

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill para el control biológico de trips (Thysanoptera: Thripidae) en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Cuba

Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill for the biological control of trips (Thysanoptera: Thripidae) in potato crop (*Solanum tuberosum* L.) in Cuba

Ana Ibis Elizondo Silva, Yamilé Baró Robaina, Yohana Gato Cárdenas, Yuramis Quesada Mola, Enrique Ponce Grijuela, Miguel Milán Labrada y Manuel Tejeda Piloto

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5ta. B y 5ta. F, Playa, La Habana, C.P. 11600, aelizondo@inisav.cu

RESUMEN

En Cuba una de las diversas tácticas de manejo que se utilizan para el control de *Thrips palmi* Karny en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) es la aplicación de bioplaguicidas. Estos bioplaguicidas son resultado de una selección rigurosa de cepas mediante investigaciones que demuestran la posibilidad de su utilización en el cultivo. Por ello se desarrollaron experimentos de laboratorio y campo con el objetivo de evaluar el efecto de la cepa LBBb-1234 del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill sobre trips. Para el experimento in vitro se seleccionaron ninfas de primero y segundo estadio, que posteriormente fueron inoculadas con las cepas LBBb-1234 y LBBb-1, esta última como variante de comparación. La inoculación se realizó con 1 mL de suspensión para cada cepa a la concentración de 10^9 conidios \cdot mL⁻¹, así como un testigo tratado con agua estéril. Las evaluaciones se realizaron a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas, cuantificando los individuos vivos y muertos. El experimento in vivo se realizó en parcelas de campo con un diseño de bloques al azar con tres variantes: LBBb-1234, LBMA-11 como variante de comparación y un testigo sin tratamiento. Los resultados de laboratorio mostraron que *B. bassiana* no presentó mortalidad a las 24 horas después del tratamiento. El mayor porcentaje de mortalidad lo alcanzó la cepa LBBb-1234 con un valor del 70 % a las 120 horas después del tratamiento. Los resultados de campo mostraron que la población de ninfas se redujo significativamente después de realizar el segundo tratamiento con los bioplaguicidas.

Palabras claves: *Beauveria bassiana*, entomopatógeno, trips, papa.

ABSTRACT

In Cuba biopesticides application is one of the diverse tactics of management that are used for the control of *Thrips palmi* Karny in potato crop (*Solanum tuberosum* L.). These biopesticides is been of a rigorous selection of strains by means of research that demonstrate the possibility of its use in potato crop. For it and with the objective to evaluate the effect of two strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill it has more than enough trips, laboratory experiments and fields were developed. For the experiment in vitro nymphs were selected of first and second instar that later on were inoculated with the strains LBBb - 1234 y LBBb-1, this last one as comparison variant. The inoculation was carried out with 1 suspension ml for each strain to the concentration of 10^9 conidios \cdot mL⁻¹, as well as a witness tried with sterile water. The evaluations were carried out at 24, 48, 72, 96 and 120 hours, quantifying the alive and dead individuals. The experiment in vivo was carried out at random in field parcels with a block design with three variants, LBBb-1234, LBMA-11 one as comparison variant and a witness without treatment. The laboratory results showed that *B. bassiana* presented mortality to 24 hours after the treatment. The biggest percentage of mortality reached it the strain LBBb-1234 with a value of 70 % at the 120 hours after the treatment. The field results showed that the population of nymphs decreased after carrying out the second treatment with the biopesticides.

Key words: *Beauveria bassiana*, entomopathogenic, trips, potato.

INTRODUCCIÓN

En Cuba una de las diversas tácticas de manejo que se utilizan para el control de *T. palmi* en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) es la aplicación de bioplaguicidas. Estos bioplaguicidas son resultado de una selección rigurosa de cepas mediante investigaciones de campo que demuestran la posibilidad de su utilización en el cultivo.

