

# Compatibilidad de un bioinsecticida a base de *Beauveria bassiana* con agroquímicos: efecto en la germinación y la actividad insecticida sobre *Diatraea saccharalis*

## Compatibility of *Beauveria bassiana* biopesticide with agrochemicals: effect on germination and insecticidal activity on *Diatraea saccharalis* larvae

Lorena Garcia-Riaño\*, Diego Vásquez-Mendieta\*\*, Juliana Gómez-Valderrama\*\*\*, Laura Fernanda Villamizar\*\*\*\*

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v25n2.106635

### RESUMEN

Los barrenadores del tallo del género de *Diatraea* spp. (Lepidoptera:Crambidae) han sido reconocidos por ser la plaga de mayor impacto en el cultivo de caña de azúcar, en el que causan importantes pérdidas económicas. Para su control, una cepa colombiana de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (aislamiento Bv062) que demostró alta virulencia frente a larvas de *D. saccharalis* (Fabricius), fue utilizada para el desarrollo de un bioinsecticida formulado como un concentrado emulsionable (CE). Con el fin de integrar este bioinsecticida en un esquema de manejo integrado de plagas, es necesario evaluar su compatibilidad con los agroquímicos utilizados comúnmente en el cultivo de caña de azúcar. Para tal fin se evaluó el efecto *in vitro* de 11 agroquímicos (fungicidas, insecticidas y herbicidas) sobre la germinación y actividad insecticida de conidios formulados. Inicialmente el CE y los agroquímicos fueron ajustados al doble de la concentración recomendada y mezclados en proporción 1:1, se incubaron durante dos horas, y se determinó el porcentaje de germinación. Los conidios expuestos a los agroquímicos fueron también purificados y utilizados para un bioensayo frente a larvas de segundo instar de *D. saccharalis*. El CE resultó ser compatible con los herbicidas e insecticidas evaluados, manteniendo una germinación y eficacia superior al 80%. Por el contrario, el CE fue incompatible con todos los fungicidas evaluados. Estos resultados permiten sugerir recomendaciones de aplicación del bioplaguicida a base de *B. bassiana* Bv062, junto con insecticidas y herbicidas empleados en el cultivo de caña, pero se recomienda no aplicarlo de manera simultánea con fungicidas como el benomil y del grupo de triazoles. Se recomienda validar estos resultados en condiciones de campo.

**Palabras claves:** Compatibilidad, agroquímicos, caña de azúcar panelera, hongos entomopatógenos, control biológico.

\* Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Agrosavia C.I Tibaitatá, Km 14 vía Mosquera-Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8991-4842>.

\*\* Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Agrosavia C.I Tibaitatá, Km 14 vía Mosquera-Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3963-1363>.

\*\*\* Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Agrosavia C.I Tibaitatá, Km 14 vía Mosquera-Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2559-0321>.

\*\*\*\* Microbial Solutions, AgResearch Ltd. Lincoln Research Centre. Christchurch 8140, New Zealand. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4860-6453>.

## ABSTRACT

Sugarcane stem borers of the genus *Diatraea* spp. (Lepidoptera:Crambidae) have been recognized as the pest of the greatest impact on sugarcane crops causing significant economic losses. For its control, a colombian strain of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (code Bv062) that showed a high virulence against *D. saccharalis* (Fabricius) larvae was used for a biopesticide development, formulated as emulsifiable concentrate (EC). In order to include the EC into an integrated pest management (IPM) scheme, it is necessary to evaluate its compatibility with the agrochemicals commonly used in sugarcane crops. For this purpose, the *in vitro* effect of 11 agrochemicals (fungicides, insecticides and herbicides) on the germination and insecticidal activity of Bv062 formulated conidia was evaluated. Initially, the EC and agrochemicals were adjusted to double the recommended concentration and mixed in a 1:1 ratio. The mixes were incubated for two hours, and the germination percentage was calculated. The conidia exposed to the agrochemicals were also purified and used for a bioassay against second instar larvae of *D. saccharalis*. The EC was compatible with the herbicides and insecticides, maintaining germination and efficacy higher than 80%. In contrast, EC was incompatible with all the fungicides evaluated. These results allow us to suggest recommendations for the application of the biopesticide based on *B. bassiana* Bv062 with insecticides and herbicides used in sugarcane crops, but it is not recommended to apply it simultaneously with fungicides such as benomyl and the triazole group. It is recommended to validate these results under field conditions.

**Keywords:** Compatibility, agrochemicals, sugarcane, entomopathogenic fungi, biological control.

**Recibido:** Octubre 22 de 2022

**Aprobado:** Noviembre 14 de 2023

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de caña (*Saccharum officinarum* L.) y la producción de sus derivados como el azúcar y la panela representan una actividad económica importante en Colombia, aportando al producto interno bruto agropecuario y promoviendo los avances industriales en el sector agroindustrial. Actualmente, Colombia es el segundo país con mayor producción de panela en el mundo, con 1,2 millones de toneladas anuales y un 16 % de participación (Agronet, 2021). El complejo *Diatraea* spp. denominado el complejo barrenador del tallo de la caña de azúcar es la limitante más importante del cultivo, generando pérdidas estimadas entre 90 y 100 kilogramos de azúcar o panela por hectárea por cada unidad porcentual de entrenudos barrenados (Vargas *et al.*, 2018; Barreto-Triana *et al.*, 2021). En Colombia, actualmente se ha reportado la presencia de un complejo conformado por más de ocho especies, incluyendo *Diatraea saccharalis* (la especie más estudiada), y algunas especies sin describir (Barrera *et al.*, 2017; Vargas *et al.*, 2018; Barreto-Triana *et al.*, 2021).

El control biológico mediante el uso de hongos entomopatógenos es una herramienta ampliamente usada en el manejo integrado fitosanitario y desde hace algunas décadas se ha convertido en pieza fundamental en las estrategias de manejo en caña tanto de azúcar como panelera (Cardona *et al.*, 2015). El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* juega un papel importante en el control biológico de poblaciones de diferentes plagas agrícolas, manteniendo las poblaciones por debajo de los umbrales de daño económico de diversos agroecosistemas alrededor del mundo (Alves *et al.*, 2003). Particularmente en caña de azúcar, diferentes trabajos han demostrado el poten-

cial de *B. bassiana* para el biocontrol de las poblaciones de *Diatraea* spp. (Arcas *et al.*, 1999; Svedese *et al.*, 2013; de Souza *et al.*, 2022). En Colombia en trabajos previos, se desarrolló un prototipo de bioplaguicida concentrado emulsionable (CE) a base de un aislamiento de *B. bassiana* (Bv062) (García *et al.*, 2018) con resultados de eficacia promisorios que alcanzaron hasta el 80% de control de *D. saccharalis* bajo condiciones semicontroladas de campo (García *et al.*, 2021).

