

## Desarrollo de sistemas de fenotipado para evaluar diferentes estrategias de manejo de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) en caña de azúcar\*

Florencia Budeguer\*\*, M. Francisca Perera\*\*, Gabriela Michavila\*\*, Josefina Racedo\*\*, Alejandro Vera\*\*\*, Aldo S. Noguera\*\*, M. Inés Cuenya\*\*\* y Atilio P. Castagnaro\*\*\*

### RESUMEN

El barrenador de caña de azúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) es la plaga más importante del cultivo en Tucumán, Argentina. Los estadios larvales más avanzados perforan los tallos facilitando la colonización de microorganismos que reducen indirectamente el rendimiento y la calidad del azúcar. El objetivo del presente trabajo fue optimizar sistemas de fenotipado de *D. saccharalis* en caña de azúcar, en condiciones controladas, con el fin de evaluar diferentes estrategias de manejo de la plaga. En primer lugar, diferentes números de larvas neonatas fueron colocadas en el cogollo de plantines de caña de azúcar de dos meses de edad de las variedades TUC 95-10, TUC 03-12 y LCP 85-384. Por otro lado, en plantas individuales de seis meses de edad de TUC 95-10 se inocularon 10 larvas de diferentes estadios y se determinó el número de perforaciones y de vainas dañadas, la longitud total del túnel y el síntoma del corazón muerto. En ensayos *in vitro* se inocularon dos larvas neonatas en ápices caulinares extraídos de plantines y se determinó el porcentaje de supervivencia de larvas. Todos los ensayos se realizaron en condiciones controladas (28-30°C; 50-70% de HR), con dos o tres repeticiones y con 5 - 10 unidades experimentales por tratamiento. En plantines se observó el síntoma del corazón muerto en todos los tratamientos con diferente número de larvas neonatas. Las plantas de seis meses de edad presentaron daños en vaina y tallo cuando se infestaron con los estadios larvales L2, L3 y L4, mientras que las larvas neonatas solo produjeron daño en la vaina. En los ensayos de laboratorio el porcentaje de supervivencia de larvas obtenido fue elevado. Los resultados sugieren que diferentes sistemas de fenotipado empleando material vegetal de distinta edad fueron optimizados y están disponibles para evaluar potenciales estrategias de manejo del barrenador.

**Palabras clave:** barrenador, condiciones controladas, estadio larval, método de infestación, síntoma de corazón muerto.

### ABSTRACT

#### Optimization of phenotyping system in sugarcane to evaluate different strategies against *Diatraea saccharalis* (Fabricius)

Sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) is the most important sugarcane pest in Tucumán, Argentina. Older larvae bore into the stalks, facilitating microorganism colonization which indirectly reduces yield and quality of sugar. The aim of the present work was to optimize a sugarcane plant phenotyping method with *D. saccharalis* under controlled conditions to evaluate different strategies to manage the pest. Different numbers of neonate larvae were placed in the leaf whorl of sugarcane seedling (2-months-old) of cultivars TUC 95-10, TUC 03-12 and LCP 85-384. On the other hand, on single plants 6-month old of TUC 95-10, 10 larvae of several instars were added and the number of perforations and damaged sheath, the tunnel total length and the dead heart symptom were evaluated. In *in vitro* tests, immature leaf roll disks cut from seedlings were inoculated with two neonate larvae and the larval survival percentage was determined. Each assay was repeated twice or three times with 5 -10 replicates per treatment and conducted under controlled conditions (28-30°C; 50-70% RH). In seedlings the symptom of the dead heart was observed in all the treatments with different larval number. In the case of the 6-month-old plants, damage in the sheath and stem were observed when infested with L2, L3 and L4 instars, whereas neonate larvae only produced sheath damage. In the laboratory tests, the survival percentage of larvae obtained was high. The results suggest that several methodologies were optimized to evaluate different types of plant material, which are available to study potential strategies for sugarcane borer management.

**Key words:** dead heart symptom, controlled conditions, infestation method, larval instar, sugarcane borer.

Fecha de recepción: 03-07-2019 - Fecha de aceptación: 14-11-2019

\*Trabajo subsidiado por Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y proyecto PICTO 2016-0120 de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT).

\*\*Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA), Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

\*\*\*Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC).

## INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es un cultivo multipropósito que sirve como materia prima para la producción de alimento y energía, entre otras aplicaciones. Se cultiva en más de 20 millones de hectáreas en aproximadamente 110 países de regiones tropicales y subtropicales (Goebel and Sallam, 2011).

