

## SUSCEPTIBILIDAD DE *Diatraea saccharalis* (F) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) A DIFERENTES HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN CAÑA PANELERA\*

Luisa Fernanda Cardona<sup>1</sup>, Alberto Soto Giraldo<sup>2</sup>

### Resumen

Se evaluó la capacidad entomopatogena de los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* sobre larvas de *Diatraea saccharalis* en caña panelera. Se evaluaron los hongos de manera individual y la mezcla de *B. bassiana* con *M. anisopliae* y *P. lilacinus*, comparada con el producto químico Spinetoram (Exalt)<sup>®</sup>. El hongo *B. bassiana* controló eficientemente la plaga, convirtiéndose en una opción viable para la regulación de las poblaciones de este insecto plaga.

**Palabras clave:** control microbiológico, manejo integrado de plagas, patogenicidad, *Saccharum officinarum*.

## SUSCEPTIBILITY OF *Diatraea saccharalis* (F) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) TO DIFFERENT ENTOMOPATHOGENIC FUNGI IN SUGARCANE

### Abstract

The entomopathogenic capacity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces lilacinus* fungi was evaluated on larvae of *Diatraea saccharalis* in sugarcane. These fungi were evaluated individually and a mixture containing *B. bassiana*, *M. anisopliae* and *P. lilacinus* was compared with the chemical compound Spinetoram (Exalt)<sup>®</sup>. It was found that the *B. bassiana* fungus efficiently controlled the plague, becoming a viable option in order to regulate the populations of this insect pest.

**Key words:** microbiological control, integrated pest management, pathogenicity, *Saccharum officinarum*.

\* FR: 15-VIII-2015- FA: 25-XI-2015

<sup>1</sup> Ingeniera Agrónoma. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. E-mail: luisafdac3@hotmail.com

<sup>2</sup> Ph.D. Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. E-mail: alberto.soto@ucaldas.edu.co

### CÓMO CITAR:

CARDONA, L.F. & SOTO, A., 2015.- Susceptibilidad de *Diatraea saccharalis* (F) (Lepidoptera: Crambidae) a diferentes hongos entomopatógenos en caña panelera. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas*, 19 (2): 95-103.

## INTRODUCCIÓN

La producción de panela es una de las principales actividades agrícolas de la economía nacional colombiana, entre otras razones por su participación significativa en el producto interno bruto, por la superficie dedicada al cultivo de la caña y por la generación de empleo rural. En nuestro país el área sembrada con caña es de 474.559 ha, de las cuales se destinan 218.000 ha para la producción de azúcar y 266.559 ha para la producción de panela (OSORIO, 2007; TARAZONA, 2011).

*Diatraea saccharalis* es considerada la plaga más importante del cultivo de caña panelera, ocasionando disminución del rendimiento y de la calidad del jugo, lo cual se traduce en pérdidas económicas (GALLO *et al.*, 2002; VARGAS *et al.*, 2013), de ahí la necesidad de buscar alternativas para su control. Este insecto causa daños directos e indirectos, ya que perfora el tallo produciendo galerías que son puerta de entrada a hongos y bacterias fitopatógenas (PINTO *et al.*, 2006).

El uso de hongos entomopatógenos para el control de plagas en cultivos de importancia económica es una alternativa viable para el control de este insecto, no obstante, se tiene poca información especialmente en lo que respecta al control de *Diatraea* en caña panelera, adicionalmente, para el uso de este tipo de microorganismos se requiere un mayor entendimiento de su genética, aspectos fisiológicos, enzimas, metabolitos intra y extracelulares, etc., que permitirá su manipulación para la obtención de cepas ambientalmente seguras, caracterización de ceparios y producción de biopreparados (RIVERA *et al.*, 1997).

Las enfermedades fúngicas en insectos son comunes y en ocasiones lo suficientemente severas para causar epizootias que llegan a eliminar casi por completo una población en un hábitat determinado (HERRERA & ULLOA, 1990). Los hongos entomopatógenos poseen ciertas ventajas sobre otros agentes de control microbiano (bacterias, protozoarios y virus), debido a que son capaces de atacar todas las fases de desarrollo de los insectos, además pueden infectar a aquellos que normalmente no son susceptibles a la infección por bacterias y virus (FERRON, 1978).

