcla del hongo entomopatógeno con la bacteria *B. thuringiensis* para el control de *D. saccharalis*, ya que se incrementa el control del insecto, aspecto que se debe tener en cuenta al momento de implementar el manejo integrado de la plaga.

## AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Caldas y al Proyecto “Implementación del Centro de Investigación, Innovación y Tecnología al sector Panelero del departamento de Caldas-Centro BEKDAU” por el financiamiento de la investigación.

## REFERENCIAS

- ALVES, S.B., PADUA, L.E., MILWARD DE AZEVEDO, E.M.V. & ALMEIDA, M.C., 1985.- Controle da broca da cana-de-açúcar pelo uso de *Beauveria bassiana*. *Pesq. Agrop. Bras.*, 20 (4): 403-407.
- ARGUETA A.E. & HERNANDEZ, W., 2011.- Parasitoidismo y control Microbiano del Barrenador (*Diatraea saccharalis* F.) De la Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum* L.), en el Departamento de Sonsonate, El Salvador, 2009. (Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de El Salvador). 64p.
- BADII, M.H. & ABREU, J.L., 2006.- Control biológico una forma sustentable de control de plagas. Biological control a sustainable way of pest control. *Internacional Journal of Good Conscience*, 1(1): 82-89.
- BLANFORD, S., SHI, W., CHRISTIAN, R., MARDEN, J.H., KOEKEMOER, L.L. & BROOKE, B.D., 2011.- Lethal and pre-lethal effects of a fungal biopesticide contribute to substantial and rapid control of malaria Vectors. *Plos One*. 6(8): e23591.
- BOTELHO, P.S.M. & MACEDO, N., 2002.- *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*(L.). In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (eds.) Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores. Manole: Barueri, p.409-447.
- CABRERA, J.C. & PINEDO, E., 1994.- El hongo *Beauveria bassiana* en el control de algunas plagas agrícolas. Revista Peruana de Entomología, Departamento de Entomología. UNALM. 37 (1): 107-110.
- CRANSHAW, W.S., 2014.- *Bacillus thuringiensis*. Colorado State University Extension, A division of the office of engagement. *Fac Sheet No 5.556*. p 2.
- ESTRADA, M.E. & GUELMEZ, J., 2004.- Persistencia de *Beauveria basiana* (bálsamo) Vuillemin en las hojas de la caña de azúcar (*Saccharum sp.* híbrido). *Fitosanidad*, 8 (4): 53-56.
- ESTRADA, M.E., ROMERO, M. & SNOWALL, M., 1997.- Aplicacion de *Beauveria bassiana* en la lucha biológica contra *Diatraea saccharalis*. *Caña de Azúcar*, 15(1): 39-43.
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R.P.L., BATISTA, G.C., BERTI FILHO, E., & VENDRAMIM, J.D., 2002.- Entomologia Agrícola. São Paulo, Ceres.
- GUO, Z., CHENG, Y., HUANG, F., LUTTRELL, R. & LEONARD, R., 2012.- Microarray analysis of global gene regulation in the Cry1Ab-resistant and Cry1Ab-susceptible strains of *Diatraea saccharalis*. *Pest Manag. Sci.* 68: 718-730.
- ISLAM, M.D.T., CASTLE, S.J. & REN, S., 2010.- Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against Sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. *Entomol Exp Appl.* 134(1): 28-34.
- LECUONA, R.E., TIGANO, M.S. & DIAZ, B.M., 1996.- Characterization and pathogenicity of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) in Argentina. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 25 (2): 299-307.
- MENDONÇA, A.F., 1996.- Pragas da Cana-de-açúcar. Maceió: Insecta, 239p.
- MOJICA, A. & PAREDES, J., 2004.- El cultivo de la caña panelera y la agroindustria panelera en el departamento de Santander. Centro Regional de Estudios Económicos, Bucaramanga. Banco de la República, Colombia. 26p.
- OLIVEIRA, M.A.P de., MARQUES, E.J., WANDERLEY-TEIXEIRA, V. & BARROS, R., 2008a.- Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). Maringá, 30: 220-224.
- OLIVEIRA, M.A.P., WANDERLEY-TEIXEIRA, V., MARQUES, E.J., ALBUQUERQUE, A.C., SANTOS, F.A.B., BARROS, R. & TEIXEIRA, A.A.C., 2008b.- Dinâmica hemocitária em *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae) desafiada imunologicamente pelos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Arq. Inst. Biol.* 75: 173-179.
- PARRA, J.R.P., BOTELHO, P.S.M., CORRÊA-FERREIRA, B.S. & BENTO, J.M.S., 2002.- Controle biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores. Manole: Barueri. 609p.
- PINTO, A.S., CANO, M.A. & SANTOS, E.M., 2006.- A broca da cana de açúcar *Diatraea saccharalis*: 15-20 (en) PINTO, A.S. *Controle de pragas da cana de açúcar*. Biocontrol, Sertãozinho.

