

Control biológico del salivazo (*Mahanarva andigena*) en caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) con *Metarhizium* sp. (Fungi: Ascomycota: Clavicipitaceae)

Wilfrido de la Cruz¹ y Wilson D. Cajilima A.²

¹Universidad Estatal Amazónica, Puyo, Ecuador
wilocruz7@yahoo.com

²Laboratorio de Producción de Entomopatógenos, Agrocalidad, Puyo, Ecuador

Resumen

El uso de insecticidas químicos causa daños al medio ambiente y a la salud del hombre, por lo que este estudio caracterizó y evaluó cepas nativas de hongos para el control biológico del salivazo, el homóptero *Mahanarva andigena*, en la caña de azúcar, *Saccharum officinarum*. Las cepas nativas del entomopatógeno *Metarhizium* sp. procedían de tres sectores cañeros del cantón Pastaza, y se desarrollaron en dos medios de cultivo, Papa Dextrosa Agar (PDA) y Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) con 10 repeticiones. La cepa C1 del sector Las Américas alcanzó mayor crecimiento a las 624 horas, con 7,80 y 8,00 cm de diámetro en las cajas Petri. Las diferencias morfo culturales encontradas entre cepas del entomopatógeno se atribuyen a los medios de cultivo y probablemente a la existencia por comprobar de diferentes especies de *Metarhizium*. La cepa C1 se aplicó a las plantas de caña de azúcar (795 plantas) infestadas con salivazo en un diseño completamente al azar con 5 réplicas, y se determinó la efectividad biológica de la cepa aplicando tres titulaciones en el campo: $2,8 \times 10^7$, $4,8 \times 10^7$ y $1,1 \times 10^8$ conidios/ml. Se obtuvo un mejor resultado con la titulación de $1,1 \times 10^8$ conidios/ml con una efectividad del 90,95% con dos dosis de aplicación a intervalo de 8 días. Se sugiere que la cepa de *Metarhizium* originaria de la zona de Las Américas, la misma que se encuentra en la colección de entomopatógenos de la Universidad Estatal Amazónica, sea utilizada como biocontrolador de la plaga *M. andigena*, que es la causa de grandes pérdidas económicas en los sectores agrícolas y agroindustriales de la región.

Abstract

The use of chemical insecticides causes damage to the environment and human health, so as an alternative this study characterized and evaluated native fungal strains for biological control of spittlebug, the homopteran *Mahanarva andigena* in sugarcane, *Saccharum officinarum*. The strains of the native entomopathogen

Metarhizium sp. were obtained from three sugarcane-growing sectors of canton Pastaza, and were grown in two culture media, Potato Dextrose Agar (PDA) and Sabouraud Dextrose Agar (SDA) with 10 repetitions. The C1 strain from the Las Americas sector grew the fastest, reaching 7,80 and 8,00 cm diameter in the Petri dishes at 624 hours following inoculation. Morphocultural differences exhibited between strains of the entomopathogen are attributed to the culture media and probably indicate the existence of different species of *Metarhizium*. The C1 strain was applied to 795 sugar cane plants infested with spittlebug in a completely randomized design with 5 replicates, and the biological effectiveness of the strain in the field was determined with three different titrations: $2,8 \times 10^7$, $4,8 \times 10^7$ and $1,1 \times 10^8$ conidio/ml. The best results were obtained with the titration of $1,1 \times 10^8$ conidio/ml, resulting in an effectiveness of 90,95% with two doses of application at an 8-day interval. We suggest that the *Metarhizium* strain that originated in the area of Las Americas, which is held in the entomopathogenic collection at the Universidad Estatal Amazónica, be used as a biocontrol of *M. andigena*, a pest which causes great economic losses in the agricultural and agroindustrial sectors of the region.

