

## INFECCION DE BEAVERIA BASSIANA (BALS.) (DEUTEROMYCETES: MONILIALES) SOBRE SPODOP- TERA FRUGIPERDA (SMITH) EN LABORATORIO<sup>1</sup>

Doris Zúñiga Dávila<sup>2</sup>Inés Redolfi de Huiza<sup>2</sup>

### RESUMEN

En el Laboratorio de Micología del Departamento de Biología de la UNA, se inocularon esporas de *B. bassiana* sobre huevos y larvas de III estadio de *S. frugiperda*. Se utilizaron 2 tratamientos: (A) una suspensión del hongo a  $12.8 \times 10^6$  conidias/ml, y (B) espolvoreo. En larvas re-

cién emergidas de huevos inoculados el porcentaje de infección con (A) fue del 71.55% y con (B) de 77.44%. En larvas de III estadio el porcentaje de infección con (A) fue de 33.33% y con (B) 78.88%.

### SUMMARY

*S. frugiperda* eggs and III stage larvae were inoculated with *B. bassiana* spores at the Mycology Laboratory (Biology Department) UNA. Two treatments were used: (A) a  $12.8 \times 10^6$  conidia/ml. fungus suspension, and (B)

sprinkle. In recently emerged larvae from inoculated eggs, the infection percentage with (A) was 71.55% and with (B) 77.44%. In III stage larvae infection percentage was 33.33% for (A) and 78.88% for (B)

### INTRODUCCION

En los últimos años ha aumentado el interés en las investigaciones sobre hongos entomófagos, debido a que las epizootias causadas por ellos han jugado un papel determinante en la regulación de poblaciones de Insectos.

Una de las principales especies entomófagas es *Beauveria bassiana*, que parasita principalmente a Coleoptera y Lepidoptera. Sobre ella se han llevado a cabo numerosos estudios en diversas partes del mundo, principalmente Rusia, Francia y Estados Unidos.

Según Ferrón (1978) y De Bach (1975) la infección por el hongo se lleva a cabo generalmente a través del integumento del insecto, debido a ciertos enzimas producidas por el hongo, que disuelven la cutícula, expandiéndose posteriormente dentro de la cavidad del cuerpo produciendo finalmente la muerte. Luego el hongo emerge del cuerpo del insecto cubriéndolo con material fungoso característico, de ahí el nombre de "muscardina" que recuerda en cierta forma al bombón francés.

En 1954 MacLeod (De Bach, 1975) revisó el género *Beauveria* y redujo las 14 especies existentes a dos: *B. bassiana* y *B. brongniarti*, determinando así mismo que este género es responsable de la enfermedad de aproximadamente 175 especies de insectos en los Estados Unidos.

Los trabajos más recientes llevados a cabo con *Beauveria* se refieren al uso de Boverin (una preparación Myco-insecticida). Ignoffo y col. (1979) llevaron a cabo estudios en laboratorio y campo con Boverin (5.0%), el equivalente de  $7.4 \times 10^{14}$  conidia/ha, determinaron que reduce la población de larvas de *Trichoplusia ni* en el campo en un 50% y el daño a las hojas, en un 87%.

En el Perú, Ayquipa (1975) registró por primera vez la presencia de *B. bassiana* parasitando a *Diatraea saccharalis* y a puparios de su parásito *Paratheresia claripalpis*. Aparte de éste, todos los registros son comunicaciones personales de observaciones realizadas en campo. Cisneros (1980) destaca su distribución en la ceja de selva infectando principalmente a la broca del café.

Son pocos los trabajos llevados a cabo sobre la infección de *S. frugiperda* por *B. bassiana*. Gardner y otros (1978, 1979) estudiaron la alteración de las proteínas de la hemolinfa de *S. frugiperda*, por infección y también el efecto de la edad del hospedero, tasa de infección y can-

tidad de inóculo sobre la susceptibilidad de *S. frugiperda* por *B. bassiana*.

