PERSISTENCIA DE *BEAUVERIA BASSIANA* (BÁLSAMO) VUILLEMIN EN LAS HOJAS DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM* SP. HÍBRIDO)

María E. Estrada y J. Guelmes

Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar. Carretera CAI Martínez Prieto Km 2½, Boyeros, Ciudad de La Habana, CP 19390, Fax: (53-7) 260 2571, c.e.: meem@inica.edu.cu

RESUMEN

La persistencia de Beauveria bassiana *(bálsamo) Vuillemin en las hojas de la caña de azúcar (*Saccharum *sp. híbrido) se determinó en condiciones experimentales. Se realizó una aspersión foliar de una suspensión a una concentración de 6 x 10^7 conidios/mL sobre plantas de caña de azúcar sometidas a la luz y a la sombra. Durante seis días fue registrada la intensidad luminosa desde las seis y media de la mañana hasta las ocho y media de la noche mediante un luxómetro, y cada 24 h se tomaron al azar muestras de hojas de 10 cm de longitud, las que se colocaron en tubos de ensayo que contenían 10 mL de agua destilada estéril con Tween 80 al 0,02%. El contenido fue sembrado por el método de las diluciones seriadas (10^{-4}, 10^{-5} y 10^{-6}) en placas Petri con medio de cultivo sabouraud glucosa agar suplementado con cloranfenicol al 0,5%. Posteriormente las placas fueron incubadas a 25°C durante cinco días, al cabo de los cuales se realizó el conteo del número de unidades formadoras de colonias (UFC). Para normalizar la distribución de los datos se utilizó la transformación log x, y posteriormente se realizó un análisis de regresión lineal simple entre el número de UFC y el tiempo. Los resultados demostraron que las UFC del aislamiento de* B. bassiana *estudiados permanecen viables solo durante 48 h en las hojas de la caña de azúcar expuestas a las condiciones de luz.*

Palabras clave: *Beauveria bassiana, caña de azúcar, Saccharum* sp., *lucha biológica.*

ABSTRACT

The persistence of Beauveria bassiana *(balsamo) Vuillemin on sugar cane (*Saccharum *sp. hibrido) leaves was determined under experimental conditions. A foliar aspersion of 6 x 10^7 conidia/ml suspension was realized on plants submitted to light and shade. Luminous intensity was measured daily with a photometer, from 6:30 before noon to 8:30 past noon for six days, and 10 cm long samples of leaves were took at random every 24 hours, they were placed in test tubes with 10 ml of sterile distilled water with 0.02% Tween 80. The liquid was sowed, by serial dilutions method (10^{-4}, 10^{-5} and 10^{-6}) in Petri dishes with Sabouraud Glucose Agar supplemented with 0.5% clorafenicol. Dishes were incubated later at 25 °C for five days, after then the number of Forming Colonies Units (FCU) was counted. Data were transformed to log X and evaluated by simple linear regression between the number of FCU and time. Results demonstrated that UFC of* B. bassiana *isolate studied, remains viable only 48 hours in sugar cane leaves exposed at light conditions.*

Key words: *Beauveria bassiana, sugar cane, Saccharum, biological control.*

INTRODUCCIÓN

B*eauveria bassiana* (bálsamo) Vuillemin se utiliza en Cuba para el control biológico de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Cambridae), y la efectividad de sus aplicaciones foliares en la caña de azúcar (*Saccharum* sp. híbrido) ha sido determinada por Estrada *et al*. en 1997; sin embargo, aún se desconoce su persistencia en las hojas de la planta.

Diferentes autores han estudiado la persistencia de los hifomicetos entomopatógenos en el follaje vegetal. Así, Gadner *et al*. (1977) determinaron que las precipitaciones reducen la actividad patogénica de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson sobre las larvas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en el follaje de la soja (*Glycine max* L. Merr), ya que «lavan» las hojas y disminuye la concentración de conidios en esta parte del vegetal. Por su parte, Inglis *et al*. (1995a) analizaron la persistencia de *B. bassiana* en las hojas de alfalfa (*Medicago sativa* L.) y del trigo (*Triticum aestivum* L.), y demostraron que la lluvia disminuye la concentración de conidios, además de influir el tipo de follaje en la retención de los conidios en la planta.