Los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes controladores, constituyendo un grupo con más de 750 especies, diseminados en el medio ambiente y provocando infecciones fúngicas a poblaciones de artrópodos (SAMSON *et al.*, 1988; HAJEK, 1997; ASAFF *et al.*, 2002). Los géneros de mayor importancia son *Metarhizium*, *Beauveria* y *Paecilomyces* (FAO, 2003), ya que atacan un alto rango de insectos plaga (OSBORNE & LANDA, 1992; ZIMMERMANN, 1992; SMITH, 1993; GÓNGORA, 2008). La infección inicia con la adhesión de las esporas sobre el integumento; estas germinan y penetran mediante un proceso físico y químico que involucra la producción de enzimas, posteriormente, el hongo invade la cavidad

hemocélica del insecto y ocasiona su muerte, debido a deficiencias nutricionales, destrucción de los tejidos y por la liberación de toxinas (TANADA & KAYA, 1993; MEYLING & EILENBERG, 2007).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la efectividad de hongos entomopatógenos en el manejo de poblaciones de *D. saccharalis* en caña panelera.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Entomología del Departamento de Producción Agropecuaria, de la Universidad de Caldas, Manizales, a 2150 msnm, temperatura promedio de 16°C y humedad relativa de 82%. Se evaluaron los productos a base de *B. bassiana* (Bovetropico)<sup>®</sup>, *M. anisopliae* (Metatropico)<sup>®</sup> y *P. lilacinus* (Paecilotropico)<sup>®</sup> de manera individual y en mezcla, y el producto químico Spinetoram (Exalt)<sup>®</sup>, sobre larvas de primer instar de *D. saccharalis*. Se emplearon dosis comerciales de los productos (dosis inundativa y dosis rutinaria) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Productos y dosis aplicados sobre *D. saccharalis* en caña panelera.

Tratamiento	Dosis rutinaria	Dosis inundativa
<i>B. bassiana</i> (Bovetropico) <sup>®</sup> (1x10 <sup>9</sup> Esporas/gramo)	2 g/L	4 g/L
<i>M. anisopliae</i> (Metatropico) <sup>®</sup> (1x10 <sup>9</sup> Esporas/gramo)	2 g/L	4 g/L
<i>P. lilacinus</i> (Paecilotropico) <sup>®</sup> (1x10 <sup>9</sup> Esporas/gramo)	2 g/L	4 g/L
<i>M. anisopliae</i> + <i>B. bassiana</i> + <i>P. lilacinus</i>	2 g/L	---
Producto químico Spinetoram (Exalt) <sup>®</sup>	0,5 cc/L	---
Testigo absoluto (agua estéril)	---	---

Cada unidad experimental estuvo conformada por una caja Petri de 9 cm de diámetro y 10 larvas de primer instar de *D. saccharalis*, con papel filtro humedecido en el fondo, utilizando agua destilada y dieta suministrada por el laboratorio Bioagro para alimentación de las larvas. Se preparó la solución de los hongos en sus respectivas dosis y se sumergieron las larvas por un lapso de 1 min, después se colocaron las larvas en las cajas Petri y se ubicaron en incubadora a 25°C. Se registró el número de larvas muertas realizando evaluaciones cada cuatro días y durante 30 días después de la aplicación, y se halló el porcentaje de mortalidad, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de larvas muertas} \times 100}{\text{N}^{\circ} \text{ total de larvas}}$$