Los bioplaguicidas juegan un papel importante dentro del control biológico que tiende a reducir el uso indiscriminado de insecticidas químicos (Elizondo *et al.*, 2013). De aquí que la patogenicidad y la virulencia del entomopatógeno sean aspectos muy importantes a considerar en la valoración de la actividad sobre los trips (Elósegui y Elizondo, 2010), ya que no siempre

se cumplen los resultados esperados debido a errores objetivos cometidos en la selección y aplicación para diferentes condiciones de campo, así como subjetivos, al considerar su uso como sustituto de los plaguicidas químicos.

Con este objetivo se desarrollaron experimentos de laboratorio y campo para evaluar la eficacia de una nueva cepa de *B. bassiana* sobre los trips que afectan el cultivo de la papa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de la investigación se realizaron dos experimentos de laboratorio y campo. Se desarrolló una cría de *T. palmi* en el laboratorio de Entomología del INISAV. Se cultivaron plantas sanas de papa sembradas en macetas en condiciones aisladas. Las plantas fueron colocadas en una cámara de tres divisiones, cubierta con malla antiáfidos, paredes de acrílico, un termostato para el control de la temperatura y un cronómetro eléctrico para el control del fotoperíodo. Estas plantas se infestaron con adultos de trips colectados en el campo, hasta lograr completar el ciclo del insecto en varias generaciones; una vez lograda la reproducción masiva se introdujo regularmente nuevas plantas sanas, al mismo tiempo que se retiraron las deterioradas.

El experimento *in vitro* se realizó en el Laboratorio de Entomología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) bajo condiciones de temperatura entre 25-28 °C y humedad relativa del 85,5 %. Se seleccionaron ninfas de primero y segundo estadio, que posteriormente fueron inoculadas con las cepas LBBb-1234 y LBBb-1 como variante de comparación, así como un testigo tratado con agua estéril. La inoculación se realizó con 1 mL de suspensión a la concentración de 10^7 conidios \cdot mL⁻¹. Las evaluaciones se realizaron a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas, cuantificando las ninfas vivas y muertas. Los datos de los conteos fueron sometidos a análisis de varianza. Se establecieron las diferencias entre las variantes según la prueba de Tukey para $p < 0,05$, para lo que se utilizó el programa SPSS. Se calculó el porcentaje de mortalidad según la fórmula de Abbott (Ciba-Geigy, 1981).

El experimento *in vivo* se realizó en el área experimental del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ubicado en el municipio de San José de las Lajas, provincia de Mayabeque con el objetivo de deter-

minar la mortalidad de ninfas de trips de primero y segundo estadio causada por el bioplaguicida elaborado a partir de la cepa de *B. bassiana* más efectiva en laboratorio.

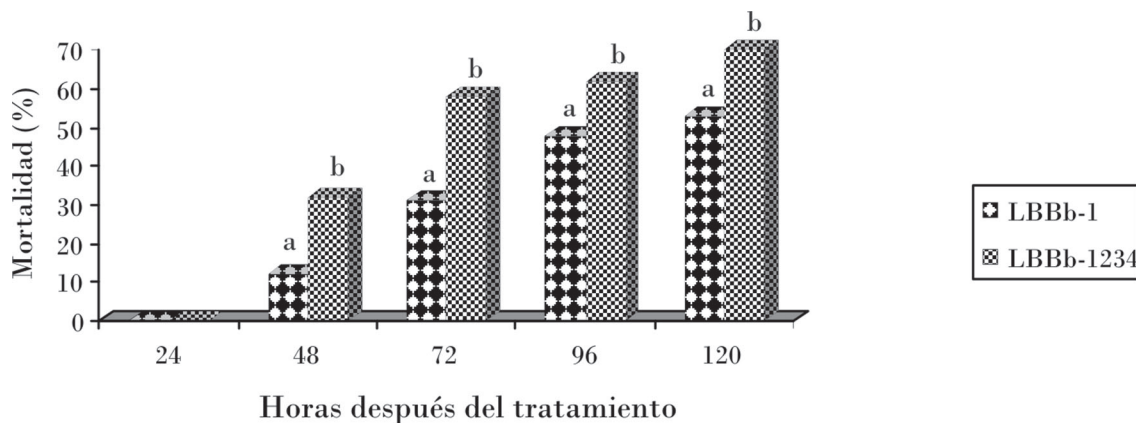
Se sembraron parcelas de 18 m² a una distancia de 0,90 m x 0,25 m. El riego fue por aspersión mediante un sistema de pivote central con una norma de 25 mm cada cuatro días y la variedad utilizada fue Challenger.