La Argentina produce alrededor de 1,9 mil toneladas de azúcar cruda (USDA 2017a), ocupando la posición 16 en el ranking de producción mundial (USDA 2017b). En la Argentina la producción se concentra en dos regiones: en el norte (provincias de Tucumán, Salta y Jujuy) y en el litoral (provincias de Santa Fe y Misiones). En Tucumán la industria azucarera es la principal y más antigua actividad agroindustrial y más del 45% del área cultivable de esa provincia está plantada con caña de azúcar (269.530 ha) (Fandos *et al.*, 2017).

La caña de azúcar es atacada por numerosas plagas; entre ellas, el barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) es la más importante en Tucumán. Los primeros estadios larvales se alimentan del parénquima de la hoja y de las vainas, mientras que estadios más avanzados barrenan los tallos interrumpiendo la integridad fisiológica de la planta. Esto reduce el movimiento de azúcares hacia el tallo e inhibe el movimiento de agua y nutrientes, además de causar la rotura del tallo. Además, facilita la colonización de hongos y bacterias, lo que indirectamente reduce el rendimiento y la calidad del azúcar y el etanol (Long and Hensley, 1972; Macedo and Botelho, 1988). Entre ellos, la pudrición roja, causada por el hongo *Phylospora tucumanensis*, es una de las enfermedades más distribuida en los países productores de caña de azúcar y las pérdidas que ocasiona están asociadas a la inversión de la sacarosa (Humbert, 2013).

En plantas de caña de azúcar de hasta tres meses de edad, el ataque de las larvas produce la muerte del brote apical (síntoma de corazón muerto), lo que conduce a la muerte de la planta; mientras que en plantas adultas los daños producen el desarrollo de brotes laterales, la pérdida de peso, la rotura del tallo y la entrada de patógenos, todo esto asociado a importantes pérdidas económicas (Parra, 1993; Mendonça *et al.*, 1996).

Las pérdidas de rendimiento de azúcar causadas por *D. saccharalis* se estimaron en 650 g/t de caña por cada 1% de intensidad de infestación (número de entrenudos barrenados / número de entrenudos totales \* 100) (Salvatore *et al.* 2009). En Tucumán, en 2017 las pérdidas de azúcar fueron de más de 66.000 t (Banegas *et al.*, 2018), lo que pone de manifiesto la importancia de esta plaga para la provincia y la necesidad de disponer de estrategias eficientes de manejo para mitigar los daños.

Respecto a las estrategias de manejo del

barrenador en caña de azúcar, los métodos de control cultural, biológico y químico han resultado ineficientes para la región del noroeste argentino. Una práctica cultural recomendada en otras áreas cañeras consiste en la limpieza del cañaverde de hospederos alternativos para evitar que la plaga multiplique sus poblaciones (Salvatore *et al.*, 2009). Sin embargo, estudios poblacionales de la plaga colectada en diferentes hospederos en la provincia de Tucumán demuestran la presencia de barreras al flujo génico, lo que indicaría una disminución en la probabilidad de apareamiento y la presencia de señales crípticas de adaptación a los hospederos (Fogliata *et al.*, 2019).

En relación con el control biológico, es una práctica muy empleada en Brasil, por ejemplo, donde se utilizan parasitoides de los huevos de *D. saccharalis* pertenecientes al género *Trichogramma* (Parra and Zucchi, 2004). En Tucumán esta práctica no resultó, ya que los parasitoides introducidos por la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) a fines de la década del '70 nunca se establecieron, posiblemente debido a características ambientales inapropiadas (Salvatore *et al.*, 2009).

Como medida de control químico, la adopción de insecticidas comerciales para controlar *D. saccharalis* es una práctica mundialmente recomendada desde 1920. En Estados Unidos se realiza el monitoreo y se decide la aplicación cuando se detecta el 5% de las plantas infectadas con larvas pequeñas. También, en Guatemala el uso de Clorfaniliprole ha resultado efectivo para el manejo del complejo de especies de *Diatraea* (Torres Ramírez, 2015). Hasta el momento, las evaluaciones de agroquímicos realizadas por la EEAOC no arrojaron resultados positivos; sin embargo, algunos químicos en fase experimental han mostrado una respuesta alentadora. Merece destacarse que el uso de agroquímicos trae aparejadas ciertas desventajas tales como el costo económico del producto y el ambiental, la baja traslocación en la planta o la falta de acceso cuando la larva ya ingresó al tallo (Srikanth *et al.*, 2011).

