

## Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. para el control de *Mahanarva andigena* en el cultivar de caña de azúcar POJ93 en la Amazonia ecuatoriana

*Characterization of native isolates of Metarhizium spp. for the control of Mahanarva andigena in the sugarcane cultivar POJ93 in the Ecuadorian Amazon*

Segundo Valle<sup>1\*</sup>, Karina Carrera<sup>1</sup>, Reinaldo Alemán<sup>1</sup>, Willan Caicedo<sup>1</sup>

### RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el hongo nativo *Metarhizium* spp. en el control del salivazo (*Mahanarva andigena*) de la caña de azúcar, en Pastaza, Ecuador. Para esto, se seleccionaron veinte aislamientos monospóricos obtenidos en cultivares de caña; procedentes de suelo (DAS5401, SJS5103, DAS5403, TS6302, TS6304, SJS5104, DAS5402, PS5002, TS6308, DAS5404, PS5004, SJS5102, SJS5101, PS5001, PS5003) e insectos micosados (TI6301, TI6303, TI6305, TI6306, TI6307). El experimento se realizó a través de un diseño completamente aleatorizado con seis réplicas por cada aislamiento. Los datos se procesaron por ANOVA y la comparación de medias se hizo con la prueba Tukey ( $P < 0,05$ ). El aislamiento DAS5401 presentó el mayor ( $P < 0,0001$ ) crecimiento radial (64,7 mm) y no difirió significativamente ( $P > 0,05$ ) de SJS5103 (62,9 mm), DAS5403 (58,5 mm) y TS6302 (5,4 mm). En cuanto a la tasa de crecimiento, el monospórico DAS5401 obtuvo el mayor ( $P < 0,0001$ ) crecimiento (2,99 mm.día<sup>-1</sup>), sin diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) con SJS5103 (2,90 mm.día<sup>-1</sup>), DAS5403 (2,68 mm.día<sup>-1</sup>) y TS6302 (2,62 mm.día<sup>-1</sup>). La mayor producción de conidios se evidenció en los monospóricos TS6302 (1,09x10<sup>8</sup> conidios.mL<sup>-1</sup>), SJS5101 (1,04x 10<sup>8</sup> conidios.mL<sup>-1</sup>), DAS5401 (9,35 x 10<sup>7</sup> conidios.mL<sup>-1</sup>) y PS5002 (9,20 x 10<sup>7</sup> conidios.mL<sup>-1</sup>). Los aislamientos monospóricos de *Metarhizium* spp. obtenidos del suelo y a partir de insectos micosados en cultivares de caña de azúcar en Pastaza, Ecuador, mostraron variabilidad en cuanto a crecimiento radial, tasa de crecimiento y producción de conidios, para fines de selección como micoinsecticidas de *Mahanarva andigena* en condiciones de laboratorio, invernadero y campo.

**Palabras clave:** biocontrol, caña de azúcar, conidios, entomopatógeno, monospóricos.

### ABSTRACT

*With the purpose of counting in Pastaza, Ecuador, with native isolates of (Metarhizium spp.) with potential to control spittlebug (Mahanarva andigena) of sugarcane, 20 monosporic isolates were obtained from sugarcane cultivars; from soil (DAS5401, SJS5103, DAS5403, TS6302, TS6304, SJS5104, DAS5402, PS5002, TS6308, DAS5404, PS5004, SJS5102, SJS5101, PS5001, PS5003) and the insects (TI6301, TI6303, TI6305, TI6306, TI6307) were characterized according to radial growth, growth rate and concentration of conidia. The experiment was conducted through a completely randomized design with six replicates for each isolation. ANOVA processed the data, the comparison of means was made with the Tukey test ( $P < 0.05$ ). The DAS5401 isolate presented the highest ( $P < 0.0001$ ) radial growth (64.7 mm) and did not differ significantly ( $P > 0.05$ ) from SJS5103 (62.9 mm), DAS5403 (58.5 mm) and TS6302 (5.4 mm). Regarding the growth rate, the monosporic DAS5401 exhibited the highest ( $P < 0.0001$ ) growth (2.99 mm.day<sup>-1</sup>), without significant differences ( $P < 0.05$ ) with SJS5103 (2.90 mm.day<sup>-1</sup>), DAS5403 (2.68 mm.day<sup>-1</sup>) and TS6302 (2.62 mm.day<sup>-1</sup>). The highest production of conidia was evidenced in the monosporic TS6302 (1.09x10<sup>8</sup> conidia.mL<sup>-1</sup>), SJS5101 (1.04x10<sup>8</sup> conidia.mL<sup>-1</sup>), DAS5401 (9.35x10<sup>7</sup> conidia.mL<sup>-1</sup>) and PS5002 (9.20x10<sup>7</sup> conidios.mL<sup>-1</sup>). The monosporic isolates of Metarhizium spp. obtained from the soil and from mycosed insects in cultivars of sugarcane in Pastaza, Ecuador, showed variability in terms of radial growth, rate of the growth and production of conidia, for selection purposes as mycoinsecticides Mahanarva andigena under laboratory, greenhouse and field conditions.*