Palabras claves: Control biológico, salivazo, caña de azúcar, *Mahanarva andigena*, *Metarhizium*, *Saccharum officinarum*

Introducción

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es uno de los cultivos de mayor importancia económica en el cantón y provincia de Pastaza, ya que genera fuentes de trabajo por la necesidad de mano de obra durante su desarrollo e industrialización. Diversos organismos atacan los cultivos de caña de azúcar, los que se agrupan bajo el contexto plaga; ellos reducen el rendimiento del cultivo e incrementan los costos de producción y afectan la calidad del producto (Gómez, 2002). Peck (1998), Rogg (2001) y Bustillo (2011) destacan entre las plagas al

conocido salivazo, *Mahanarva andigena* (Jacobi) (Homoptera: Cercopidae).

El desarrollo del homóptero se ve favorecido por la alta humedad relativa que caracteriza a la provincia de Pastaza, y provoca grandes pérdidas económicas a los productores de caña. El daño es causado por la fase adulta del insecto que para alimentarse perfora y succiona las partes verdes del “cogollo”, lo que seca las hojas. Es la típica intoxicación sistemática llamada “quema de las hojas” que reduce el crecimiento de la planta y en casos

extremos la seca por completo (Anon, 1982).

La implementación de sistemas agrícolas sostenibles contribuye a reducir este efecto; dichos sistemas están basados en el control cultural, en los enemigos naturales y en el uso de organismos entomopatógenos que reducen las poblaciones de plagas. Actualmente, se han identificado y estudiado diversas especies de hongos como biocontroladores; muchos de ellos son utilizados exitosamente en programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP). Shannon *et al.* (1993) vieron que dos hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin y *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. presentaban buena virulencia contra larvas de segundo y tercer estadio de los coleópteros *Phyllophaga menetriesi* (Blanchard) y *P. vicina* Moser, respectivamente. En este mismo sentido Rodríguez del Bosque (2003), al evaluar bajo una modificación de la “prueba máxima” diversas cepas de *M. anisopliae* y *B. bassiana* contra larvas de *Phyllophaga crinita* (Burm.), concluye en términos generales que las cepas de *M. anisopliae* fueron más virulentas que las de *B. bassiana* al registrar en uno de sus tratamientos un 96% de mortalidad a los 10 días de haberse aplicado. *Metarhizium anisopliae* ha demostrado que puede

controlar el salivazo, por lo que este estudio pretende caracterizar y evaluar cepas nativas para el control biológico de *Mahanarva andigena*.

Materiales y Métodos

La recolección de insectos parasitados por *Metarhizium* sp. (Figura 1) se realizó en tres sectores cañeros del cantón Pastaza: cepas C1 y C2 del sector Las Américas y C3 del sector La Tarqui. Las cepas fueron trasladadas al laboratorio de Entomopatógenos de Agrocalidad en Puyo. Los insectos se depositaron en frascos de vidrio en una solución de agua esterilizada y 0,3 ml de oxitetraciclina, para luego extraer 3 ml del preparado con una jeringa y aguja hipodérmica.



Figura 1. Individuos de *Mahanarva andigena* parasitados por *Metarhizium* sp.

Para el aislamiento de los conidios (estructuras propagativas, esporas

asexuales, unicelulares, hialinas, ovoides) en laboratorio se empleó como sustrato sólido el arroz pre-cocido. Las esporas del hongo *Metarhizium* se recolectaron después de coleccionar los insectos y se sembraron sobre el sustrato sólido de arroz según la metodología de Rogg (2001).

En la evaluación de las características morfo-culturales de *Metarhizium* se emplearon los medios de cultivos sintéticos Papa Dextrosa Agar (PDA) y Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), y se consideró el tiempo de aparición de micelios, conidios y coloración hasta la cosecha. Posteriormente se seleccionó la cepa con mejores características de crecimiento y producción de conidios, que fueron producidos en mayor cantidad en granos de maíz de la variedad “mote” (*Zea mays* L.) precocido para proceder a la prueba de campo. Se realizó análisis de varianza, según diseño completamente aleatorio, con arreglo factorial 2 x 3, para las variables medios de cultivo (2) y número de cepas de *Metarhizium* (3) con 10 réplicas con un total de 60 unidades experimentales.

