POSIBILIDADES DEL USO DE Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae PARA EL CONTROL DEL PICUDO RAYADO, Metamasius hemipterus, EN CAÑA DE AZÚCAR

Jorge Mendoza^{1/}; Patricia Gómez^{2/}; Darío Gualle^{2/}

El picudo rayado de la caña de azúcar, *Metamasius hemipterus*, es un insecto comúnmente reportado como plaga de la caña de azúcar en varios países de América Tropical y Sub-tropical (Sosa, Shine y Tai, 1997; Mendonca, 1996; Guagliumi, 1972). Risco (1968), lo consideró como una plaga de primera importancia para este cultivo en Ecuador y Bolivia, atribuyéndose pérdidas de hasta 15 % de la caña cosechable y 30% de la sacarosa extraíble; sin embargo, en un estudio más reciente, Mendoza, Ayora y Gualle (2006), no observaron diferencias significativas en la producción de caña y rendimiento de azúcar entre parcelas sometidas al uso de trampas y parcelas testigos.

Los adultos son atraídos por la fermentación que se produce en las heridas o cortes de los tallos, colocan sus huevos y, las larvas hacen galerías en los tejidos sanos y dañados del tallo (Figura 1). Comúnmente el manejo de esta plaga consiste en el uso de trampas construidas con caña guadua o fundas plásticas que contienen trozos de tallos de caña madura (20 cm. de largo), machacados y sumergidos o no en una solución de insecticida. Adicionalmente se recomienda el uso de variedades resistentes, disminuir los residuos de cosecha en el campo, cortar a nivel del suelo y, minimizar los daños causados por ratas y otros insectos barrenadores (Guagliumi, 1972; Risco, 1968; Sosa, Shine, Tai, 1997; Mendoza, 2004).

El uso de hongos entomopatógenos es una alternativa que se ha venido abriendo espacio en los programas de manejo de plagas en caña de azúcar. Actualmente se conocen más de 700 especies de hongos que afectan a insectos de diversos órdenes (Devoto, Gerding y France, 2003), algunos de los cuales están siendo utilizados exitosamente en programas de control biológico (Monzón, 2001). Por ahora, el grupo más importante de hongos entomopatógenos, con fines prácticos de manejo, esta constituido por *Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae* (Monzón. s.f.).

El control de curculiónidos con *Beauveria* spp ha sido estudiado por varios investigadores. Según Alves (1998), en condiciones de laboratorio pueden ser obtenidos de 85 a 95 % de mortalidad de adultos de *C. sordidus* expuestos a cebos infestados con *B. bassiana*. Batista Filho et al., (1995) manifiestan que *B. bassiana* redujo en 61 % la población de adultos de *C. sordidus* y que *B. amorpha* es una especie que puede ocurrir naturalmente, causando infección en cerca de 18 % de los adultos de esta plaga. Espinoza et al. (2004) encontraron hasta 46 % de mortalidad de adultos de *C. sordidus* cuando se utilizaron trampas con pseudotallo de plátano cebadas con *B. bassiana*. Carballo y Arias de López (1994) reportaron hasta 36 % de mortalidad de adultos de *C. sordidus* y hasta 80 % de *M. hemipterus* cuando usaron trampas de pseudotallo de banano cebadas con 5.8 x 10¹⁰ conidias/trampa (10 g/trampa). Por su parte, Chávez (s.f.) manifiesta que las aplicaciones de *B. bassiana* infectan hasta el 65 % de adultos de *M. hemipterus*. Estos resultados indican que este hongo puede ser de gran importancia para el control integrado de esta plaga en caña de azúcar.

^{1/} Entomólogo del CINCAE; 2/ Asistentes del CINCAE

En este artículo se presentan los resultados de cuatro experimentos, dos efectuados en laboratorio en que se determinó la patogenicidad de *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre el picudo rayado; y, dos experimentos, en invernadero y campo, en que se evaluó la eficacia de *B. bassiana* sobre este insecto.

1. Pruebas de patogenicidad en laboratorio

En el Experimento 1, se probaron cinco concentraciones (1 x 10⁴, 1 x 10⁵, 1 x 10⁶, 1 x 10⁷, 1 x 10⁸ conidias/ml) de *B. bassiana* CEPA Bb-P y un testigo absoluto. La unidad experimental estuvo constituida por un frasco de vidrio de 100 ml conteniendo papel filtro, algodón humedecido con agua destilada estéril, una rodaja de caña de azúcar y 3 adultos del picudo rayado. Se emplearon 45 adultos por tratamientos, distribuidos en tres repeticiones. La inoculación se efectuó mediante el método de inmersión de los insectos durante 30 segundos. Después de la inoculación, los adultos fueron confinados en los frascos de vidrio con rodaja de caña. Los registros de mortalidad se efectuaron diariamente, hasta 15 días después de la inoculación. Los adultos muertos fueron acondicionados en cámaras húmedas (caja petri conteniendo papel filtro y algodón humedecido con agua destilada estéril) para determinar la causa de mortalidad.