**Keywords:** biocontrol, sugar cane, conidia, entomopathogenic, monosporic.

<sup>1</sup> Universidad Estatal Amazónica, Departamento de Ciencias de la Tierra, Paso Lateral S/N, Km 2½ Vía a Napo. Puyo, Pastaza, Ecuador.

\* Autor por correspondencia: svalle@uea.edu.ec

## Introducción

La caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido) es una poácea nativa de las regiones tropicales que se distribuye a nivel mundial. En el Ecuador, este cultivo se encuentra entre los principales rubros agrícolas y ocupa un lugar preponderante en la actividad económica y social del país por su contribución al PIB agrícola nacional (CINCAE, 2017). En la provincia de Pastaza, perteneciente a la Región Amazonía Ecuatoriana (RAE), se cultivan alrededor de 927,05 ha de caña de azúcar (POJ93). Es el principal rubro agrícola en la provincia y su producción se destina a la elaboración de panela, miel, jugos, alcohol y caña de fruta (Valle *et al.*, 2015).

Actualmente, el cultivo de caña de azúcar en Pastaza se ha visto afectado por el salivazo (*Mahanarva andigena* Jacobi). Este insecto se alimenta de las láminas foliares y provoca una fitotoxemia llamada “quema de las hojas”, con la constante disminución de la capacidad fotosintética de las hojas. El daño causado por el salivazo es medido con la reducción de la productividad de los tallos/planta que puede variar entre 40 y 60%, y provocar la afectación en la calidad de la materia prima para el proceso agroindustrial (Mendoza *et al.*, 2013).

Una de las estrategias básicas para el control biológico de plagas es la exploración inicial de los enemigos naturales nativos a nivel regional antes de introducir cepas exóticas (Torres *et al.*, 2013). En la provincia de Pastaza existe gran variabilidad en cuanto a microclimas, y esto favorece la existencia de una amplia diversidad de organismos nativos con potencial de control biológico del salivazo, donde los cultivos monospóricos representan una alternativa que permite seleccionar las mejores características de los aislamientos silvestres (Cortez *et al.*, 2003).

En estudios preliminares ejecutados por Valle *et al.* (2018) se demostró que es viable el uso de *Metarhizium anisopliae* para reducir los niveles poblacionales del salivazo en Pastaza, Sin embargo, resulta necesario disponer de una mayor cantidad de aislamientos nativos con potencialidades para el control de esta plaga.

Con estos antecedentes, en el estudio se caracterizaron veinte aislamientos nativos, monospóricos, del hongo *Metarhizium anisopliae*, con la finalidad de seleccionar los mejores en cuanto a características fisiológicas y producción de

conidios para el manejo del salivazo (*Mahanarva andigena*) en cultivares de caña de azúcar en Pastaza, Ecuador.

## Materiales y métodos

### Localización del área de estudio

La investigación se realizó en el cantón Pastaza durante el año 2018. Esta zona corresponde a la forma de vida “Bosque siempreverde piemontano”, con precipitaciones medias anuales que oscilan entre 2500 y 4000 mm, distribuidas durante todo el año. La temperatura anual promedio en la mayor parte de la provincia de Pastaza oscila entre 24 y 28 °C y una humedad relativa cercana al 80%. Los suelos en su mayoría pertenecen al orden Inceptisoles (Bravo *et al.*, 2015).

### Origen de aislamientos

Se utilizaron veinte aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. procedentes del suelo y a partir de insectos micosados en cultivares de caña de azúcar, en las parroquias Tarqui, Puyo, Diez de Agosto y San José pertenecientes al cantón Pastaza, provincia de Pastaza (Tabla 1).