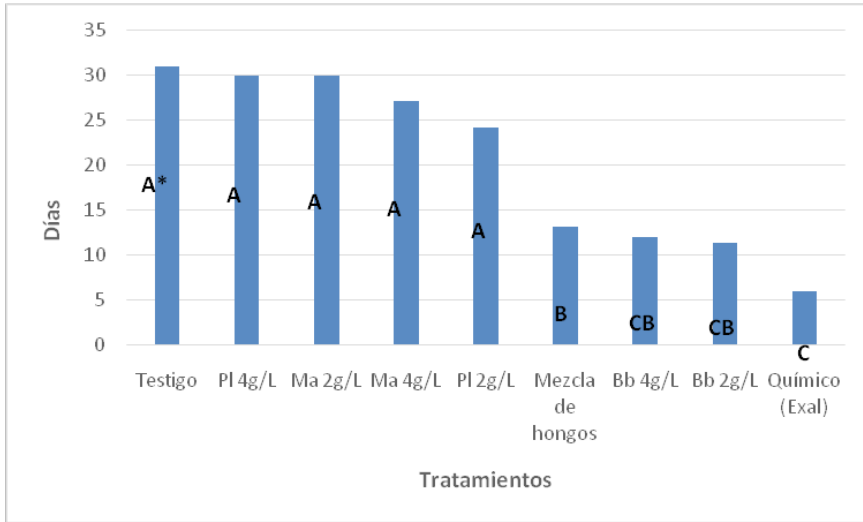
Igualmente, se registró el tiempo en que se empezaron a morir las larvas de *Diatraea* en cada uno de los tratamientos.

Con el fin de corroborar que la mortalidad observada era causada por el tratamiento en evaluación, cada larva muerta se llevó a cámara húmeda, que consistió en un frasco de 4 cm de altura por 2 cm de base, con un papel toalla en el fondo humedecido con agua destilada estéril y tapado con algodón, para promover la esporulación. Siguiendo la metodología de CASTAÑO-ZAPATA & SALAZAR (1998) se extrajo micelio de la larva con una aguja de disección y se colocó en una lámina portaobjetos con dos gotas de lactofenol al 0,05% (20 g de fenol cristalino + 20 cm<sup>3</sup> de ácido láctico + 20 cm<sup>3</sup> de glicerina + 20 cm<sup>3</sup> de agua destilada y azul de algodón al 5% en agua), la muestra se cubrió con un cubreobjetos y se procedió a observarla al microscopio compuesto de luz marca LW Scientific Revelation III, con el objetivo 40X, para observar la estructuras propias de los hongos. La variable de respuesta se definió como el porcentaje de larvas muertas.

Se utilizó el diseño completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento. Para determinar diferencias entre tratamientos se realizó la prueba de Tukey al 5%.

### **Inicio de mortalidad de larvas de *D. saccharalis***

Al evaluar el efecto de los hongos entomopatógenos y del producto químico sobre larvas de *D. saccharalis*, se observó que el hongo *B. bassiana* en las dosis de 2 y 4 g/L, y el producto químico Spinetoram (Exalt)<sup>®</sup>, no presentaron diferencia estadística en cuanto a los días en que las larvas de *Diatraea* se empezaron a morir (Figura 1). Con la aplicación del producto químico, las larvas se empezaron a morir a los 6 días después de la aplicación, y con la aplicación de *B. bassiana* en dosis de 2 y 4 g/L, las larvas se empezaron a morir a los 12 y 11 días, respectivamente (Figura 1). Se debe considerar que la velocidad de infección involucra la penetración de los hongos en su hospedante, la cual depende de la duración de la germinación, la agresividad del agente natural, la susceptibilidad del hospedante y el tipo de spora (SAMSON *et al.*, 1988), la cual a su vez puede ser alterada por la presencia de fenoles, quinonas y lípidos (SMITH & GRULA, 1981), así como por las condiciones de humedad ambiental, temperatura, luz y compuestos nutricionales (TANADA & KAYA, 1993). Una vez las estructuras del hongo se encuentren en el interior del insecto, la infección dependerá del potencial genético del hongo para crecer y de los mecanismos de defensa del insecto (GÓNGORA, 2008).