La persistencia de los hifomicetos entomopatógenos en las hojas está altamente influida por las radiaciones solares. De acuerdo con lo obtenido por Daoust y Pereira (1986), las radiaciones ultravioletas tienen un efecto negativo en la persistencia de los conidios de *B. bassiana* en las hojas del caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp*)*. Las radiaciones solares correspondientes a 320 nm presentan un marcado efecto negativo en los conidios de *Metarhizium*

flavoviridae Gams & Rozsypal que no están protegidos por diferentes formulaciones [Moore *et al*., 1993]. También Inglis *et al*. (2000) evidenciaron que la formulación conidial influye en la persistencia de *B. bassiana* en las hojas de la papa (*Solanum tuberosum* L.), ya que protege a los conidios de las radiaciones solares y de la desecación. Por su parte, Braga *et al*. (2001) determinaron que el tiempo y la dosis de exposición a las radiaciones UV-B disminuyen proporcionalmente la germinación de diferentes cepas de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin y de *M. flavoviridae.*

El objetivo de este trabajo fue determinar la persistencia de *B. bassiana* en las hojas de la caña de azúcar, aspecto importante a tener en cuenta para establecer una estrategia de aplicación del hifomiceto en la lucha biológica contra *D. saccharalis.*

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en las áreas verdes a cielo abierto, del Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar. Para su ejecución se tomaron 26 tanques metálicos de 40 cm de diámetro y 74 cm de altura con suelo ferralítico rojo típico (no tratado), en los cuales se plantaron dos trozos de una yema de la variedad de caña B77-418.

Se realizaron dos tratamientos: *B. bassiana* a la luz y dos a la sombra. Las condiciones de sombra se crearon con tejas de cartón de 1 x 2 m colocadas encima de los tanques sobre cuatro estacas de madera. Las condiciones de luz no presentaron tejas de cartón. Se utilizaron 13 tanques por tratamientos, y las plantas crecidas fueron asperjadas con una suspensión de concentración de 6×10^7 conidios/mL del aislamiento 3 de *B. bassiana,* según procedimiento de Alves *et al*. (1984).

La intensidad de la luz se registró con un luxómetro diariamente, durante seis días (desde las seis y media de la mañana hasta las ocho y media de la noche), y cada 24 h se tomaron, al azar, muestras de hojas de 10 cm de longitud, las que se colocaron en tubos de ensayo con 10 mL de agua destilada estéril con Tween 80' al 0,02%. Estos tubos fueron agitados en una zaranda reciprocante durante 3 min y 1 mL de su contenido fue sembrado, por el método de las diluciones seriadas (10^{-4}, 10^{-5} y 10^{-6}) [Silva *et al*., 1981], en placas Petri de 100 x 15 cm que contenían medio de cultivo sabouraud glucosa agar suplementado con clorafenicol al 0,5%. El antibiótico fue añadido para inhibir el crecimiento de otros microorganismos, y así evitar errores en el conteo del número de unidades formadoras de colonias (UFC) del hifomiceto. Posteriormente las placas fueron incubadas a 25°C durante cinco días, al cabo de los cuales se realizó el conteo del número de UFC por tratamientos según Silva *et al*. (1981).

Los datos se transformaron a log x y fueron analizados por regresión lineal simple entre el número de unidades formadoras de colonias y el tiempo [Statitcf, 1988].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de la intensidad de la luz registrados cada una hora en las plantas situadas a la luz y a la sombra se muestran en la *Fig. 1*. En las condiciones experimentales, los mayores valores de intensidad luminosa se registraron entre las diez y media de la mañana y las dos y media de la tarde.

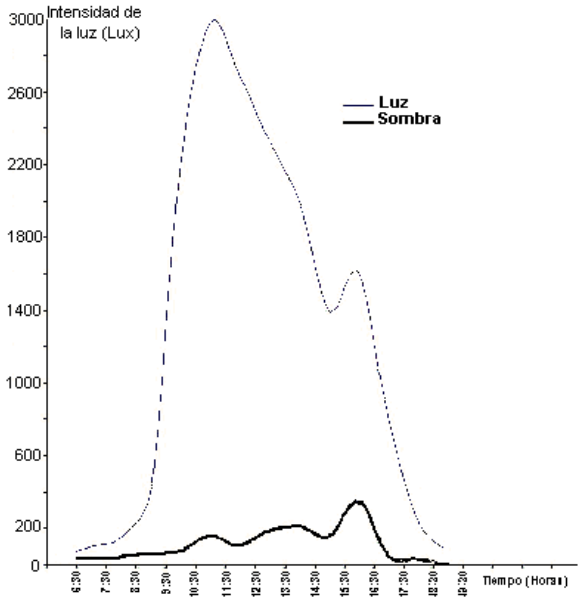

Figura 1. Intensidad de luz sobre las hojas de caña de azúcar en condiciones de luz y de sombra.

Los resultados sobre la persistencia del número de UFC de *B. bassiana* presentes en las hojas de la caña de azúcar, bajo condiciones de luz y de sombra, aparecen en la *Fig. 2*. Como se aprecia, el número de UFC disminuye con el tiempo para ambas condiciones, lo que significa que las radiaciones solares no constituyen el único factor climático del ambiente que la provoca. En este sentido, Fargues *et al*. (1988) demostraron que la temperatura y la humedad de las hojas pueden intervenir en la persistencia de los conidios de los hifomicetos entomopatógenos en esta parte de la planta.