En el Perú no se ha registrado hasta el momento ningún hallazgo sobre *S. frugiperda* parasitada por *B. bassiana*.

En el presente trabajo se utilizó como hospedero a *S. frugiperda*, por ser una plaga clave del cultivo de maíz y que carece de controladores naturales efectivos. Su comportamiento larval en el cogollo y pupal en el suelo harían factible la aplicación del hongo para su control.

El objetivo de este trabajo es determinar el grado de infección de *B. bassiana* sobre huevos y larvas de *S. frugiperda* en laboratorio.

### MATERIALES Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Micología del Departamento de Biología de la UNA.

*Beauveria bassiana* fue obtenida de larvas de *Diatraea saccharalis* en campo de maíz de La Molina por el Ing. Guillermo Sánchez. Los huevos, larvas y pupas de *Spodoptera* fueron facilitados por la Sección de Crianza de Insectos del Departamento de Entomología de la UNA. El hongo fue aislado y mantenido en medio PDA a  $24 \pm 1$  C. Se llevaron a cabo 2 tratamientos tanto para huevos como para larvas con 3 repeticiones cada uno. El diseño experimental fue completamente randomizado al azar.

**Tratamiento A:** una suspensión del hongo en solución salina al 0.85% a una concentración de  $12.8 \times 10^6$  conidias/ml se inoculó a 30 huevos próximos a eclosionar, y a 30 larvas de III estadio con ayuda de un pincel (método citado por Ferrón, 1978 y Timonin, 1980).

Gardner y otros (1979) determinaron que la concentración de  $9.5 \times 10^6$  conidias/ml aplicadas a *S. frugiperda* producía la mayor mortalidad en menor tiempo.

**Tratamiento B:** se espolvoreó el hongo directamente sobre 30 huevos y 30 larvas.

Los testigos no sufrieron ningún tratamiento.

Los huevos y larvas fueron acondicionados en placas Petri con papel filtro húmedo y trozos de hojas de cogollo de maíz a  $24 \pm 1$  C.

Para determinar la infección, las observaciones se hicieron cada 24 horas durante 10 días.

1.— Trabajo presentado en la XXIV Convención Nacional de Entomología, 25-30 de Octubre de 1981. Tacna-Perú.

2 Bióloga. Departamento de Biología de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Apartado 456 - Lima.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro 1 se puede observar los promedios de porcentajes de eclosión de huevos inoculados con ambos tratamientos y el testigo, los cuales variaron entre 75 a 78%, no existiendo diferencia significativa entre ellos.

**CUADRO 1: ECLOSION DE HUEVOS DE SPODOPTERA FRUGIPERDA INOCULADOS CON BEAUVERIA BASSIANA (BALS.) EN LABORATORIO A 23 ± 1C.**

REP.	TRATAMIENTO		TESTIGO %
	A%	B%	
I	86.66	73.33	68.48
II	73.33	73.33	79.99
III	73.33	80	81.66
Prom.	77.77	75.55	76.77

La figura 1A muestra un huevo infestado con el hongo, el cual se hizo evidente a las 48 horas. Esto ocurrió con el tratamiento B en un promedio de 2.2%.

La inoculación próxima a la eclosión explica el bajo poder de infección en los huevos, pero en pruebas preliminares llevadas a cabo con huevos recién colocados se obtuvo resultados similares, lo cual coincide con lo seña-

lado por Lappa y Goral (1972, 1974) y Fargues (1973), que al ser el estado de huevo generalmente de corta duración la enfermedad se manifiesta posteriormente en larvas de primer estadio.

El cuadro 2 muestra el porcentaje de infección de larvas recién emergidas de huevos inoculados con *Beauveria*, no existiendo diferencia significativa entre ambos tratamientos. En la figura 1B se puede observar la infección en dichas larvas. El gráfico 1 muestra que el tratamiento B produce infección hasta las 72 horas, con el mayor porcentaje de larvas muertas (63.6%) a las 48 horas; mientras que con el tratamiento A mueren hasta las 96 horas con el mayor porcentaje (61.42%) a las 72 horas.

