

PERSISTENCIA DE *Bacillus thuringiensis* CEPA B148 Y *Metarhizium anisopliae* CEPA EH-156/3 EN EL CULTIVO DE CAÑA DE AZÚCAR EN EL ESTADO DE MORELOS

¹Eduiw Yahir Ocampo-Ramírez., ²Iván Arenas-Sosa., ³Víctor Manuel Hernández-Velázquez, ³Laura Patricia Lina-García y ²Guadalupe Peña-Chora.-¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, ²Centro de Investigaciones Biológicas, ³Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del estado de Morelos. Av. Universidad No. 1001, Col Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62209. eyor_go06@hotmail.com.

RESUMEN: Se realizó un experimento en el cual se evaluó la persistencia sobre el control del barrenador de la caña de azúcar *Diatraea magnifactella* utilizando la bacteria *Bacillus thuringiensis* y el hongo *Metarhizium anisopliae* asperjados sin formular sobre hojas de caña de azúcar y expuestos a las condiciones ambientales diferentes periodos de tiempo hasta cumplirse las 72 horas, esto durante el ciclo otoño del 2013. De los dos agentes de control biológico, el que mayor persistencia presento sobre la mortalidad del barrenador de la caña fue *Bacillus thuringiensis* expuesto 0 horas (sin exposición a las condiciones ambientales) controlando el 75% de las larvas y el mismo agente pero expuesto únicamente 3 horas con un 55% de control, así mismo *Metarhizium anisopliae* sin exponer (0 horas) presento el mismo porcentaje de control que el tratamiento anteriormente mencionado.

Palabras clave: Persistencia, Entomopatógenos, Barrenador, Caña de Azúcar, Morelos.

Persistence of *Bacillus thuringiensis* and *Metarhizium anisopliae* Cepa B148 EH-156/3 growing sugar in the state of Morelos

ABSTRACT: An experiment was carried out in order to evaluate the persistence of the bacterium *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) and the fungus *Metarhizium anisopliae* (*Ma*) to control the sugarcane borer, *Diatraea magnifactella* (*Dm*). Unformulated *Bt* and *Ma* were sprayed on sugarcane leaves and exposed to environmental conditions during different time periods until to 72 hours (0, 3, etc. hours), in autumn 2013. The highest persistence was showed by the treatments: *Bt* (0 hours, exposed to environmental conditions) with 75% of *Dm* larval mortality; and *Bt* (3 hours, exposed to environmental conditions) and *Ma* (0 hours, no exposed to environmental conditions) both with 55% of *Dm* larval mortality.

Key words: Persistence, Entomopathogen, Sugarcane borer, Sugarcane, Morelos.

Introducción

En México la industria azucarera es importante por varias razones, siendo fundamental en la generación de empleos el medio rural, ya que dependen más de 2 millones de mexicanos de su producción y actividades relacionadas. La producción de caña y su procesamiento se extiende a quince estados de la República Mexicana, ocupando a nivel nacional el quinto lugar en cuanto a superficie cultivada de los principales productos agrícolas. El valor de la producción de azúcar representa el 0.5% del PIB y alrededor del 12% del producto generado por el sector de la industria alimentaria (Servín *et al.*, 2003). Sin embargo, existen diferentes factores que intervienen o limitan la manifestación adecuada del rendimiento de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) entre los cuales están el clima donde se cultiva, la disponibilidad de agua, el tipo de suelo donde se siembra, el genotipo utilizado, así como la presencia de plagas y enfermedades durante su desarrollo (Aguilar, 2011). Entre las especies de insectos que se alimentan de la caña existen varios que pertenecen al orden Lepidóptera, conocidas como barrenadores de la caña de azúcar, de las cuales la principal especie que se encuentra en el estado de Morelos es *Diatraea magnifactella* (CESVMOR, 2009). Los principales daños que causa esta plaga son muerte de plantas jóvenes, debilitamiento del tejido de sostén con lo que se ocasiona acame de las