Tabla 1. Aislamientos monospóricos *Metarhizium* spp. procedentes de cuatro parroquias del cantón Pastaza, provincia de Pastaza, Ecuador.

Codificación	Procedencia	Parroquias
TI6301	Insecto Micosado	Tarqui
TS6302	Suelo	Tarqui
TI6303	Insecto Micosado	Tarqui
TS6304	Suelo	Tarqui
TI6305	Insecto Micosado	Tarqui
TI6306	Insecto Micosado	Tarqui
TI6307	Insecto Micosado	Tarqui
TS6308	Suelo	Tarqui
PS5001	Suelo	Puyo
PS5002	Suelo	Puyo
PS5003	Suelo	Puyo
PS5004	Suelo	Puyo
DAS5401	Suelo	Diez de Agosto
DAS5402	Suelo	Diez de Agosto
DAS5403	Suelo	Diez de Agosto
DAS5404	Suelo	Diez de Agosto
SJS5101	Suelo	San José
SJS5102	Suelo	San José
SJS5103	Suelo	San José
SJS5104	Suelo	San José

### Aislamiento y obtención de cultivos monospóricos de *Metarhizium* spp.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Estatal Amazónica. Para aislar hongos hifomicetos a partir de muestras de suelo se utilizó la metodología de dilución seriada (Schapovaloff *et al.*, 2015). En las muestras de suelo se hicieron diluciones seriadas en base 10 y se utilizó la dilución  $10^{-2}$ , para la inoculación de 100  $\mu$ L por cada placa de Petri que contenía Potato Dextrosa Agar (PDA). A los 8 días de inoculadas las placas de Petri se aislaron e identificaron las colonias de *Metarhizium* spp. con base en las estructuras reproductivas (Humber, 2012). Para el aislamiento a partir de insectos micosados se utilizó la metodología de García *et al.* (2012a). Los salivazos infectados colectados en el campo se colocaron en un tubo eppendorf de 2 mL con papel filtro y se llevaron al laboratorio. Los insectos se desinfestaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 1%, durante 3 min. El exceso de hipoclorito se eliminó con un lavado triple en agua destilada estéril y para evitar el exceso de humedad se colocaron los insectos sobre papel toalla estéril. Luego, cada insecto fue depositado en cámara húmeda (90% HR) a 26 °C, durante ocho días. Finalmente, cuando se observó algún crecimiento de hongos sobre el cuerpo del insecto, se aisló sembrándolo en un medio de PDA y ácido láctico al 25% adicionando el 1% del volumen que se preparará. El aislamiento se incubó durante ocho días a 27 °C, para permitir su desarrollo hasta la esporulación e identificar el microorganismo obtenido.

Para la obtención de cultivos monospóricos de los veinte aislamientos se utilizó la metodología de Estrada *et al.* (1997), que consistió en lograr una concentración de  $3 \times 10^5$  conidios. $\text{mL}^{-1}$ , a partir de cada uno de los aislamientos poliespóricos obtenidos, cultivados en Potato Dextrosa Agar (PDA) acidificado, mantenido a  $27 \pm 1$  °C. La remoción de las esporas de los cultivos se realizó con Tween 80 al 0,05%. A partir de esta suspensión se hicieron diluciones seriadas y con la cámara de Neubauer y un microscopio Midcis se realizó el recuento de conidios por mililitro, a fin de calcular la concentración requerida (Villamil y Martínez, 2014). De esta suspensión se tomaron 3  $\mu$ L y se depositaron sobre el extremo superior de una estría previamente marcada por el reverso de la caja de

Petri y con la ayuda de un asa en argolla se esparció el inóculo sobre estaetas. Por cada aislamiento se realizaron cuatro réplicas. Luego de incubar la caja de Petri a  $27 \pm 1$  °C durante 24 horas, se observó la germinación de los conidios con el objetivo 10X del microscopio. Posteriormente se demarcó el área con el objetivo 40X y se cortó el bloque de agar con la ayuda de un bisturí, se cultivó en medio PDA acidificado y se incubó a una temperatura de 25 °C con luz durante 8 días. Luego se seleccionó la colonia que tuvo un mejor crecimiento para su utilización en la evaluación de la tasa de crecimiento.

