

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE *Diatraea saccharalis* Fabricius (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EN CAÑA PANELERA A NIVEL DE CAMPO*

Marco Antonio Zúñiga-Oviedo¹ y Alberto Soto-Giraldo²

Abstract

Objetivos: Evaluar la susceptibilidad de *Diatraea saccharalis* a *Beauveria bassiana* y *Bacillus thuringiensis* variedad kurstaki en condiciones de campo. **Alcance:** Control de *D. saccharalis* con *B. bassiana* cepa nativa y con la bacteria *B. thuringiensis* (Dipel[®]). **Metodología:** Se evaluó el porcentaje de daño ocasionado por larvas de *Diatraea* y el número de larvas presentes en los tratamientos Bb-HN1, Dipel x Bb-HN1 y Dipel[®] en caña panelera. **Principales resultados:** Se observó patogenicidad de los controladores microbiológicos en larvas de *D. saccharalis*. **Conclusiones:** La bacteria *B. thuringiensis* (Dipel[®]) se presenta como alternativa biológica para el manejo integrado de la plaga.

Key words: manejo integrado de plagas, hongos entomopatógenos, *Bacillus thuringiensis*.

MICROBIOLOGICAL CONTROL OF *Diatraea saccharalis* Fabricius (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) IN SUGARCANE UNDER FIELD CONDITIONS

Resumen

Objectives: To evaluate the susceptibility of *Diatraea saccharalis* to *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* variety kurstaki under field conditions. **Scope:** Control of *D. saccharalis* with *B. bassiana* native strain and with the bacterium *B. thuringiensis* (Dipel[®]). **Methodology:** The percentage of damage caused by *Diatraea* larvae and the number of larvae present in the treatments Bb-HN1, Dipel x Bb-HN1 and Dipel[®] in sugarcane was evaluated. **Main results:** Pathogenicity of the microbiological controllers on larvae of *D. saccharalis* was observed. **Conclusions:** The bacterium *B. thuringiensis* (Dipel[®]) represent a potential biological alternative for the integrated management of this insect pest.

Palabras clave: integrated pest management, entomopathogenic fungi, *Bacillus thuringiensis*.

* FR: 11-IV-18. FA: 7-V-18.

¹ Ingeniero Agrónomo. Universidad de Caldas, Colombia. E-mail: meissen.3@hotmail.com; ORCID: 0000-0002-9288-8515

² I.A., M.Sc., Ph.D. Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas, Colombia. E-mail: alberto.soto@ucaldas.edu.co; ORCID: 0000-0002-9727-8919

CÓMO CITAR:

ZÚÑIGA-OVIEDO, M.A. & SOTO-GIRALDO, A., 2018.- Control microbiológico de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) en caña panelera a nivel de campo. *Bol. Cient. Mus.Hist. Nat. U. de Caldas*, 22 (2): 33-41 DOI: 10.17151/bccm.2018.22.2.4

INTRODUCCIÓN

La producción de panela es una de las principales actividades agrícolas de la economía nacional colombiana, entre otras razones por su participación significativa en el producto interno bruto, por la superficie dedicada al cultivo de la caña y por la generación de empleo rural (OSORIO, 2007; TARAZONA, 2011).

Diatraea saccharalis (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) es considerada la principal plaga que ataca el cultivo de caña de azúcar y caña panelera, ocasionando disminución del rendimiento y de la calidad del jugo, lo cual se traduce en pérdidas económicas (GALLO *et al.*, 2002; BADILLA & GÓMEZ, 2003; ESTRADA *et al.*, 2004; POLANCZYK *et al.*, 2004; VARGAS *et al.*, 2013). Las larvas ocasionan disminución en la germinación de la semilla, corazones muertos en las plantas jóvenes, cogollos muertos en las plantas más viejas, tallos quebrados y crecimiento reducido de los tallos atacados que sobreviven al ataque (MENDONÇA, 1996; BOTELHO & MACEDO, 2002; GALLO *et al.*, 2002; PARRA *et al.*, 2002; PINTO *et al.*, 2006). El hábitat críptico que presentan las larvas hace que el control químico sea poco eficaz como medida de control. Debido a esto, organismos entomopatógenos que habitan el suelo como hongos (LECUONA, 1996; ARCAS, *et al.*, 1999; GONGORA, 2008; SVEDESE *et al.*, 2013; ALVES & CARVALHO, 2014) y bacterias (RAMOS *et al.*, 2004; GUO *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2013), son objeto de estudio para tenerlos en cuenta en programas de manejo integrado de la plaga (GÓMEZ, 1995).