Se utilizó el diseño de bloques al azar con tres variantes y tres réplicas. Las parcelas fueron tratadas con los bioplaguicidas *B. bassiana* (cepa LBBb-1234) con una concentración de $2,4 \times 10^9$ (conidios \cdot mL⁻¹) a la dosis de 1 kg/ha, *Metarhizium anisopliae* (Metsh) (cepa LBMA-11) con una concentración de 2×10^9 (conidios \cdot mL⁻¹) como estándar de comparación a igual dosis y una variante testigo sin tratar. Se seleccionó *M. anisopliae* (cepa LBMA-11) como variante de comparación, teniendo en cuenta que Elizondo *et al.* (2011) obtuvo con este bioplaguicida resultados superiores a *B. bassiana* (cepa LBBb-1) en el control de trips.

Las evaluaciones se iniciaron a partir de la brotación del cultivo y se continuaron con una frecuencia semanal para detectar el inicio de la infestación por los trips. Se realizaron dos aplicaciones con una mochila manual de 16 L y dos evaluaciones a los siete y 14 días después del tratamiento. Se colectaron 10 hojas de los surcos centrales por parcela y se trasladaron en bolsas de polietileno al Laboratorio de Entomología del INISAV para su observación bajo el microscopio estereoscópico. Se calculó el promedio por hoja de ninfas de primero y segundo estadio. Los datos de los conteos se transformaron a $x = \sqrt{x}$, se sometieron a análisis estadístico y se establecieron las diferencias según la prueba de Tukey para $p < 0,05$ mediante el programa SPSS para Windows versión 21.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de laboratorio mostraron que las cepas LBBb-1234 y LBBb-1 de *B. bassiana* no presentaron mortalidad a las 24 horas después de tratamiento. En todas las evaluaciones realizadas entre las 48 y 120 horas después del tratamiento la cepa LBBb-1234 presentó mayor porcentaje de mortalidad que la cepa LBBb-1 con diferencia significativa. A las 96 y 120 horas la cepa LBBb-1234 alcanzó valores de mortalidad del 62 y 70 %, respectivamente (*Fig. 1*).



Nota: Valores con letras iguales no tienen diferencias significativas al 0,05.

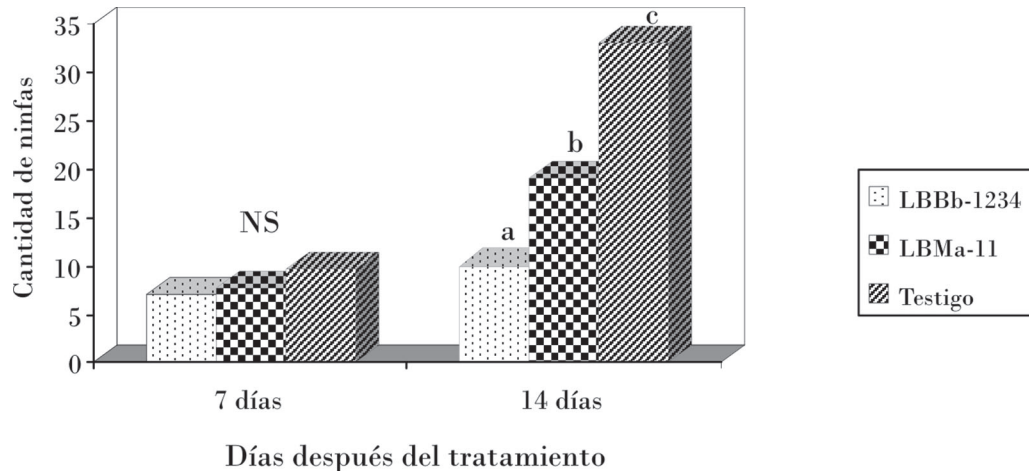
Figura 1. Porcentaje de mortalidad causada por *B. bassiana* sobre ninfas de *T. palmi* en condiciones de laboratorio.