Considerando lo expuesto, las estrategias disponibles para nuestra región consisten en el uso de cultivares con resistencia incrementada, el desarrollo de plantas transgénicas y el empleo de bioinsumos. La primera estrategia, una de las más rentables, consiste en obtener por mejoramiento genético convencional variedades con características asociadas a la resistencia que puedan verse menos afectadas por el ataque del barrenador. Por otro lado, el desarrollo de cultivares de caña de azúcar transgénicos se logra por la introducción mediante transformación genética de genes que codifiquen para productos que interfieren con el desarrollo del insecto. En este sentido, los genes que codifican para las proteínas Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt) son una de las estrategias más efectivas para el control de insectos en

otros cultivos (Bates *et al.*, 2005).

Existen otras medidas eficientes y sustentables de control de insectos incluidas en el manejo integrado de plagas (MIP) (Flint, 2012) que pueden evitar los efectos colaterales del control químico, al mismo tiempo que mantienen las poblaciones del insecto bajo control. Dentro del MIP, los inductores de la defensa en plantas son herramientas prometedoras, ya que no tienen riesgos asociados a la rápida evolución de la resistencia en insectos (Stout *et al.*, 2002; Sobhy *et al.*, 2014).

Para evaluar cualquiera de las tres estrategias disponibles en nuestra región para el manejo de *D. saccharalis*, el fenotipado de las plantas juega un rol crítico. Para ello es posible evaluar el efecto sobre las poblaciones de insectos o la protección de las plantas. En el caso de caña de azúcar, los indicadores de la infestación incluyen la evidencia directa de la actividad del insecto, tales como número de vainas dañadas, número de perforaciones, largo total de los túneles y síntoma de corazón muerto (Goggin *et al.*, 2015).

Por otro lado, la posibilidad de determinar el fenotipo resistente o susceptible del material vegetal en diferentes estadios fenológicos se convierte en una herramienta clave. Así por ejemplo, la evaluación de la resistencia en plántulas transgénicas de tamaño pequeño es muy deseable, ya que posibilita la detección temprana de eventos que producen altas dosis de proteína insecticida y por ende la eliminación del proceso de aquellos eventos que no cumplan satisfactoriamente con este requerimiento. En el caso del fenotipado para desarrollo de bioinsumos que involucren la activación de las respuestas de defensa de las plantas para el control de la plaga, es probable que se requieran evaluaciones del material vegetal en diferentes edades para determinar el momento óptimo de aplicación para una mejor respuesta defensiva. Considerando lo expuesto es que se propone optimizar un método de fenotipado de *D. saccharalis* en plantas de caña de azúcar bajo condiciones controladas, de modo de disponer de herramientas que permitan evaluar posteriormente las diferentes estrategias de manejo disponibles de la plaga para nuestra región.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Cría de los insectos y plantas de caña de azúcar

La colonia de *D. saccharalis* se originó a partir de larvas recolectadas en campos comerciales de caña de azúcar en Overo Pozo, Tucumán, Argentina. La colonia se mantuvo a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 70-75% de humedad relativa y un fotoperíodo de 14L:10O. Se utilizó la metodología de cría descrita por Fogliata *et al.* (2019).

Para los experimentos se usaron plantas de diferentes edades. Por un lado se emplearon plantines de dos meses de edad producidos por el Proyecto

Vitroplantas de la EEAOC -y mantenidos en invernadero bajo condiciones controladas- de tres variedades de caña de azúcar (TUC 95-10, TUC 03-12 y LCP 85-384), obtenidas por el Programa de Mejoramiento de Caña de Azúcar de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). Por otro lado, se emplearon plantas de seis meses de la variedad TUC 95-10 obtenidas a partir de estacas uninodales y crecidas en macetas plásticas con sustrato apropiado. Luego de 45-60 días, las plantas fueron trasplantadas a macetas de 8 L con sustrato estéril y mantenidas en invernadero ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ;  $60 \pm 10\%$  humedad relativa (HR);  $12 \pm 2$  h fotoperíodo). Las plantas de las dos edades fueron regadas a razón de 0,5-2,0 L/maceta/día y fertilizadas hasta una semana antes de la inoculación con 200 mg de fuente nitrogenada (Hakaphos®). Los ensayos se realizaron sobre diferentes variedades de acuerdo a la disponibilidad de material vegetal y espacio físico para realizar los experimentos.