Los hongos entomopatógenos presentan gran potencial como agentes controladores de plagas, constituyendo un grupo con más de 750 especies, diseminados en el medio ambiente y provocando infecciones fungosas a poblaciones de artrópodos (SAMSON *et al.*, 1988; HAJEK, 1997; ASAFF *et al.*, 2002, OLIVEIRA *et al.*, 2008; ZAPPELINI *et al.*, 2010; MALPARTIDA *et al.*, 2013), los géneros de mayor importancia son *Metarhizium*, *Beauveria* y *Paecilomyces*, ya que atacan un alto rango de insectos plaga (OSBORNE & LANDA, 1992; ZIMMERMANN, 1992; SMITH, 1993; FAO, 2003; GÓNGORA, 2008; YASEM *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2009; ELÓSEGUI & ELIZONDO, 2010; ALVARADO *et al.*, 2013).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar, a nivel de campo, el efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Bb-HN1 (cepa nativa de *B. bassiana*) y de la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel[®]) sobre larvas de *D. saccharalis*, con el fin de disminuir los daños ocasionados por la plaga e incrementar la productividad del cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y Cría de Enemigos Naturales de la Universidad de Caldas, ubicado en el municipio de Manizales (Coordenadas: 5° 05' N

y 75° 40' W). Se evaluó, en condiciones de campo, el hongo *Beauveria bassiana* cepa nativa BH-HN1 aislada de larvas de *Diatraea* y suministrada por el Centro Bekdau de la Universidad de Caldas, y la bacteria *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel[®]) sobre larvas de primer instar de *D. saccharalis* ubicadas en tallos de caña panelera variedad POJ 2878.

Evaluación del daño de *Diatraea* en condiciones de campo

Para la evaluación del daño ocasionado por *D. saccharalis*, se seleccionaron 5 plantas por tratamiento de caña variedad POJ 2878 con cuatro nudos cada uno. Quince días después, se asperjaron los tallos con la ayuda de un aspersor manual marca Triunfo con los siguientes tratamientos: hongo *B. bassiana* cepa a concentración de 2×10^8 unidades infectivas/ml (ui/ml) de agua (el conteo de las esporas se BH-HN1 realizó con un hemocitómetro marca Boeco) en mezcla con Dipel[®] [1×10^4 ui/ml], Dipel[®] [$3,5 \times 10^4$ ui/ml] y BH-HN1 [2×10^8 ui/ml]. El tratamiento testigo se asperjó con agua destilada. 24 h después de la aplicación de los productos, se infestaron los tallos con 4 larvas de *D. saccharalis* de primer instar suministradas por el Centro Bekdau, posteriormente se cubrieron las larvas con una jaula pinza para evitar la caída de éstas. Se utilizó un diseño completamente al azar con 7 repeticiones por tratamiento y se evaluó el porcentaje de daño y el número de larvas presentes en cada uno de los tratamientos. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SAS 9.1. Para determinar diferencias entre tratamientos se realizó la prueba de Tukey al 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se puede apreciar los síntomas que presentan las larvas de *D. saccharalis* afectadas por los diferentes tratamientos. En el tratamiento Dipel[®] en mezcla con Bb-HN1 (Figuras 1A y B) se observan las larvas momificadas y cubiertas con las esporas del hongo, el tratamiento Bb-HN1 (Figura 1C) se aprecian los mismos síntomas e incluso una larva esporulada que logró penetrar el tallo de la caña, y el tratamiento en donde se aplicó la bacteria *B. thuringiensis* (Dipel[®]), las larvas presentaron una consistencia acuosa y olor fétido, característica típica del ataque de la bacteria (Figura 1D). PRUNA (1965) encontró larvas y pupas de *D. saccharalis* con síntomas de micosis colectadas en el interior de tallos de caña de azúcar, lo que indica el posible desarrollo endófito del hongo, teniendo en cuenta el ciclo de desarrollo del barrenador. En investigación realizada en Estados Unidos de América en el cultivo del maíz (*Zea mays*, Linn.), se demostró que el hongo *B. bassiana* es capaz de establecerse en el interior de la planta y colonizarla, regulando los niveles poblacionales del barrenador europeo del maíz, *Ostrinia nubilalis* Hübner (BING & LEWIS, 1991, 1992). LEUCONA *et al.*, (1996) y ALMEIDA *et al.*, (1997), reportaron la presencia natural de *B. bassiana* parasitando larvas de *D. saccharalis* en caña de azúcar en Argentina, y de *Heterotermes tenuis* (Hagen) en Brasil. Igualmente, ALVES *et al.* (1985) controlaron a *D. saccharalis* con la utilización del hongo *B. bassiana*.