mismas, así como una considerable reducción del contenido de sacarosa (10% a 20%) dependiendo del porcentaje de infestación, todo esto en conjunto reduce el rendimiento y la calidad del cultivo, ocasionando pérdidas económicas considerables a los productores dedicados a esta actividad, por lo que recurren a la aplicación preventiva y correctivas de insecticidas químicos de manera indiscriminada. Por otra parte, en los últimos años se ha incrementado el interés de los técnicos, agricultores, instancias gubernamentales, así como el público en general, sobre la utilización del control biológico de plagas, como una alternativa de bajo impacto ambiental, además de ser una herramienta segura para los productores y consumidores. Este interés se ha visto reflejado en la creciente demanda de agentes de control biológico (Salas y Salazar, 2003). Es por esto que se ha recurrido a dos organismos benéficos u entomopatógenos ampliamente utilizados para el control de otras especies de insectos plaga, *Bacillus thuringiensis* que ha sido objeto de muchos estudios sobre su principio activo (mezcal de espóra-cristal) destacándose la búsqueda de cepas cada vez más potentes y mejoradas (Rosas, 2008). *Metarhizium anisopliae* por su parte, ha sido objeto de numerosos estudios en donde se ha comprobado su efectividad para el control de lepidópteros con lo cual junto con *B. thuringiensis* han ganado terreno en el mundo de los Bioinsecticidas. Una de las herramientas más eficaces sobre la toma de decisión y selección de un pesticida microbiológico es la vida media estimada del agente biológico, así como su comportamiento en campo con respecto a las condiciones ambientales (De Lara *et al.*, 2005). Existen pocos estudios que evalúen su efectividad y persistencia en una línea de tiempo prolongada, por lo que está claro que es necesario realizar estudios que demuestren su efectividad *versus* tiempo, por lo que el objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la persistencia en campo de *M. anisopliae* y *B. thuringiensis*.

Materiales y Método

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Parasitología Vegetal, perteneciente al Centro de Investigaciones Biológicas, ubicado en las coordenadas geográficas N18.982997 ° y W99.236670° a una altura de 1905 msnm en Cuernavaca Morelos. Se utilizaron las cepas Bar148 de *B. thuringiensis* nativa del Estado de Morelos (Fonseca, 2011) y EH-156 monospórica de *M. anisopliae* proveniente de la colección del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (SAGARPA-DGSV), ambas cepas fueron sembradas y cultivadas en medios propios de cada agente HCT para *B. thuringiensis* y PDA para *M. anisopliae*. Se usaron 64 plantas de caña de la variedad CP.72-2086 de 2 meses de haber sido sembradas en macetas de plástico negro de 12 pulgadas. El diseño experimental fue un Factorial 3x11 bajo un Diseño Completamente al Azar (DECA) con 4 repeticiones, utilizando como tratamientos los dos agentes de control biológico, *B. thuringiensis* a una concentración de 40 mg de proteína total por litro de agua y *M. anisopliae* utilizando una concentración de 1×10^{12} conidios por ha⁻¹, además se utilizó agua potable como testigo negativo. Todos los tratamientos se aplicaron sobre las plantas con un adherente, surfactante, penetrante (Agrex F®) y se tomaron muestras de follaje en forma de disco de 2.835 cm² a las 0, 3, 6, 12, 24, 30, 36, 48, 54, 60, 72 horas de haber sido expuestos a condiciones ambientales, conformando un total de 33 tratamientos. Posteriormente, se realizó un bioensayo para determinar la mortalidad en cada uno de los tiempos, en donde la unidad experimental consistió en 5 cajas plásticas previamente esterilizadas, con un disco de follaje y una larva neonata de *Diatraea magnifactella* en cada una. Se agregó 3 ml de agar y se colocó un papel filtro sobre este para conservar el follaje fresco. Se observó la mortalidad de las larvas hasta los dos días en los tratamientos que contenían *B. thuringiensis*, y cinco días en los que contenía *M. anisopliae*, ambas mortalidades fueron corregidas con el método de Aboot. Además, se analizó la viabilidad de los agentes cuantificando el número de esporas y conidios en cada una de las muestras y