Sin embargo, el éxito de la aplicación de bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos depende de varias condiciones que determinan su viabilidad técnica y económica (Vargas, 2015). En este sentido, un bioplaguicida es considerado exitoso cuando: puede ser usado en un plan de manejo integrado de plagas, es estable en almacenamiento y durante el transporte, es biodegradable y menos tóxico que los agroquímicos, su desarrollo, escalamiento y aplicación son sencillos y es compatible con los agroquímicos y los equipos usados en el cultivo (Zaki *et al.*, 2020). Esto último resulta ser una característica fundamental si se desea integrar productos biológicos en planes de manejo integrado de plagas (MIP). Estos programas son reconocidos y ampliamente aceptados como la mejor estrategia para hacer frente a los problemas fitosanitarios de diversos cultivos alrededor del mundo, la combinación del control químico con productos biológicos podría minimizar el impacto ambiental causado por los agroquímicos utilizados en la producción de alimentos (Torres y Bueno, 2018). Sin embargo, en algunos casos, la eficacia de los hongos entomopatógenos se ve afectada por la presencia de moléculas tóxicas contenidas en los agroquímicos más comúnmente empleados (fungicidas, herbicidas e insecticidas). Por esto, es necesario incluir estudios de compatibilidad de

**Tabla 1.** Agroquímicos utilizados para estudiar la compatibilidad con el bioplaguicida a base de conidios de *B. bassiana* Bv062  
\*El valor de la concentración del agroquímico está presentada al doble de la dosis recomendada, los cálculos fueron realizados teniendo en cuenta una aplicación por hectárea de 200 L.

Agroquímico	Ingrediente activo	Dosis recomendada (Kg o L/Ha)	Dosis experimental* (Kg o L / L)
Herbicidas	Diurón	4	0,04
	Picloram	2	0,03
	Hexazinona	1	0,01
	Metsulfuron Metil	0,015	0,00015
Insecticidas	Clorpirifos	5	0,05
	Spinozad	1,6	0,016
	Clorantraniliprole	0,1	0,001
Fungicida	Propiconazole	0,6	0,006
	Carbendazim	0,5	0,005
	Tebuconazole+ Trifloxystrobin	0,6	0,006
	Benomil	0,5	0,005

los bioplaguicidas previos a su aplicación en campo para entender el efecto de los agroquímicos y generar posibles recomendaciones de uso. Diferentes trabajos han reportado ingredientes activos de agroquímicos que causan un efecto deletéreo a las estructuras biológicas y reproductivas de microorganismos entomopatógenos, disminuyendo su eficacia bajo condiciones de campo (Vasquez *et al.*, 2006; Garcia-Riaño *et al.*, 2022), aunque también se han reportado casos exitosos en los que la combinación de un bioplaguicida y un agroquímico es compatible, y su aplicación combinada tiene alta efectividad en campo (de Oliveira *et al.*, 2003).

En cultivos de caña de azúcar en Colombia, se utilizan diferentes moléculas enfocadas principalmente en el control de malezas, hongos fitopatógenos e insectos. Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la exposición del bioplaguicida CE a base de *B. bassiana*, a los agroquímicos más utilizados en el cultivo de caña de azúcar en las características de germinación y eficacia de los conidios.

## METODOLOGÍA

### Microorganismo, producción y formulación

El microorganismo *Beauveria bassiana* codificado como Bv062 [contrato de acceso de recursos genéticos y derivados de Colombia RGE0229-2 (No. 168)], fue obtenido a partir de una larva de *Diatraea* sp. colectada en el Departamento de Boyacá. Esta cepa se encuentra con-

servada en el Banco de Germoplasma de Microorganismos con Interés en Control Biológico de la Corporación Colombiana de investigación Agropecuaria (Agrosavia) (Garcia *et al.*, 2021). Para su reactivación, este aislamiento fue cultivado en cajas de Petri con Agar Papa Dextrosa (PDA) suplementado con 0,1% de cloranfenicol, las cuales fueron incubadas durante 10 días a 25°C.

La producción masiva de conidios de la cepa Bv062 se realizó mediante fermentación semisólida en un sustrato a base de arroz, siguiendo la metodología descrita por Garcia *et al.* (2021). Para esto, se utilizaron bandejas de aluminio de 10,5 cm x 17,5 cm, donde se adicionaron 10 gramos de arroz partido molido y 80 mL de agua estéril. Las bandejas fueron esterilizadas y posteriormente, por cada bandeja, se colocó una tela de muselina del tamaño de la bandeja y se inoculó una suspensión de conidios preparado a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios/mL en Tween 80 0.1%. Las bandejas fueron cubiertas con una película plástica y se incubaron a  $25^\circ\text{C} \pm 2$ ,  $60\% \pm 10$  HR durante 8 días. Pasado este tiempo, la tela de muselina fue retirada y la biomasa fue separada con ayuda de una espátula estéril y secada durante 5 días hasta obtener una humedad inferior al 5%. Los conidios secos fueron formulados como un concentrado emulsionable (CE), suspendiéndolos (1%) en un vehículo oleoso compuesto por la mezcla de un aceite vegetal (45%), aceite mineral (45%) y una mezcla de tensioactivos (9%). El bioplaguicida inmediatamente después de formularse presentó una concentración final  $1 \times 10^9$  conidios/mL.

dios/mL, una germinación de 92,7% y un contenido de contaminantes (hongos filamentosos, levaduras y bacterias) inferior a 1000 UFC/mL, los cuales se encuentran dentro de los parámetros de calidad establecidos para este producto. El formulado fue posteriormente almacenado a 4°C en recipientes herméticamente cerrados hasta su uso.

### Cría de *Diatraea saccharalis*

Los experimentos se llevaron a cabo con larvas de segundo ínstar de *Diatraea saccharalis* provenientes de la colonia mantenida en la Unidad de Crías de Insectos de Agrosavia ubicada en Mosquera, Cundinamarca (Colombia), que se estableció con larvas donadas por Cenicaña (Centro Colombiano de Investigación de la Caña de Azúcar). La cría es mantenida en condiciones de temperatura de 25±5°C con una humedad relativa de 60 ± 10% y un fotoperíodo de 16 h de luz: 8 h de oscuridad. Para la alimentación de las larvas se utiliza la dieta artificial a base de germen de trigo, zanahoria, tusa de maíz, yagua de caña pulverizada, levadura seca, proteína de soya, azúcar, agar y conservantes, entre otros descritos por Lastra y Gómez (2006).