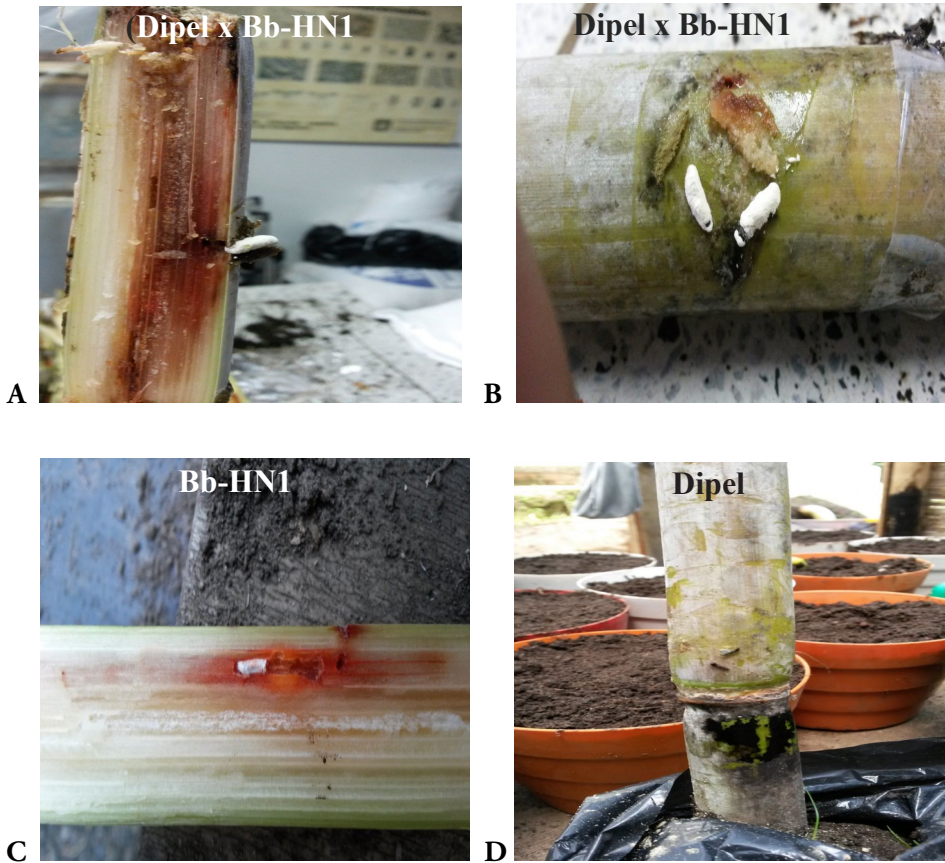


Figura 1. Larvas de *D. saccharalis* afectadas por: **A y B** Dipel x Bb-HN1; **C**, Bb-HN1 y **D**, Dipel® a nivel de semicampo, 10 días después de la aplicación.

Todos los tratamientos evaluados fueron patogénicos a las larvas de *D. saccharalis*, y ocasionaron mortalidad entre el 61 y 100% (Figura 2). Las larvas correspondientes al tratamiento testigo no presentaron mortalidad.

