

Selección de cepas de *Metarhizium anisopliae* para el control de *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae)

Selection of strains of *Metarhizium anisopliae* to control *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae)

JOHANNA ANDREA OBANDO B.¹, ALEX ENRIQUE BUSTILLO P.²,
ULISES CASTRO V.³ y NORA CRISTINA MESA C.⁴

Resumen: El salivazo de la caña de azúcar, *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae), es plaga de importancia económica en el valle del río Cauca, Colombia, desde 2007. Aislamientos nativos de *M. anisopliae* mantenidos en el Centro de Investigación de la Caña de azúcar de Colombia (Cenicaña), y otros obtenidos a partir de larvas de *Galleria mellonella*, usadas como cebos en muestras de suelo, y aislados de salivazos con signos de infección, se caracterizaron en relación con su virulencia, producción de conidias, crecimiento radial, germinación y aspectos de la colonia. Con el fin de evaluar y comparar la virulencia de estas cepas, se llevaron a cabo bioensayos sobre adultos y ninfas de *A. varia*. La eficacia sobre adultos se evaluó en laboratorio infestando plantas de braquiaria con adultos teneales (< 24 horas), asperjando 15 ml de una suspensión de conidias de los hongos a una concentración de 1×10^7 conidias/ml. La evaluación de la virulencia sobre ninfas se realizó en un invernadero, asperjando 4 ml de suspensión de conidias de las cepas de los hongos, a una concentración de 1×10^9 conidias/ml sobre la rizosfera de la planta. Las cepas nativas CCMa0906, CCMa1005 y CCMa1008 produjeron mortalidades entre 76,0% y 90,7% sobre el estado adulto. Para el control de ninfas la mayor eficacia se presentó en las cepas CCMa0906, CCMa1001, CCMa1005 y CCMa1008, con mortalidades de 75,7%, 58,2%, 58,8% y 59,6%, respectivamente. Solo el producto comercial CCMa01 se seleccionó por su capacidad de control y calidad de la formulación.

Palabras clave: Hongos entomopatógenos. Control microbial. Salivazo de la caña de azúcar. Colombia.

Abstract: The sugarcane spittlebug, *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae) is an important economic pest in the Cauca valley, Colombia since 2007. Native strains of *M. anisopliae* maintained at the Sugarcane Research Center of Colombia (Cenicaña), and others isolated from larvae of *Galleria mellonella*, used as a trap in soil samples, and spittlebugs with signs of infection, were characterized in relation to virulence, spore production, radial growth, germination and characteristics of the colony. To evaluate the virulence of native strains, a bioassay was designed, including reference strains and commercial formulations. Braquiaria plants in laboratory were infested with teneral adults (< 24 hours), then were sprayed with 15 ml of fungi at a concentration of 1×10^7 spores/ml. Virulence on nymphs was evaluated under greenhouse conditions, spraying at the plant rhizosphere, 4 ml of fungi preparations with a concentration of 1×10^9 spores/ml. The native strains CCMa0906, CCMa1005 and CCMa1008, showed the best physiological characteristics and adult virulence (76.0-90.7% of dead individuals). Four native strains of *M. anisopliae* (CCMa0906, CCMa1001, CCMa1005 and CCMa1008) showed higher virulence against nymphs of *A. varia*, causing mortalities of 75.7%, 58.2%, 58.8% and 59.6%, respectively. Only one commercial product coded CCMa01, was selected due to mortality on *A. varia* and quality control of its formulation.

Key words: Entomopathogenic fungi. Microbial control. Sugarcane spittlebug. Colombia.

Introducción

Las especies del género *Aeneolamia* (Hemiptera: Cercopidae) presentan una amplia distribución, se registran desde México hasta Argentina (Sotelo y Cardona 2001). Sin embargo, *Aeneolamia varia* (Fabricius, 1787) solo se ha registrado en Trinidad y Tobago y Venezuela (Linares y Pérez 1985). La presencia de *A. varia* en Colombia data de hace más de 40 años, cuando se encontró en cultivos de pastos en los Llanos Orientales (Posada 1989; Peck 2001, 2002). En el 2007, se detectó en cañaverales del valle del río Cauca, infestando cerca de 20.000 ha, en una zona comprendida entre Yotoco y Tuluá, que causó una gran alarma entre los cultivadores de caña de azúcar (Gómez 2007). En labores de reconocimiento de esta plaga se pudo demostrar que *A. varia* está muy distribuida en aéreas no cultivadas con caña, en la zona de la cordillera occidental en cultivos de pastos para ganadería. Este

salivazo ha continuado su dispersión en cultivos de caña y en 2011, se encontró en predios de Bugalagrande. Es posible que en poco tiempo, colonice gran parte de la zona productora de caña de azúcar del Valle del Cauca.

El daño de *A. varia* se produce cuando el adulto se alimenta de las hojas y causa una reacción caracterizada por bandas rojizas necróticas longitudinales (Gómez 2007). Las ninfas succionan la savia del xilema de las raíces superficiales y causa el marchitamiento de la planta. La presencia de ninfas en el suelo se reconoce porque alrededor de las plantas de caña y en algunos casos en la base del tallo, éstas secretan y se recubren de un líquido baboso y espumoso de diferentes tamaños. Los lotes de caña con altas infestaciones, muestran una coloración amarillosa al observarlas de lejos, y las plantas presentan una sintomatología similar a la quemazón causada por herbicidas (Bustillo y Castro 2011).

¹ Ing. Agr., M. Sc. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia, Cenicaña - Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Estudiante de Maestría, jaobandob@gmail.com. ² Ing. Agr., Ph. D., Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia, Cenicaña, Florida, Valle del Cauca. alex.bustillo@gmail.com. ³ Ing. Agr., M. Sc. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia, Cenicaña, Florida, Valle del Cauca. ucastro@cenicana.org. Autor para correspondencia. ⁴ Biol., Ph. D. Profesora Asociada, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, Valle del Cauca, nmesac@palmira.unal.edu.co.