de las mismas, se sembraron en medio HCT con previo choque térmico para observar las unidades formadoras de colonias (UFC) en *B. thuringiensis* a las 24 horas y medio ADS con antibiótico para observarlas en *M. anisopliae* a los 4 días. Los datos fueron analizados con el programa SAS (Statistical Analysis System) y se realizó una Comparación Múltiple de Medias DMS al 0.05%.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos en el bioensayo indican que los tratamiento en donde mayor mortalidad se observó fueron los que contenían follaje con *B. thuringiensis* expuesto a las 0 horas (Bt0h) con un 75% ($5\% \pm$) de mortalidad, así como los que contenían follaje con *B. thuringiensis* expuesto a las 3 horas y *M. anisopliae* expuesto a las 0 horas, mostrando ambos tratamientos un 55% ($9.6\% \pm$ y $0\% \pm$ respectivamente) de mortalidad sobre *Datraea magnifactella*. Al agregar una línea de tendencia sobre la media de los datos se observó que *B. thuringiensis* sigue ocasionando mortalidad alrededor de las 68 horas y *M. anisopliae* alrededor de las 54 horas. De acuerdo con el DMS se observó que existe una disminución constante del número de esporas por cm^2 hasta las 36 horas, sin embargo, se aprecia también que de las 0 a las 6 horas existe cierta similitud en cuanto al número de esporas encontradas, estando presentes en el follaje 54233 a 52028 esporas por lo que no se presentan en estos periodos de exposición diferencias significativas. Por otro lado, a partir de las 48 horas la disminución del número de esporas es menos marcada, por lo que no existen diferencias significativas. La cantidad de esporas viables presentó una reducción constante desde las 0 horas hasta las 36 horas (49043 a 17716) y no existieron diferencias significativas a partir de las 48 horas donde la disminución de la viabilidad no mostró diferencias significativas hasta las 72 horas. Por su parte, el número de conidios presentes por cm^2 muestra un constante descenso hasta establecerse a las 54 horas con 970 conidios y se mantuvo sin diferencias significativas hasta el último periodo de muestreo donde se registraron 527 conidios, sin embargo, la viabilidad de los mismos se mantiene constante de las 0 a las 6 horas de exposición (5027 a 4409 conidios viables) y comienza a perderla a partir de las 12 horas hasta las 54 horas (3483 a 794 conidios viables) que es donde establece y deja de mostrar diferencias significativas entre los siguientes periodos de exposición.

Conclusiones

Las condiciones ambientales son limitantes para la persistencia tanto de *B. thuringiensis* y *M. anisopliae*, pues se observa una disminución en la viabilidad de las esporas y los conidios respectivamente.

Los resultados obtenidos en los bioensayos mostraron que en el transcurso del tiempo después de la aplicación, hay una disminución en el porcentaje de mortalidad sobre larvas neonatas de *D. magnifaactella*, alcanzando tan sólo el 5% después de 72 horas de haber aplicado en follaje con *B. thuringiensis*.

Es necesario desarrollar formulados para ambos microorganismos que protejan los conidios de *M. anisopliae* y el complejo spora-cristal de *B. thuringiensis* de la luz uv, principalmente, lo cual permitirá aumentar la persistencia de ambos microorganismos en campo y tener un mejor control de larvas de *D. magnifactella*.

Literatura Citada

Aguilar, N. 2011. Ficha Técnica del cultivo de Caña de Azúcar. Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Córdoba, Veracruz

México.http://www.sipove.gob.mx/Doc_SIPOVE/SVegetalPublica/cana/Fichas/FT_Cana_de_Azucar.pdf

- CESVMOR. 2009. Muestreo de barrenadores de caña de azúcar (*Diatraea magnifactella* y *Eoreuma loftini*). Monitor Agrícola. 3(5): 24 p
- De Lara M., R. Antonio, S. Batista y M. De Oliveira. 2005. Persistencia en Campo de *Bacillusthuringiensis* en hojas de maíz (*Zea maíz* L.). Jornada Brasileña de Microbiología. Departamento de Entomología, Fitopatología y Zoología Agrícola, Escuela Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidd de São Paulo. Piracicaba, SP, Brasil. 36: 309-314.
- Fonseca, G. 2011. Aislamiento y virulencia de *Bacillus thuringiensis* sobre *Diatraea magnifactella*. Tesis de Maestría en Biotecnología. Centro de Investigación en Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 45 p
- Rosas, N. 2008. Advances in developing *Bacillus thuringiensis*-based insecticide formulations. Rev. Colomb. Biotecnol. 10(1): 49.
- Salas, M. y E. Salazar. 2003. Importancia del uso adecuado de agentes de control biológico. Acta Universitaria 13(1): 29-35.
- Servín R., R. Valseca, W. Escalante, J. Rodríguez, M. Pastelin, D. Romero, 2003. Azúcar. Colegio de Posgraduados. Fundación Produce de Veracruz, A.C. Campus Córdoba. PaginaWeb:<http://www.cofupro.org.mx/cofupro/Publicacion/Archivos/penit11.pdf>. Consulta de Internet. Consultado: 18/05/2012.