Figure 1. Percentage of mortality caused by *B. bassiana* on *T. palmi* nymphs under laboratory conditions.

Estos resultados ponen de manifiesto la superioridad de la cepa LBBb-1234 con respecto a la cepa LBBb-1.

En el experimento de campo los resultados indicaron que a los siete días después del tratamiento la cantidad promedio de ninfas por hoja de primer estadio fue baja

y sin diferencias significativas entre las variantes. Sin embargo, a los 14 días después del primer tratamiento y a los siete días del segundo, la variante LBBb-1234 tuvo un valor menor que la LBMA-11. Esta diferencia resultó significativa. También ambas variantes tratadas fueron significativamente diferentes al testigo (Fig. 2).



Nota: Valores con letras iguales no tienen diferencias significativas al 0,05.

Figura 2. Promedio de ninfas de primer estadio en el experimento de campo.

Figure 2. Average of first stage nymphs in the field experiment.

Con relación a las ninfas de segundo estadio, la reducción de la población en la variante tratada con LBBb-1234 y LBMA-11 a los siete días después del tratamiento tuvieron valores semejantes e inferiores al testigo, pero las diferencias no fueron significativas. A los 14 días después del primer tratamiento y a los siete días del segundo, la cantidad de trips por hoja en las variantes tratadas fue menor que el testigo sin

tratar. Las variantes tratadas fueron semejantes entre sí y diferentes al testigo (Fig. 3).

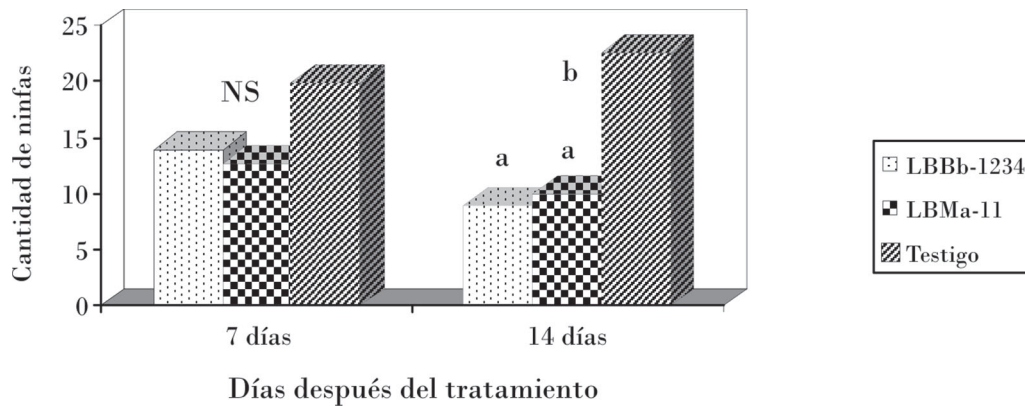
De manera general, ambos bioplaguicidas mostraron capacidad patogénica sobre los trips que atacan al cultivo de la papa. Estos resultados coinciden con Shiotsuka *et al.* (2016), quienes señalaron que este hongo entomopatógeno tiene buen efecto en la reducción de la población

de trips. También se comprobó un comportamiento diferente entre estas, que pudiera estar determinado por el estadio de la plaga, el nivel poblacional, el estado fenológico del cultivo y el modo propio de actuar de los bioplaguicidas. Asimismo, el control del insecto presenta dificultades debido a sus hábitos de vida, ya que las ninfas se encuentran refugiadas en el follaje, las pupas en el suelo y el adulto tiene una gran movilidad (Lopes Da Silva *et al.*, 2003; Helyer y Brobyn, 2008; Bustillo, 2009; Shirotsuka *et al.*, 2016).