Varias especies de salivazos se presentan en diferentes países causando pérdidas económicas al cultivo de la caña de azúcar. En México, una especie de *Aeneolamia*, causa reducciones entre 3 y 6 t/ha (Flores 1996) y en Guatemala las pérdidas se estiman en 11 t/ha y 12,76 kg de azúcar/t (Carrillo 1993). En Venezuela se estima que un daño severo de *A. varia* en cañas de 6 a 9 meses de edad, puede reducir en 25% los rendimientos de azúcar (Salazar y Proaño 1989). En Colombia aún no se conoce el impacto real de *A. varia* en los rendimientos de la caña de azúcar.

En países como Brasil, Costa Rica, Guatemala, Panamá y Venezuela, varias especies de salivazos se combaten con aplicaciones periódicas de productos comerciales basados en el hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch., 1879) Sorokin 1883 (Alves 1986; Allard *et al.* 1990; Salazar y Badilla 1997; Almeida *et al.* 2003; Batista *et al.* 2003; Torres de la Cruz *et al.* 2006). En Colombia, se han realizado estudios de eficacia de *M. anisopliae* para el control de los salivazos asociados con el pasto braquiaria, encontrando cepas de *M. anisopliae* capaces de producir mortalidades entre 62,0 y 95,1% (Morales *et al.* 2001).

Los salivazos infectados por el hongo *M. anisopliae* muestran crecimiento micelial sobre el cuerpo, el cual se torna más tarde de color verde. El proceso de infección en el insecto se da cuando las ninfas o los adultos entran en contacto con las conidias del hongo, las cuales son capaces de germinar en condiciones de alta humedad y penetrar el cuerpo del salivazo en un periodo de pocas horas. Luego, invaden la cavidad hemocítica y producen toxinas que matan el salivazo. Al cabo de 3 a 4 días, se observan los primeros signos del hongo en forma de un micelio de color blanco sobre el cuerpo, que más tarde lo cubre y al producirse las conidias le dan la coloración verdosa al cadáver del salivazo, característico de este hongo (Bustillo *et al.* 2011).

El propósito de este estudio, fue evaluar y comparar la eficacia de cepas nativas y de colección de *M. anisopliae* en el control de *A. varia*.

Materiales y métodos

Área de estudio. Esta investigación se realizó en un laboratorio de Entomología ubicado en el Sena de Buga, Valle del Cauca, Colombia, que presenta una temperatura media de $24,5 \pm 0,5$ °C y humedad relativa en el laboratorio de $78,8 \pm 1,7\%$.

Aislamiento de *M. anisopliae*. Se evaluaron cepas de *M. anisopliae* aisladas de muestras de suelo provenientes de los departamentos de Santander (Oiba) y Valle del Cauca (Buga y Tuluá) utilizando larvas de *G. mellonella* como cebo en muestras de suelo (Bedding y Akurst 1975; Chandler *et al.* 1997) y también de insectos con signos de infección (Almeida *et al.* 1997). Además, se incluyeron cinco cepas (CCMa0801, CCMa0802, CCMa0803, CCMa0906, CCMa0907) de la Colección del Laboratorio de Entomología de Cenicaña, con actividad al salivazo *Zulia carbonaria* (García *et al.* 2012); dos cepas, una donada por CIAT (CIAT054) y otra por Cenicafé (CeMa9236); cinco formulaciones comerciales y una cepa no formulada, proveniente de una casa comercial (MaSMT).

Reactivación de las cepas y mantenimiento del cultivo. Se infectaron adultos y ninfas de *A. varia* con las cepas a evaluar, para posteriormente tomar inóculo del hongo del cuer-

po del insecto y obtener un crecimiento en medio de cultivo enriquecido con integumento del salivazo, y así producir el inóculo necesario en los diferentes experimentos. Se siguió metodología estandarizada para *Z. carbonaria* por García *et al.* (2012) y para otros insectos (Bernal *et al.* 1994; Bustillo *et al.* 1997; González *et al.* 1993, 2001; Marín y Bustillo 2002).

Caracterización macroscópica. Los hongos se sembraron en cajas Petri con medio SDA. Se incubaron a 26 °C por 15 días, durante los cuales se observó el color de las colonias, aspecto, superficie y crecimiento para su identificación (Barnett y Hunter 1998). Se utilizó la tabla Munsell para describir el color y se determinó el tipo de crecimiento (Carmichael 1980; Padilla *et al.* 2000; Arenas 2009). El ensayo se realizó bajo un diseño completamente aleatorio, con seis repeticiones por cepa.

Tasa de crecimiento. Para determinar esta tasa, se tomó una muestra de 10 µl de cada una de las cepas de los hongos que contenían 1×10^6 conidias/ml. Esta muestra se sembró en un disco de papel filtro de 0,5 cm de diámetro, ubicándola en el centro de una caja Petri con medio SDA y se incubó a 26 °C. El desarrollo de las cepas de los hongos, se estimó midiendo el diámetro a los 5, 10, 15 y 20 días, después de la inoculación (Parker *et al.* 2003). Para cada cepa se utilizaron cinco repeticiones bajo un diseño experimental completamente aleatorio.

Producción de conidias. De cada una de las cajas Petri de 20 días de desarrollo obtenidas para la evaluación de la tasa de crecimiento, se extrajeron cuatro discos de 0,5 cm de diámetro y se mezclaron en 10 ml de Tween 80 al 0,01% estéril. Se contabilizó en cámara de Neubauer el número de conidias (Vélez *et al.* 1997; Marín y Bustillo 2002; Parker 2003) y se prepararon suspensiones seriadas hasta 10^{-3} . Para estimar la concentración de esporas se contaron cinco cuadros del cuadrante central de la cámara (Vélez *et al.* 1997). El experimento se organizó bajo un diseño experimental completamente aleatorio con cinco repeticiones por cepa. La variable de respuesta fue el número de conidias/ml.

Germinación de conidias. La germinación se evaluó utilizando cajas Petri, en las cuales se marcaron en la superficie interna inferior cinco puntos. Luego se vertieron 10 ml de agar - agua al 1,5%. En cada punto se sembró 5 µl de la dilución 10^{-2} de la cepa a evaluar. Las cajas se incubaron a 26 °C durante 24 h y se agregó una gota de azul de lactofenol a cada sitio sembrado con el hongo, para detener su desarrollo. Posteriormente, se cortó esta muestra y se observó al microscopio. Se contó mínimo 100 conidias por punto de crecimiento, considerando como conidia germinada aquella cuyo tubo germinativo sobrepasó el doble del diámetro mayor de la conidia (Marín y Bustillo 2002). Se registró el número de conidias germinadas y no germinadas. Se utilizaron de cinco alícuotas por caja por cinco submuestras, bajo un diseño estadístico completamente aleatorio.