Los resultados de este experimento se presentan en el Cuadro 1. La ocurrencia de mortalidad de adultos del picudo rayado en todas las concentraciones de *B. bassiana* demuestran la patogenicidad de esta cepa sobre esta especie de insecto (Figura 2). El aumento de la dosis de *B. bassiana* proporcionó, en todos los casos, un incremento en la mortalidad de este insecto. Los mayores porcentajes se registraron con 1x10⁷ y 1x10⁸ conidias/ml, alcanzándose 82.2 y 84.5 % de mortalidad, respectivamente, siendo estadísticamente diferentes a los demás tratamientos. Con 1x10⁴ y 1x10⁵ conidias/ml se logró únicamente 2.23 y 6.70 % de mortalidad, siendo estadísticamente iguales al testigo absoluto. Con 1x10⁶ conidias/ml se alcanzó 33.3 % de mortalidad. Según Probit, la concentración letal media (CL50) de la cepa Bb-P de *B. bassiana* fue de 1.0 x10 ⁷ conidias/ml.

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad de adultos de *Metamasius hemipterus*, causado por *Beauveria bassiana*, en condiciones de laboratorio (n=45). CINCAE, Mayo del 2007

	TRATAMIENTOS	Montalidad (9/)		
Nº	Concentración (conidias/ml)	Mortalidad (%)		
1	0 (Testigo)	$0.00 c^{-1/}$		
2	$1x10^4$	2.23 c		
3	$1x10^5$	6.70 c		
4	$1x10^{6}$	33.30 b		
5	$1x10^{7}$	82.20 a		
6	$1x10^{8}$	84.50 a		

1/Promedios con la misma letra dentro de la columna no difieren estadísticamente entre sí, de acuerdo a la prueba de Tukey (p = 0.05)

En el Experimento 2, se probó la patogenicidad de tres cepas de *B. bassiana* y tres de *M. anisopliae* y un testigo absoluto. Para todas las cepas, se utilizó una concentración de $1x10^8$ conidias/ml. Se emplearon 60 adultos por tratamiento. El manejo de los insectos y el sistema de inoculación fue similar a lo indicado en el experimento anterior. Los registros de mortalidad se efectuaron diariamente, hasta 15 días después de la inoculación. Los adultos muertos fueron acondicionados en cámara húmeda para determinar la causa de mortalidad.

Los resultados mostraron que las cepas de ambos entomopatógenos fueron patogénicas sobre los adultos del picudo rayado, siendo estadísticamente diferentes al testigo. Entre las cepas de *M. anisopliae*, las mas patogénicas fueron aquellas aisladas de *Mahanarva andigena y Perkinsiella saccharicida*, con 91.7 y 90.0 % de mortalidad; y, en el caso de *B. bassiana*, la cepa mas patogénica fue aislada de *C. sordidus*, procedente de INIAP-Boliche con 96.7 % de mortalidad. Estadísticamente no hubo diferencia entre estas tres cepas, seguida de la cepa de *B. bassiana* aislada de *C. sordidus*, procedente de INIAP-Pichilingue, con 81.7 % de mortalidad. Las cepas de *M. anisopliae* y *B. bassiana* procedentes de la EARTH, Costa Rica, fueron menos patogénicas, siendo estadísticamente diferentes a las anteriores. La tasa de mortalidad entre las cepas evaluadas varió de 36.4 %, en la cepa *B. bassiana* procedente de la EARTH, Costa Rica, a 96.7 % en la cepa INIAP-Boliche, aislada de *C. sordidus* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de adultos de *Metamasius hemipterus*, causado por *Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae* en condiciones de laboratorio (26.5 ± 4.3°C) (n=60). CINCAE, Febrero a Marzo del 2008

	TRATAMIENTO	Mortalidad (%)	
Nº	Сера	Procedencia	1101111111111 (70)
1	Agua destilada	-	0.0 d ^{1/}
2	M. anisopliae (P. saccharicida)	Ingenio Valdez	90.0 ab
3	M. anisopliae (M. andigena)	Hacienda Cañaveral	91.7 ab
4	M. anisopliae (¿?)	EARTH- Costa Rica	40.0 c
5	B. bassiana (C. sordidus)	INIAP- Pichilingue	81.7 b
6	B. bassiana (C. sordidus)	INIAP - Boliche	96.7 a
7	B. bassiana (¿?)	EARTH- Costa Rica	36.4 с

CV = 14.4%

1/ Los datos originales fueron transformados a $\sqrt{x+1}$, previo el ADEVA. Promedios con la misma letra dentro de la columna no difieren estadísticamente entre sí, de acuerdo a la prueba de Tukey (p = 0.05).