Aunque en las condiciones de trabajo solamente se midió la intensidad luminosa, este no fue el único factor del ambiente que influyó en la persistencia del número de UFC del aislamiento de *B. bassiana* aplicado en las hojas de la caña de azúcar, porque este número disminuyó en el tiempo para las condiciones de luz y de sombra. En la misma *Fig. 2* se observa que a las 72 h solo existieron UFC de *B. bassiana* en las condiciones de sombra, lo que explica que el tiempo de exposición directa a las radiaciones solares influyó en el desarrollo del hifomiceto en las hojas de la caña de azúcar. Estos resultados coinciden con lo obtenido por Inglis *et al*. (1995b), quienes demostraron que el 99,7% de la viabilidad de los conidios de *B. bassiana* en las hojas del trigo también disminuye luego de permanecer 60 min expuestos a las radiaciones solares. De igual forma, Diodato y Dos Santos (1998) analizaron el efecto de la luz ultravioleta en el crecimiento micelial de *B. bassiana* y observaron que la mejor tasa de crecimiento fue obtenida solo cuando el hifomiceto estuvo expuesto durante un minuto a la luz ultravioleta y no durante más tiempo.

En las hojas de la caña de azúcar, Alves *et al*., en 1984, distinguieron que la viabilidad de los conidios de *M. anisopliae* expuestos a las radiaciones solares también disminuye en función de la posición que ocupan los conidios en las hojas de la planta. Estos investigadores determinaron que a las 120 h no existe viabilidad de los conidios en la punta y la lámina de las hojas, mientras que en la vaina esto ocurre a las 240 h después de haber aplicado el hifomiceto. De igual forma, Ribeiro *et al*. (1992) estudiaron la persistencia de *M. anisopliae* en las hojas de la caña de azúcar, y determinaron que la viabilidad de los conidios varía considerablemente en función de la posición de la hoja tratada con el hifomiceto.

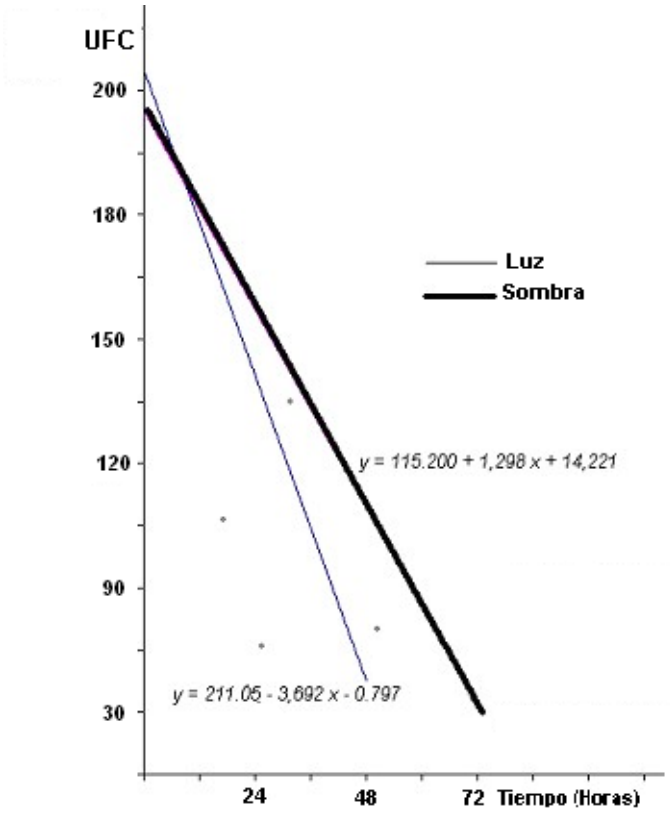

Figura 2. Número de UFC de *Beauveria bassiana* (báls.) Vuill. en las hojas de la caña de azúcar en condiciones de luz y de sombra.

Diversos investigadores han demostrado los diferentes mecanismos por los cuales la luz solar disminuye el número de UFC de los hongos entomopatógenos en las hojas de las plantas. Así, Carruthers *et al*. (1988) demostraron que los conidios de *Entomophaga grylli* (Fresenius) expuestos a altas intensidades luminosas presentan daños en su estructura intracelular, como la pérdida de las vacuolas, del núcleo, así como la lisis de la pared celular. Por su parte, Moore *et al*. (1996) mostraron que la interacción entre la temperatura y la luz solar provocan alteraciones genéticas irreversibles, como daños en los nucleótidos y en la replicación de la molécula de ADN (ácido desoxirribonucleico) de los hifomicetos entomopatógenos. También Vega *et al*. (1997) evidenciaron que la persistencia de *Paecilomyces fumosoroseus* Brown & Smith en las hojas de las plantas puede estar limitada por diferentes aleloquímicos como el ácido catecol, ácido clorogénico, ácido gálico, ácido salicílico y el ácido tánico, que inhiben el crecimiento y la germinación de las esporas del hifomiceto.