Preselección de cepas de *M. anisopliae* por virulencia a adultos de *A. varia*. Doce cepas nativas se evaluaron por virulencia a adultos de *A. varia*, en tres bioensayos independientes bajo condiciones de laboratorio. Cada bioensayo se organizó con cuatro cepas de hongos, ocho repeticiones por tratamiento y un control, utilizando la metodología del ci-

lindro de acetato de Aleán (2003), modificada por García *et al.* (2012). En el interior del cilindro se colocó una planta de braquiaria, infestada con tres adultos tenerales (< 24 horas de edad) de *A. varia*. Luego, se asperjaron con 15 ml de una suspensión de 1×10^7 conidias/ml de cada uno de los hongos a evaluar, usando un atomizador manual previamente calibrado. El experimento se organizó bajo un diseño completamente aleatorio, en donde los tratamientos fueron las cepas de los hongos, con ocho repeticiones por tratamiento y un control absoluto sin aplicación. La variable de respuesta fue la mortalidad de los adultos por los hongos, la cual se evaluó hasta seis días después de aplicado los tratamientos.

Evaluación de formulaciones comerciales de *M. anisopliae* en adultos de *A. varia*. Se evaluaron cinco formulaciones comerciales y la cepa CeMa9236 como testigo. Las unidades experimentales y la dosis, fueron las mismas usadas en el experimento anterior. Se registró la mortalidad durante seis días bajo un diseño completamente aleatorio con ocho repeticiones por tratamiento. El control de calidad de estas formulaciones se llevó a cabo por el Laboratorio “Control de Bioinsumos” localizado en Cenicafé (Marín y Bustillo 2002).

Selección de cepas de *M. anisopliae* sobre adultos de *A. varia*. Basados en los ensayos de preselección, se escogieron las cepas nativas y la formulación comercial de mayor eficacia sobre adultos de *A. varia*. La unidad experimental y la dosis aplicada fue la misma descrita en la etapa de preselección. Se registró la mortalidad durante seis días bajo un diseño completamente aleatorio con seis repeticiones por tratamiento, incluyendo un control. El experimento se replicó tres veces en el tiempo bajo las mismas condiciones.

Selección de cepas de *M. anisopliae* sobre ninfas de *A. varia*. Se sembraron plantas de caña variedad CC 85-92 en tubos de poli vinil cloruro o PVC de 7 cm de diámetro y 7 cm de largo, con tapa del mismo material de 4 cm de alto y 6 cm de diámetro, y se infestaron con 12 huevos de *A. va-*

ria S4 (cercanos a la eclosión) cuando tuvieron un volumen considerable de raicillas secundarias (Cuarán *et al.* 2012). A ocho días después de la eclosión, se realizó una aplicación a la rizósfera de 4 ml de una mezcla de la suspensión 1×10^9 conidias/ml del hongo y 2 μ l de Carrier® utilizando un atomizador manual calibrado. Las evaluaciones se realizaron cada dos días después de la aplicación y se registró el número de ninfas vivas, muertas y adultos emergidos. Las evaluaciones finalizaron cuando las ninfas sobrevivientes alcanzaron el estado adulto. El diseño experimental fue completamente aleatorio con seis repeticiones y un control. Las condiciones en el invernadero fueron de $26,6 \pm 0,85$ °C y $74,7 \pm 0,47\%$ de HR.

Los datos de todos los experimentos se analizaron mediante un análisis de varianza y las diferencias entre tratamientos con la ayuda de la prueba de Tukey ($P = 0,05$).

Resultados y discusión

Aislamientos de *M. anisopliae*. El método del insecto trampa usando larvas de *G. mellonella* en muestras de suelos de caña panelera resultó ser muy útil para obtener aislamientos de *M. anisopliae*, se lograron obtener 12 de los 14 aislamientos. Los dos restantes se obtuvieron a partir de insectos con micosis.

Reactivación del hongo. Se reactivaron 22 cepas de *M. anisopliae* (14 obtenidas en este estudio, 5 aisladas previamente y 3 cepas de referencia) todas patógenicas a *A. varia*, pero solo 13 de ellas esporularon en el 60% a 80% de la población tratada con el hongo. Debido a esto se incluyeron en las pruebas de preselección por virulencia a adultos de *A. varia*. Este grupo se denominó Grupo de Prueba de Virulencia” (Tabla 1).

Caracterización macroscópica. Los colores de las cepas variaron desde amarillo pasando por verde olivo, hasta verde grisáceo oscuro, en concordancia con las descripciones de Arenas (2009) para varias cepas de *M. anisopliae*. En el en-

Tabla 1. Identificación y origen de las cepas de *Metarhizium anisopliae* evaluadas en ensayos de preselección “Grupo de prueba de virulencia” en condiciones de laboratorio.

| Código | Origen | Hospedero | Registro de aislamiento |
|----------------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Cepas nativas | | | |
| CCMa0801 | Florida, Valle del Cauca | <i>Zulia carbonaria</i> | García <i>et al.</i> (2012) |
| CCMa0802 | Oiba, Santander | Suelo caña panelera | García <i>et al.</i> (2012) |
| CCMa0803 | Oiba, Santander | Suelo caña panelera | García <i>et al.</i> (2012) |
| CCMa0906 | Palmira, Valle del Cauca | <i>A. varia</i> - caña azúcar | García <i>et al.</i> (2012) |
| CCMa0907 | Florida, Valle del Cauca | <i>Z. carbonaria</i> | García <i>et al.</i> (2012) |
| CCMa1001 | Oiba, Santander | Suelo caña panelera | En este estudio |
| CCMa1005 | Florida, Valle del Cauca | <i>Z. carbonaria</i> | En este estudio |
| CCMa1008 | Riofrío, Valle del Cauca | Suelo pasturas | En este estudio |
| CCMa1013 | Riofrío, Valle del Cauca | Suelo pasturas | En este estudio |
| CCMa1009 | Riofrío, Valle del Cauca | Suelo pasturas | En este estudio |
| Cepas de referencia | | | |
| CIAT054 | Palmira - Valle del Cauca | <i>A. varia</i> | Morales <i>et al.</i> (2001) |
| CeMa9236 | No registra | | Padilla <i>et al.</i> (2000) |
| MaSMT | No registra | | No registra |