### Agroquímicos y concentraciones

Para el ensayo de compatibilidad *in vitro* se seleccionaron los principales agroquímicos frecuentemente utilizados en los cultivos de caña de azúcar para en panela en Colombia (ICA 2022), los cuales consistieron en cuatro herbicidas, tres insecticidas y cuatro fungicidas (Tabla 1).

### Compatibilidad del CE con agroquímicos

*Preparación de los tratamientos:* Tanto el bioplaguicida como los agroquímicos fueron reconstituidos en agua al doble de la dosis recomendada (Tabla 1). Cada agroquímico se mezcló en relación 1:1 con el bioplaguicida en un Erlenmeyer de 125 mL con un volumen final de 25 mL (Unidad experimental). Esta mezcla se agitó a 100 rpm a 25°C durante 120 minutos en un agitador. Se utilizaron tres Erlenmeyer por cada tratamiento (3 repeticiones) y cada 15 minutos se tomó una muestra de cada Erlenmeyer (tres muestras por tiempo por tratamiento), sobre la cual se evaluó la germinación de los conidios. La muestra final tomada después de 120 minutos de incubación fue utilizada para evaluar la actividad insecticida sobre larvas de *D. saccharalis*. Como control se utilizó el bioplaguicida reconstituido en agua a la concentración recomendada para su aplicación en campo.

*Germinación de los conidios:* muestras de 100 µL fueron retiradas de cada unidad experimental en cada tiempo de evaluación y se sembraron en cajas de Petri con medio Agar con extracto de malta 0,1% y Benomil 0,0005%. Las cajas fueron incubadas a 25°C durante 24 horas. Finaliza-

do el tiempo de incubación, se cortó un cuadro de agar de 1cm<sup>2</sup> y se le adicionó una gota de azul de lactofenol, enseguida, se cuantificó el número de conidios germinados y no germinados de al menos 100 conidios mediante observación en un microscopio de luz con un aumento de 40X (10 campos ópticos por unidad experimental). La variable de respuesta fue el porcentaje de germinación (%) de los conidios del bioplaguicida. Los conidios fueron considerados germinados cuando el tubo germinal tenía al menos el doble del tamaño de la cabeza del conidio (García-Riaño *et al.*, 2020).

*Actividad insecticida frente a *Diatraea saccharalis*:* Para la evaluación de la actividad insecticida se llevó a cabo un experimento en el que se tomaron muestras de 2 mL de cada Erlenmeyer por tratamiento después de 120 minutos de incubación. La muestra fue centrifugada a 12.000 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante fue descartado y el sedimento correspondiente a los conidios fue lavado dos veces en agua destilada estéril y posteriormente suspendido en agua estéril y ajustado a una concentración de 2x10<sup>7</sup> conidios/mL. Este lavado se realizó para garantizar que la actividad biológica correspondiera efectivamente al hongo entomopatógeno y no al agroquímico, dado que algunos agroquímicos demostraron un efecto insecticida entre el 10 y el 100% sobre larvas de *D. saccharalis* (datos no mostrados).

A partir de cada muestra obtenida de cada Erlenmeyer después de 120 minutos de incubación (tres muestras correspondientes a tres Erlenmeyer por tratamiento), se montó un bioensayo siguiendo la metodología descrita por García *et al.* (2021). Treinta larvas de segundo ínstar de *D. saccharalis* fueron inoculadas aplicando 2 µL del tratamiento en el dorso. Cada larva inoculada se dispuso en un vaso de plástico de media onza que contenía un grano de maíz; luego, se ubicaron en grupos de 10 en cajas Selloplus® de 700 mL (unidad experimental), para un total de tres cajas por tratamiento (triplicado). Las cajas se incubaron en un cuarto de bioensayos a una temperatura de 26±2°C y una humedad relativa de 70±5%. Se contó con un testigo absoluto, en el cual las larvas no fueron sometidas a ningún tratamiento. La mortalidad se evaluó cada tres días hasta que todos los individuos murieron o pasaron al estado de pupa. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento y 10 larvas por repetición. Con los resultados de mortalidad se calculó el porcentaje de eficacia (mortalidad corregida) para cada tratamiento mediante la fórmula de Schneider-Orelli.

$$\text{Eficacia (\%)} = \left( \frac{\% \text{ mortalidad } T - \% \text{ mortalidad } Co}{100 - \% \text{ mortalidad } Co} \right) * 100$$

En donde T corresponde al tratamiento y Co al testigo absoluto.

**Análisis estadístico:** La normalidad de los datos se verificó mediante la prueba de Shapiro-Wilk (95%) y la homocedasticidad se determinó mediante una prueba de Barlett (95%); análisis de varianzas mediante prueba ANOVA y comparación de medias mediante Tukey (95%). Para los datos que no cumplieron con el principio de homocedasticidad de varianzas, se realizó un análisis de estadística no paramétrica mediante la prueba de Kruskal Wallis (95%) utilizando el programa estadístico Statistix (8.1).

## RESULTADOS

### Efecto de la mezcla del CE a base de *B. bassiana* con agroquímicos

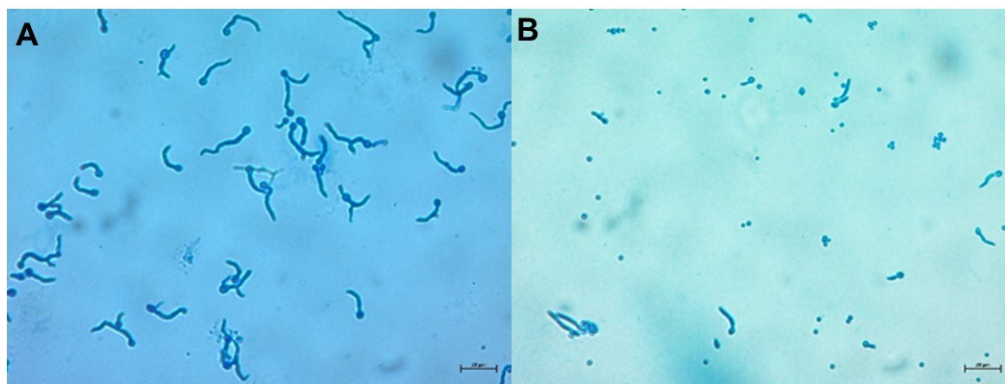
Se determinó el efecto de los diferentes agroquímicos sobre los conidios de *B. bassiana*, determinando las diferencias en germinación (Figura 1) y en la actividad insecticida sobre larvas de *D. saccharalis*, registrando la mortalidad de los individuos, así como la presencia de signos de infección fúngica para corroborar que la mortali-

dad haya sido ocasionada por el hongo. Las larvas presentaron sintomatología característica de infección fúngica; inicialmente, se observaron larvas completamente rígidas y con una coloración rosácea y posteriormente, se evidenció micelio blanco y esporulado característico de la infección por *B. bassiana* (Figura 2).