En el control biológico se pueden alcanzar resultados eficientes con entomopatógenos siguiendo una correcta utilización de estos. Además, existen otras ventajas con respecto a los efectos sobre el ecosistemas si tenemos en cuenta que el hongo entomopatógeno *B. bassiana* está señalado como un bioplaguicida seguro (Suárez,

2009; Devi *et al.*, 2008; Bhattacharryya *et al.*, 2008), por lo que constituye una alternativa amigable con el medio ambiente y más favorable que el control químico (Morales *et al.*, 2014).

La eficacia de los bioplaguicidas con *B. bassiana* y con *M. anisopliae* en las ninfas de primer estadio a los siete días después del tratamiento resultó baja, con valores entre el 27,5 y 20 %, respectivamente, lo que puede estar influenciado por el incremento de ninfas neonatas ocurrido en el plazo de una evaluación a otra; sin embargo, después del segundo tratamiento, es decir, a los 14 días, el porcentaje se incrementó en ambas variantes alcanzando valores del 69,7 y 42,4 %, respectivamente. Estos resultados demuestran que la variante tratada con LBBb-1234 fue superior que la variante LBMA-11 (Fig. 4).



Nota: Valores con letras iguales no tienen diferencias significativas al 0,05.

Figura 3. Promedio de ninfas de segundo estadio en el experimento de campo.

Figure 3. Average of second stage nymphs in the field experiment.

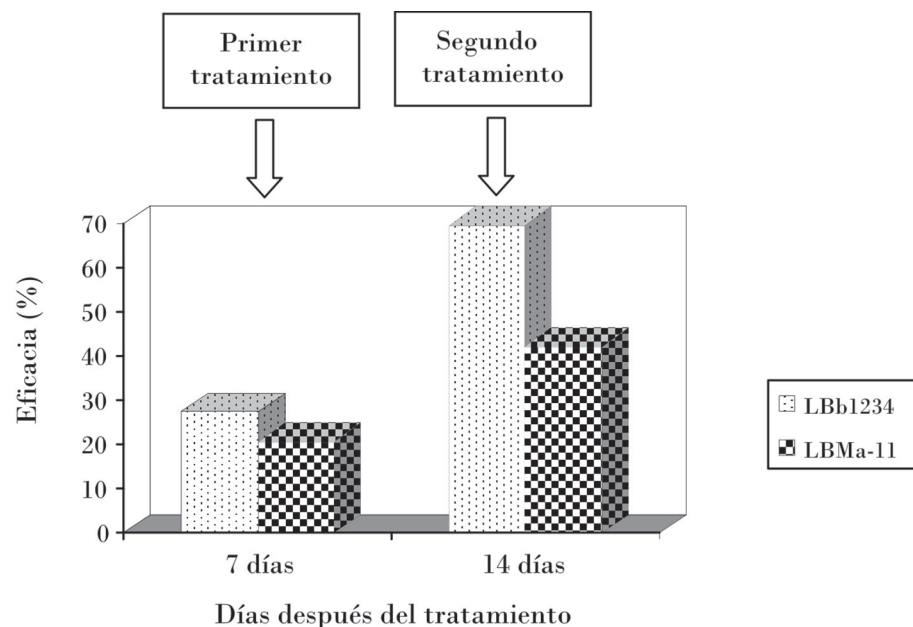


Figura 4. Eficacia de los bioplaguicidas sobre las ninfas de primer estadio.

Figure 4. Efficacy of biopesticides on first stage nymphs.

Con respecto a las ninfas de segundo estadio, el comportamiento fue similar al observado en las ninfas de primer estadio, a los siete y 14 días después

del tratamiento. Esto demuestra que la eficacia se incrementa después que se realiza un segundo tratamiento (Fig 5).

