EVALUACION E IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS PATOGENOS DE **Perkinsiella saccharicida** (HOM: DELPHACIDAE), EN CAÑA DE AZUCAR

John Rico S.*
Jorge I. Victoria K.**

COMPENDIO

La variedad de caña de azúcar POJ 2878, susceptible tanto a la enfermedad de Fiji como al vector (**P. saccharicida** Kirkaldy), se siembra en grandes extensiones en el país, razón por la cual se necesita regular las poblaciones del insecto. El estudio demostró que **Metarhizium anisopliae** (Metch.) Sorokin, cepa C_7 era la más patógenica a **P. saccharicida**, utilizándose una concentración de 10^8 conidias / ml. La mortalidad por micosis se registró a partir del segundo día de la inoculación y durante 20 días consecutivos. **M. anisopliae** C_7 causó el 10 o/o de micosis en el primer instar, 23.3 o/o en el segundo, 66.6 o/o en el tercero, 58.6 o/o en el cuarto, 66.6 o/o en el quinto y 86.7 o/o en el sexto. Un aislamiento de **Fusarium** spp. mostró resultados patogénicos similares a los de **M. anisopliae** C_7 sobre el estado de desarrollo más susceptible del insecto.

ABSTRACT

The sugar cane POJ 2878 is susceptible both to the Fiji disease as the vector (**P. saccharicida** Kirkaldy) and ocuppies high percentage of the total cane area cultivated in Colombia. It means a real need to develop methods of control to regulate its populations. This study has shown that **Metarhizium anisopliae** (Metch.) Sorokin C_7 isolate was the most pathogenic culture on **P. saccharicida** at concentrations of 1×10^8 spores/ml. Death rate produced by mycosis were taken beginning the second day for 20 consecutive days. The mortality produced by **M. anisopliae** C_7 on different stages of **P. saccharicida** were: 10 o/o for first instar, 23.3 o/o for the second, 66.6 o/o for the third 58.6 o/o for the fourth, 66.6 o/o for the fifth and 86.7 o/o for the sixth. Furthermore, several microorganisms associated with **P. saccharicida** were evaluated in their pathogenicity on the most susceptible stage to **M. anisopliae** C_7. **A. Fusarium** spp. isolate showed similar pathogenic results.

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira.
** Centro Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Colombia. CENICAÑA. A. A. 9138 Cali.

1. INTRODUCCION

El saltahojas de la caña de azúcar, **Perkinsiella saccharicida** K., insecto registrado por primera vez en campos del Ingenio Riopaila en 1970 (Gaviria , 4) y originario posiblemente del Archipielago Malayo (Sosa, 10; Terán y Precetti, 11), se ha constituído como importante plaga no sólo por transmitir la enfermedad de Fiji, sino también por producir efectos secundarios como el enrojecimiento, marchitez y secamiento de las hojas causadas por **Colletotrichum falcatum** Well. Van Dine, citado por Moreno (6), mencionó además la relación de **P. saccharicida** con el "mal de piña" (**Thielaviopsis paradoxa**) y el "aro" (**Melaconium** sp).

Las crecientes poblaciones del insecto en plantaciones del Valle del Cauca, con un promedio de 0.77 o/o insectos por cogollo en 1973 (Parra y Quiroz, 8) y la susceptibilidad de la variedad POJ 2878 al insecto y la enfermedad de Fiji, han preocupado al sector azucarero.

La enfermedad de Fiji, caracterizada por retrasar el desarrollo de los tallos asemejándose finalmente más a pasto que a caña de azúcar (Sosa, 10; Terán y Precetti, 11), es causada por el virus del grupo reoviridae-2, el cual presenta el fenómeno de transmisión transovárica en las progenies de hembras virulíferas (Bos, 1; Morales, 5).

Es posible mediante el control químico, eliminar el insecto en grandes áreas; sin embargo, el resultado de estas medidas no es permanente creándose con la aplicación un desbalance biológico en el ecosistema y convertir especies indiferentes en nocivas (Carrero, 2).