2. Prueba de eficacia en invernadero y campo

En el Experimento 3, se probaron dosis y forma de aplicación de *B. bassiana* para el control del picudo rayado en condiciones de invernadero. Se estudiaron los siguientes tratamientos: 1) 5 g del arroz-hongo. 2) 10g del arroz-hongo, 3) 20 g del arroz-hongo, 4) Caña machacada sumergida en una suspensión de *B. bassiana* de 1x107 conidias / ml y

5) Testigo absoluto. En todos los tratamientos se utilizó la caña madura machacada como atrayente.

En los tratamientos 1, 2 y 3 se mezclaron el arroz-hongo con los trozos de caña machacada. En el tratamiento 4, los trozos de caña machacada fueron sumergidos por 10 minutos en una suspensión de $B.\ bassiana$, con una concentración de 1×10^7 conidias/ml. En el testigo absoluto se utilizó únicamente caña madura machacada. Se utilizó un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por una trampa con 15 adultos del picudo rayado. La trampa consistió de un recipiente plástico de 3 L de capacidad, con tapa y tres aberturas laterales de 6 cm x 6 cm. (Figura 3). Las trampas se mantuvieron en el invernadero a $24.4 \pm 3.^{\circ}$ C.

Diariamente se efectuaron observaciones para determinar la mortalidad de los insectos en prueba, hasta 15 días después de iniciado el experimento. Los adultos muertos fueron acondicionados en cámara húmeda para determinar la causa de mortalidad. En el Cuadro 3 se presentan los resultados de este experimento. Los mayores porcentajes de mortalidad se alcanzaron en los tratamientos 2, 3 y 1, con 68.4, 65.0 y 56.7 % de mortalidad, respectivamente. Estos tratamientos fueron estadísticamente similares entre sí, pero diferentes a los demás tratamientos. El tratamiento 4 fue estadísticamente igual al testigo.

Cuadro 3. Porcentaje de mortalidad de adultos de *Metamasius hemipterus*, causado por *Beauveria bassiana*, en condiciones de invernadero (24.4 ± 3°C) (n=60). CINCAE, Enero del 2008

	TRATAMIENTOS	Montalided (0/)			
Nº	Dosis	Mortalidad (%)			
1	5 g arroz-hongo	51.7 a ^{1/}			
2	10 g arroz-hongo	68.4 a			
3	20 g arroz-hongo	65.0 a			
4	Suspensión 1x10 ⁷ conidias/ml	6.7 b			
5	Solo atrayente	0.0 b			

CV % = 16.1

1/Los datos fueron transformados a $\sqrt{x+1}$ previo el ADEVA. Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí, de acuerdo a la prueba de Tukey (p = 0.05)

En el Experimento 4, se inició una serie de evaluaciones para determinar la eficacia de *B. bassiana* para el control del picudo rayado en campo. La primera prueba se instaló en el cantero 060564, lote 066403, del ingenio San Carlos; y, la segunda prueba en el ingenio ECUDOS, cantero Flor del bosque 02.

En estos experimentos se probaron cuatro tratamientos: 1) 10 g de arroz-hongo + caña machacada, 2) caña machacada sumergida en una suspensión de 1 x 10⁹ conidias de *B. bassiana*/ml, 3) Testigo químico, caña machacada sumergida por 12 horas en una solución de agua + Sevin (2.5 g/L de agua) + melaza; y, 4) Testigo absoluto, sólo caña madura machacada. Para la evaluación de estos tratamientos, se utilizaron trampas constituidas por baldes plásticos de 4 L de capacidad, con tres aberturas laterales. Para cada tratamiento se utilizaron 8 trampas. Las evaluaciones se efectuaron a los 3, 6, 9 y 15 días después de colocadas las trampas. A los 15 días se hizo la renovación del

sustrato en cada tratamiento, efectuándose dos renovaciones en cada localidad. En cada evaluación se registró el número de adultos del picudo rayado por trampa y se recolectaron aquellos capturados en los tratamientos 1, 2 y 4, los cuales se llevaron al laboratorio para determinar la mortalidad causada por *B. bassiana*.