Tabla 2. Caracterización fisiológica de las cepas de *Metarhizium anisopliae* a 26 °C bajo condiciones de laboratorio.

| Cepas | Tasa de crecimiento en días | | | | Producción de conidias a los 20 días | Germinación (%) 24 h después de la siembra |
|----------|-----------------------------|----------|---------|----------|--------------------------------------|--|
| | 5 (mm) | 10 (mm) | 15 (mm) | 20 (mm) | | |
| CCMa0802 | 11,0 a* | 34,0 ab* | 70 b* | 119,1 b* | 12,0 x 10 ⁷ abc* | 99,8 a* |
| CCMa1005 | 11,4 a | 32,4 ab | 64,8 b | 109,1 bc | 3,1 x 10 ⁷ ef | 91,6 c |
| CCMa1008 | 11,9 a | 30,8 b | 60,3 b | 99,8 c | 5,7 x 10 ⁷ defg | 93,6 bc |
| CCMa0803 | 12,4 a | 38,9 a | 84,3 a | 144,0 a | 7,4 x 10 ⁷ cdef | 99,8 a |
| CCMa0907 | 10,5 a | 31,7 ab | 64,8 b | 106,7 bc | 1,2 x 10 ⁷ fg | 92,6 c |
| CCMa0801 | 10,8 a | 31,0 b | 62,2 b | 103,2 bc | 3,1 x 10 ⁷ efg | 95,2 abc |
| MaSMT | 11,4 a | 30,0 b | 59,5 b | 98,9 c | 16,0 x 10 ⁷ a | 100,0 a |
| CCMa1001 | 12,3 a | 32,9 ab | 64,2 b | 105,5 bc | 8,7 x 10 ⁷ bcde | 98,7 ab |
| CCMa0906 | 11,6 a | 32,0 ab | 65b b | 108,8 bc | 1,6 x 10 ⁷ fg | 99,0 ab |
| CCMa1013 | 12,5 a | 34,6 ab | 63,1 b | 96,7 c | 1,0 x 10 ⁷ g | 91,7 c |
| CIAT054 | 11,9 a | 32,9 ab | 66,9 b | 111,8 bc | 13,0 x 10 ⁷ ab | 96,2 abc |
| CCMa1009 | 6,5 b | 17,5 c | 34,5 c | 57,5 d | 9,0 x 10 ⁷ bcd | 99,6 a |
| CeMa9236 | 10,2 a | 29,5 b | 58,0 b | 95,6 c | 8,3 x 10 ⁷ bcde | 98,8 ab |

* Datos en la misma columna seguidos de la misma letra, no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey (P = 0,05).

vés de la colonia del hongo, se observaron coloraciones amarillas, anaranjadas, rosadas y rojo carmesí, de acuerdo con lo observado por Guerrero *et al.* (1999).

Tasa de crecimiento. La cepa CCMa1009 presentó el menor desarrollo y fue diferente significativamente (P < 0,001)

del resto del grupo. La cepa CCMa0803 tuvo un mayor crecimiento (Tabla 2), sin embargo al observar su crecimiento y virulencia, se encontró que solo causó una mortalidad de 29,2% sobre *A. varia* (Tabla 3). En este estudio no se pudo establecer ninguna concordancia entre el desarrollo *in vitro* del hongo y su virulencia, algo que también ha sido encontrado

Tabla 3. Mortalidad causada por cepas nativas *Metarhizium anisopliae* (“grupo de prueba de virulencia”) sobre adultos de *Aeneolamia varia* en tres bioensayos. Información asociada a los registros de germinación, producción de conidias y tasa de crecimiento, para la selección de las cepas.

| Cepa | Mortalidad (%) | % Germinación | Producción de conidias (conidias/ml) | Crecimiento diametral -20 días (mm) |
|--------------------|----------------|---------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| Bioensayo 1 | | | | |
| CIAT 054* | 87,5 a** | 98,8 a** | 8,3 x 10 ⁷ a** | 111,8 a** |
| CCMa0906* | 87,5 a | 99,8 a | 7,4 x 10 ⁷ a | 108,8 a |
| CCMa0907 | 83,3 a | 92,6 b | 1,2 x 10 ⁷ b | 106,7 a |
| CCMa1008* | 83,3 a | 98,7 a | 8,7 x 10 ⁷ a | 99,8 a |
| Control | 0 b | | | |
| Bioensayo 2 | | | | |
| CCMa1001* | 58,3 a | 95,2 bc | 3,1 x 10 ⁷ b | 105,5 b |
| CCMa1005* | 58,3 a | 100 a | 16,0 x 10 ⁷ a | 109,1 b |
| CCMa1009 | 50,0 a | 99,0 ab | 1,6 x 10 ⁷ b | 57,5 c |
| CCMa0803 | 29,2 ab | 93,6 c | 5,7 x 10 ⁷ b | 144,0 a |
| Control | 0 b | | | |
| Bioensayo 3 | | | | |
| MaSMT* | 62,5 a | 96,2 ab | 13,0 x 10 ⁷ a | 98,9 b |
| CCMa1013 | 37,5 ab | 91,7 b | 1,0 x 10 ⁷ b | 96,7 b |
| CCMa0802 | 37,5 ab | 91,7 b | 3,1 x 10 ⁷ b | 119,1 a |
| CCMa0801 | 16,7 bc | 99,8 a | 1,2 x 10 ⁸ a | 103,2 b |
| Control | 0 c | | | |

* Cepas preseleccionadas de *M. anisopliae* para el ensayo final de selección de para el control de *A. varia*.

** Datos en la misma columna seguidos de la misma letra, no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey (P = 0,05).