Para el ensayo de campo se delimitaron 20 parcelas (15 x 20 m²) con 53 plantas de caña cada una, a 7 m de distancia entre parcelas, con un total de 1.060 plantas, y se marcó el

perímetro con cinta de color. Los tratamientos experimentales fueron tres, más el testigo, con dosis de *Metarhizium* 2,8x10⁷, 4,8x10⁷ y 1,1x10⁸ conidios/ml de la Cepa 1, con 5 repeticiones cada uno. Las dosis se aplicaron a todas las plantas, entre las 06h30 y 08h30, con una bomba de aspersión a motor.

El monitoreo de las ninfas en cada planta de caña se efectuó un día antes de la aplicación, debido a la dinámica de los adultos que saltan constantemente de las plantas. A los 7 y 14 días posteriores a la aplicación de *Metarhizium* se contabilizó la mortalidad de ninfas y adultos contaminados (Figura 2).

Tanto para el laboratorio y el campo el análisis estadístico corresponde a un diseño completamente aleatorizado según modelo de clasificación simple. Se aplicó la prueba de Tukey para los resultados de laboratorio. El coeficiente de variación (CV) se calculó cuando el número de insectos resultó cero transformándose los datos mediante la función \sqrt{X} para establecer el nivel de confiabilidad de los datos de campo. La efectividad del controlador biológico se evaluó según la fórmula modificada de Abbott (1925):

$$EB = \frac{Cd - Td}{Cd} \times 100$$



Figura 2. Efectividad biológica de la Ceba 1 de Las Américas de *Metarhizium* sp. a nivel de campo.

Donde:

EB = Efectividad Biológica.

Cd = Insectos vivos en parcelas testigo

Td = Insectos vivos en parcelas tratadas después del tratamiento.

Resultados y Discusión

Considerando las características morfológicas de las cepas de *Metarhizium* sp. obtenidas en el campo, se supone que se trate de la especie *M. anisopliae*, aunque en la presente contribución, las cepas usadas están identificadas únicamente al nivel de género.

Tanto en la zona de La Tarqui como en la zona de Las Américas, *Metarhizium* sp. en los dos medios de

cultivos se comportó de manera similar, encontrándose que sus características morfológicas presentan un conjunto de micelio blanco de textura algodonosa, con una colonia de forma y borde regular, conjunto de conidios verde olivo elevados, hifas hialinas ramificadas que forman una capa productora de esporas. Sus conidios verde olivos elevados, ovales, truncados en los extremos formando largas cadenas basipétalas agrupadas en

columnas, levemente pigmentados de un tamaño de $6,0 \mu \times 2 \mu$ de ancho (Figura 3). Sin embargo la cepa C3, de la zona de La Tarqui que crecieron sobre SDA se caracterizó por presentar micelio blanco-hialino de textura compacta, con una colonia de forma y borde irregular,

conjunto de conidios verde amarillento semielevado radialmente, hifas hialinas ramificadas que forman una capa productora de esporas. Todas las cepas presentaron un color miel en el lado posterior de la placa Petri (Figura 3).