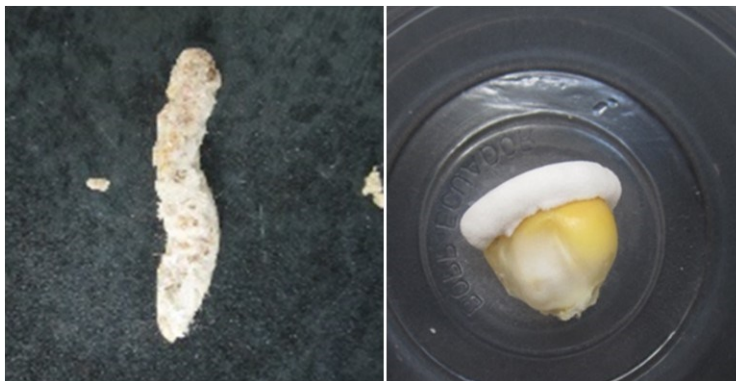
### Fungicidas

Los conidios de Bv062 redujeron significativamente su germinación inmediatamente después de la mezcla con propiconazole, presentando valores de germinación inferiores al 10%, mientras que los conidios del CE mezclado con agua (control), presentaron una germinación superior al 90% ( $F=541$ ,  $gl= 14$ ,  $p<0,05$ ) (Figura 3A). Un comportamiento similar fue obtenido con tebuconazole y trifoxystrobina, que redujeron la germinación a un 16% en los primeros 15 min de incubación y causaron un efecto mayor a través de los diferentes tiempos de exposición, alcanzando valores inferiores al 5% después de dos horas.

El benomil inhibió completamente la germinación de Bv062, no observándose ningún conidio germinado en los diferentes tiempos de evaluación. Por el contrario, el

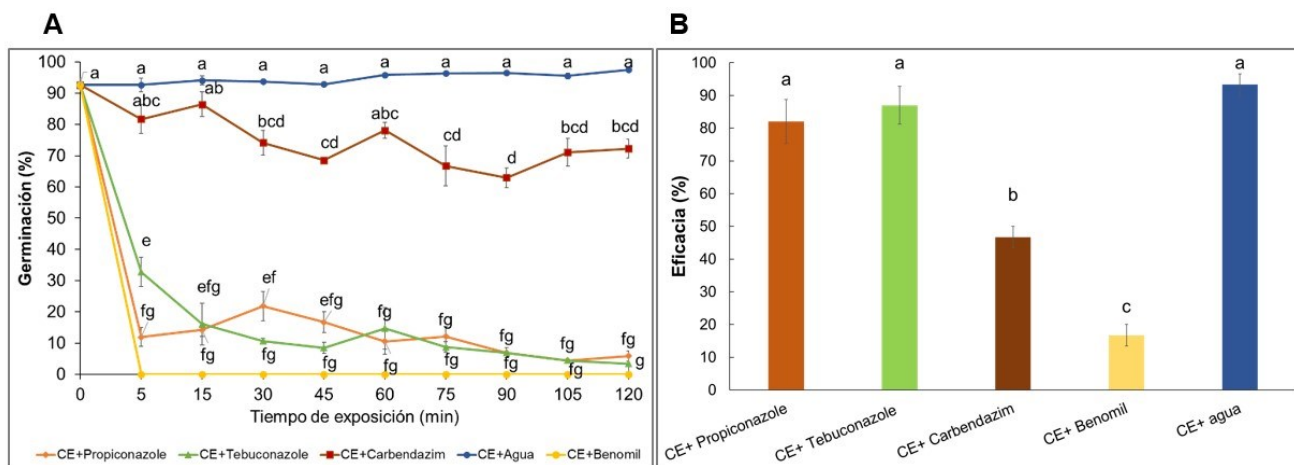


**Figura 1.** Germinación de conidios de *B. bassiana* Bv062 A) Conidios sin exposición a fungicidas. B) Conidios expuestos a fungicida. Observación en microscopio de luz, 40 x.



**Figura 2.** Larvas con sintomatología de infección por *B. bassiana* Bv062.





**Figura 3.** Efecto de fungicidas sobre la germinación de los conidios de Bv062 (A) y sobre la actividad biológica frente a larvas de *D. saccharalis* (B).

Las barras de error representan el error estándar de la media. Los tratamientos con letras diferentes presentaron diferencias significativas según análisis de varianza ANOVA (95%) y comparación de medias de Tukey (95%). El tratamiento CE+Benomil no se incluyó en el análisis estadístico debido a que se obtuvieron germinaciones con valor de 0 en todos los tiempos evaluados.

carbendazim no afectó significativamente la germinación de los conidios durante los primeros 15 minutos (86%) y aunque al aumentar el tiempo de exposición se presentó una reducción significativa ( $F= 3,95$ ;  $gl= 26$ ;  $P=0,0074$ ) de la viabilidad, la germinación se mantuvo por encima del 70% hasta las dos horas de incubación (Figura 3A).

Con respecto a la actividad insecticida del CE sobre larvas de *D. saccharalis*, la mortalidad de larvas superó el 92% cuando el CE fue mezclado con agua (Figura 3B). Después de dos horas de exposición a los fungicidas, se evidenció que los conidios que habían sido expuestos a carbendazim y benomil causaron una mortalidad de larvas significativamente inferior ( $F=22$ ,  $gl=14$ ,  $p<0,001$ ) en comparación con los conidios que no se expusieron a ningún agroquímico (Figura 3B), mientras que los conidios expuestos a tebuconazol y propiconazole presentaron una mortalidad similar a la obtenida con el tratamiento control ( $F= 0,29$ ,  $gl=8$ ,  $p=0,7557$ ), con síntomas de infección como los descritos en la figura 2.

#### Insecticidas

Con respecto a los insecticidas evaluados, en general los principios activos Clorpirifos, Spinosad y Clorantianilprole no afectaron negativamente la germinación de los conidios durante las dos horas de exposición, con valores similares a los presentados por el tratamiento control con agua, con excepción de clorpirifos después de 120 minutos que mostró una germinación significativamente menor que todos los demás tratamientos ( $F= 2,37$ ;  $gl= 107$ ;  $p= 0,001$ ). Cabe destacar, que en todos los tratamientos junto con el control presentaron germinaciones

superiores al 87% durante la duración del experimento (Figura 4A).