En la Tabla 1 se presentan los tres experimentos que a continuación se detallan.

### Inoculación en plantines de dos meses de edad

Los plantines de dos meses de edad fueron inoculados manualmente con pincel con diferente número (2, 5, 10 y 20) de larvas neonatas (menos de 24 h después de la eclosión de los huevos), que se colocaron en el cogollo de los plantines. Siete días después de la inoculación se registró la presencia de síntoma de corazón muerto. Cada ensayo fue repetido dos veces con diez plantas (unidades experimentales) por tratamiento. Se incluyeron como controles plantas sin inocular. Los ensayos fueron realizados en cámara de cría en condiciones controladas de temperatura y humedad ( $28-30^\circ\text{C}$ ; 50-70% HR).

### Ensayos de inoculación en plantas de seis meses de edad

Las plantas de seis meses de edad fueron inoculadas manualmente con pincel con 10 larvas de diferentes estadios (neonatas, L2, L3 and L4). Las larvas fueron colocadas en la lígula de la segunda y tercera hojas completamente expandidas. Quince días luego de la infestación, las plantas fueron seccionadas transversalmente de modo de evaluar los siguientes parámetros: número de vainas dañadas, de perforaciones, largo total del túnel y síntoma de corazón muerto. Cada ensayo fue repetido dos veces con cinco plantas (unidades experimentales) por tratamiento. Se incluyeron como controles plantas sin inocular. Los ensayos fueron realizados en cámara de cría en condiciones controladas de temperatura y humedad ( $28-30^\circ\text{C}$ ; 50-70% HR).

### Ensayos de inoculación en ápices caulinares

A partir de las plantas de dos meses mantenidas en

Tabla 1. Experimentos de inoculación con larvas de *D. saccharalis* en plantas de caña de azúcar de diferentes edades.

Ensayo	1	2	3
Tamaño de plantas	2 meses de edad	6 meses de edad	ápices caulinares
Variedades	TUC 95-10, TUC 03-12 y LCP 85-384	TUC 95-10	TUC 95-10 y TUC 03-12
Origen	Proyecto Vitroplantas	estacas uninodales	plantines de dos meses de edad del Proyecto Vitroplantas
Inoculación	manual con pincel en el cogollo	manual con pincel en la lígula de la segunda y tercera hojas completamente expandidas	manual con pincel
Número de larvas	2, 5, 10 y 20	10	2
Estadio larval	neonatas	neonatas, L2, L3 y L4	neonatas
Número de plantas	10	5	10
Repeticiones	dos	dos	tres
Momento de evaluación	siete días	quince días	seis días
Parámetros evaluados	corazón muerto	número de vainas dañadas, número de perforaciones, largo total del túnel y síntoma de corazón muerto.	número de larvas vivas
Condiciones	28-30°C; 50-70% HR		

invernadero se cortaron los ápices caulinares (es decir segmentos superiores del tallo con algunas hojas adheridas) de las variedades TUC 95-10 y TUC 03-12. Estos se colocaron en tubos de ensayos y se inocularon manualmente con pincel con dos larvas neonatas. Cada ensayo fue repetido tres veces con diez ápices (unidades experimentales) por variedad. Los tubos, sellados con tapones de algodón, fueron mantenidos en cámara de cría en condiciones controladas de temperatura y humedad (28-30°C, 50-70% HR). A los seis días posteriores a la inoculación se determinó el número de larvas recuperadas vivas para calcular el porcentaje de supervivencia, dado que no es posible medir daño en la planta.

#### Análisis estadístico

Los datos de número de vainas dañadas, de perforaciones y largo total del túnel fueron analizados mediante ANOVA y las medias fueron comparadas usando la prueba de Fisher (LSD) ( $p < 0,05$ ) con el software Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2018).

## RESULTADOS

#### Determinación del síntoma de corazón muerto en plantines de caña de azúcar de dos meses de edad

El síntoma de corazón muerto se observó en el 100% de los plantines de TUC 95-10 y TUC 03-12 en todos los tratamientos. En LCP 85-384, ese síntoma solo se observó en el 100% de las plantas infestadas con 20 y 10 larvas, mientras que con 5 larvas solo el 80% de las plantas presentaron el síntoma y con 2 larvas, el 70% de las plantas (Figuras 1 y 2).