### Mediciones realizadas

#### *Crecimiento radial y tasa de crecimiento*

Para determinar el crecimiento radial y la tasa de crecimiento de los aislamientos de *Metarhizium* spp., se procedió de la siguiente manera: con el empleo de un sacabocados se tomaron discos de 5 mm ( $\emptyset$ ) de colonias de cuatro días de crecimiento en cada aislamiento, los discos de micelio se transfirieron usando un asa estéril y se colocaron en el centro de cada caja de Petri de 90 mm ( $\emptyset$ ), previamente trazada en la parte externa de la base con una línea en dirección horizontal y vertical. Posteriormente se sellaron con parafilm, se rotularon y se llevaron a incubación a la incubadora Memmert por 20 días a  $27 \pm 1$  °C en oscuridad total. El crecimiento radial de las colonias se midió en dos direcciones perpendiculares cada 48 horas usando un calibrador Vernier digital durante 20 días. A los valores obtenidos en la medición se les restaron los 5 mm correspondientes a cada círculo de micelio inicial. La tasa de crecimiento se calculó al final del ensayo con la fórmula propuesta por Guigón *et al.* (2010).

$$\text{Tasa de crecimiento} = \frac{\text{crecimiento final} - \text{Crecimiento inicial}}{\text{Tiempo de incubación}}$$

#### *Concentración de conidios*

Para determinar la concentración de conidios por cada aislamiento se siguió la metodología de Ruiz *et al.* (2011). De las cajas de Petri de veinte días de incubación se procedió a obtener los conidios de la superficie del cultivo bajo condiciones asépticas, inundando la caja de Petri con 10 mL de

agua destilada estéril (ADE) + Tween 80 (0,1%) y raspando la colonia con un bisturí. La suspensión de conidios fue filtrada con gasa estéril para separar el micelio. Los conidios se agitaron durante 10 min en un Vórtex. Posteriormente el conteo de conidios se realizó en cámara de Neubauer improved brigh-line, utilizando la dilución  $10^{-2}$ , en cinco cuadrantes del cuadrado central con ayuda del objetivo 40x del microscopio. La concentración de conidios por  $\text{mL}^{-1}$  se estimó mediante la fórmula:

$$\text{Concentración de conidios/mL} = \frac{\text{Total de células contadas} \times 250.000}{\text{Número de cuadros} \times \text{Dilución}}$$

### Análisis estadístico

Los datos de crecimiento radial, tasa de crecimiento y producción de conidios fueron sometidos a análisis de varianza de una vía (ANOVA). En los casos en que se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), las medias se compararon por la prueba de Tukey. Todos los análisis se realizaron con el sistema estadístico SPSS versión 22.

### Resultados y discusión

En la Figura 1 se observa el crecimiento radial del micelio de aislamientos de *Metarhizium* spp. a los 20 días de desarrollo en medio de cultivo PDA a  $27 \pm 1$  °C. El aislamiento DAS5401 presentó el mayor ( $P < 0,0001$ ) crecimiento radial (64.7 mm) y no difirió significativamente ( $P > 0,05$ ) de los aislamientos SJS5103 (62.9 mm), DAS5403

(58,5 mm) y TS6302 (57.4 mm), los cuales superaron a los aislamientos TI6301 (47,6 mm), SJS5104 (46 mm), TI6307 (46 mm), DAS5402 (45.1 mm), PS5002 (45 mm), TI6306 (44 mm), TS6308 (43,5 mm), DAS5404 (43,4 mm), TI6305 (41,7 mm), PS5004 (39,2 mm), SJS5102 (35,8 mm), TI6303 (33,8 mm), SJS5101 (33,7 mm), PS5001 (33,5 mm), TS6304 (31,1 mm) y PS5003 (30,5 mm) respectivamente.

Los aislamientos monospóricos: DAS5401, SJS5103, DAS5403, TS6302 presentaron el mayor ( $P < 0,0001$ ) crecimiento radial del micelio. El desarrollo del micelio es una característica importante para la selección y producción de hongos entomopatógenos (Ekesi *et al.*, 1999), y su respuesta a la temperatura está descrita por la zona de origen del aislamiento y por aspectos genéticos (Dimbi *et al.*, 2004). La respuesta ante las fluctuaciones de temperatura se considera como un punto de partida para la selección de cepas fúngicas con capacidad para el control biológico, ya que esta incide en el crecimiento vegetativo y persistencia en el campo, y por consiguiente en su eficacia en campo (Souza *et al.*, 2014).