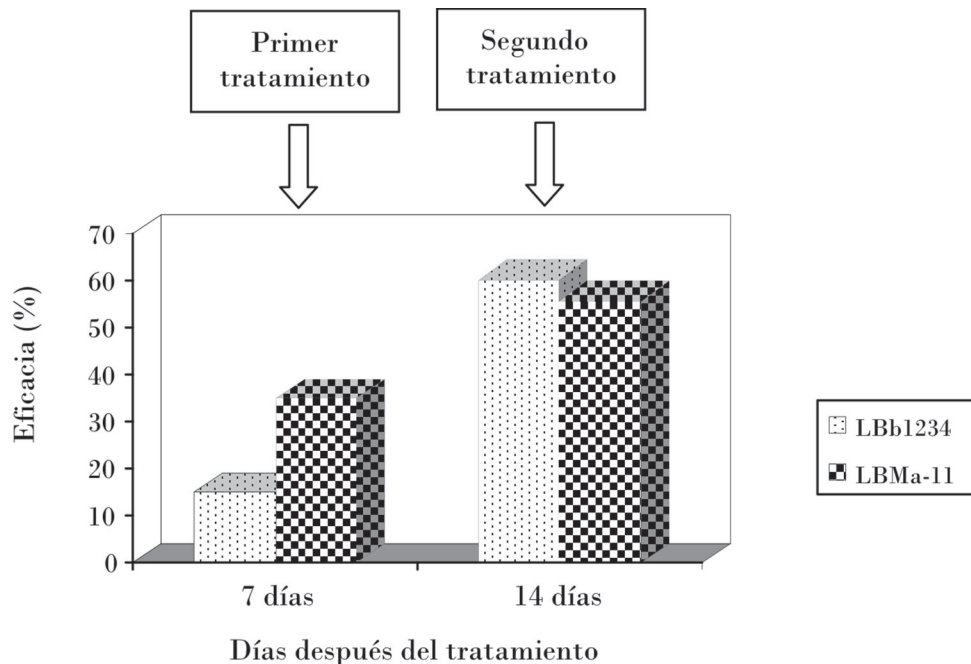


Figura 5. Eficacia de los bioplaguicidas sobre las ninfas de segundo estadio.
Figure 5. Efficacy of biopesticides on second stage nymphs.

Estos resultados coinciden con Elizondo *et al.* (2017), que obtuvieron una reducción significativa de la población después del segundo tratamiento, con *M. anisopliae* cepas LBMa-11 y LBMa-30.

Otros aspectos que pueden influir en la eficacia de un bioplaguicida son las condiciones de temperatura, humedad relativa, entre otras. Para los agentes de control biológico, *M. anisopliae* y *B. bassiana* las temperaturas óptimas de crecimiento se encuentran entre 25 y 32 °C, obteniendo mejores resultados a 28 °C (Fargues *et al.*, 1992).

La humedad relativa es un factor de gran importancia, tanto para el hospedante como para el patógeno, en las diferentes fases del ciclo de las relaciones entre ambos (Lecuona, 1996). Por otro lado, mientras que la temperatura afecta la velocidad del proceso de la enfermedad, la falta de humedad adecuada puede perjudicar además el establecimiento de una epizootia, desde que esta ocurre en la fase reproductiva del microorganismo. Los hongos, incluyendo *B. bassiana* y *M. anisopliae*, requieren una humedad relativa superior al 92,5 %, siendo esto lo más óptimo para el micelio y la esporulación (Walstad *et al.*, 1969).

CONCLUSIONES

- La cepa LBBb-1234 causó mayor mortalidad que la cepa LBBb-1 en condiciones *in vitro*.
- La población de ninfas se redujo después de realizar el segundo tratamiento con los bioplaguicidas.
- La variante tratada con LBBb-1234 tuvo una eficacia superior a la variante con LBMa-11.

RECOMENDACIONES

Continuar los estudios con la cepa LBb-1234 de *B. bassiana* para ampliar los conocimientos sobre su efectividad en el control de otras especies de trips y de plagas en cultivos de importancia económica. Considerar en estudios posteriores la combinación de estos dos bioplaguicidas durante las primeras etapas del ciclo del cultivo de la papa.