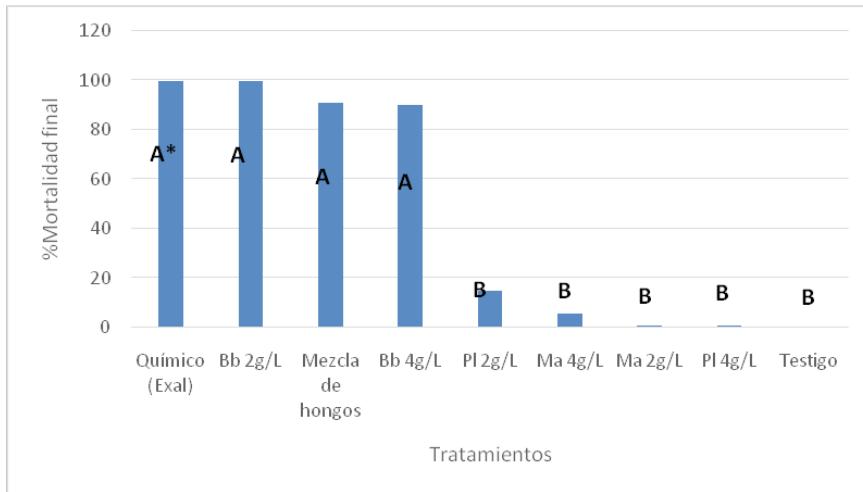
\* Letras diferentes denotan diferencia estadística entre tratamientos según la prueba de Tukey al 5%.

**Figura 1.** Inicio de la mortalidad (días) de larvas de *D. saccharalis* para los diferentes tratamientos.

Los tratamientos *P. lilacinum* y *M. anisopliae* se comportaron estadísticamente igual, a los 27,8 días se empezaron a morir las larvas (Figura 1). En el testigo no se presentó muerte de las larvas, y se observó que estas continuaron su ciclo de vida hasta llegar al estado de pupa (Figura 1).

### Mortalidad de larvas de *D. saccharalis*

En cuanto a la evaluación de la mortalidad de las larvas de *Diatraea* ocasionada por la aplicación de los diferentes tratamientos, se presentaron diferencias altamente significativas ( $p < 0,0001$ ). Se observó que *B. bassiana* (2 y 4 g/L), la mezcla de los hongos *B. bassiana* + *M. anisopliae* y *P. lilacinus*, y el tratamiento químico Spinetoram (Exalt)<sup>®</sup> ocasionaron mortalidad superior al 90% (Figura 2). Se destaca el tratamiento *B. bassiana* 2 g/L, el cual ocasionó mortalidad del 100% de las larvas, a los 11 días después de su aplicación (Figura 1), igualando a los resultados obtenidos con el producto químico Spinetoram (Exalt)<sup>®</sup> (Figura 2). Estos resultados son semejantes a los obtenidos por ALVES *et al.* (1985), quienes encontraron que al aplicar soluciones acuosas de *B. bassiana* contra larvas de *D. saccharalis* en caña de azúcar, disminuyen las poblaciones larvales. ESTRADA *et al.* (1997) demostraron que las aplicaciones de *B. bassiana* en caña de azúcar para el control de *D. saccharalis*, disminuyen las poblaciones larvales de la plaga, aumenta la cantidad del jugo así como los rendimientos del cultivo.



\* Letras diferentes denotan diferencias estadísticas entre tratamientos, según la prueba de Tukey al 5%.

**Figura 2.** Mortalidad de larvas de *Diatraea* en los diferentes tratamientos.

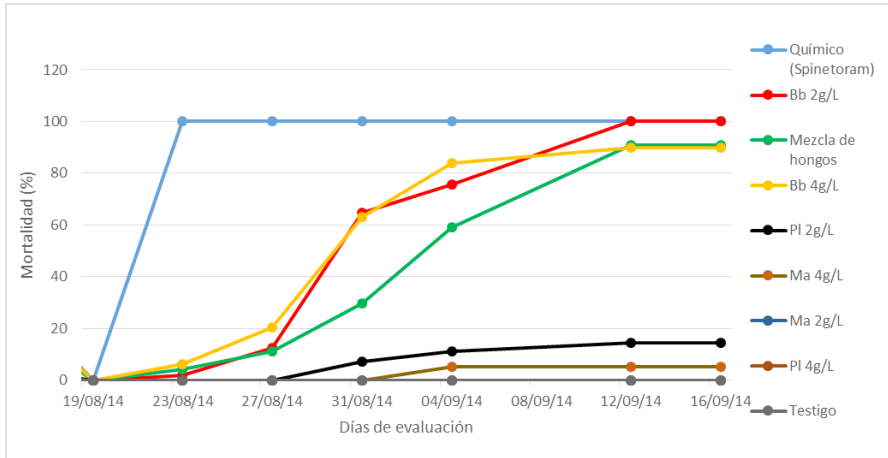
Analizando la mortalidad ejercida por los diferentes tratamientos a través del tiempo, se puede observar que el tratamiento *B. bassiana* 2 g/L empezó a ocasionar mortalidad de larvas de *Diatraea* en 2% al cuarto día después de la aplicación, incrementándose progresivamente hasta alcanzar el 100% de la mortalidad a los 24 días después de la aplicación, igualando al tratamiento químico Spinetoram (Exalt)<sup>®</sup> (Figura 3). Los tratamientos que ocasionaron menor control sobre la plaga fueron *Metarhizium* y *Paecilomyces* (Figura 3).