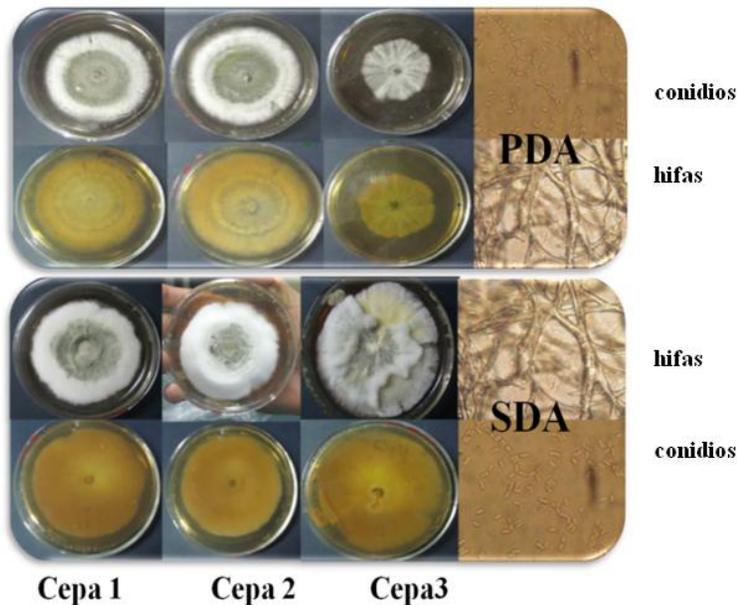


Figura 3. Características morfológicas de *Metarhizium* sp. en PDA (Papa Dextrosa Agar) y SDA (Sabouraud Dextrosa Agar) de las cepas C1 y C2 de Las Américas y C3 de La Tarqui.

El crecimiento en PDA y SDA del micelio inició a las cero horas con 0.60 cm de diámetro y finalizó a las 624 horas (26 días). Para PDA el micelio creció de 6.9 a 7.7 cm (min-max), mientras que en SDA las cepas alcanzaron 8,0 cm, excepto La Tarqui (C3) que creció hasta 6,5 cm (Figura 3).

Según ANOVA el factor crecimiento del micelio a las 624 horas tiene efecto significativo ($p < 0,05$), lo

que representa que *Metarhizium* tendría una capacidad de reproducción masiva en un medio de sustrato sólido. Al realizar la prueba de comparación múltiple para determinar las medias, Tukey al nivel de confianza del 95,0%, las cepas de Las Américas no presentan diferencias y varían en comparación con la cepa del sector La Tarqui. Lo que demuestra que la cepa C1 y C2 (Las Américas) son óptimas para la

aplicación en campo por su concentración de esporas y crecimiento en los dos medios de cultivos, lo que concuerda con la Norma Cubana 72-04, 1993 (Elósegui y Elizondo, 2010), donde manifiesta que un entomopatógeno a utilizarse debe tener una concentración mínima de 10^8 conidios/ml.

Efectividad biológica de *Metarhizium* sp. a nivel de campo

El análisis de varianza indicó una diferencia significativa ($p < 0,0001$) entre tratamientos. El ensayo de mortalidad del lote testigo no presentó datos. Con el tratamiento de *Metarhizium* sp. se establece que el mejor tratamiento correspondió a la concentración de conidios de

$1,1 \times 10^8$ /ml como se observa en la Tabla 1 sobre la separación entre medias (a, b, c, d).

De las concentraciones evaluadas, $1,1 \times 10^8$ superó el 90% de mortalidad a los 14 días después de iniciado el bioensayo (Tabla 1), que confirma la virulencia del aislamiento. Este resultado demuestra su potencial como agente de control microbiano contra ninfas y adultos de *Mahanarva andigena* desde el primer estadio (Vélez *et al.*, 1997; Corral *et al.*, 2006) en *Saccharum officinarum*, mientras que $4,8 \times 10^7$ es un agente con regular virulencia, y $2,8 \times 10^7$ es de baja virulencia, el cual provocó el menor porcentaje de mortalidad (46,10%).

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad sintomática y valores de significación estadística de la aplicación de *Metarhizium* sp. en ninfas y adultos de *Mahanarva andigena*.