**CUADRO 2: MORTALIDAD DE LARVAS RECIEN EMERGIDAS DE HUEVOS DE S. FRUGIPERDA INOCULADOS CON B. BASSIANA EN LABORATORIO A 23 ± 1C**

REP.	TRATAMIENTO	
	A%	B%
I	69.23	85.11
II	63.63	73.91
III	81.81	72.72
Prom.	71.55	77.44

En el cuadro 3 se observa la infección de larvas de III estadio por *Beauveria* existiendo diferencia altamente significativa entre los tratamientos. El gráfico 3 muestra esta diferencia según la prueba de DLS. En estas larvas hubo muerte por bacteriosis en los tratamientos y testigos pero sin diferencias significativas entre ellos.

**CUADRO 3: MORTALIDAD DE LARVAS DE III ESTADIO DE S. FRUGIPERDA POR B. BASSIANA EN LABORATORIO A 23 ± 1C**

REP.	TRATAMIENTO	
	A%	B%
I	23.33	90.00
II	36.66	66.66
III	40.00	80.00
Prom.	33.33	78.88

CV = 14.46%

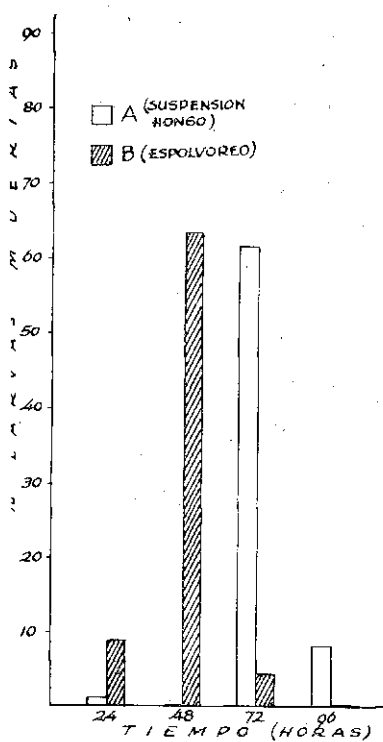
La muerte por bacteriosis es fácilmente observable ya que las larvas se presentan deshidratadas y negras, en