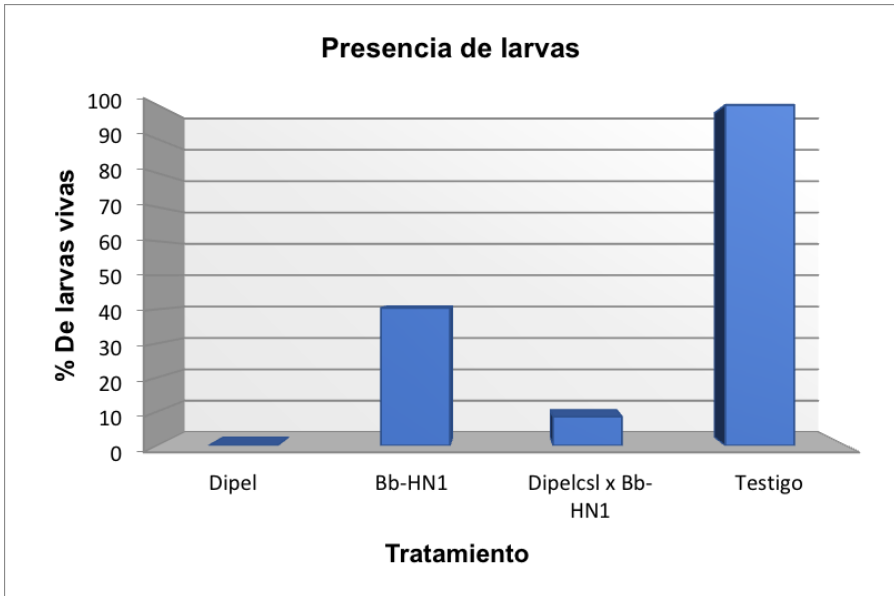


Figura 2. Porcentaje de larvas vivas de *Diatraea* presentes en cada uno de los tratamientos evaluados en tallos de caña panelera.

El análisis de varianza indica que se presentaron efectos estadísticamente diferentes de los tratamientos y el testigo ($Pr < .0001$). En los tratamientos Dipel^R y Dipel^R x Bb-HN1, los cuales mostraron diferencia estadística significativa, se presentó el menor porcentaje de larvas de *Diatraea* vivas (0 y 8%), respectivamente. Lo anterior indica que el producto Dipel^R ocasionó el 100% de mortalidad de las larvas, mientras que el Dipel^R x Bb-HN1 el 92% (Figura 2). El tratamiento con menor actividad bioinsecticida fue Bb-HN1, presentándose el 39% de larvas vivas (Figura 2), o sea, el 61% de control de la plaga.

Disminución del daño

En cuanto al porcentaje de daño ocasionado por las larvas de *Diatraea* a los tallos de caña, se observó que en el tratamiento con Dipel^R se presentó un 0,55% de daño, seguido de los tratamientos Dipel x Bb-HN1 y Bb-HN1 con 39,94% y 43,13%, respectivamente. Los tallos de caña asperjados con agua destilada (testigo) presentaron un daño del 97,5% (Tabla 2, Figura 3). Esto demuestra la efectividad que presentan los bioinsecticidas evaluados para el control de la plaga. ESTRADA *et al* (1997), en aplicación de *B. bassiana* para el control de *D. saccharalis* en un cultivo de caña, obtuvo 30% menos de infestación de la plaga y 27% menos de daño a las plantas, lo que demuestra que este microorganismo disminuye las poblaciones del insecto, y

por consiguiente, reduce los niveles de daño producidos en el cultivo. ESTRADA & OJEDA, 2017 seleccionaron entre 21 aislamientos de *B. bassiana* el más patógeno sobre larvas de *D. saccharalis*, en función de la concentración letal 50 (CL₅₀) y el tiempo letal 50 (TL₅₀), demostrando las potencialidades que presenta dicho microorganismo para su uso en el programa de lucha biológica contra el barrenador del tallo de la caña de azúcar.

Tabla 2. Porcentaje de daño en semillas de caña de panelera.