Por lo anterior, y teniendo en cuenta la acción entomo-patógenica de diversos hongos como **Metarhizium anisopliae** (Metch) Sorokin, **Fusarium** spp., **Cordyceps** sp, **Entomophthora** sp. y **Sporotrichum** sp. (Muir, 7; Risco, 9), se establecieron los siguientes objetivos del presente estudio: identificar los microorganismos más frecuentemente asociados con **P. saccharicida** evaluar diferentes aislamientos y sistemas de inoculación de **M. anisopliae**, determinar el estado de desarrollo del insecto de mayor susceptibilidad a **M. anisopliae** y determinar la patogenicidad de los microorganismos asociados con **P. saccharicida.**

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Recolección de muestras.

La recolección de insectos muertos de **P. saccharicida** se realizó en plantaciones de caña de azúcar de los Ingenios Cauca y Central Castilla y de la Es-

tación Experimental de San Antonio de los Caballeros de CENICAÑA, en cañas de diferentes variedades con edades de tres a seis meses. Los cadáveres se colocaron en cajas de Petri a manera de cámaras húmedas y se sellaron con papel parafinado.

Las muestras se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 5 o/o, y se sembraron en agar avena o PDA, para luego seleccionar los microorganismos que puedan interesar.

2.2. Evaluación de sistemas de inoculación de M. anisopliae.

Se evaluó la patogenicidad de tres cepas de **M. anisopliae** en **Perkinsiella saccharicida**, a saber: Cepa C_7, aislada de larvas de **Mocis latipes** (Lepidoptera) en sabana natural; cepa Q_8, de adultos de **Zulia colombiana** (Homoptero: Cercopidae) y cepa b001, de larvas de **Ancognatha scarabaeoidea** (Coleoptera).

El método de inoculación para los hongos se determinó mediante pruebas preliminares de contacto y aspersión. En cada tratamiento se utilizaron 30 ninfas de segundo instar, colocadas en jaulas de 150 mm de diámetro con plantas de dos a tres meses de edad en solución Hoagland.

Las ninfas se distribuyeron en grupos de 10 especímenes, tomados como parcelas, en tres repeticiones, usándose igual control y distribución para el testigo.

La inoculación por contacto, consistió en dejar caminar 10 ninfas por plato de Petri durante cinco minutos, en un cultivo esporulado, para confinarlas posteriormente. En la inoculación mediante el método de aspersión, se aplicó la suspensión del hongo en una concentración de 1×10^8 conidias/ml, sobre las plantas con los insectos. Las observaciones se hicieron hasta los 20 días de realizada la inoculación.

2.3. Susceptibilidad de los estados de desarrollo del insecto.

2.3.1. Obtención de ninfas.

Adultos capturados en el campo, se confinaron con plantas de la variedad POJ 2878, de tres meses de edad, en jaulas de malla de nylon. Pasadas las 24 horas se retiraron los cogollos de caña y se colocaron en sitios aislados hasta la emergencia de las primeras ninfas.

Dos días después de emergidas las ninfas, se inocularon, en las horas de la mañana, por el sistema más eficiente.

De igual manera se procedió con cada uno de los estados de desarrollo siguientes, guiándose por la presencia de exuvias para el cambio de instar y la duración del ciclo de vida en condiciones de laboratorio (CENICAÑA, 3).

2.3.2. Inoculaciones.

El ensayo se realizó siguiendo un diseño completamente al azar con seis tratamientos (estados ninfales y adulto), cinco repeticiones y cada repetición con seis tratamientos, sobre los cuales se asperjó la suspensión del hongo en concentración de 1×10^8 conidias/ml. En el control se hicieron tres repeticiones, sobre las cuales se asperjó agua destilada esteril.

Las observaciones se efectuaron hasta los 20 días de efectuada la inoculación, ubicando los cadáveres en cajas de Petri acondicionadas como cámaras húmedas, para permitir la formación de estructuras reproductivas del hongo.