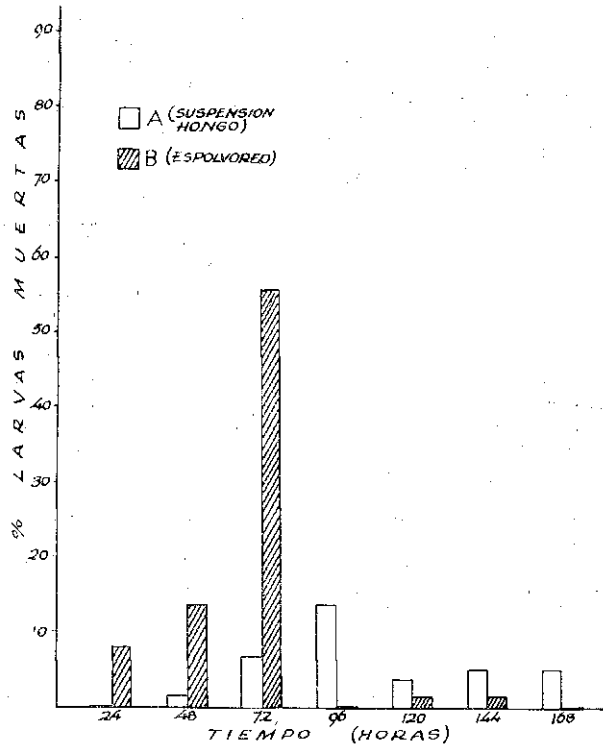
FIGURA 1

INFECCION DE S. FRUGIPERDA POR B. BASSIANA

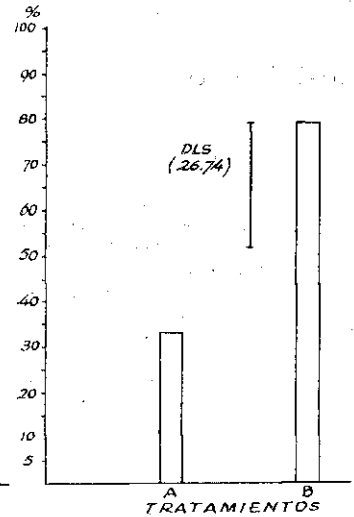
- A: huevo infectado.
- B: larva de primer estadio infectada
- C: larva III: 1, enferma; 2, sana
- D: avance de la infección en larva II: 1, a las 20 horas; 2, a las 30 horas; 3, a las 48 horas.
- E: pupas
- F: adultos: 1, enfermo; 2, sano.



**GRÁFICO 1:** PORCENTAJE DE LARVAS RECIÉN EMERGIDAS DE HUEVOS INOCULADOS MUERTAS POR INFECCIÓN DE *BEAUVERIA* CADA 24 HORAS.



**GRÁFICO 2:** PORCENTAJE DE LARVAS DE III ESTADIO DE *S. FRUGIPERDA* MUERTAS POR INFECCIÓN DE *BEAUVERIA* CADA 24 HORAS.



**GRÁFICO 3:** PRUEBA DE DLS (0.01) — 26.74% PARA LARVAS DE III ESTADIO DE *S. FRUGIPERDA* INOCULADAS CON *B. BASSIANA*.

cambió las atacadas por el hongo se hinchan primero (fig. 1C y 1D), se tornan de color rosado, apareciendo posteriormente una cubierta algodonosa blanca que corresponde a las fructificaciones del hongo. El color rosado que toma las larvas se deben según Ferron (1978) al pigmento cosporein producido por el hongo. Basyouni y otros (1968), identificaron otros dos pigmentos amarillos: bassianin y tenellin.

El gráfico 2 muestra que con el tratamiento A las larvas mueren hasta las 168 horas siendo el porcentaje máximo (13.3%) a las 96 horas, mientras que con el tratamiento B las larvas mueren hasta las 144 horas con el mayor porcentaje (55.5%) a las 72 horas.

Según los cuadros 2 y 3 y gráficos 1 y 2., el tratamiento B es más efectivo y tarda menos tiempo en producir la infección en las larvas que el tratamiento A. Esto se debe al efecto producido por una mayor concentración de esporas citado por Ferron (1978).

También se puede observar que el tratamiento A es más efectivo en larvas recién emergidas que en las de III estadio; según De Bach (1975), existe una inmunidad por maduración en la cual las larvas jóvenes son más susceptibles que las larvas viejas para la mayoría de las enfermedades.

El hecho de que en las larvas de III estadio hubo bacteriosis y en las recién emergidas no, se debe a que las primeras fueron escogidas de una crianza masal donde es casi imposible evitar contaminación, en cambio las recién emergidas nacieron en condiciones casi estériles.

En pruebas preliminares a este trabajo, se inocularon

pupas de *S. frugiperda* con hongo en suspensión a la misma concentración, muriendo algunas pupas por el hongo; en la figura 1E, se puede apreciar la fructificación del hongo a través de los espiráculos. Es una de las pupas atacadas a la altura de la teca alares el adulto emergió con las alas atrofiadas fig. 1F.

Todos estos resultados concuerdan con Ferron (1978) quien afirma que todos los estados de desarrollo del insecto son susceptibles al ataque por hongos.