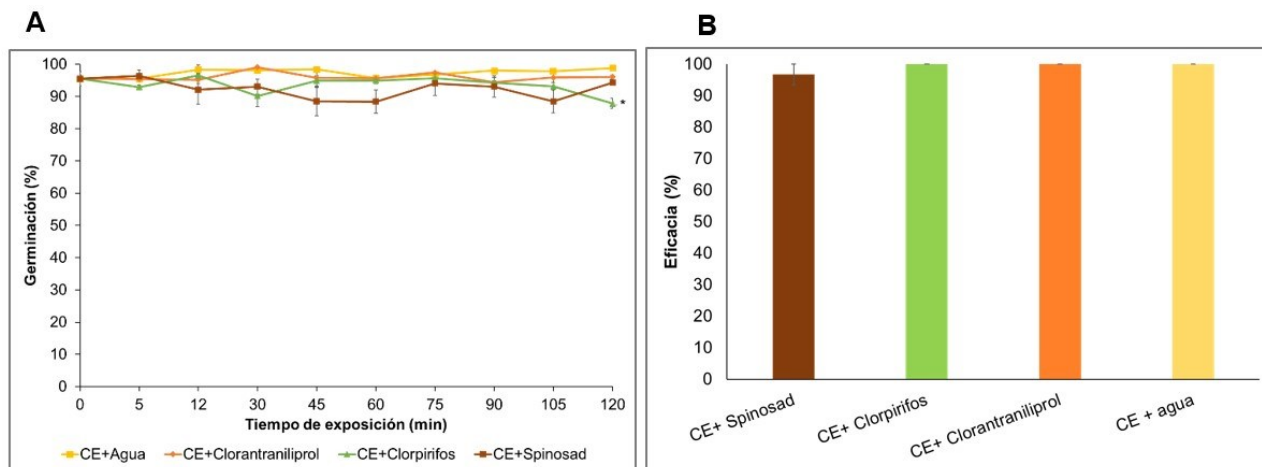
Después de la exposición de los conidios de Bv062 a los insecticidas, estos presentaron eficacias superiores al 95%, igual a la obtenida al utilizar del bioplaguicida CE reconstituido en agua (Figura 4B). Mas del 90% de las larvas muertas en los tratamientos presentaron síntomas típicos de la infección fúngica y abundante esporulación (datos no mostrados), lo que confirmó la causal de muerte debido al entomopatógeno y en consecuencia confirmó la viabilidad y patogenicidad de los conidios después de encontrarse en contacto con los insecticidas por 2 horas.

#### Herbicidas

Los conidios del CE a base de Bv062 expuestos durante las 2 horas a los diferentes herbicidas mantuvieron germinaciones superiores al 80%, valores que no fueron significativamente diferentes con respecto al control en ninguno de los tiempos de evaluación ( $F=2,35$ ;  $gl=14$ ,  $p=0,1247$ ) (Figura 5A). Respecto a la actividad insecticida, todos los tratamientos causaron mortalidades de larvas similares a la causada por el CE reconstituido en agua (superiores al 90%) (Figura 5B). La esporulación de los cadáveres de las larvas en los tratamientos fue superior al 87% en todos los casos, confirmando que la mortalidad se debió a la infección fúngica.

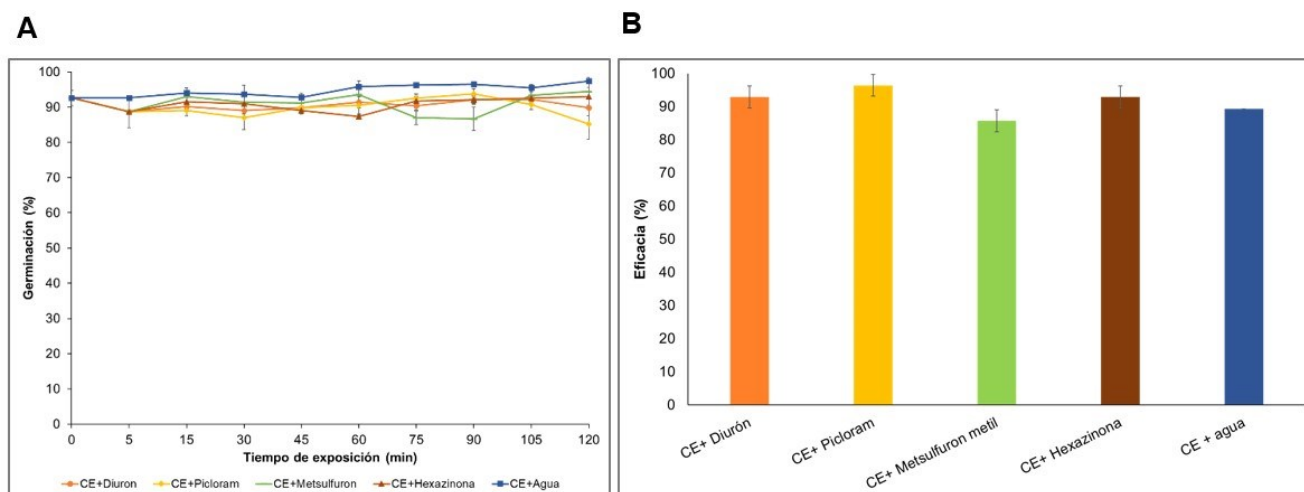
## DISCUSIÓN

El potencial del bioplaguicida utilizado en el presente trabajo para controlar la plaga en cultivos de caña de



**Figura 4.** Efecto de los insecticidas sobre la germinación de los conidios de Bv062 (A) y sobre la actividad biológica frente a larvas de *D. saccharalis* (B).

Las barras de error representan el error estándar de la media. El asterisco indica el único tratamiento que fue significativamente diferente a los demás según análisis de varianza ANOVA (95%).



**Figura 5.** Efecto de los herbicidas sobre la germinación de los conidios de Bv062 (A) y sobre la actividad biológica frente a larvas de *D. saccharalis* (B).

Las barras de error representan el error estándar de la media. Los tratamientos no presentaron diferencias significativas según análisis de varianza ANOVA (95%).

azúcar, fue demostrado en un trabajo previo, donde se obtuvo una mortalidad de larvas superior al 80% después de la aplicación foliar del producto (García *et al.*, 2021). Sin embargo, la factibilidad para la inclusión de este bioplaguicida en un programa de manejo integrado del cultivo depende de la posibilidad de su aplicación conjunta con agroquímicos requeridos para el manejo de otros problemas fitosanitarios. En este contexto, es de gran importancia determinar la compatibilidad de los bioinsecticidas con agroquímicos usados en el cultivo blanco, habiendo una carencia importante de información para el caso particular del cultivo de caña de azúcar.