2.4. Evaluación del sistema de aspersión de M. anisopliae C_7.

Conocido el estado de desarrollo en el cual se iniciaba la infección y por lo tanto el de mayor susceptibilidad al hongo, se determinó la eficiencia del sistema de aspersión a planta y a insectos, usando la misma distribución del ensayo anterior.

Para la prueba de efectividad a plantas inoculadas (Pi), se tomó una suspensión del hongo y se distribuyó mediante tres aspersiones por planta, para luego depositar las ninfas dentro de la jaula.

En la prueba de insectos (Ii) éstos se confinaron en cajas de vidrio, asperjando el inóculo sobre ellos por tres ocasiones; posteriormente se ubicaron en las respectivas jaulas y se realizaron las observaciones por espacio de 18 días.

El volumen de inoculo por aspersión en todos los casos fue de 0.2 ml, es decir, 0.6 ml de suspensión del hongo/jaula.

2.5. Evaluación de aislamientos obtenidos en el campo.

En el estado a partir del cual se presentó la mayor infección de **M. anisopliae** C_7, se realizaron las pruebas de patogenicidad de los microorganismos aislados y asociados con **P. saccharicida** en el campo.

El experimento se efectuó de manera similar a los anteriores, realizando las observaciones hasta los 15 días. Los resultados del mejor aislamiento se compararon con los del estado a partir del cual tuvo la mayor infección M.

anisopliae C_7.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Aislamientos de hongos asociados con P. saccharicida en el campo.

De 136 aislamientos (Cuadro 1), el 43.3 o/o correspondió a incidencia de **Fusarium** spp., seguido de **Cladosporium** sp. (11 o/o) y un hongo blanco (8 o/o). **Fusarium** spp. ya se había registrado afectando a **P. saccharicida** (Muir, 7; Risco, 9). **Cladosporium** sp, hongo saprofítico, se observó con frecuencia en adultos adheridos a las hojas, especialmente en el tiempo húmedo, motivo por el cual es posible su confusión como agente entomopatógeno.

3.2. Evaluación de la patogenicidad de M. anisopliae.

El análisis estadístico de los resultados preliminares indicó ausencia de diferencias significativas ($p \geq 0.05$) a los 20 días de aplicación, entre las medias de las cepas b001, C_7 y Q_8 y entre los sistemas de inoculación (Cuadro 2). Sin embargo, no se debe descartar la posibilidad de que esas diferencias existan, pero seguramente el experimento no fue lo suficientemente preciso como para detectarlas. Por lo anterior, se tendría que afirmar la existencia de un nivel de patogenicidad para las tres cepas.

A nivel individual es posible observar diferencias entre los promedios obtenidos, llegando a deducirse mayor efectividad, por el sistema de contacto, de la cepa Q_8. El criterio de selección de la cepa C_7, para posteriores inoculaciones se hizo con base en el grado de confiabilidad que ofreció en el sistema de aspersión, en donde se presentó menor manipuleo del insecto y mayor facilidad para producir uniformidad de la aplicación.

El sistema de contacto no permitió exponer las ninfas al mismo tiempo al hongo, ya que los saltahojas variaron en el tiempo de contacto con las conidias.

3.3. Susceptibilidad de los estados de desarrollo del insecto.

Los porcentajes promedios de micosis por **M. anisopliae** C_7 fueron: 0 o/o para el N_1, 13.3 o/o para el N_2, 13.3 o/o para N_3, 16.6 o/o para N_4, 40.6 o/o para N_5 y 60.0 o/o para A a los seis días de inoculación (Cuadro 3). En la prueba de Rango Múltiple de Duncan ($p \leq 0.05$) se detectaron diferencias entre los grupos N_1, N_2-N_3-N_4 y N_5-A, siendo de mayor significancia el grupo N_5-A lo que permite considerarlo como el más susceptible a la infección.