REFERENCIAS

- Bhattacharyya, B.; A. Baruah; D.Purnima; U. Bhuyan. 2008. Field efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill and *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorki (Deuteromycotina: Moniliales) Against White Grubs in Assam. *Journal of Biological Control* 22 (1): 81-64. India.
- Bustillo, A.E. 2009. Evaluación de insecticidas químicos y biológicos para controlar *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae)

- en cultivos de espárragos. *Revista Colombiana de Entomología* 35 (1): 12-17. Colombia.
- Ciba-Geigy. 1981. *Manual para ensayos de campo en protección vegetal*, Werner Püntener, División Agricultura, 2 ed. CIBA-GEIGY, 205 p. Suiza. Cuba.
- Devi, U.; K. Padmavathi; J.U. Maheswara; C. Akbar; M. Mohan. 2008. A study of Host Specificity in the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clvicipitaceae). *Biocontrol Science and Technology* 18: 975-989. Inglaterra.
- Elizondo, A I, Murguido, C A y Matamoros, M. 2011. Patogenicidad de los hongos *Metarhizium anisopliae* (Metschn.), *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams y *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. sobre *Thrips palmi* Karny en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Fitosanidad* 15 (3): 147-151. La Habana, Cuba.
- Elizondo, A I, Murguido, C A, Milán, M, Montero, J y Mirabal, L. 2013. El insecticida imidacloprid y los bioplaguicidas para el control de *Thrips palmi* Karny en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Fitosanidad* 17 (1): 31-34. La Habana, Cuba.
- Elizondo, A I, Y. Baró, Y. Gato, Y. Quesada, E. Ponce, M. Milán y M. Tejada. 2017. El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) una alternativa para el control biológico de trips (Thysanoptera: Thripidae) en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Cuba. *Fitosanidad* 21 (3): 111-114. La Habana, Cuba.
- Elósegui, O y Elizondo, A I. 2010. «Evaluación microbiológica *in vitro* de mezclas de especies de hongos entomopatógenos, ingredientes activos de bioplaguicidas cubanos», *Fitosanidad* 14 (2): 103-109. La Habana, Cuba.
- Fargues, J., Maniania N.K., Delmas J.C., Smits, N. 1992. Influence de la temperature sur la croissance *in vitro* d'Hyphomycetes entomopathogenes. *Agronomie*. 12:557-564.
- Helyer, N. L. y Brobyn, P J. 2008. Chemical control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande). *Annals of Applied Biology* 121 (2): 219-231. México.
- Lecuona, R. 1996. *Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga*. Buenos Aires, Argentina. 338p.
- Lopes Da Silva, A.; Da Silva, N.; F.; Pires, L.; Ferreira, H.; Caetano, V.; Peixoto, L. 2003. Eficiência agrônômica de inseticidas no controle do *Thrips tabaci* Lind., (Thysanoptera, Thripidae) na cultura do alho. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 33 (1): 39-42. Brasil.
- Morales, A., D., D.; Jarquín, G. R.; Gómez, J., R.; Díaz, O., G. y Marín, S. 2014. Evaluación de un formulado vegetal de *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio para el control de la broca del café. *Fitosanidad*. 18, (1): 5-14. La Habana, Cuba.
- Shirotsuka, K, Hamasaki, K, Shibao, M and Okada, K. 2016. "Control of melon thrips, *Thrips palmi* Karny, on greenhouse cucumber with the combined use of a red insect-proof net, *Amblyseius swirskii*, and *Metarhizium anisopliae*". *Ann. Rept. Kansai Pl. Prot.* (58): 45-49. Japón.
- Suárez, G.H., D. 2009. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) sobre *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) plaga de maíz almacenado. *Revista Intropica* 45-51. Colombia.
- Walstad, J.; Anderson R.; Stambaugh W. 1969. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). *Journal of Invertebrate Pathology*. 16(2): 221-226.