#### Determinación de daños causados por diferentes estadios larvales de *D. saccharalis* en plantas de caña de azúcar de la variedad TUC 95-10

En relación al número de vainas dañadas, no se observaron diferencias significativas entre las plantas infestadas con 10 larvas en estadios L2, L3 y L4, mientras que se observó menor daño cuando las plantas fueron inoculadas con larvas neonatas (Tabla 2).

En cuanto al número de perforaciones y el largo total del túnel en los tallos, las diferencias encontradas fueron significativas ( $p < 0,05$ ). Las plantas infestadas con larvas L3 y L4 para ambos casos presentaron los valores más altos siendo similares, mientras que las plantas infestadas con neonatas y L2 presentaron los valores más bajos (Tabla 2).

El síntoma de corazón muerto fue observado en el 100% de las plantas infestadas con larvas L4, en el 90% de

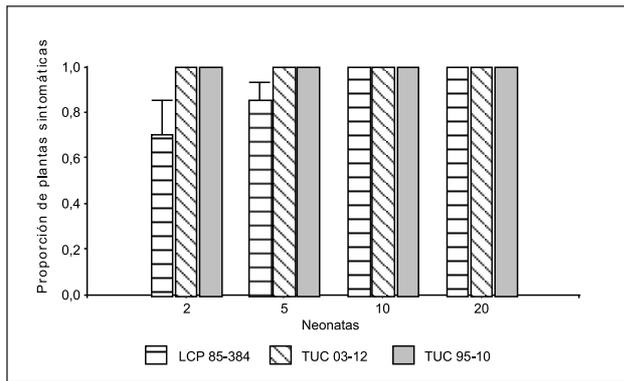


Figura 1: Proporción de plantines de caña de azúcar de dos meses de edad inoculados con diferente número de larvas neonatas de *D. saccharalis* que presentaron síntoma de corazón muerto.



Figura 2: Síntoma de corazón muerto en plantines de caña de azúcar de la variedad LCP 85-384 inoculados con larvas neonatas de *D. saccharalis*.

las infestadas con L2 y L3 y solo en el 20% de las plantas infestadas con larvas neonatas.

### Recuperación de larvas en ápices caulinares inoculados

En los ápices caulinares el porcentaje de recuperación de larvas vivas fue elevado, sin embargo se detectaron diferencias significativas entre ambas variedades ensayadas. La media calculada para las 30 repeticiones en la variedad TUC 03-12 fue de 73%, mientras que para TUC 95-10 fue de 92% ( $p = 0,0002$ ).

## DISCUSIÓN

El barrenador de la caña de azúcar es la principal plaga de la caña de azúcar en Tucumán, Argentina. Por esta razón, a fin de evaluar las diferentes estrategias disponibles en nuestra región para el manejo sustentable de la plaga es necesario disponer de un método eficiente de fenotipado bajo condiciones controladas.

La infestación de plantines de caña de azúcar con larvas de *D. saccharalis* es un método útil que posibilita la evaluación inicial y rápida de la susceptibilidad/resistencia de plantas transgénicas Bt o de diferentes clones obtenidos por los programas de mejoramiento o de cualquier clase de inductor de la defensa en plantas. Considerando que las plantas de hasta dos meses de edad no tienen tallo y que las larvas neonatas de *D. saccharalis* se alimentan principalmente del parénquima de la hoja, los plantines solo fueron inoculados con este estadio larval, a diferencia de los experimentos conducidos por Gao *et al.* (2016), donde dos larvas de ocho días después de la eclosión fueron colocadas sobre cada plantín. Así también, Pan and Hensley (1973) evaluaron la resistencia de clones a *D. saccharalis* infestando plantines con larvas L3, y registraron la presencia de síntomas de corazón muerto. Sin embargo, estadios larvales más avanzados tienen el

Tabla 2: Evaluación de daños en plantas de caña de azúcar de seis meses de edad de la variedad TUC 95-10 inoculadas con larvas de *D. saccharalis* en diferentes estadios (Media  $\pm$  E.E.).