Tratamiento	% Mortalidad 7 días	% Mortalidad 14 días
Testigo	0,0 c	0,00 d
Concentración $1,1 \times 10^8$	21,1 a	90,95 a
Concentración $4,8 \times 10^7$	20,3 a	60,48 b
Concentración $2,8 \times 10^7$	15,9 b	46,10 c

A las cepas del entomopatógeno que registraron bajos porcentajes de mortalidad se atribuyen factores relacionados a la concentración de conidios por ml (Tabla 1). Estos resultados coinciden con los registrados

por Nájera *et al.* (2005), Poprawski y Yule (1991) quienes evaluaron aislamientos de dos entomopatógenos, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, contra larvas de *Phyllophaga anxia*, y concluyeron que esta especie es

más susceptible a la infección causada por *Metarhizium*.

Conclusiones

El aislamiento de la Cepa 1 (originaria de Las Américas, Puyo, Pastaza) de *Metarhizium* sp. a la concentración de $1,1 \times 10^8$ conidios/ml, fue la más virulenta contra ninfas y adultos de *Mahanarva andigena*, con la mayor tasa de mortalidad (90,95%) a los 14 días del experimento. *Metarhizium* sp. es un agente de control biológico que ha demostrado su efectividad en el campo y debería ser parte de los programas de manejo integrado de la *Mahanarva andigena* en parcelas agrícolas de caña de azúcar.

Literatura Citada

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Anon, J. R. 1982. Cercópidos de los pastos en América Tropical. *Biología y control: Guía de estudio.* Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia.
- Bustillo Pardey, A. E., J. A. Obando Bedoya, J. A. Matabanchoy Solarte y U. Castro Valderrama. 2011. Control biológico del salivazo: uso del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Cenicafña* 12.
- Corral, G., A. Romero, T. Radrigan y T. Zaviezo. 2006. Las virtudes de hongos entomopatógenos. *Cultivo de Caña. Agronomía y Forestal* 30: 12-15.
- Elósegui, O. C. y A. I. Elizondo. 2010. Evaluación microbiológica in vitro de mezclas de especies de hongos entomopatógenos ingredientes activos de bioplaguicidas cubanos. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. La Habana. Consultado Jun. 10, 2009. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1562-30092010000200005&script=sci_arttext
- Gómez L., L.A. 2002. El salivazo (*Mahanarva bipars*) en Risaralda amenaza para la caña de azúcar. *Carta Trimestral Cenicafña* 24(3 y 4): 4-5.
- Nájera-Rincón, M. B, M. García-Martínez, R. L. Crocker, V. Hernández Velasquez y L. A. Rodríguez del Bosque. 2005. Virulencia de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, nativos del occidente de México, contra larvas de tercer estadio de *Phyllophaga crinita* (Coleoptera: Melolonthidae) bajo condiciones de laboratorio. *Fitosanidad* 9(1): 33-36.
- Peck, D. C. 1998. Distribución y reconocimiento de salivazo de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en la costa Caribe de Colombia. *Pasturas Tropicales* 24(1): 1-15.
- Poprawski, T. J. and W. N. Yule. 1991. Incidence of Fungi in natural population of *Phyllophaga* spp. and susceptibility of *Phyllophaga anxia* (LeConte) (Col., Scarabaeidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina). *J. Appl. Ent.* 112: 359-365.
- Rodríguez del Bosque, L. A. 1988. *Phyllophaga crinita* (Coleoptera: Melolonthidae): Historia de una plaga del suelo (1955-1988). *Memorias: III Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo.* Soc. Mex.

Entomol., Morelia, Michoacán, México.

Rogg, H. S. 2001. Manejo integrado de plagas en cultivos de la Amazonía. Quito, Ecuador.

Shannon, P. J., S. M. Smith y E. Hidalgo. 1993. Evaluación en el laboratorio de aislamientos costarricenses y exóticos de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae), Diversidad y manejo de plagas subterráneas. Publicación Especial Soc. Mex. Entomología e Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México.

Vélez, P. A., F. J. Posada, P. Marin, M. T. González, E. Osorio y A. E. Bustillo. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Investigaciones del Café. Boletín Técnico No. 17, p. 371.