Tabla 4. Control de calidad y mortalidad causada por cinco formulaciones comerciales y una cepa de referencia de *Metarhizium anisopliae* sobre adultos de *Aeneolamia varia* en condiciones de laboratorio.

| Producto | Conidias/g | Viabilidad | Pureza | | | pH | Humedad % | Mortalidad (%) | Mortalidad corregida (%)** |
|--|--|------------|--------|-------------------|---|-----|-----------|----------------|----------------------------|
| | | | % | (UFC/g) | (UFC/g) | | | | |
| CoMa01 | 1,1x10 ⁹ ± 0,4x10 ⁹ | 71,2 ± 3,1 | 100 | – | – | 5,5 | 6,7 | 70,8 a | 68,2 a |
| CoMa02 | 1,1x10 ⁸ ± 0,2x10 ⁸ | 9,9 ± 1,4 | 0,1 | 5x10 ⁷ | <i>Penicillium</i> sp. (1,5x10 ⁹) <i>B. bassiana</i> (4,5x10 ¹⁰) | 5,2 | 5,2 | 58,3 ab | 54,6 ab |
| CoMa03 | 1,4x10 ⁸ ± 0 | 0,8 ± 1,2 | – | 0x10 ¹ | – | 4,5 | 12,7 | 29,2 bc | 26,1 bc |
| CoMa04 | 1,9x10 ⁸ ± 0,6x10 ⁸ | 0 | 0 | 0x10 | <i>Aspergillus</i> sp. (2x10 ⁹) | 5,5 | 1,3 | 12,5 c | 4,5 c |
| CoMa05 | 21,0x10 ⁸ ± 1,0x10 ⁸ | * | 0 | 0x10 ¹ | Levaduras (5x10 ¹⁰) | 5,8 | 25,2 | 12,5 c | 8,7 c |
| CeMa9236 (Testigo referencia no formulado) | – | – | – | – | – | – | – | 79,2 a*** | 78,3 a*** |
| Control | – | – | – | – | – | – | – | 6,25 c | |

* Dato no registrado.

** De acuerdo con la fórmula de Schneider - Orelli.

*** Datos en la misma columna seguidos de la misma letra, no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey (P = 0,05).

– No se aplicó la prueba.

por Padilla *et al.* (2000), y Chan-Cupul *et al.* (2010), aunque está en contraposición con otros estudios (Heale *et al.* 1989; Montesinos 2008).

Producción de conidias. Las cepas CCMa1005, MaSMT (de referencia) y la CCMa0801, produjeron más conidias 16,0; 13,0 y 12,0 x 10⁷ conidias/ml, respectivamente, presentando diferencias estadísticas altamente significativas (P < 0,0001) con el resto del grupo (Tabla 2). No se encontró ninguna correlación entre estos valores y la tasa de crecimiento (Tabla 2), lo cual está acorde con los resultados de Padilla *et al.* (2000).

Germinación de conidias. Todas la cepas mostraron una germinación mayor al 90% (Tabla 2); característica deseable, debido a que las conidias de los hongos entomopatógenos deben presentar un rápido desarrollo del tubo germinativo, para acelerar el proceso infectivo y disminuir el tiempo de exposición a factores adversos como la radiación UV y humedad cuando son aplicadas en campo (Hajek y St. Leger 1994; Goettel e Inglis 1997).

Preselección de cepas de *M. anisopliae* por virulencia a adultos de *A. varia*. Se registraron valores diferentes para cada uno de los bioensayos. En el primero, todas las cepas causaron mortalidades superiores al 80% de la población tratada; en el segundo, se registraron mortalidades menores al 60%; y en el tercer bioensayo, las cepas exhibieron mucho menos virulencia, tres de las cuatro cepas causaron mortalidades por debajo 40%, y solo la cepa MaSMT alcanzó una mortalidad del 62,5% (Tabla 3). Cuando se comparó la producción de esporas con la virulencia de las cepas CCMa0801, CCMa1005 y MaSMT, no se estableció una correlación clara. Narváez (1996) y Padilla *et al.* (2000) afirman que la alta producción de esporas no está asociada a mayor virulencia. Las características fisiológicas de los hongos entomopatógenos no son determinantes para establecer su virulencia (Tabla 2). Factores como producción de proteasas, esterases, quitinasas, lipasas y toxinas, son los que determinan la patogenicidad de un hongo entomopatógeno (Kershaw *et al.* 1999; St. Leger *et*

al. 1986a, 1986b; Pal *et al.* 2007; Schrank y Vainstein 2010). La información lograda sobre patogenicidad y características fisiológicas, permitieron seleccionar las cepas de *M. anisopliae*: CCMa0906, CCMa1001, CCMa1005, CCMa1008 y las de referencia CIAT054, CeMa9236 y MaSMT, para los ensayos de selección final.

Evaluación de formulaciones comerciales de *M. anisopliae* sobre adultos de *A. varia*. La eficacia de las formulaciones comerciales de *M. anisopliae* sobre adultos de *A. varia* (Tabla 4), fue variable y la mortalidad fluctuó entre el 12,5 y 79,2%. El análisis estadístico detectó diferencias altamente significativas entre los productos evaluados (< 0,0001). La cepa de referencia CeMa9236, causó la mayor mortalidad sobre los adultos de *A. varia* (78,3%) y las formulaciones CoMa01 y CoMa02 alcanzaron mortalidades del 68,2% y del 54,6%, respectivamente (Tabla 4). CoMa01 presentó las mejores características microbiológicas (pureza, viabilidad y

Tabla 5. Mortalidad promedio de adultos de *Aeneolamia varia* causada por cepas de *Metarhizium anisopliae* previamente preseleccionadas, bajo condiciones de laboratorio.

| Cepa/Producto comercial | Mortalidad (%) | Mortalidad corregida (%)* |
|-------------------------|----------------|---------------------------|
| CCMa0906 | 89,0 ab** | 88,3 ab** |
| CCMa1001 | 72,2 c | 70,6 c |
| CCMa1005 | 76,0 abc | 74,6 abc |
| CCMa1008 | 89,0 ab | 88,2 ab |
| CIAT 054 | 90,7 a | 90,1 a |
| CeMa9236 | 81,5 abc | 80,4 abc |
| MaSMT | 72,2 c | 70,6 c |
| CoMa01 | 74,1 bc | 72,6 bc |
| Control | 5,6 d | |

* De acuerdo con la fórmula de Schneider - Orelli.