Cuadro 1

Aislamientos de microorganismos asociados con **P. saccharicida**

Microorganismos aislados	No. de Asociaciones	Porcentaje
Fusarium spp.	59	43.3
Contaminados 1/	26	19.1
Clasodosporium sp.	15	11.0
Blanco 2/	11	8.0
Graphium sp.	6	4.4
Desconocidos	4	2.9
Bacterias	4	2.9
Nulos 3/	3	2.2
Sclerotium sp.	2	1.4
Rhizopus sp.	2	1.4
Helmitosporium sp.	2	1.4

1/ **Aspergillus** sp., **Verticilum** sp. y otros.

2/ Características: coloración blanca, colonia de crecimiento poco exuberante, micelio septado.

3/ Sin presencia de micelio.

Cuadro 2

Patogenicidad de tres cepas de **M. anisopliae**, inoculadas por sistemas de aspersión y contacto, sobre **P. saccharicida** [1]/

	o/o Micosis		
Cepas	Aspersión	Contacto	Promedio o/o
B 001	10.0 2/	10.0	10.0
C_7	23.3	0.0	11.7
Q_8	6.7	31.5	19.1
Promedio o/o	13.3	13.8	

1/ Ninfas de segundo instar.

2/ Promedios de tres repeticiones sometidos a prueba de Rango Múltiple de Duncan ($p \geqslant 0.05$), sin diferencias significativas entre sí.

Cuadro 3

Susceptibilidad de los diferentes estados de desarrollo de **Perkinsiella saccharicida** a **Metarhizium anisopliae** C_7

Estados de desarrollo	o/o Micosis Días después de la inoculación 6	 20
1er. instar (N_1)	0.0 c	10.0 b
2o. instar (N_2)	13.3 bc	23.3 b
3er. instar (N_3)	13.3 bc	66.6 a
4o. instar (N_4)	16.6 bc	58.6 a
5o. instar (N_5)	40.6 ab	66.6 a
Adulto (A)	60.0 a	86.7 a

Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ($p \geqslant 0.05$).

Cuadro 4

Porcentajes promedios de micosis producidos en **P. saccharicida** por **Fusarium** spp. y **M. anisopliae** C_7.

Hongo	o/o Micosis acumulada según días inoculación 6	 12	 15
Fusarium spp.	10.0	44.7	61.3
M. anisopliae	13.3	36.6	46.6

Promedio de cinco repeticiones.

Los promedios de porcentaje de micosis encontrados a los 20 días de observación fueron: 10.0 o/o para N_1, 23.3 o/o para N_2, 66.6 o/o para N_3, 58.6 o/o para N_4, 66.6 o/o para N_5 y 86.7 o/o para A, los cuales permitieron detectar diferencias ($p \leq 0.05$) entre los grupos N_1-N_2 y N_3-N_4-N_5-A y significativamente a partir del grupo N_3. Así mismo, se observa como a partir del estado N_3 se presentó el mejor porcentaje de micosis, siendo por ello el estado más propicio para realizar aspersiones en condiciones de campo.

3.4. Evaluación del sistema de aspersión.

La inoculación a plantas (Pi) arrojó una mortalidad del 58.6 o/o comparada con un 35.7 o/o en la inoculación a insectos (Ii), de los cuales el 27.6 o/o y 3.6 o/o presentaron micelio respectivamente.

Las conidias en Pi es posible sean favorecidas por la transpiración de las hojas de la planta, lo cual permite crear un microlima en su superficie que aumenta las posibilidades de infección en los insectos una vez éstos se posan sobre su superficie.

3.5. Evaluación de aislamientos obtenidos en el campo.

Los aislamientos de **Fusarium** spp. y el denominado hongo blanco, al ser inoculados por aspersión sobre ninfas N_3 de **P. saccharicida**, produjeron 63.0 y 0.0 o/o de micosis respectivamente, lo que ratifica la acción patogénica ejercida por **Fusarium** spp. en otros países (Muir, 7; Risco, 9).