TRATAMIENTO	PRODUCTO	TUKEY AGRUPACIÓN	PORCENTAJE DE DAÑO
T1	Testigo	A	97,5
T2	Bb-HN1	B	43,13
T3	Dipel x Bb-HN1	B	39,94
T4	Dipel ^R	C	0,55



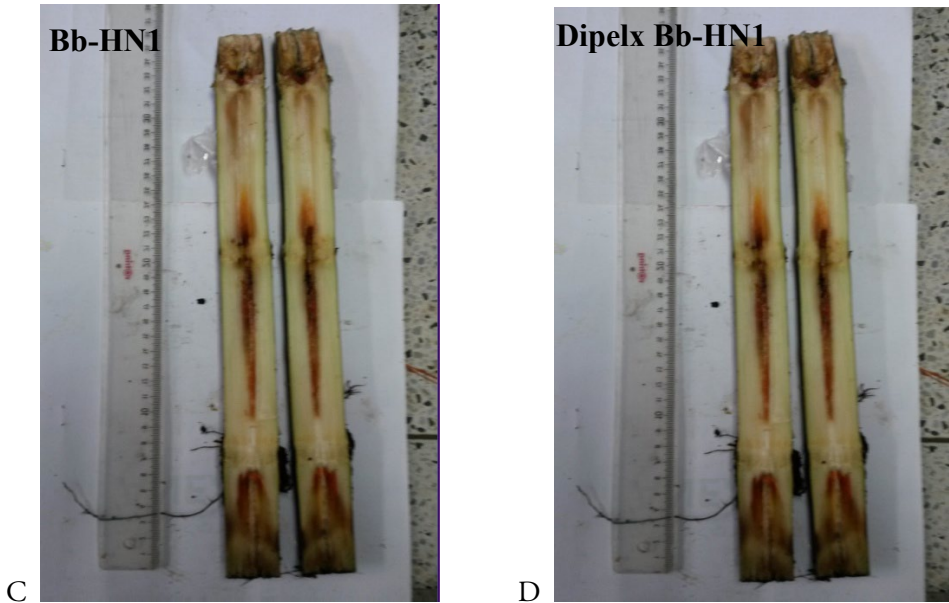


Figura 3. Tallos de caña panelera afectados por larvas de *D. saccharalis*, 30 días después de la aplicación de los productos: **A.** Testigo, **B.** Dipel[®], **C.** Bb- NH1. **D.** Dipel x Bb-NH1

Se debe tener en cuenta que los productos microbiológicos, entre ellos el *B. bassiana* y *B. thuringiensis* son susceptibles a la degradación por la luz solar, y la mayoría de las formulaciones persisten poco tiempo, normalmente de 7 a 10 días (CRANSHAW, 2014), por lo tanto, un programa de manejo integrado del barrenador *D. saccharalis* debe estar acompañado de un eficiente y oportuno plan de monitoreo en campo, con el fin de determinar el momento en el que se presente la mayor población de larvas (primeros instares) que se encuentren por fuera de los tallos, para posteriormente realizar las respectivas aplicaciones de los productos y de esta manera ejercer un control eficiente de la plaga.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Caldas y al Proyecto “Implementación del Centro de Investigación, Innovación y Tecnología al sector panelero del departamento de Caldas-Centro BEKDAU” por el financiamiento de la investigación.