- POLANCZYK, R.A., ALMEIDA, L.C., PADULLA, L. & ALVES, S.B., 2004.- Pragas de cana-de-açúcar X métodos alternativos de controle. *Revista Biotecnologia & Desenvolvimento*. 33: 14-17.
- RAMOS, F.C., CARMONA, A., BÉRES, M. & MÉNDEZ, N., 2004.- Evaluación de aislamientos de *Bacillus thuringiensis* tóxicos a *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Bioagro*. 16(3): 183-188.
- SABBOUR, M.M. & ABDEL-RAHMAN, A., 2013.- Efficacy of isolated *Nomuraea rileyi* and Spinosad against corn pests under laboratory and field conditions in Egypt. *Ann Rev Res Biol*. 3(4): 903-912.
- SANTILLANA, E de J., 2002.- Desarrollo de formulaciones de *Bacillus thuringiensis* a partir de gelatina y o pectina y evaluación tóxica contra el barrenador del tallo de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* Fabricius. Tesis Maestría en Ciencias con especialidad en Microbiología. Universidad Autónoma de Nuevo León. 128 p.
- SVEDESE, V.M., TIAGO, P.V., BEZERRA, J.D.P., PAIVA, L.M.; LIMA, E.A.L.A. & PORTO, A.L.F., 2013.- Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and production of cuticle-degrading enzymes in the presence of *Diatraea saccharalis* cuticle. *African Journal of Biotechnology*. 12(46): 6491-6497.
- VARGAS, G., LASTRA, L.A., VILLEGAS, A. & BARCO, L.E., 2013.- *Diatraea tabernella*: Nueva especie de barrenador del tallo en el valle del río Cauca. Importancia y perspectivas de manejo. Serie divulgativa N° 16. Cali. Cenicafé, Cali.
- WENZEL, I.M., GIOMETTI, F.H.C. & ALMEIDA, J.E.M., 2006.- Patogenicidade do isolado IBCB 66 de *Beauveria bassiana* à broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* em condições de laboratório. *Arquivos do Instituto Biológico*, 73: 259 -261.
- YASEM, M., SALVATORE, A., LÓPEZ, G. & WILLINK, E., 2008.- Presencia natural de hongos hyphomycetes en larvas invernantes de *Diatraea saccharalis* F. en caña de azúcar en Tucumán, Argentina. *Rev. Ind. y Agric. de Tucumán*, 85 (2): 39-42.
- ZAHHRAN, H.E.D.M., KAWANNA, M.A. & BOSLY, H.A., 2013.- Larvicidal Activity and Joint Action Toxicity of Certain Combating Agents on *Culex pipiens* L. Mosquitoes. *Ann Rev Res Biol*. 3(4): 1055-106.
- ZAPPELINI, L.O., ALMEIDA, J.E.M., BATTISTA FILHO, A. & GIOMETTI, F.H.C., 2010.- Seleção de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. visando o controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Arquivos do Instituto Biológico*. 77: 75-82.
- ZHANG, L., HUANG, F., ROGERS, L.B., CHEN, M., CLARK, T., ZHU, Y.C., WANGILA, D.S., YANG, F. & NIU, Y., 2013.- Susceptibility of cry 1Ab maize-resistant and -susceptible strains of sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) to four individual cry proteyns. *J. Invertebr. Pathol*. 112: 267-272.