** Datos en la misma columna seguidos de la misma letra, no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey (P = 0,05).

concentración de conidias). CoMa02 registró una mezcla de *M. anisopliae* y *B. bassiana* (Tabla 4), por la tanto su eficacia se le atribuye al sinergismo de los dos hongos; ya que *B. bassiana*, puede infectar hemípteros (Peñaranda *et al.* 1999; Ibarra-Aparicio *et al.* 2005; Marti *et al.* 2005). CoMa04 causó 26,1% de mortalidad, asociada a la presencia de contaminantes del género *Aspergillus*, que a pesar de ser saprófito se registra patogenicidad sobre *Saccharicoccus sacchari* Cockerell y *Culex* sp. (Toscano y Reeves 1973; Drummond *et al.* 1991). CoMa03 causó 4,5% de mortalidad atribuida a la no viabilidad de las conidias (0,08%). CoMa05 fue igual al testigo.

Selección de cepas de *M. anisopliae* sobre adultos de *A. varia*. En las pruebas de preselección se seleccionaron las cepas de referencia CIAT 054, CeMa9236 y MaSMT, las cepas nativas CCMa0906, CCMa1008, CCMa1005 y CCMa1001 y la formulación comercial CoMa01. El análisis estadístico no estableció diferencias significativas entre las tres réplicas ($P = 0,57$). CCMa0906, CCMa1005, CCMa1008 no presentaron diferencias significativas con las cepas de referencia CeMa9236 y CIAT054 (Tabla 5). Estas cepas son candidatas para pruebas posteriores en condiciones de campo con el fin de desarrollar una formulación dirigida a controlar poblaciones de *A. varia* presentes en caña de azúcar.

Selección de cepas de *M. anisopliae* sobre ninfas de *A. varia*. La virulencia del “Grupo de prueba de virulencia” sobre ninfas de *A. varia* en condiciones de invernadero, varió entre 27,1% y 75,7% de mortalidad (Tabla 6). Las cepas CCMa0906, CCMa1001, CCMa1005, CCMa1008 y la formulación comercial CoMa01, no presentaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0,0001$) con CIAT054 y CeMa9236. En la dosis aplicada se logró controlar entre 30%

y 70%, esta mortalidad se considera alta, si se compara con otros estudios (Arango *et al.* 1994; Camó 1999). Aunque en este estudio se registraron mortalidades hasta del 70%, algunas investigaciones señalan que la saliva de las ninfas del salivazo puede ser una barrera para estos organismos. Las espumas de estos insectos están constituidas por proteínas surfactantes especializadas, que en sinergia con otras proteínas (glucopéptidos y proteoglicanos), dan estabilidad estructural y protección contra la actividad microbiana y ataques de parásitos (Mello *et al.* 1987; Cooper y Kennedy 2010). Para sobreponerse a esta barrera, es importante utilizar dosis adecuadas de conidias del hongo a utilizar con coadyuvantes que faciliten su penetración a través de la saliva y así facilitar el proceso infeccioso.

Conclusiones

Los resultados de este estudio permiten contar con una colección de nuevas cepas de *M. anisopliae*, caracterizadas macroscópica, fisiológica y patogénicamente, de las cuales CCMa0906, CCMa1005, CCMa1008 causaron las mayores mortalidades a los estados de ninfas y adultos de *A. varia*. La cepa CCMa1001, mostró bastante especificidad hacia el estado ninfal. Entre las formulaciones comerciales, CoMa01 fue la más eficaz en el control de *A. varia*. Este grupo de cepas seleccionadas se pueden evaluar para estudios de control de *A. varia* bajo condiciones de campo.

Agradecimientos

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, por la cofinanciación a través del Convenio 141-2008P4896-4070. Al Dr. Carlos Moreno por su asesoría estadística, al Ing. Agr. Gerson Ramírez, por proporcionar los insectos utilizados en el estudio y al Práctico Agrícola Álvaro Tulio Urresti, por su ayuda en la logística de la investigación.

Literatura citada

ALEÁN, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus sociales* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, Colombia. 107 p.

ALLARD, G. B.; CHASE, C. A.; HEALE, J. B.; ISAAC, J. E.; PIOR, C. 1990. Field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as a mycoinsecticide for control of sugarcane froghopper, *Aeneolamia varia saccharina* (Hemiptera: Cercopidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 55 (1): 41-46.

ALMEIDA, J. E. ALVES, M. S.; PEREIRA, R. M. 1997. Selection of *Beauveria* spp. isolates for control of the termite *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858). *Journal of Applied Entomology* 121 (9-10): 539-543.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; SANTOS, A. S. 2003. Avaliação do controle biológico de *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae) com o fungo *Metarhizium anisopliae* em variedades de cana-de-açúcar e diferentes épocas de corte. *Arquivos do Instituto Biológico (Sao Paulo) / Secretaria de Agricultura e Abastecimento* 70 (1): 101-103.

ALVES, S. B. 1986. Fungos entomopatógenicos. pp. 73-126. En: Alves, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. Editora Manole, São Paulo.

Tabla 6. Mortalidad promedio de ninfas de *Aeneolamia varia* causada por cepas de *Metarhizium anisopliae* (“grupo de prueba de virulencia”) bajo condiciones de invernadero.

| Cepa/Producto comercial | Mortalidad (%) | Mortalidad corregida* (%) |
|-------------------------|----------------|---------------------------|
| CCMa0906 | 78,0 a** | 75,7 a** |
| CeMa9236 | 73,2 ab | 70,4 ab |
| CIAT 054 | 68,0 ab | 64,6 ab |
| CCMa1008 | 63,5 abc | 59,6 abc |
| CoMa01 | 64,5 abc | 60,7 abc |
| CCMa1005 | 62,8 abc | 58,8 abc |
| CCMa1001 | 62,2 abc | 58,2 abc |
| MaSMT | 61,4 bc | 57,3 bc |
| CCMa0801 | 59,3 bc | 55,0 bc |
| CCMa0803 | 50,2 dc | 44,9 dc |
| CCMa0802 | 49,8 cd | 44,5 cd |
| CCMa1009 | 42,4 ed | 36,3 ed |
| CCMa1013 | 39,4 ed | 33,0 ed |
| CCMa0907 | 34,1 e | 27,1 e |
| Control | 9,6 f | 0,0 |

* De acuerdo con la fórmula de Schneider - Orelli.
 ** Datos en la misma columna seguidos de la misma letra, no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey ($P = 0,05$).