CONCLUSIONES

- Las UFC del aislamiento de *B. bassiana*, expuestas directa e indirectamente a las radiaciones solares, solo permanecen viables durante 48 y 72 h respectivamente en las hojas de la caña de azúcar.

REFERENCIAS

Alves, S. B; S. S. Neto; M. L. Hadad: «Capacidade de sobrevivencia do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (isolade Ea) sobre cana-de-açúcar, nas condicões de campo», *Revista O Solo* 76 (1):39-42, 1984.

Braga, G.; S. D. Flint; C. D. Miller; A. J. Anderson; D. W. Roberts: «Variability in Response to UV-B Among Species and Strains of *Metarhizium isolated* from Sites at Latitudes from 61º N to 54º S», *Journal of Invertebrate Pathology* 78:98-108, 2001.

Carruthers, R. I.; Z. Feng; M. E. Ramos; R. Soper: «The Effect of Solar Radiation on the Surviral of *Entomophaga grylli* (Entomophthorales: Entomophthoracta) Conidia», *Journal of Invertebrate Pathology* 52:154-162, 1988.

Diodato, M. A.; H. R. Dos Santos: «Crescimento miceial e diámetros das colônias de *Beauveria bassiana* (Linhagem SNLT), quando sometidos a diferentes fotoperíodos e à luz ultravioleta», *Revista Ciencia Rural* 18 (3):61-66, 1998.

Daoust, R. A.; R. M. Pereira: «Stability of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on Beetle-Atracting Tubers and Cowpea Foliage in Brazil», *Enviromental Entomology* 15:1232-1243, 1968.

Estrada, M. E.; M. Romero; M. J. Rivera; J. Guelmes: «Aplicación de *Beauveria bassiana* (báls.) Vuill. en la lucha biológica contra *Diatraea saccharalis* (Fabricius)», *Revista Caña de Azúcar del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela* 23:12-19, 1997.

Fargues, J.; M. Rougier; R. Goujet; B. Itier: «Effet du rayonnement solaire sur la persistance des conidiospores de l'hyphomycète entomopathogène *Nomuraea rileyi,* à la surface d'un couvert végétal», *Entomophaga* 33 (3):357-370, 1988.

Gadner, W. A.; R. M. Sutton; R. Noblet: «Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi,* and *Nosema necatrix* on Soybean Foliage», *Environmental Entomology* 6 (5):616-618, 1977.

Inglis, G. D.; D. L. Jonson; M. S. Goettel: «Effects of Simulated Rain on the Persistence of *Beauveria bassiana* on Leaves of Alfalfa and Wheat», *Biocontrol Science Technology* 5:365-369, 1995a.

——: «Influence of Ultravioolet Ligh Protectants on Persistence of the Entomopathogenicfungus *Beauveria bassiana*», *Biological Control* 5:581-590, 1995b.

Inglis, G. D.; T. J. Ivie; G. M. Duke; M. S. Goettel: «Influence of Rain and Conidial Formulation on Persistence of *Beauveria bassiana* on Potato Leaves and Colorado Potato Beetle Larvae», *Biological Control* 18:55-64, 2000.

Moore, D.; P. D. Bridge; P. M. Aiggins; R. P. Bateman; C. Prior: «Ultra-Violet Radiation Damage to *Metarhizium flavoviridae* Conidia and the Protection Given by Vegetable and Mineral Oils and Chemical Sunscreens», *Annual Applied Biology* 122:605-616, 1993.

Moore, D.; P. M. Higgins; C. J. Lomer: «Effects of Simulated and Natural Sunlight on the Germination of Conidia *Metarhizium flavoviridae* Gams and Rozypal and Interactions with Temperature», *Biocontrol Science and Technology* 6:63-76, 1996.

Ribeiro, S. M. A.; E. A. de L. Alves-Lima; W. T. G. de Assunção: «Sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Linhagem PL_{43}) em folhas de cana-de-açúcar», *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, ano 21, 2:59-67, 1992.

Silva, J. M.; Z. R. Penabad; T. R. Flores; G. G. Rivera: *Manual práctico de microbiología*, Ed. Pueblo y Educación, La Habana, 1981.

Statitcf, versión 4.0, 1988.

Vega, F. E.; P. F. Dowd; M. R. McGuire; M. A. Jackson; T. C. Nelson: «In Vitro Effects of Secondary Plant Compounds on Germination of Blastospores of the Entomopathogenic Fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes)», *Journal of Invertebrate Pathology* 70:209-213, 1997.