REFERENCIAS

- ALMEIDA, J.E.M., ALVES, S.B. & PEREIRA, R.M., 1997.- Selection of *Beauveria* spp. isolates for control of termite *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858). *J. Appl Entomol*, 121: 539-543.
- ALVARADO, H.L., MONTES, L.G., GOMES, H., BUSTILLO, A.E. & MESA, E., 2013.- Patogenicidad de cepas de *Metarhizium anisopliae* (L.) y *Beauveria bassiana* sobre *Rhynchophorus palmarum*. *Revista Palmas*, 34(2): 15-24.
- ALVES, S.B., PADUA, L.E., MILWARD DE AZEVEDO, E.M.V. & AMEIDA, M.C., 1985.- Controle da broca da cana de açúcar pelo uso de *Beauveria bassiana*. *Pesq. Agrop. Bras.*, 20 (4): 403-407.
- ALVES, R.T. & CARVALHO, G.S., 2014.- Primeiro registro das espécies de cigarrinhas-daraiz da cana-de-açúcar *Mahanarva spectabilis* (Distant) e *Mahanarva liturata* (Le Peletier & Serville) atacando canaviais na região de Goianésia (GO). *Brasil. Arq. Inst. Biol.*, 81(1), 83-85.
- ARCAS, J.A., DÍAZ, B.M. & LECUONA, R.E., 1999.- Bioinsecticidal activity of conidia and dry mycelium preparations of two isolates of *Beauveria bassiana* against the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. *Journal of biotechnology*, 67(2): 151-158.
- ASAFF, T.A., REYES, V.Y., LÓPEZ, L.V.E. & DE LA TORRE, M.M., 2002.- Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva*, 21: 291-295.
- BADILLA, F. & GÓMEZ, J., 2003.- Pérdidas de azúcar causadas por *Diatraea* spp. en Nueva Concepción, Guatemala. *Manejo Integrado de Plagas Y Agroecología* (Costa Rica), 67: 18-22.
- BING, L.A. & LEWIS, L.C., 1992.- Temporal relationships between *Zea mays* L., *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) and endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Entomoph*, 37: 525-536.
- BING, L.A. & LEWIS, L.C., 1991.- Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Environ Entomol*, 20: 1207-1211.
- BOTELHO, P.S.M. & MACEDO, N., 2002.- *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. (In): PARRA, J.R.P., BOTELHO, P.S.M., CORREA-FERREIRA, B.S., BENTO, J.M.S. (eds.) Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores. Manole: Barueri, p. 409-447.
- CRANSHAW, W.S., 2014.- *Bacillus thuringiensis*. Colorado State University Extension, A division of the office of engagement. *fact sheet No 5.556*, p 2.
- ELÓSEGUI, O. & ELIZONDO, A., 2010.- Evaluación microbiológica in vitro de mezclas de especies de hongos entomopatógenos ingredientes activos de bioplaguicidas cubanos. *Fitosanidad*, 14 (2): 102-109.
- ESTRADA, M. & OJEDA, R., 2017.- Caracterización patogénica del hifomiceto entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Cumbres*, 3 (1): 69-75.
- ESTRADA, M.E., ROMERO, M. & SNOWALL, M., 1997.- Aplicación de *Beauveria bassiana* en la lucha biológica contra *Diatraea saccharalis*. *Caña de Azúcar*, 15(1): 39-43.
- ESTRADA, M.E., ROMERO, M., RIVERO, M.J. & BARROSO, F., 2004. Presencia natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum* sp. híbrido) en Cuba. *Rev. Iberoam. Micol*, 21: 42-43.
- FAO, 2003.- *Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con respecto a América Latina*. Dirección de Producción y Sanidad Animal de la FAO, Roma.
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA-NETO, S., CARVALHO, R.P.L., BATISTA, G.C., BERTI-FILHO, E.... VENDRAMIM, J.D., 2002.- Entomología Agrícola. São Paulo, Ceres.
- GÓNGORA, C.E., 2008.- Los hongos entomopatógenos en el control de insectos: 133-149 (en) BUSTILLO, A.E. *Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana*. FNC, Cenicafé, Chinchiná.
- GUO, Z., CHENG, Y., HUANG, F., LUTTRELL, R. & LEONARD, R., 2012.- Microarray analysis of global gene regulation in the Cry 1Ab- resistant and Cry1Ab- susceptible strains of *Diatraea saccharalis*. *Pest Manag. Sci.* 68: 718-730.
- HAJEK, A.E., 1997.- Ecology of Terrestrial Fungal Entomopathogens. *Adv. Microb. Ecol.*, 15: 193-249.
- LECUONA, R.E., 1996.- *Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plagas*. Buenos Aires, Mariano Mas, 338p.
- LECUONA, R.E., TIGANO, M.S. & DIAZ, B.M., 1996.- Characterization and pathogenicity of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* (F) (Lepidoptera: Pyralidae) in Argentina. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 25 (2): 299-307.
- MALPARTIDA, J., NARREA, M. & DALE, W., 2013.- Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (bals) vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12 (2): 75-81.
- MENDONÇA, A.F., 1996.- *Pragas da Cana-de-açúcar*. Maceio: Insecta, 239p.
- OLIVEIRA, M.A.P de., MARQUES, E.J., WANDERLEY-TEIXEIRA, V. & BARROS, R., 2008.- Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). *Maringá*, 30: 220-224.
- OSBORNE, L.S. & LANDA, Z., 1992.- Biological control of whiteflies with entomopatogenic fungi. *Florida Entomologist*, 75 (1): 456-471.
- OSORIO, G., 2007.- *Manual: Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura en la producción de Caña y Panela*. CORPOICA, Centro de Investigación La Selva. 200p.
- PARRA, J.R.P., BOTELHO, P.S.M., CORREA-FERREIRA, B.S. & BENTO, J.M.S., 2002.- Controle biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores. Manole: Barueri. 609p.
- PINTO, A.S., CANO, M.A. & SANTOS, E.M., 2006.- A broca da cana de acucar *Diatraea saccharalis*: 15-20 (en) PINTO, A.S. *Controle de pragas da cana de açúcar*. Biocontrol, Sertãozinho.
- POLANCZYK, R.A., ALMEIDA, L.C., PADULLA, L. & ALVES, S.B., 2004.- Pragas de cana-de-açúcar X métodos alternativos de controle. *Biocologia & Desenvolvimento*, 33: 14-17.
- PRUNA, P.M., 1969.- Revisión de la literatura acerca del bórer de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius), Instituto de biología, 15: 1-66.