Las temperaturas adecuadas para el crecimiento de *M. anisopliae* fluctúan entre 25 y 30 °C, mientras que las temperaturas extremas ( $< 15^\circ$  y  $> 32^\circ$  °C) pueden retrasar su desarrollo o capacidad para esporular. Al respecto, existen estudios que comprueban que hay cepas que varían en su tolerancia a un mayor rango de temperatura. Es por ello que Nussenbaum *et al.* (2013) clasificaron cepas de *M. anisopliae* según la temperatura óptima para el crecimiento como frío activo (capaz de

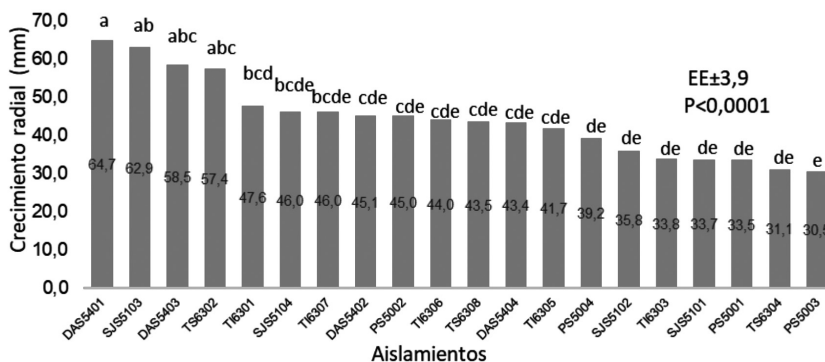


Figura 1. Crecimiento radial de aislamientos de *Metarhizium* spp. a los 20 días de desarrollo en medio de cultivo PDA a  $27 \pm 1$  °C.

Medias con letras distintas indican diferencias significativas para el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) ( $n = 6$ ).

germinar a 5 °C), calor activo (capaz de germinar a 37 °C) y meso-termo activo (incapaz de germinar a cualquiera de estas temperaturas).

Por otra parte, cuando el hongo se desarrolla en el campo, la humedad y la radiación UV también se predisponen como factores abióticos importantes, que limitan el uso efectivo de hongos entomopatógenos, pues estos interactúan para incidir sobre la germinación de los conidios en condiciones naturales (Chandra y Rahman, 2016).

En la Figura 2 se muestra la tasa de crecimiento de aislamientos de *Metarhizium* spp. a los 20 días de desarrollo en medio de cultivo PDA a  $27 \pm 1$  °C. El aislamiento DAS5401 presentó la mayor ( $P < 0,0001$ ) tasa de crecimiento (2,99 mm.día<sup>-1</sup>), y no difirió significativamente ( $P < 0,05$ ) de los aislamientos SJS5103 (2,90 mm.día<sup>-1</sup>), DAS5403 (2,68 mm.día<sup>-1</sup>) y TS6302 (2,62 mm.día<sup>-1</sup>), y fueron superiores a los aislamientos TI6301 (2,13 mm.día<sup>-1</sup>), SJS5104 (2,05 mm.día<sup>-1</sup>), TI6307 (2,05 mm.día<sup>-1</sup>), DAS5402 (2,01 mm.día<sup>-1</sup>), PS5002 (2 mm.día<sup>-1</sup>), TI6306 (1,95 mm.día<sup>-1</sup>), TS6308 (1,93 mm.día<sup>-1</sup>), DAS5404 (1,92 mm.día<sup>-1</sup>), TI6305 (1,84 mm.día<sup>-1</sup>), PS5004 (1,71 mm.día<sup>-1</sup>), SJS5102 (1,54 mm.día<sup>-1</sup>), TI6303 (1,44 mm.día<sup>-1</sup>), SJS5101 (1,44 mm.día<sup>-1</sup>), PS5001 (1,43 mm.día<sup>-1</sup>), TS6304 (1,31 mm.día<sup>-1</sup>), PS5003 (1,28 mm.día<sup>-1</sup>).

Los aislamientos monospóricos: DAS5401, SJS5103, DAS5403 y TS6302 presentaron la mayor tasa de crecimiento, superior a lo determinado por García *et al.* (2012b), quienes encontraron tasas de crecimiento de 1,5 y 1,8 mm.día<sup>-1</sup>, al evaluar diferentes aislamientos de *M. anisopliae*.