- ARANGO, G. L.; TORRES, C.; LAPOINTE, S. 1994. Patogenicidad de tres cepas de *Metarhizium anisopliae* sobre huevos y ninfas de *Aeneolamia varia* (Fabricius) (Homoptera: Cercopidae). Revista Colombiana de Entomología 20 (1): 43-46.
- ARENAS, Y. 2009. Manejo del salivazo *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae) de la caña de azúcar a través de métodos biológicos de control: Utilización de hongos entomopatógenos para el control del salivazo *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae). Universidad del Valle. Facultad de Ciencias, Biología, 33 p.
- BARNETT, H.; HUNTER, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th edition. APS Press. St. Minnesota, 218 p.
- BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; SANTOS, A. S.; MACHADO, L. A.; ALVES, S. B. 2003. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* no controle de cigarrinha-da-raiz-da-cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hom.: Cercopidae). Arquivos do Instituto Biológico (São Paulo) 70 (3): 309-314.
- BEDDING, R. A.; AKURST, R. J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. Nematologica 21: 109-116.
- BERNAL, M. G.; BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J. 1994. Virulencia de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y su eficacia en campo sobre *Hypothenemus hampei*. Revista Colombiana de Entomología 20 (4): 225-228.
- BUSTILLO, A. E.; CASTRO, U. 2011. El salivazo de la caña de azúcar *Aeneolamia varia* (F.) (Hemiptera: Cercopidae). Hábitos, biología y manejo de poblaciones. Cali, Cenicaña. 16 p. (Serie Divulgativa No. 11).
- BUSTILLO, A. E.; LÓPEZ, J. C.; DEVIA, H. 1997. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en la langosta migratoria, *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn, en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 23 (1-2): 39-43.
- BUSTILLO, A. E.; OBANDO, J. A.; MATABANCHOY, J. A.; CASTRO, U. 2011. Control biológico del salivazo *Aeneolamia varia* (F.) (Hemiptera: Cercopidae). Uso del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Cali, Cenicaña. 12 p. (Serie Divulgativa No. 12).
- CAMÓ, T. R. 1999. Evaluación de cuatro aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sokorin 1883, para el control microbiano del chinche salivosa bajo condiciones controladas. Tesis de grado. Universidad San Carlos de Guatemala. Agrónomo en sistemas de producción agrícola, 76 p.
- CARMICHAEL, J. W.; KENDRICK, W. B.; CONNERS, I. L.; SIGLER, L. 1980. Genera of Hyphomycetes. University of Alberta Press, Edmonton, AB. 386 p.
- CARRILLO, E. 1993. Estudio preliminar sobre pérdidas de tonelaje y rendimiento de azúcar, causadas por el daño de la chinche salivosa *Aeneolamia* sp. en Guatemala. Cengicaña. 11 p.
- CHANDLER, D.; HAY, D.; REID, A. P. 1997. Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils. Applied Soil Ecology 5: 133-141.
- CHAN-CUPUL, W.; RUIZ, E.; CRISTIBAL, J.; PEREZ, A.; MUNGUÍA, R.; LARA, R. 2010. Desarrollo in vitro de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces fumosoroseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. Agrociencia 44 (5): 587-597.
- COOPER, A.; KENNEDY, M. 2010. Biofoams and natural protein surfactants. Biophysical Chemistry 151 (3): 96-104.
- CUARÁN, V. L.; CASTRO, U.; BUSTILLO, A. E.; MESA, N. C.; RAMÍREZ, G. D.; MORENO, C. A.; GÓMEZ, L. A. 2012. Método para evaluar el daño de los salivazos (Hemiptera: Cercopidae) en caña de azúcar, *Saccharum* spp. Revista Colombiana de Entomología 38 (2): 171-176.
- DRUMMOND, J.; DE BARRO, P.; PINNOCK, D. 1991. Field and laboratory studies on the fungus *Aspergillus parasiticus*, a pathogen of the pink sugar cane mealybug *Saccharicoccus sacchari*. Biological Control 1 (4): 288-292.
- FLORES, C. S. 1996. Mosca pinta o salivazo en caña de azúcar y pastos. En: Encuentro Regional Fitosanitario (Xalapa, Veracruz, México). Memoria Colegio de Ingenieros Agrónomos, p. 24-31.
- GARCÍA D., A.; ARENAS B., Y.; BUSTILLO P., A. E.; CASTRO V., U. 2012. Selección de hongos entomopatógenos para controlar salivazos de la caña de azúcar en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 38 (2): 252-259.
- GOETTEL, M. S.; INGLIS G. D. 1997. Fungi: Hyphomycetes. pp. 213-248. En: L. Lacey (Ed.). Manual of techniques in insect pathology. Academic Press, San Diego, 320 p.
- GÓMEZ, L. 2007. Manejo del salivazo *Aeneolamia varia* en cultivos de caña de azúcar en el valle del río Cauca. Carta trimestral 2 y 3 de 2007. Cenicaña, Colombia. p. 10-17.
- GONZÁLEZ, M. T.; POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. Revista Cenicafe (Colombia) 44 (3): 93-102.
- GONZÁLEZ, M. T.; VALENCIA, A. J.; BUSTILLO, A. E. 2001. Incremento de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*, utilizando integumento del insecto en el medio de cultivo. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 60: 31-35.
- GUERRERO C., J.; CARRILLO LL., R.; AGUILERA P., A. 1999. Caracterización morfológica y germinación de cepas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* asociado a larvas de escarabaideos y curculionidos. Agrosur (Chile) 37 (2): 23-34.
- HAJEK, A. E.; ST LEGER, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology 39: 293-322.
- HEALE, J. B.; ISAAC, J. E.; CHANDLER, D. 1989. Prospect for strain improvement in entomopathogenic fungi. Pesticide Science 26: 79-92.
- IBARRA-APARICIO, G.; MOYA-RAIGOSA, G.; BERLANGA, G.; BERLANGA-PADILLA. 2005. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (Delong y Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). Folia Entomologica Mexicana 44 (1): 1-6.
- KERSHAW, M. J.; MOORHOUSE, E. R.; BATEMAN, R.; REYNOLDS, S. E.; CHARNLEY, A. K. 1999. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. Journal of Invertebrate Pathology 74: 213-223.
- LINARES, B. A.; PÉREZ, G. 1985. Gramíneas hospederas de *Aeneolamia* spp. (Homoptera: Cercopidae) en la región centro occidental de Venezuela. Caña de Azúcar 3 (1): 34-42.
- MARÍN, P.; BUSTILLO, A. E. 2002. Pruebas microbiológicas y fisicoquímicas para el control de calidad de los hongos entomopatógenos. pp. 72-89. En: Memorias Curso Internacional Teórico-Práctico sobre entomopatógenos, parasitoides y otros enemigos naturales de la broca del café. Chinchiná, Colombia.
- MARTI, G. A.; SCORSETTI, A. C.; SIRI, A.; LÓPEZ LASTRAS, C. C. 2005. Isolation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) from the chagas disease vector *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in Argentina. Mycopathologia 159: 389-391.
- MELLO, M. L.; PIMENTEL, S. E. R. A.; YAMADA, A. T. 1987. Composition and structure of the froth of the spittlebug, *Deois* sp. Insect Biochemistry 17: 493-502.
- MONTESINOS, R. 2008. Relación entre variables de crecimiento y virulencia en aislados de *Beauveria bassiana*. Tesis de grado. Universidad Autónoma Metropolitana. División de Ciencias Biológicas y de la salud. Maestría en Biotecnología. Iztapalapa D.F., México. 82 p.
- MORALES, A.; TOBÓN, R.; RODRÍGUEZ, J.; CASTRO, U.; YELA, O.; PECK, D. 2001. Variation in the virulence of fungal entomopathogens among spittlebug species. pp. 38-39. En: Annual Report CIAT.
- NARVÁEZ, M.; GONZÁLEZ, M. T.; BUSTILLO, A. E.; CHAVES, B.; MONTOYA, E. C. 1997. Producción de esporas de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*