- RAMOS, F., CARMONA, A. & BÈRES, M., 2004.- Evaluación de aislamientos de *Bacillus thuringiensis* tóxicos a *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Bioagro*, 16(3): 183-188.
- SAMSON, R.A., EVANS, H.C. & LATGE, J.P., 1988.- *Atlas of entomopathogenic fungi*. Springer-Verlag, New York.
- SMITH, P., 1993.- Control of *Bemisia tabaci* and the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* as a biopesticide. *Biocontrol News & Information*, 14: 71-78.
- SVEDESE, V.M., TIAGO, P.V., BEZERRA, J.D.P., PAIVA, L.M.; LIMA, E.A.L.A. & PORTO, A.L.F., 2013.- Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and production of cuticle-degrading enzymes in the presence of *Diatraea saccharalis* cuticle. *African Journal of Biotechnology*, 12(46): 6491-6497.
- TARAZONA, G.A., 2011.- *Manejo fitosanitario del cultivo de la caña panelera: Medidas para la temporada invernal*. Instituto Colombiano Agropecuario. 51p.
- VARGAS, G., LASTRA, L.A., VILLEGAS, A. & BARCO, L.E., 2013.- *Diatraea tabernella*: Nueva especie de barrenador del tallo en el valle del río Cauca. Importancia y perspectivas de manejo. Serie divulgativa No. 16. Cali. Cenicafé, Cali.
- YANG, Y., CAI, S., ZHENG, Y., LU, X., XU, X. & HAN, Y., 2009.- *Metarhizium taii* var. *chongqingensis* Nov., Anamorph of *Cordyceps chongqingensis* sp. Nov. Isolated from a low altitude area in Chongqing, China. *Curr. Microbiol*, 58: 635-641.
- YASEM, M., SALVATORE, A., LOPEZ, G. & WILLINK, E., 2008.- Presencia natural de hongos hyphomycetes en larvas invernantes de *Diatraea saccharalis* F. en caña de azúcar en Tucumán, Argentina. *Rev. Ind. y Agric. de Tucumán*, 85 (2): 39-42.
- ZAPPELINI, L.O., ALMEIDA, J.E.M., BATISTA FILHO, A. & GIOMETTI, F.H.C., 2010.- Seleção de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. visando o controle da broca da cana-de- açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Arquivos do Instituto Biológico*, 77: 75-82.
- ZHANG, L., HUANG, F., ROGERS, L.B., CHEN, M., CLARK, T., ZHU, Y.C., WANGILA, D.S., YANG, F. & NIU, Y., 2013.- Susceptibility of cry 1Ab maize-resistant and- susceptible strains of sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) to four individual cry proteyns. *J. Invertebr. Pathol*, 112: 267-272.
- ZIMMERMANN, G., 1992.- *Metarhizium anisopliae* and entomopathogenic fungus: *Pflanzenschutz Nachrichten* Bayer. *Biological crop protection*, 45 (63): 113-128.