Los porcentajes promedios de micosis en el instar ninfal N_3, producidos por **Fusarium** spp. y **M. anisopliae** C_7, fueron de 10.0 y 13.0 o/o a los seis días de efectuada la aplicación y de 61.3 y 36.6 o/o a los 15 días (Cuadro 4). Aunque no se encontraron diferencias significativas entre estos valores, desde el punto de vista biológico se observó mayor susceptibilidad del insecto a **Fusarium** spp. durante 15 días de lecturas.

4. CONCLUSIONES

4.1. No se registró la presencia natural de **M. anisopliae** sobre **P. saccharicida**, pero la incidencia de **Fusarium** spp fue del 43.3 o/o

4.2. El método de aspersión con la cepa C_7 produjo un 23.3 o/o de micosis, en cambio el método de contacto con la cepa Q_8 produjo un 31.5 o/o de micosis.

4.3. A partir del tercer estado ninfal de **P. saccharicida** se presentó la mayor infección.

4.4. Entre la inoculación de la planta (Pi) o la de insectos (Ii) no se presentaron diferencias estadísticas en micosis, sin embargo, Pi mostró una incidencia de 27.6 o/o sobre 3.6 o/o en Ii.

4.5. **Fusarium** spp. y **M. anisopliae,** probados en N_3, a pesar de no presentar diferencias significativas en micosis, se consideran de amplia perspectiva en el control microbiológico de **P. saccharicida.**

5. BIBLIOGRAFIA

1. BOS, L. Introducción to plant virology. Centre for Agricultural Publishing and documentation, 1983. 160 p.

2. CARRERO, J.M. Lucha integrada contra las plagas. Madrid, Ministerio de Agricultura, 1977. 49 p.

3. CENTRO DE INVESTIGACION DE LA CAÑA DE AZUCAR. Informe Anual, 1984. p.45.

4. GAVIRIA, J.D. Notas preliminares sobre el saltahojas hawaiano **Perkinsiella saccharicida** en el Valle del Cauca. Ingenio Riopaila, 1970. 6p. (Mimeo).

5. MORALES, F.D. Transmisión de virus de plantas por insectos. In: Miscelanea Sociedad Colombiana de Entomología, 2a, Cali, Colombia, Junio, 1985. p. 3-22.

6. MORENO, A. L. Principales enemigos naturales de **Perkinsiella saccharicida** (Homoptero: Delphacidae) y observaciones sobre su capacidad de control en plantaciones de caña de azúcar de la zona norte y central del Ingenio Cauca. Cali, Universidad del Valle, 1983. 184 p. (Tesis Biol.).

7. MUIR, F. The sugarcane leafhopper and it's parasites in Hawaii. The Hawaiian Sugar Planter's Record. v. 25, n. 3. p. 122. 1921.

8. PARRA, A.; QUIROZ, G. Evaluación de las poblaciones de **Perkinsiella saccharicida** K. (Homoptero: Delphacidae) en plantaciones de caña de azúcar del Valle del Cauca. Palmira, Universidad Nacional de Colombia, 1973. 55p. (Tesis Ing. Agr.).

9. RISCO B, S. Notas adicionales sobre el saltahojas de la caña de azúcar **Perkinsiella saccharicida,** primer registro en Norte América. Revista Peruana de Entomología. v.9, n. 1. p. 181-185. 1966.

10. SOSA J.O. Descubrimiento de una nueva plaga de la caña de azúcar en Florida, **Perkinsiella saccharicida** K. Primer reporte en Norte América. In : Seminario Interamericano de la caña de azúcar, 3o., Miami, Estados Unidos, 6-8 Oct, 1982. p.471-476.

11. TERAN, F.O.; PRECETTI, A.A.C.M. Outras pragas de caña-de-acucar. In: Cooperativa Central dos produtores de Acucar e alcool do Estado de Sao Paulo (Brasil). Pragas da cultura de caña-de-acucar. 1983. p.45-48.