

Notas del Director

Los colombianos no estamos exentos de tener que cumplir con la necesidad actual de ser cada día más responsables con el medio ambiente. En las zonas donde se cultiva la palma de aceite en nuestro país, es responsable reducir el uso de pesticidas, plaguicidas y otros productos químicos contaminantes, que además, se hacen más difíciles de adquirir y utilizar por el acelerado crecimiento de los costos de los insumos agrícolas. Estas consideraciones hacen necesario que Cenipalma investigue y encuentre alternativas naturales que permitan manejar el cultivo de la forma más natural posible y que nos hagan avanzar hacia obtener un sistema de producción de palma de aceite que sea ambiental, social y económicamente amigable.

La permanencia de un cultivo en determinada área por largos periodos de tiempo, favorece la permanencia de especies fitófagas que se alimentan de la planta presente haciendo que sus poblaciones permanezcan y proliferen en el tiempo, no obstante, la estabilidad de estos ecosistemas también favorece el establecimiento de los enemigos naturales de estas plagas como parasitoides, depredadores y organismos entomopatógenos, por esto, el cultivo de la palma de aceite se convierte en una oportunidad excelente para el desarrollo y establecimiento de programas de manejo integrado de plagas en los que se involucren varias de las estrategias existentes.

Cenipalma ha enfocado gran parte de su investigación en plagas a la búsqueda de alternativas de manejo de eficientes y amigables con el ambiente, siendo el uso de hongos entomopatógenos una de ellas.

Las condiciones de alta humedad relativa, algunas más favorables que otras, presentes en las plantaciones de palma de aceite, favorecen en determinadas épocas del año el establecimiento de hongos reguladores de insectos plaga, es por esto que en campo se han encontrado individuos de diferentes especies atacados por organismos entomopatógenos, los cuales con la colaboración de las plantaciones han sido colectados y se ha logrado establecer una colección de hongos con muchos de los cuales se han realizado evaluaciones para establecer cuales aislamientos presentan potencial para ser incluidos como alternativa de manejo de insectos plaga del cultivo en las diferentes zonas palmeras.

En este ceniavances se presentan algunos de los resultados de los trabajos que buscan seleccionar aislamientos de hongos entomopatógenos altamente efectivos en el control de una de los insectos que causa grandes sobre costos en la sanidad del cultivo como *Stenoma cecropia*.

José Ignacio Sanz Scovino
Director Ejecutivo de Cenipalma

Patogenicidad de hongos entomopatógenos del género *Beauveria* sp. sobre larvas de *Stenoma cecropia* (Lepidoptera: Elachistidae), en condiciones de laboratorio*



Introducción

Stenoma cecropia se ha convertido en uno de los principales problemas sanitarios del cultivo de la palma de aceite. En las zonas en donde el insecto está presente causa reducciones en el área foliar efectiva, lo que ocasiona un efecto negativo en la producción. En la actualidad, el manejo de esta plaga se realiza a través del uso de insecticidas inhibidores de la síntesis de quitina, aplicados mediante aspersión aérea o terrestre. Algunos de los ingredientes activos utilizados son Novaluron, Teflubenzuron y Triflumuron, los cuales actúan por ingestión. Entre las estrategias usadas para el control del insecto se encuentran las trampas de luz sin resultados relevantes, la captura de adultos, el uso de feromonas (Zagatti, 1989) y la liberación de *Trichogramma pretiosum*, parasitoide de huevos del insecto (Grijalva, 2000), todas ellas, salvo algunas excepciones, con resultados poco satisfactorios.

Uno de los componentes principales de los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) es el con-

trol biológico, dentro de éste se encuentran: macroorganismos como parasitoides, depredadores y microorganismos como bacterias, virus, nematodos y hongos. Los hongos entomopatógenos son una de las herramientas que normalmente se utilizan en el manejo de plagas de la palma de aceite. Adicionalmente, a partir de la priorización de la investigación que realiza anualmente

Cenipalma junto con los productores, se definió la necesidad de buscar y seleccionar hongos entomopatógenos que puedan ser utilizados como estrategia de manejo de plagas de importancia en el cultivo, dentro de un programa de manejo integrado. Las actividades se iniciaron con la evaluación de la patogenicidad de once aislamientos de *Beauveria* sp. (conservados en el Banco de Entomopatógenos de Cenipalma, BEC) sobre larvas del insecto en condiciones controladas. A partir de los resultados obtenidos, se seleccionaron los aislamientos de *Beauveria* más eficientes en cuanto a patogenicidad y velocidad de esporulación.