Parámetros evaluados	Número de vainas dañadas		Número de perforaciones		Longitud del túnel (cm)		
	Media	Letra	Media	Letra	Media	Letra	
Control sin inocular	0	A	0	A	0	A	
Estadio larval	neonatas	1,64 $\pm$ 0,36	B	0,55 $\pm$ 0,40	A	0,50 $\pm$ 0,92	A
	L2	4,09 $\pm$ 0,36	C	2,27 $\pm$ 0,40	B	3,15 $\pm$ 0,92	B
	L3	3,36 $\pm$ 0,36	C	4,00 $\pm$ 0,40	C	6,70 $\pm$ 0,92	C
	L4	4,17 $\pm$ 0,48	C	4,67 $\pm$ 0,54	C	8,17 $\pm$ 1,24	C

Valores seguidos por la misma letra dentro de una columna no presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Fisher (LSD) ( $p < 0,05$ ).

sistema mandibular desarrollado y se alimentan barrenando los tallos, por lo que no sería recomendable inocularlos en plantas sin tallo.

En trabajos donde se evalúa la resistencia de cultivos Bt de maíz y caña de azúcar, los primeros bioensayos se realizan con larvas alimentadas en dietas artificiales mezcladas con hojas de plantas transgénicas (Huang *et al.*, 2006). Posteriormente, la resistencia se evalúa en ensayos a campo (Braga *et al.*, 2003; Showler *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2017). Las evaluaciones a campo tienen algunos problemas inherentes que pueden afectar la evaluación de la resistencia de clones de caña de azúcar en las etapas tempranas de un programa de mejoramiento o la caracterización de transgénicas. Por ejemplo, las poblaciones de insectos pueden ser demasiado bajas o demasiado altas, o distribuidas de manera desigual en el espacio o el tiempo como para infligir un nivel constante de daño (Tomaz, 2014). Es por esta razón que una estrategia útil sería la infestación de plantas de caña de azúcar de diferentes edades (dos y seis meses de edad) previa a la evaluación a campo. En este sentido el método de fenotipado optimizado en este trabajo permite una evaluación rápida de plantas Bt. Un ensayo similar con plantines también resultó exitoso para la caracterización de plantas transgénicas para insectos que consumen hojas (Selvi *et al.*, 2017).

En relación a los resultados del ensayo de inoculación en plantines, se observó un comportamiento varietal diferencial. Sin embargo se requiere de un análisis más exhaustivo donde se evalúen características asociadas con la resistencia para determinar con mayor precisión el comportamiento de cada genotipo (Tomaz *et al.*, 2018).

Por otro lado, de acuerdo a Keeping and Meyer (2006), el daño por barrenadores se evalúa considerando el largo del túnel barrenado, dado que es la medición más precisa del daño, aunque más laboriosa y lenta que la determinación del número de perforaciones. Sin embargo, los resultados del ensayo de inoculación en plantas de seis meses de edad sugerirían que ambas medidas son útiles para determinar el daño, ya que ambas presentaron la misma tendencia. Respecto a la inoculación con larvas neonatas en estas plantas, solo el 20% presentó síntomas de corazón muerto. Este nivel de infestación no sería adecuado para evaluar las plantas transgénicas, o bien las plantas deberían evaluarse a los 21 o 28 días después de la inoculación, lo que haría más prolongado el experimento. Las plantas de seis meses de edad deberían ser inoculadas con larvas L2, considerando que este estadio puede alimentarse de hojas y barrenar el tallo produciendo daños en vainas como así también en tallos, como ocurre en condiciones de campo. El éxito de las técnicas de inoculación se asegura cuando se logra reproducir los síntomas que ocurren en condiciones

naturales (Bugdee and Sappenfield, 1967).

Respecto a los ensayos de laboratorio donde se inocularon ápices caulinares, los porcentajes de supervivencia de las larvas fueron elevados. En este tipo de experimentos se evalúa este parámetro porque se dificulta la medición del daño en la planta. En estudios previos, ensayos similares permitieron evaluar exitosamente la resistencia de diferentes eventos transgénicos Bt (Weng *et al.*, 2011). En estos casos el parámetro que se evalúa es el porcentaje de mortalidad de las larvas comparado con los controles sin transformar.

## CONCLUSIONES

Se desarrollaron sistemas de fenotipado de *D. saccharalis* empleando material vegetal de distintas edades. Las inoculaciones de plantines de caña de azúcar de dos meses de edad fueron más efectivas con 10 larvas neonatas, mientras que las infestaciones de plantas de seis meses de edad tuvieron mejores resultados con 10 larvas L2. En el caso de los ensayos empleando ápices caulinares en tubo, se comprobó que la inoculación con dos larvas neonatas resultó eficiente. Aunque estos últimos ensayos son destructivos de las plantas, requieren de muy poco espacio para llevarlos a cabo y también permiten una evaluación rápida como con plantines.