En un estudio desarrollado por Ummidi *et al.* (2013) con *Metarhizium* y *Beauveria* se demostró que las cepas más virulentas presentan un crecimiento rápido en comparación con las menos virulentas. Aunque el crecimiento de los hongos puede no tener influencia directa en su virulencia (Mwamburi *et al.*, 2015) señalan que las altas concentraciones de surfactantes de los medios de cultivo y elevadas densidades de esporas provocan un crecimiento reducido.

En la Figura 3 se observa la producción de conidios de aislamientos de *Metarhizium* spp. a los 20 días de desarrollo en medio de cultivo PDA a  $27 \pm 1$  °C. No hubo diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los aislamientos TS6302 ( $1,09 \times 10^8$  conidios.mL<sup>-1</sup>), SJS5101 ( $1,04 \times 10^8$  conidios.mL<sup>-1</sup>), DAS5401 ( $9,35 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), PS5002 ( $9,20 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), los cuales superaron a los aislamientos TI6301 ( $6,45 \times 10^7$  conidios mL<sup>-1</sup>), SJS5104 ( $3,74 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), SJS5102 ( $3,06 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), PS5003 ( $3,06 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), TS6304 ( $2,95 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), SJS5104 ( $2,66 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), DAS5404 ( $1,85 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), DAS5402 ( $1,61 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), PS5004 ( $1,17 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), PS5001 ( $1,11 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), DAS5403 ( $1,02 \times 10^7$  conidios.mL<sup>-1</sup>), TI6303 ( $9,50 \times 10^6$  conidios.mL<sup>-1</sup>), TI6305 ( $6,10 \times 10^6$  conidios.mL<sup>-1</sup>), TI6306 ( $5,60 \times 10^6$  conidios.mL<sup>-1</sup>), TI6307 ( $2,90 \times 10^6$  conidios.mL<sup>-1</sup>), TS6308 ( $2,40 \times 10^6$  conidios.mL<sup>-1</sup>).

Los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. TS6302, SJS5101, DAS5401 y PS5002 presentaron

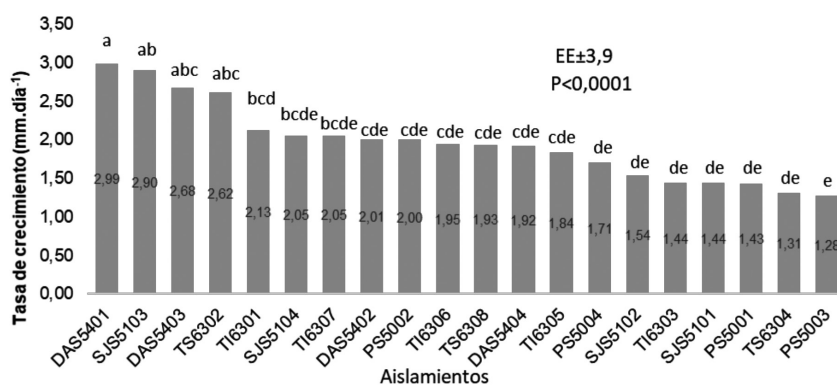


Figura 2. Tasa de crecimiento de los aislamientos de *Metarhizium* spp. sobre PDA a los 20 días de desarrollo a  $27 \pm 1$  °C. Medias con letras distintas indican diferencias significativas para el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) ( $n = 6$ ).