- en diferentes sustratos. *Revista Colombiana de Entomología* 23 (3-4): 125-132.
- PADILLA, G. M.; BERNAL, M. G.; VÉLEZ, P. E.; MONTOYA, E. C. 2000. Caracterización patogénica y morfológica de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* obtenidos de diferentes ordenes insectiles. *Cenicafé (Colombia)* 51 (1): 28-40.
- PAL, S.; ST LEGER, R. J.; WU, L. P. 2007. Fungal peptide destruxin A plays a specific role in suppressing the innate immune response in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Chemistry* 282: 8969-8977.
- PARKER, B.; SKINNER, M.; COSTA, S.; GOULI, S.; REID, W.; BOUHSSINI, M. 2003. Entomopathogenic fungi of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae): collection and characterization for development. *Biological Control* 27: 260-272.
- PEÑARANDA, V. H.; HIGUERA, O. L.; BASTIDAS, H.; HERNÁNDEZ, P.; REYES, L. A. 1999. Manejo integrado de sogata (*Tagosodes orizicalus*) en el cultivo de arroz en los Llanos Orientales. Disponible en: <http://201.234.78.28:8080/jspui/handle/123456789/845>. [Fecha revisión: 14 abril 2012].
- PECK, D. C. 2001. Diversidad y distribución geográfica del salivazo (Homoptera: Cercopidae) asociado con gramíneas en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (3-4): 129-136.
- PECK, D. 2002. Distribución y reconocimiento del salivazo de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en la costa Caribe de Colombia. *Pasturas Tropicales (Colombia)* 24: 4-16.
- POSADA O., L. 1989. Lista de insectos dañinos y otras plagas en Colombia. ICA, 4ª ed. Bogotá, Boletín Técnico No. 43, 662 p.
- SALAZAR, J. D.; BADILLA, F. 1997. Evaluación de dos cepas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* y seis insecticidas granulados en el control del salivazo (*Aeneolamia postica*) (Hom: Cercopidae) en caña de azúcar en la región de San Carlos. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 43: 9-18.
- SALAZAR, J.; PROAÑO, L. 1989. Pérdidas ocasionadas por la candelilla de la caña de azúcar (*Aeneolamia varia*) en el área de influencia del central río Turbio: estudio comparativo de las zafras 84/85 y 85/86. *Caña de Azúcar (Venezuela)* 7 (2): 49-54.
- SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H. 2010. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon* 56: 1267-1274.
- SOTELO, G.; CARDONA, C. 2001. Manejo integrado del salivazo de los pastos con énfasis en resistencia varietal. pp. 117-125. En: Manejo y evaluación de pasturas tropicales. Herrero, M.; Ramírez, A.; Joaquín, N. (Eds.). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Bolivia).
- ST. LEGER, R. J.; COOPER, R. M.; CHARNLEY, A. K. 1986a. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: cuticle degradation in vitro by enzymes from entomopathogens. *Journal of Invertebrate Pathology* 47: 167-177.
- ST. LEGER, R. J.; CHARNLEY, A. K.; COOPER, R. M. 1986b. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: synthesis in culture on cuticle. *Journal of Invertebrate Pathology* 48: 85-95.
- TORRES DE LA CRUZ, M.; MADRIGAL, H.; ORTIZ, C. F.; LAGUNAS, L.; DÍAZ, G. 2006. Selección de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* para el manejo de *Aeneolamia postica* en caña de azúcar de tabasco, México. *Memorias Congreso Internacional de Control Biológico*. Palmira, Colombia, p. 22.
- TOSCANO, N. C.; REEVES, E. L. 1973. Effect of *Aspergillus flavus* mycotoxin on *Culex* mosquito larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 22 (1): 55-59.
- VÉLEZ, P.; POSADA, F. J.; MARIN, P.; GONZÁLEZ, M. T.; OSORIO, E.; BUSTILLO, A. E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Boletín Técnico*, No 17, Cenicafé, Colombia, 37 p.

Recibido: 26-abr-2012 • Aceptado: 22-abr-2013