Estas herramientas de fenotipado permitirán evaluar las distintas estrategias de manejo disponibles para nuestra región del barrenador de la caña de azúcar en condiciones controladas.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el asesoramiento técnico del Ing. Gerardo Gastaminza, Jefe de la Sección Zoología de la EEAOC.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Banegas, F. C.; R. J. Iovane; O. E. Alonso; N. Carro; J. Rojas; D. Pérez; M. G. Isas y M. L. P. Pérez. 2018.** Intensidad de infestación y pérdidas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) en la provincia de Tucumán en las cosechas 2016 y 2017. Revista Agronómica del Noroeste Argentino. ISBN/ISSN: 0080-2069. En prensa.
- Bates, S. L.; Z. L. Zhao; R. T. Roush and A. M. Shelton. 2005.** Insect resistance management in GM crops; past, present and future. Nat. Biotechnol. 23 (1): 57-62. doi: 10.1038/nbt1056.
- Braga, D. P.; E. D. B. Arrigoni; M. C. Silva-Filho and E. C. Ulian. 2003.** Expression of the Cry1Ab protein in genetically modified sugarcane for the control of

- Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Journal of New Seeds 5: 209–221.
- Bugdee, W. M. and W. P. Sappenfield. 1967.** Varietal reaction of cotton after stem and root inoculation with *Fusarium oxysporum* sp. vasinfectum. Phytopathology 58: 212–214.
- Di Rienzo, J. A.; F. Casanoves; M. G. Balzarini; L. González; M. Tablada y C. Robledo. 2018.** InfoStat versión 2018. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Fandos, C.; J. Scandaliaris; P. Scandaliaris; J. I. Carreras Baldrés y F. J. Soria. 2017.** Área cosechable y producción de caña de azúcar para la zafra 2017. En: Tucumán en Reporte Agroindustrial. Relevamiento satelital de cultivos en la provincia de Tucumán. [En línea] Disponible en <http://www.eeaoc.org.ar/upload/publicaciones/archivos/709/20170626161048000000.pdf>.
- Flint, M. L. 2012.** IPM in Practice: Principles and Methods of Integrated Pest Management. UCANR Publications, University of California Press, Oakland.
- Fogliata, S. V.; M. I. Herrero; M. A. Vera; A. P. Castagnaro; G. Gastaminza and M. G. Murúa. 2019.** Host plant or geographic barrier? Reproductive compatibility among *Diatraea saccharalis* populations from different host plant species and locations in Argentina. Entomol. Exp. Appl. 167: 129-140.
- Gao, S.; Y. Yang; C. Wang; J. Guo; D. Zhou; Q. Wu; Y. Su; L. Xu and Y. Que. 2016.** Transgenic sugarcane with a cry1Ac gene exhibited better phenotypic traits and enhanced resistance against sugarcane borer. PLoSOne 11 (4), e0153929.
- Goebel, F. R. and N. Sallam. 2011.** New pest threats for sugarcane in the new bioeconomy and how to manage them. Current Opinion in Environmental Sustainability 3: 81-89.
- Goggin, F. L.; A. Lorence and C. N. Topp. 2015.** Applying high-throughput phenotyping to plant–insect interactions: picturing more resistant crops. Current Opinion in Insect Science 9: 69-76.
- Huang, F.; B. R. Leonard and R. H. Gable. 2006.** Comparative susceptibility of European corn borer, southwestern corn borer, and sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) to Cry1Ab protein in a commercial *Bacillus thuringiensis* corn hybrid. Journal of Economic Entomology 99: 194-202.
- Humbert, R. P. 2013.** The Growing of Sugar Cane. Elsevier, pp. 722.
- Keeping, M. G. and J. H. Meyer. 2006.** Silicon-mediated resistance of sugarcane to Eldana saccharina Walker (Lepidoptera: Pyralidae): effects of silicon source and cultivar. Journal of Applied Entomology 130: 410-420.
- Long, W. H. and S. D. Hensley. 1972.** Insect pests of sugar cane. Annual Review of Entomology 17: 149-176.
- Macedo, N. and P. S. M. Botelho. 1988.** Integrated pest management of sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera, Pyralidae). Brasil Açucareiro 162: 2-11.
- Mendonça, A. F.; J. A. Moreno; S. H. Risco and I.C.B. Rocha. 1996.** As brocas da cana-de-açúcar. En: Mendonça, A. F. (ed.), Pragas da cana-de-açúcar. Insetos e Cia, Maceió, pp. 51-82.
- Pan, Y. S. and S. D. Hensley. 1973.** Evaluation of sugarcane seedlings for resistance to the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. Environmental Entomology 2: 149-154.
- Parra, J. R. P. 1993.** Controle das principais pragas da cana-de-açúcar. En: Câmara, G. M. S. e E. A. M. Oliveira (eds.), Produção de Cana de Açúcar FEALQ, Piracicaba, pp. 184–197.
- Parra, J. R. P. and R. A. Zucchi. 2004.** *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of use after twenty years of research. Neotrop. Entomol. 33: 271-281.
- Salvatore, A. R.; G. López y E. Willink. 2009.** En: Romero, E. R.; P. A. Digonzelli y J. Scandaliaris (eds.), Manual del cañero, EEAOC, Las Talitas, Tucumán, R. Argentina. [En línea] Disponible en [http://www.eeaoc.org.ar/cania/MC\\_C11.pdf](http://www.eeaoc.org.ar/cania/MC_C11.pdf).
- Selvi, C.; P. Sivasubramanian; S. M. Kumar; V. Udayasuriyan; D. Sudhakar and P. Balasubramanian. 2017.** A high throughput bioassay system for screening of Bt transgenic plants expressing Cry proteins. Journal of Entomology and Zoology Studies 5: 398-405.
- Sobhy, I. S.; M. Erb; Y. Lou and T. C. J. Turlings. 2014.** The prospect of applying chemical elicitors and plant strengtheners to enhance the biological control of crop pests. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 369: 20120283.
- Showler, A. T.; S. C. Cook and V. Abrigo. 2013.** Transgenic Bt corn varietal resistance against the Mexican rice borer, *Eoreuma loftini* (Dyar) (Lepidoptera: Crambidae) and implications to sugarcane. Crop Protection 48: 57-62.
- Srikanth, J.; N. Subramonian and M. Premachandran. 2011.** Advances in transgenic research for insect resistance in sugarcane. Trop. Plant Biol. 4: 52-61. 10.1007/s12042-011-9077-2.
- Stout, M. J.; G. W. Zehnder and M. E. BaurE. 2002.** Potential for the use of elicitors of plant resistance in arthropod management programs. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 51: 222-235.
- Torres Ramírez, E. D. 2015.** Tesis de grado. Licenciatura en Ciencias Agrícolas con énfasis en cultivos tropicales. Residualidad de productos químicos utilizados para el control de larvas del barrenador (*Diatraea* crambidoides, lepidóptera). Universidad