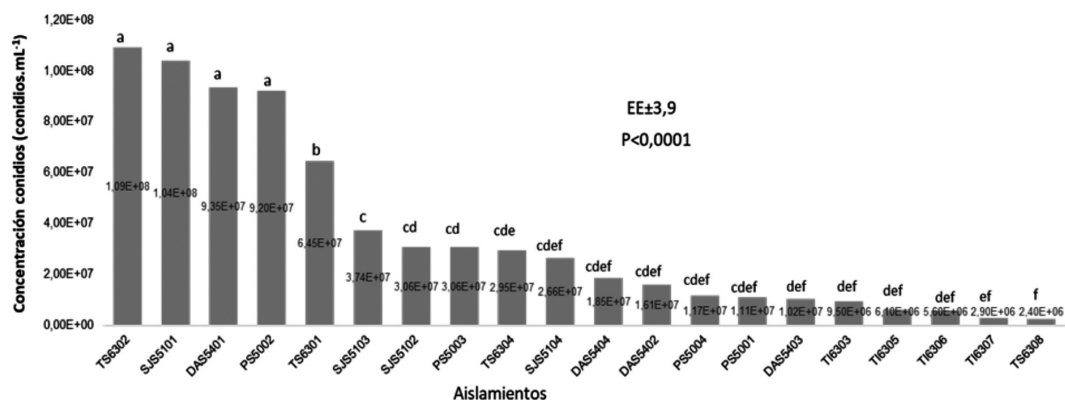


Figura 3. Concentración de conidios por cada aislamiento de *Metarhizium* spp. sobre medio de cultivo PDA a los 20 días de desarrollo a  $27 \pm 1$  °C. Medias con letras distintas indican diferencias significativas para el test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) ( $n = 6$ ).

la mayor concentración de conidios a los 20 días de desarrollo. La selección de aislamientos con buen potencial en cuanto a producción de conidios, es un aspecto básico para la producción a escala comercial de hongos entomopatógenos (Castro *et al.*, 2013). En este sentido, García *et al.* (2012a) señalan que una alta producción de conidios hace más viable su comercialización y reduce los costos de implementación en el campo.

La selección de una cepa potente a partir de formas de población fúngica es la base para su optimización genética y prospectiva de uso de gran interés como posibles criterios para la mejora de micoinsecticidas (Oliveira *et al.*, 2015). Rojas *et al.* (2017) destacan que la reproducción de *M. anisopliae* no requiere de alta tecnología, por lo que constituye una alternativa viable para su uso en la agricultura.

## Conclusión

Los aislamientos monospóricos de *Metarhizium* spp. obtenidos del suelo y a partir de insectos micosados en cultivares de caña de azúcar en Pastaza, Ecuador, mostraron variabilidad en cuanto a crecimiento radial, tasa de crecimiento y producción de conidios, para fines de selección como micoinsecticidas de *Mahanarva andigena* en condiciones de laboratorio, invernadero y campo.

## Agradecimientos

Los autores de este trabajo desean expresar un profundo agradecimiento a la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (SENESCYT) de Ecuador por el financiamiento de esta investigación.

## Literatura Citada

- Bravo, C.; Benítez, D.; Vargas, J.; Alemán, R.; Torres, B.; Marín, H.  
2015. Caracterización socio-ambiental de unidades de producción agropecuaria en la Región Amazónica Ecuatoriana: Caso Pastaza y Napo. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 4(1): 3-31.
- Castro, S.M.; González, R.; Castaño, J.; Sanjuán, T.  
2013. Evaluación de medios de cultivo para inducir esporulación de *Isaria Tenuipes* Peck. *Agron.*, 21(1): 19-25.
- Chandra, K.N.P.; Rahman, S.J.  
2016. Characterisation and evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin strains for their temperature tolerance. *Mycology*, 7(4): 171-179.
- CINCAE (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador).  
2017. Informe Anual 2016. El Triunfo, Ecuador. 70 p. ISSN 13903365
- Cortez, M.H.; Ortiz, G.C.F.; Alatorre, R.R.; Bravo, M.H.; Mor A., A.G.; Aceves, N.L.A.  
2003. Caracterización cultural de cepas de *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii* (Zimm.) Zare y Gams y su patogenicidad sobre *Toxoptera aurantii* Boyer. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2): 161-167.
- Dimbi, S.; Maniana, N.K.; Lux, S.A.; Mueke, J.M.  
2004. Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to