La mortalidad de adultos del picudo rayado por *B. bassiana* en los tratamientos 1 y 2 confirman la patogenicidad de este entomopatógeno sobre esta plaga, aunque en niveles relativamente bajos. En ambas localidades, la mayor mortalidad se presentó en los individuos recolectados a los 3 días después de colocadas las trampas, alcanzando 17.4 y 11.8 % en los tratamientos 2 y 1, en Ecudos y San Carlos, respectivamente. Por otra parte, la sobrevivencia del patógeno fue mayor en la formulación arroz-hongo que en la suspensión. Esto se debe posiblemente a que en la suspensión las conidias inician su proceso germinativo inmediatamente después de entrar en contacto con el agua, quedando activas o infectivas durante poco tiempo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Porcentaje de mortalidad de adultos de *Metamasius hemipterus* causado por *Beauveria bassiana*, a los 3, 6, 9 y 15 días después de colocadas las trampas, en los ingenios San Carlos y ECUDOS. 2008

Tratamientos	San Carlos			ECUDOS				
Tratamientos	3	6	9	15	3	6	9	15
B. bassiana, 10 g/trampa	11.8	5.5	3.5	5.2	6.7	5.1	4.6	11.7
B bassiana 1x10 ⁹ conidias/ml	11.2	3.6	0.0	0.0	17.4	2.2	1.0	3.6
Testigo absoluto	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Estos resultados abren la posibilidad del uso de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en los programas de control del picudo rayado en caña de azúcar, usándose como un insecticida biológico mezclado con la caña madura machacada como atrayente para el insecto. Además, esta medida de control se puede integrar o complementar con otras, como: corte de tallos a nivel del suelo, evitar heridas causadas por otros insectos y ratas, rajaduras del tallo, disminuir los residuos de cosecha en el campo, etc.

5. BIBLIOGRAFIA

- ALVES, S. B. 1998. Fungos entomopatogénicos. In. Controle microbiano de insetos. 2da. Ed. Piracicaba, Brasil, FEALQ. pp 289-381
- BATISTA FILHO, A.: LEITE, L. G.; RAGA, A.; SATO, M. E.; OLIVEIRA, J. A. 1995. Utilizacao de *Beauveria bassiana* (Balls.) Vuill. no manejo de *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824, em Miracatu, SP. Biológico 57: 17-19
- CARBALLO, V.; ARIAS DE LOPEZ, M. 1994. Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control de *Cosmopolites sordidus* y *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae) en condiciones de campo. CATIE, Costa Rica, Revista MIPE, 31:22-24

- DEVOTO, L.; GERDING, M.; FRANCE, A. 2003. Hongos entomopatógenos: Una alternativa para la obtención de biopesticidas. Informativo Agropecuario, BIOLECHE INIA QUILAMAPU. http://www.inia.cl/cobertura/quilamapu/bioleche/BOLETIN23.html
- ESPINOZA, A.; VIVAS, L.; LARA, E.; PICO, J. 2004. Manejo del picudo negro (*Cosmopolites sordidus* Germar) con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Bals. Vuill.
- GUAGLIUMI, P. 1972. Pragas da cana de acucar. Nordeste do Brasil. Instituto do acucar e do alcohol. Divisao Administrativa. Servicio documentacao. Brasil. 622 p.
- MENDONCA, A. 1996. Pragas da cana de acucar. Maceio, Brasil. Insetos & Cia. 239 p.
- MENDOZA, J. 2004. Guía para el reconocimiento y manejo de insectos plagas y roedores de la caña de azúcar en el Ecuador. Publicación Técnica Nº 2. 2^{da}. Edición. CINCAE, El Triunfo, Ecuador. 34 p.
- MENDOZA, J.; AYORA, A.; GUALLE, D. 2006. Efecto del picudo rayado, *Metamasius hemipterus* L., sobre la producción y rendimiento de la caña de azúcar. En: Memorias del VI Congreso de ATALAC, Guayaquil, Ecuador. 12-15 septiembre, 2006. AETA, v.1 p. 119-124
- MONZÓN, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas, CATIE, Costa Rica. N° 63. pp 95 103
- MONZÓN, A. (s.f.). Producción y uso de hongos Entomopatógenos. FUNICA; CATIE. Nicaragua.63p.
- RISCO, S. 1968. *Metamasius hemipterus* L. "gorgojo rayado de la caña de azúcar". Control del insecto en los ingenios "San Carlos" y "Valdez" en el Ecuador. Ingenio San Carlos, Guayaquil, Ecuador. 20 p (mecanografiado).
- SOSA, O.; SHINE, J.; TAI, P. Y. P. 1997. West Indian Cane Weevil (Coleoptera: Curculionidae): A new pest of sugarcane in Florida. Journal of Economic Entomology. 90(2):634-638.

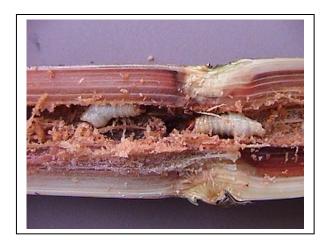


Figura 1. Daños causados por larvas del picudo rayado, *Metamasius hemipterus*, en caña de azúcar



Figura 3. Trampa utilizada para la captura del picudo rayado



Figura 2. Adultos del picudo rayado atacados por *Beauveria bassiana*.