La mayoría de los reportes de literatura relacionados con la compatibilidad de hongos entomopatógenos con agroquímicos se basa en el efecto sobre las variables microbiológicas (germinación y esporulación, entre otras), que no necesariamente reflejan el efecto real sobre la actividad insecticida del hongo en condiciones de campo (Mejía y Espinel, 2022) y cuya extrapolación no puede ser directa a partir de resultados *in vitro*. Por tal razón, la medición de variables adicionales relacionadas con la patogenicidad y la virulencia, son necesarias para la toma de decisiones y generación de recomendaciones de uso.

Los fungicidas derivados del grupo químico de los triazoles (Propiconazol y Tebuconazol) evaluados en el presente estudio, causaron una reducción significativa de la germinación de los conidios de *B. bassiana* desde los primeros minutos de contacto), efecto debido posiblemente a la inhibición de la biosíntesis del ergosterol que causan estas moléculas (Reddy *et al.*, 2018; da Silva *et al.*, 2012). Resultados similares se han reportado para varios hongos entomopatógenos como *B. bassiana*, *Lecanicillium lecanii* y *Metarhizium anisopliae*, para los cuales algunos fungicidas derivados del grupo de los triazoles han mostrado efectos altamente tóxicos, causando inhibiciones superiores al 90% de la germinación de conidios y del crecimiento micelial (Khan *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2013; Reddy *et al.*, 2018; Garcia-Riaño *et al.*, 2022). Sin embargo, cuando los conidios fueron separados del medio con fungicida y usados en un bioensayo después de dos horas de exposición, se obtuvo una mortalidad aproximada del 80% en las larvas de *D. saccharalis*. Estos resultados sugieren que el efecto de estas moléculas sobre los conidios del bioplaguicida durante dos horas de exposición fue fungistático y no fungicida. Dicho efecto fue reportado por da Silva *et al.* (2012), quienes observaron que algunos agroquímicos como triazoles inhibieron la germinación de los conidios de *M. anisopliae* después de 20 horas de incubación. Después de 48 horas, la germinación aumentó, evidenciándose un efecto fungistático pues los conidios no perdieron su viabilidad.

En contraste, el fungicida Benomil inhibió completamente la germinación de los conidios en todos los tiempos evaluados, lo que se correlacionó con una reducción significativa de la actividad insecticida (<20% mortalidad). De manera general, el fungicida Benomil es una de las moléculas con mayores efectos deletéreos sobre la actividad insecticida de hongos entomopatógenos, encontrando una inhibición total de la germinación de conidios de diferentes cepas de *M. anisopliae* y *B. bassiana* (Samuels *et al.*, 1989; Khan *et al.*, 2012; Faraji *et al.*, 2016). Dicha inhibición puede estar relacionada con su modo de acción, ya que este fungicida interfiere con las funciones vitales de la célula fúngica lo que previene la división nuclear y suprime el crecimiento micelial (Mietkiewski *et al.*, 1997), siendo posible que la viabilidad de *B. bassiana* Bv062 se haya visto afectada por el contacto con la molécula Benomil.

El fungicida Carbendazim también afectó a los conidios formulados de *B. bassiana* Bv062, reduciendo su germinación en un 25%, aunque este fungicida fue el menos deletéreo para la germinación del hongo. Esto podría deberse al modo de acción de la molécula, la cual interviene en el proceso de formación de la  $\beta$ -tubulina, cau-

sando alteraciones en la división celular y afectando el crecimiento fúngico, pero no necesariamente afectando la germinación (Kim *et al.*, 2009). En términos de actividad biológica, los conidios expuestos por dos horas al fungicida redujeron en un 47% la mortalidad causada sobre larvas de *D. saccharalis* con respecto al control, lo que evidencia que, aunque la mayoría de los conidios fueron capaces de germinar, algunos no fueron capaces de desarrollarse y causar la infección del hospedero. Cabe destacar que estos resultados contrastan con los encontrados por otros autores que reportan un 100% de inhibición de hongos como *M. rileyi*, *B. bassiana* y *M. anisopliae* cuando se expusieron a diferentes concentraciones de carbendazim (Prabhu *et al.*, 2007; Patil *et al.*, 2014; Melo *et al.*, 2015).

Para el caso de los insecticidas, en el presente trabajo no se observó efecto significativo de la exposición del bioplaguicida durante dos horas a las moléculas evaluadas. Esta compatibilidad es interesante porque los insecticidas químicos aplicados junto con entomopatógenos podrían presentar un efecto sinérgico para el control de un insecto plaga. Es necesario realizar estudios que demuestren dicho efecto y después se requiere determinar las dosis mínimas efectivas de cada producto (insecticida y bioinsecticida) que al ser combinados produzcan efecto positivo en condiciones de campo. En trabajos previos, la molécula clorpirifos han demostrado toxicidad sobre hongos como *M. anisopliae* y *B. bassiana*, afectando de manera significativa parámetros como esporulación, crecimiento micelial y germinación (Samuels *et al.*, 1989; Raj *et al.*, 2011; Faraji *et al.*, 2016), en contraste con lo encontrado en el presente trabajo. Por su parte, el insecticida clorantropilprole, puede disminuir la capacidad germinativa del hongo *B. bassiana* y su actividad sobre larvas (Parjane, 2020), y podría ser considerada una molécula moderadamente compatible con el hongo. El insecticida spinosad ha demostrado ser uno de los menos perjudiciales para las características de hongos entomopatógenos, demostrando ser compatible o moderadamente compatible con varias cepas de *B. bassiana* (Amutha *et al.*, 2010; Rajanikanth *et al.*, 2010; Faraji *et al.*, 2016).

En el caso de los herbicidas, se obtuvieron resultados similares en los que no se afectó la germinación ni la actividad insecticida de los conidios de *B. bassiana* formulados, después de la exposición dos horas a diferentes moléculas. Samuels *et al.* (1989) demostraron que los herbicidas Diurón y Trifluralina no causaron efecto sobre el crecimiento ni la germinación de *M. anisopliae*. Gardner y Storey (1985) evidenciaron que algunos herbicidas como Diurón, Pronamida, Simazina y Terbacil inhibieron la germinación de *B. bassiana*, pero inhibieron modera-



damente el crecimiento micelial, indicando una posible actividad fungistática en lugar de fungicida. Botelho y Monteiro (2010) evidenciaron un efecto tóxico de los herbicidas Diurón, Hexazinona+Diurón, Imazapir y Metsulfuron Metil sobre el crecimiento micelial, esporulación y viabilidad de *M. anisopliae* y *B. bassiana*. Celar y Kos (2016) también observaron alta sensibilidad de *B. bassiana* con todos los herbicidas estudiados. Según estos autores, la actividad fungicida de los herbicidas comerciales podría ser causada por el ingrediente activo, los excipientes o la interacción entre estos y con la especie microbiana.