ALVES *et al.* (1985) encontraron que *M. anisopliae* coloniza naturalmente cerca del 10% de larvas de *D. saccharalis*, y demostraron que este hongo es patógeno para todos los estados de desarrollo del insecto, siendo altamente eficiente para los huevos de uno a dos días de edad; igualmente, encontraron que *B. bassiana* causó una mortalidad del 44% en larvas en condiciones de campo. FRESA (1979), en Argentina, encontró larvas de *D. saccharalis* en caña de azúcar afectadas por el hongo *B. bassiana*.

En el estudio realizado por YASEM *et al.* (2008), en donde hicieron un reconocimiento en campo de larvas de *Diatraea* en caña de azúcar afectadas por hongos entomopatógenos, encontraron que el 57,1% correspondieron a *B. bassiana*, el 23,8% a *M. anisopliae*, el 9,5% a *N. rileyi* y el 9,5% a *Isaria* sp.

Dadas las altas infestaciones de *Diatraea* que se presentan actualmente en los municipios productores de caña panelera, en donde se ha superado el Umbral Económico, el uso de hongos entomopatógenos contribuirá a disminuir las poblaciones de la plaga.

Igualmente, los productores serían más racionales con el manejo de insectos en este tipo de agroecosistemas.



**Figura 3.** Mortalidad de larvas de *D. saccharalis* a través del tiempo.

En este trabajo de investigación se evidencia la importancia del insecto plaga y la cepa de los entomopatógenos en la mortalidad que ocasionan a *D. saccharalis*. Sin embargo, se sugiere, para los trabajos de campo, evaluar diferentes equipos de aspersión y de boquillas y realizar aspersiones dirigidas, debido a que las larvas de *Diatraea* en sus primeros estados larvales se ubican por fuera del tallo de la caña, antes de penetrar al mismo. LECUONA *et al.* (1996) evaluaron la patogenicidad de 21 aislamientos de *B. bassiana* sobre larvas de *D. saccharalis*, encontrando mortalidad de algunos aislamientos que oscilaron entre el 50 y 90%. ARCAS *et al.* (1999) evaluaron dos aislamientos de *B. bassiana* (cepas Bb1 y Bb5) sobre larvas de *D. saccharalis*, y encontraron que la cepa Bb5 ocasionó mortalidad del 82,5%, mientras que con la cepa Bb1 la mortalidad fue del 21,3%, lo que indica que se deben buscar cepas específicas de hongos entomopatógenos para el control de las plagas. SVEDESE *et al.* (2013) evaluaron el efecto de la temperatura sobre la patogenicidad de *B. bassiana* contra larvas de *D. saccharalis*, encontrando que las cepas fueron más patogénicas a 26°C y ocasionaron mortalidad del 100%.

En este trabajo se determinó que los hongos *Paecilomyces lilacinum* y *Metarhizium anisopliae* tuvieron un comportamiento similar, donde la mortalidad no superó el 16% (Figura 2). Se debe tener en cuenta que el desarrollo de productos a base de hongos entomopatógenos debe involucrar investigación para determinar el nivel de interacción de hongo con su hospedero y con el medio ambiente, la concentración del producto y el método de formulación adecuado que permita llevar estos microorganismos a condiciones de campo para que desempeñen una función de buena capacidad reguladora de las plagas dentro del agroecosistema.

De esta investigación se concluye que el hongo que presentó mayor eficacia a nivel de laboratorio para controlar larvas de *D. saccharalis* en caña panelera fue *B. bassiana* (2 g/L). Considerando que las condiciones edáficas y climáticas en las que se desarrollan las plantaciones de caña panelera son favorables para los entomopatógenos, puede convertirse esta en una alternativa para el control de *D. saccharalis* para involucrarla dentro del Manejo Integrado de la Plaga.

## AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Proyección 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. & AMEIDA, M.C., 1985.- Controle da broca da cana de açúcar pelo uso de *Beauveria bassiana*. *Pesq. Agrop. Bras.*, 20 (4): 403-407.
- ARCAS, J.A., DÍAZ, B.M. & LECUONA, R.E., 1999.- Bioinsecticidal activity of conidia and dry mycelium preparations of two isolates of *Beauveria bassiana* against the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. *Journal of biotechnology*, 67(2): 151-158.
- ASAFF, T.A., REYES, V.Y., LÓPEZ, L.V.E. & DE LA TORRE, M.M., 2002.- Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva*, 21: 291-295.
- CASTAÑO-ZAPATA, J. & SALAZAR, H., 1998.- *Illustrated guide for identification of plant pathogens*. Centro Editorial Universidad de Caldas, Manizales.
- ESTRADA, M.E., ROMERO, M. & SNOWALL, M., 1997.- Aplicación de *Beauveria bassiana* en la lucha biológica contra *Diatraea saccharalis*. *Caña de Azúcar*, 15(1): 39-43.
- FAO, 2003.- *Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con respecto a América Latina*. Dirección de Producción y Sanidad Animal de la FAO, Roma.
- FERRON, P., 1978.- Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, 23: 409-442.
- FRESA, R., 1979.- *Hongos entomopatógenos observados en larvas de lepidópteros perjudiciales para cultivos de la República Argentina*. IDIA.
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R.P.L., BATISTA, G.C., BERTI FILHO, E., ... VENDRAMIM, J.D., 2002.- Entomología Agrícola. São Paulo, Ceres.
- GÓNGORA, C.E., 2008.- Los hongos entomopatógenos en el control de insectos: 133-149 (en) BUSTILLO, A.E. *Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana*. FNC, Cenicafé, Chinchiná.
- HAJEK, A.E., 1997.- Ecology of Terrestrial Fungal Entomopathogens. *Adv. Micrib. Ecol.*, 15: 193-249.
- HERRERA, T. & ULLOA, M., 1990.- *El reino de los hongos. Micología básica y aplicada*. Universidad Nacional Autónoma de México - Fondo de Cultura Económica S.A., México, D.F.
- 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.
- MEYLING, N.V. & EILENBERG, J., 2007.- Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Biological Control*, 43 (2): 145-155.
- OSBORNE, L.S. & LANDA, Z., 1992.- Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist*, 75 (1): 456-471.
- OSORIO, G., 2007.- *Manual: Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura en la producción de Caña y Panela*. CORPOICA, Centro de Investigación La Selva.
- 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.
- RIVERA, M.A., BRIDGE, P.D. & BUSTILLO, A., 1997.- Caracterización bioquímica y molecular de aislamientos de *Beauveria bassiana* procedentes de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. *Revista Colombiana de Entomología*, 23 (1-2): 51-57.
- SAMSON, R.A., EVANS, H.C. & LATGÉ, J.P., 1988.- *Atlas of entomopathogenic fungi*. Springer-Verlag, New York.
- SMITH, P., 1993.- Control of *Bemisia tabaci* and the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* as a biopesticide. *Biocontrol News & Information*, 14: 71-78.
- SMITH, R.J. & GRULA, E.A., 1981.- Nutritional requirements for conidia germinator and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 88 (1): 1-7.



- SVEDESE, V.M., TIAGO, P.V., BEZERRA, J.D.P., PAIVA, L.M.; LIMA, E.Á.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.
- TANADA, Y. & KAYA, K., 1993.- *Insect pathology*. Academic Press, California.
- TARAZONA, G., 2011.- *Manejo fitosanitario del cultivo de la caña panelera: Medidas para la temporada invernal*. Instituto Colombiano Agropecuario.
- 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. Cenicaña, Cali.
- 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.
- ZIMMERMANN, G., 1992.- *Metarhizium anisopliae* and entomopathogenic fungus: *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer. Biological crop protection*, 45 (63): 113-128.