- Rafael Landívar. Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas. Guatemala.
- Tomaz, A. C. 2014.** Genetic divergence and resistance of sugarcane genotypes to *Diatraea saccharalis*. Magister on Sciences. Federal University of Viçosa. Brazil. [En línea ] Disponible en <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7746/texto%20completo.pdf?sequence=1> (consultado 26 april de 2019).
- Tomaz, A. C.; A. E. Coutinho; B. O. Soares; L. A. Peternelli; E. J. G. Pereira and M. H. P. Barbosa. 2018.** Assessing resistance of sugarcane varieties to sugarcane borer *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Crambidae). Bulletin of Entomological Research 108: 547-555.
- USDA. 2017a.** Argentina Sugar Annual 2017. [https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Sugar%20Annual\\_Buenos%20Aires\\_Argentina\\_4-28-2017.pdf](https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Sugar%20Annual_Buenos%20Aires_Argentina_4-28-2017.pdf).
- USDA. 2017b.** Sugar: World Markets and Trade. [Ohttps://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/Sugar.pdf](https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/Sugar.pdf).
- Wang, W. Z.; B. P. Yang; X. Y. Feng; Z. Y. Cao; C. L. Feng; J. G. Wang; G. R. Xiong; L. B. Shen; J. Zeng; T. T. Zhao and S. Z. Zhang. 2017.** Development and characterization of transgenic sugarcane with insect resistance and herbicide tolerance. Frontiers in Plant Science 8: 1535.
- Weng, L. X.; H. H. Deng; J. L. Xu; Q. Li; Y. Q. Zhang; Z. D. Jiang; Q. W. Li; J. W. Chen and L. H. Zhang. 2011.** Transgenic sugarcane plants expressing high levels of modified cry1Ac provide effective control against stem borers in field trials. Transgenic Res. doi:10.1007/s11248-010-9456-8.