Los insecticidas y herbicidas evaluados en el presente trabajo podrían ser utilizados de manera conjunta con el bioplaguicida debido a su compatibilidad, que puede estar relacionada con el modo de acción de estas moléculas, dirigido a puntos críticos del desarrollo y la supervivencia de insectos plaga y de plantas (Akbar, 2012; Garcia-Riaño *et al.*, 2020).

La compatibilidad de *B. bassiana* Bv062 con los agroquímicos evaluados en el presente estudio, también podría estar relacionada también con la formulación oleosa del concentrado emulsionable. En esta formulación, los conidios se encuentran recubiertos (encapsulados) por una capa de aceite y tensioactivos que podría actuar como barrera, reduciendo la permeabilidad y contacto de las células y las moléculas activas. Este potencial efecto protector de la formulación le conferiría una ventaja competitiva al hongo cuando es formulado en este sistema de liberación y aplicado en campo junto con diferentes agroquímicos. Esto fue observado por Lopes *et al.* (2011), quienes evidenciaron que una base oleosa usada como formulación confirió protección a los conidios de *M. anisopliae* frente a productos con actividad fungicida o fungistática y además incrementó la virulencia sobre larvas de *D. saccharalis*. Por lo tanto, es necesario profundizar en estos resultados y elucidar las interacciones que se dan entre el hongo y las moléculas de los agroquímicos evaluados, cuando se emplea la formulación CE.

Con base en los resultados encontrados en el presente estudio, se sugiere como siguiente paso evaluar la compatibilidad de los agroquímicos promisorios en condiciones de campo, aplicándolos de manera conjunta o alternada con el fin de generar recomendaciones de uso dentro de un programa de manejo integrado del cultivo y evaluar su impacto ecológico. Los resultados permitirán generar algunas recomendaciones para la integración exitosa de estos agroquímicos y el bioplaguicida en programas de manejo en campo, ya que los estudios *in vitro* exponen el microorganismo a los agroquímicos en

el escenario más agresivo, lo que no ocurre bajo condiciones de campo, donde varios factores actúan como barreras contra dicha exposición, protegiendo al entomopatógeno. El manejo del cultivo de caña de azúcar incluye el uso de herbicidas para eliminar las malezas, el uso de fungicidas para controlar enfermedades limitantes como la roya naranja desde la semilla, y el uso de insecticidas químicos para disminuir los niveles de daño del complejo barrenadores de la caña *Diatraea* spp. y para controlar otros insectos perforadores y defoliadores (López, 2015). La utilización de un bioplaguicida a base de *B. bassiana* junto con las demás estrategias dentro un plan de manejo integrado, permitirán asegurar un mayor control manteniendo un umbral inferior al esperado o reduciéndolo a tal punto que no le cause pérdidas económicas al agricultor. Adicionalmente, la información sobre compatibilidad con agroquímicos complementa la ficha técnica del bioplaguicida con miras a su registro y adopción por parte de los productores de caña.

#### AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia con fondos gubernamentales asignados a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) (Proyecto: "Recomendaciones para el manejo de *Diatraea* spp. Mediante métodos biológicos y etológicos"). El apoyo a la investigación fue proporcionado por fondos gubernamentales asignados a AGROSAVIA.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Akbar, S., Freed, S., Hameed, A., Gul, H., Akmal, M., Malik, M., Naeem, M., Khan, M. (2012). Compatibility of *Metarhizium anisopliae* with different insecticides and fungicides. *Afr. J. Microbiol. Res*, 6 (17): 3956-3962.
- Ali, S., Huang, Z., Ren, S. (2013). Effect of fungicides on growth, germination and cuticle-degrading enzyme production by *Lecanicillium muscarium*. *Biocontrol Sci Technol*, 23, 711-723.
- Alves, S., Pereira, R., Tamaima, B. (2003). Use of entomopathogenic fungi in Latin America. In: Advances in microbial control of insects pests, Upadhyay, R. K. ed. Kluwer, New York, p. 193-211.
- Agronet (2021). Colombia es el segundo mayor productor de panela a nivel mundial con 16% de participación. Disponible en: <https://www.agronet.gov.co/Noticias/Paginas/Colombia-es-el-segundo-mayor-productor-de-panela-a-nivel-mundial-con-16-del-mercado.aspx>. Consultado 09 de julio de 2022.