- three species of African tephritid fruit flies. *Biocontrol*, 49: 83-94.
- Ekese, S.; Maniania, N.K.; Ampo, N.K.  
1999. Effect of temperature on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on Megalurothrips sjostedti. *Biocontrol Science and Technology*, 9(2): 177-185.
- Estrada, M.N.; Vélez, P.E.; Montoya, E.C.  
1997. Caracterización de cultivos monoespóricos del hongo *Beauveria bassiana*. *Cenicafé*, 048(04): 217-224.
- García, M.; Cappello, S.; Leshner, J.; Molina, R.  
2012a. Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *Horizonte Sanitario*, 10(2): 21-28.
- García, A.M.; Bustillo, A.E.; Castro, U.; Arenas, Y.  
2012b. Selección de hongos entomopatógenos para controlar salivazos (Hemiptera: Cercopidae) de la caña de azúcar en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 38(2): 252-259.
- Guigón-López, C.; Guerrero-Prieto, V.; Vargas-Albores, F.; Carvajal-Millán, E.; Ávila-Quezada, G.; Bravo-Luna, L.; Ruocco, M.; Lanzuise, S.; Woo, S.; Lorito, M.  
2010. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento in vitro y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2): 87-96.
- Humber, R.A.  
2012. Identification of entomopathogenic fungi. En: Lacey, L.A. (Ed.). *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (Second Edition) San Diego: Academic Press. Pp. 151-187.
- Mendoza, J.; Gualle, D.; Gómez, P.  
2013. Plagas potenciales: una amenaza para el cultivo de la caña de azúcar en Ecuador. En *Memorias del III Congreso de la Caña de Azúcar, sus Derivados y Bioenergía*, realizado por la Asociación Ecuatoriana de Tecnólogos Azucareros, Guayaquil, Ecuador.
- Mwamburi, L.A.; Laing, M.D.; Miller, R.M.  
2015. Effect of surfactants and temperature on germination and vegetative growth of *Beauveria bassiana*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(1): 67-74.
- Nussenbaum, A.L.; Lewylle, M.A.; Lecuona, R.E.  
2013. Germination, radial growth and virulence to boll weevil of entomopathogenic fungi at different temperatures. *World Appl Sci J.*, 25: 1134-1140.
- Oliveira, D.G.; Pauli, G.; Mascarin, G.M.; Delalibera, I.  
2015. A protocol for determination of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. *Journal of Microbiological Methods*, 119: 44-52.
- Rojas-Gutiérrez, R.L.; Loza-Murguía, M.; Vino-Nina, L.; Serrano-Canaviri, T.  
2017. Capacidad biocontroladora de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) en el control de pulgones *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(1): 48-68.
- Ruiz-Sánchez, E.; Chan-Cupul, W.; Pérez Gutiérrez, A.; Cristóbal-Alejo, J.; Uch-Vázquez, B.; Tun-Suárez, J.; Munguía-Rosales, R.  
2011. Crecimiento, esporulación y germinación in vitro de cinco cepas de *Metarhizium* y su virulencia en huevos y ninfas de *Bemisia tabaci*. *Revista mexicana de micología*, 33: 9-15.
- Schapovaloff, M.E.; Angeli, L.F.; Urrutia, M.; López, C.  
2015. Ocurrencia natural de hongos entomopatógenos en suelos cultivados con yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) en Misiones, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(2): 138-142.
- Souza, R.; Azevedo, R.; Lobo, A.; Rangel, D.  
2014. Conidial water affinity is an important characteristic for termotolerance in entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology*, 24(4): 448-461.
- Torres, M.; Cortez, H.M.; Ortiz, C.F.; Capello, S.; De la Cruz, A.  
2013. Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae* y su patogenicidad hacia *Aeneolamia postica*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología*, 39(1): 40-46.
- Ummidi, V.R.S.; Josyula, U.; Vadlamani, P.  
2013. Germination rates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* its possible correlation with virulence against *Spodoptera litura* larvae. *Int J Adv Res.*, 2: 625-630.
- Valle, S.; Iparraguirre, M.; Puertas, A.; Rodríguez, S.; Fiallos, A.; Hidalgo, L.; Miranda, I.  
2015. Evaluación de dos métodos de monitoreo de *Mahanarva andigena* Jacobi en el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum* spp., híbrido) en la provincia de Pastaza, Ecuador. *Rev. Protección Veg.*, 30(3): 185-192.
- Valle-Ramírez, S.; Puertas-Arias, A.; Iparraguirre-Cruz, M.A.; Caicedo-Quinche, W.; Uvidia-Cabadiana, H.; Carrera-Sánchez, K.  
2018. Nymph control of *Mahanarva andigena* with *Metarhizium anisopliae* in greenhouse and field conditions in Pastaza, ECUADOR. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 21: 25-29.
- Villamil, J.E.; Martínez, J.W.  
2014. Evaluación de aislamientos nativos de *Beauveria* spp. sobre *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) in vitro. *Revista de ciencias agrícolas*, 31(1): 92-105.