**CONCLUSIONES**

- En condiciones de laboratorio *Beauveria bassiana* infecta huevos, larvas y pupas de *S. frugiperda*.
- La acción de *B. bassiana* sobre huevos próximos a eclosionar generalmente se manifiesta en el primer estadio larval.
- En la infección de larvas recién emergidas de huevos inoculados, ambos tratamientos: suspensión del hongo y espolvoreo son efectivos, pero la acción del segundo es más rápida que el primero.
- La inoculación por espolvoreo es más efectiva que la de suspensión de hongos para larvas de III estadio.

**RECOMENDACIONES**

En vista de las numerosas observaciones sobre la acción de hongos entomófagos en sierra y selva del Perú, sería conveniente incentivar los estudios sobre los mismos como una alternativa de control natural.

## Agradecimientos

Al Biólogo Gabriel M. Gutiérrez-Correa e Ing. Hilda Gómez por la identificación de *Beauveria bassiana* (Bals.).

A la Bióloga Clorinda Vergara e Ing. Sánchez por facilitar el material de *Spodoptera* y *Beauveria*.

Al Dr. Fausto Cisneros, y a los señores Francisco Palomino y Daniel Gateño por las fotografías.

## LITERATURA CITADA

- AYUIPA, A. G., J. GARCIA A. y W. FERNANDEZ R. 1975. El hongo *B. bassiana* (Bals.) parásito de larvas de *Diatraea saccharalis* Fabr. y puparios de *Paratheresia claripalpis* Wulp. VIII Convención Nacional de Entomología. Resúmenes de los trabajos presentados. Tarapoto. Perú. pg. 38.
- BASYOUNI, S.H., BREWER, D., VINING, L.C. 1988. Pigments of the genus *Beauveria*. Can. J. Bot. 46:441-48.
- CISNEROS VERA, F. H. 1980. Principios del Control de las Plagas Agrícolas. Edit. Gráfica Pacific Press, S.A. pág. 87.
- DE BACH, P. 1975. Control Biológico de las Plagas de Insectos y Malas Hierbas. Tr. Carlos Manuel Castaños, 2da. Ed., Edit. Cont. S.A. México pág. 613-627-678.
- FARGUES J. 1973. Sensibilité des larves de *Leptinotarsa decemlineata* Say a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (fungi imperfecti) en présence en doses réduites d'insecticides. Ann Zool. Ecol. Anim. 5:231-246.
- FERRON, P. 1978. Biological Control of Insects Pests by Entomogenous Fungi. Ann. Rev. Entomol. 23:409-442.
- GARDNER, W. A., R. Noblet, 1978. Effects of host age, route of infection and quantity of inoculum on the susceptibility of *Heliothis virescens*, *Spodoptera eridania*, *Spodoptera frugiperda* to *Beauveria bassiana*, J. Ga. Entomol. Soc. 13 (3): 214-222.
- GARDNER, W. A., R.M. Sutton, R. Noblet. 1979. Effects of infection by *Beauveria bassiana* on Hemolymph Proteins of Noctuid Larvae. Ann. Entomol. Soc. Am. 72:224-228.
- IGNOFFO, C.M., C. GARCIA, O.A. ALYOSEMINA y N.V. LAPP. 1979. Laboratory and Field Studies with Boverin: a Mycoinsecticidal Preparation of *Beauveria bassiana*. Produced in the Soviet Union. Econ. Entomol. 72:562-565.
- LAPPA, N.V., GORAL, V.M., MARKYS, V.G. 1972. Action of Beauverin on eggs of *Eurygaster integriceps* Zakhstst Rosl. - Kev. 16: 23: 24.
- LAPPA, N. V., CORAL, V.M. 1974. The influence of Metarrhizone and Beauverin on Colorado beetle eggs. Zakhyst. Rosl. Kiev. 19: 68-71.
- TIMONIN, M.I. 1980 Possibility of using white and green muscardine fungi for control of cone and seed insect pests. Can. Ent. 112: 849-854.