- Amutha, M., Gulsar Banu, J., Surulivelu, T., Gopalakrishnan, N. (2010). Effect of commonly used insecticides on the growth of white Muscardine fungus, *Beauveria bassiana* under laboratory conditions. *J Biopestic*, 3, 143–146.
- Barrera, G.P., Villamizar, L.F., Espinel, C., Quintero, E.M., Belaich, M.N., Toloza, D.L., Ghiringhelli, P.D., Vargas, G. (2017). Identification of *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) based on cytochrome oxidase II. *PLoS One*, 12, e0184053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184053>.
- Barreto-Triana, N., Osorio-Mejía, P., Insuasty Burbano, O., Sarmiento-Naizaque, Z., Sandoval-Cáceres, Y., Barona-Rodríguez, A., Jiménez-Vargas, J., & Gómez-Benavides, J. (2021). Conozca a sus aliados para el manejo del barrenador *Diatraea* spp. en caña de azúcar para panela, p 60.
- Botelho, A.A.A., Monteiro, A. (2011). Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. *Bragantia, Campinas*, 70 (2): 361-369. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052011000200016>.
- Cardona, L., Soto, A. (2015). Susceptibilidad de *Diatraea saccharalis* (F) (Lepidoptera:Crambidae) a diferentes hongos entomopatogénos en caña panelera. *Boletín científico Mus. Hist. Nat. Univ. Caldas*, 19, 95–103.
- Celar, F. A., Kos, K. (2016). Effects of selected herbicides and fungicides on growth, sporulation and conidial germination of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Pest Manag Sci*, 1–8.
- Faraji, S., Shadmehri, A. D., Mehrvar, A. (2016). Compatibility of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with some pesticides. *J Entomol Soc Iran*, 36 (2), 137-146.
- García, J.L., Sotelo, P., Monroy, D.M., Barrera, G., Gómez-Valderrama, J., Espinel, C., Barreto, E., L, Villamizar. (2018). Identification and characterization of a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. isolate having a high potential for the control of the *Diatraea* sp. sugarcane stem borer. *Biotechnol Apl*, 2018, 35(1),1201-7.
- García, J.L., Gomez, J.A., Araque, G.A., Vasquez, D.F., Villamizar, L.F. (2021). Insecticidal activity and persistence of a formulation based on *Beauveria Bassiana* for *Diatraea saccharalis* control. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex-Agro-Ciencia*, 37 (3), 257-269.
- García-Riaño, J.L., Torres-torres, L.A., Grijalba-Bernal, E.P., Santos-Díaz, A.M. (2022). *In vitro* compatibility with soybean agrochemicals and storage stability studies of the *Beauveria bassiana* biopesticide. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102275.
- ICA (2022). Registros nacionales de plaguicidas de uso agrícola registrados ante el ICA. Available online: <https://www.ica.gov.co/getdoc/d3612ebf-a5a6-4702-8d4b-8427c1cdaeb1/registrosnacionales-pqua-15-04-09.aspx>
- Kim, J., Min, J., Bae, Y., Kim, H. (2009). Molecular Analysis of *Botrytis cinerea* Causing Ginseng Grey Mold Resistant to Carbendazim and the Mixture of Carbendazin Plus Diethofencarb. *Plant Pathol. J*, 25 (4): 322-327.
- Lastra, L. A., Gómez, L. (2006). La cría de *Diatraea saccharalis* (F.) para la producción masiva de sus enemigos naturales. Serie Técnica No. 3. Centro de Investigación de la caña de azúcar en Colombia. Serie Técnica No. 3. Cali, Colombia. 30 p. ISSN 0120-5846.
- Khan, S., Bagwan, N., Fatima, S., Iqbal, A. (2012). *In vitro* Compatibility of Two Entomopathogenic Fungi with Selected Insecticides, Fungicides and Plant Growth Regulators. *Libyan Agric Res Cent J Int*, 3, 36–41.
- López, J.G. (2015) Manejo agronómico del cultivo de la caña de azúcar para panela en Antioquia. Bogotá (Colombia): Corpoica,100 p.
- Lopes, R. B., Pauli, G., Mascarin, G. M., Faria, M. (2011). Protection of entomopathogenic conidia against chemical fungicides afforded by an oil-based formulation. *Biocontrol Sci Technol*, 21, 125–137.
- Melo, A., Ariza, P., Lissbrant, S., Tofiño, A. (2015). Evaluation of agrochemicals and bioinputs for sustainable bean management on the Caribbean coast of Colombia. *Agron Colomb*, 33, 203–211.
- Mejía, C., & Espinel, C. (2022). *In vitro* versus *in planta* : Comparing the compatibility of *Akanthomyces lecanii* with pesticides against *Trialeurodes vaporariorum*. *J. Appl. Entomol*, 1–9. <https://doi.org/10.1111/jen.13064>.
- Mietkiewski, R. T., Pell, J. K. & Clark, S. J. (1997). Influence of Pesticide Use on the Natural Occurrence of Entomopathogenic Fungi in Arable Soils in the UK: Field and Laboratory Comparisons. *Biocontrol Sci Technol*, 7, 565–576.
- De Oliveira, C., Oliveira, P. M., Neves, J., Lídio, Kawazoe, S. (2003). Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. *Sci Agric*, 60, 663–667.

- Parjane, N. V., Kabre, G. B., Mahale, A.S., Shejale, B.T., Nirgude, S.A. (2020). Compatibility of pesticides with *Metarhizium anisopliae*. *J Entomol Zool Stud*, 8(5), 633-636.
- Patil, R. K., Bhagat, Y. S., Halappa, B. & Bhat, R. S. (2014). Evaluation of entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi* (Farlow) samson for the control of groundnut *Spodoptera litura* (F.) and its compatibility with synthetic and botanical pesticides. *J Biopestic*, 7, 106-115.
- Prabhu, T., Srikanth, J. & Santhalakshmi, G. (2007). Compatibility of selected pesticides with three entomopathogenic fungi of sugarcane pests. *BioControl*, 21, 73-82.
- Raj, G., Sundaram, J., Baskar, K. & Vincent, S. (2011). Compatibility of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolated from Pulney hills, Western Ghats of Tamil Nadu with insecticides. *Elixir Agric*, 40, 5563-5567.
- Rajanikanth, P., Subbaratnam, G. V & Rahaman, S. J. (2010). Compatibility of insecticides with *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin for use against *Spodoptera litura* Fabricius. *J Biol Control*, 24, 238-243.
- Reddy, S., Reddy, M. & Pushpalatha, M. (2018). Interaction of fungicides with bio-control agents. *J Entomol Zool Stud*, 6, 545-551.
- Samuels, K. D. Z., Pinnock, D. E. & Allsopp, P. G. (1989). The potential of *Metarhizium anisopliae* (Metschikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as a biological control agent of *Inopus rubriceps* (Macquart) (Diptera: Stratiomyidae). *Aust J Entomol*, 28, 69-74.
- da Silva, R., Eliane, Q., Mascarin, G., Barrigossi, J. & Liao, L. (2012). Compatibility of agrochemicals with *M. anisopliae*. *Sci. Agricola*. 70 (3), 152-160.
- Torres, J., Bueno, A. (2018) Conservation biological control using selective insecticides - A valuable tool for IPM. *Biol. Control*. 126, 53-64.
- Vargas G (2015). Retos y oportunidades en el manejo de los barrenadores del tallo, *Diatraea* spp. Cenicaña, Serie Divulgativa No. 17, 6p. Available online on: [http://www.cenicana.org/pdf/serie\\_divulgativa/sd\\_17/sd\\_17.pdf](http://www.cenicana.org/pdf/serie_divulgativa/sd_17/sd_17.pdf).
- Vargas, G., Lastra, L.A., Ramírez, G.D. (2018). The *Diatraea* Complex (Lepidoptera: Crambidae) in Colombia's Cauca River Valley: Making a Case for the Geographically Localized Approach. *Neotrop Entomol*, 47, 395. <https://doi.org/10.1007/s13744-017-0555-6>.
- Zaki, O., Weekers, F., Thonart, P., Tesch, E., Kuenemann, P., Jacques, P.(2020). Limiting factors of mycopesticide development. *Biol. Control*, 144, 104220. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104220>.
- Zar, J. (1999). *Biostatistical Analysis*. p. 663. Prentice H. New Jersey.