Materiales y métodos

Condiciones experimentales

Inicialmente se realizó el ajuste a la metodología de mantenimiento de las larvas del insecto en laboratorio. Todo el material biológico necesario para la realización de las pruebas se encontró en lotes con altas poblaciones del insecto, se

* Carolina Valencia Cortés. Microbióloga. Investigadora Auxiliar. Campo Experimental. Palmar de La Vizcaina. Nilson Torres. Estudiante de Agronomía Universidad de La Paz.

colectaron larvas entre tercer y sexto instar, las cuales fueron llevadas al laboratorio y colocadas en frascos de vidrio y alimentadas con folíolos de palma.

Selección de aislamientos a partir del BEC

Se evaluaron 11 aislamientos del género *Beauveria*, recuperados de insectos en diferentes zonas palmeras del país (Tabla 1). Inicialmente se hizo la reactivación de cada uno de ellos, para esto se realizó la siembra a partir de cajas conservadas en el BEC, en cajas de Petri que contenían agar sabureaud dextrosa (SDA) al 4%; éstas fueron incubadas a 26.5°C durante 15 días aproximadamente, tiempo en el cual se realizó la cosecha de conidias, las cuales fueron utilizadas para realizar la infección de las larvas. Para ello se preparó una suspensión altamente concentrada de cada aislamiento a reactivar. Por cada uno de los aislamientos se realizó la inoculación a 20 larvas aplicando 1 μ L de cada una de las suspensiones sobre el integumento de las mismas. En la medida que se presentó la muerte de las larvas, estas fueron ubicadas en cámaras húmedas para favorecer su esporulación. A partir de las larvas esporuladas se realizó la siembra del hongo en cajas de Petri con SDA con el fin de obtener el inóculo necesario para su multiplicación masiva en medio líquido.

Tabla 1. Aislamientos evaluados, número del tratamiento y codificación utilizada.

Trat.	Cód.	Aislamiento	Departamento	Hospedero	Estado
1	B006	<i>Beauveria</i> spp.	Nariño	<i>Stenoma cecropia</i>	Larva
2	B013	<i>Beauveria bassiana</i>	Meta	<i>Loxotoma elegans</i>	Larva
3	B016	<i>Beauveria</i> spp.	Santander	<i>Stenoma cecropia</i>	Larva
4	B018	<i>Beauveria</i> spp.	Cesar	<i>Stenoma cecropia</i>	Larva
5	B019	<i>Beauveria</i> spp.	Santander	<i>Stenoma cecropia</i>	Larva
6	B021	<i>Beauveria</i> spp.	Santander	<i>Stenoma cecropia</i>	Larva
7	B025	<i>Beauveria</i> spp.	Santander	<i>Stenoma cecropia</i>	Pupa
8	B035	<i>Beauveria</i> spp.	Santander	<i>Stenoma cecropia</i>	Larva
9	B039	<i>Beauveria</i> spp.	Santander	<i>Stenoma cecropia</i>	Larva
10	B040	<i>Beauveria</i> spp.	Santander	<i>Stenoma cecropia</i>	Larva
11	B042	<i>Beauveria</i> spp.	Meta	<i>Loxotoma elegans</i>	Pupa
12	T1	Agua destilada con Tween al 1%			
13	Ta	No aplica			

Para la evaluación de tratamientos en condiciones de laboratorio, se utilizó un diseño de bloques incompletos con 13 tratamientos, 11 hongos y dos testigos, uno tratado y uno absoluto, con cinco repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en un frasco de vidrio en cuyo interior se ubicaron folíolos de palma con 30 larvas del insecto.

Los aislamientos que fueron utilizados en los tratamientos (Tabla 1), se cultivaron en bandejas de vidrio que contenían 250 mL de medio papa dextrosa líquido para la multiplicación de hongos, las cuales fueron incubadas durante 15 días a 25°C, pasado este tiempo se realizó la colecta del hongo que fue utilizado en la infección de las larvas (Fig. 1).



Figura 1. Recuperación de conidios de hongo en medio líquido

El inóculo del hongo se preparó mediante la suspensión de los conidios de cada aislamiento en una solución de agua destilada con Tween® 80 al 1%. La concentración de cada una de las suspensiones utilizada en la infección de los insectos, se ajustó mediante diluciones en serie a 10^8 conidios.mL⁻¹.

La aplicación de los tratamientos se realizó depositando 1,5 μ L de cada una de las suspensiones sobre el integumento del insecto. Las evaluaciones se realizaron cada 3 días durante 18 días después de la aplicación de los tratamientos (DDA), en ellas se registró el número de individuos muertos y esporulados presentes en cada tratamiento. Adicional a esto, se realizaron observaciones de las alteraciones del comportamiento en larvas afectadas por hongos entomopatógenos.

Las variables medidas fueron: porcentaje de mortalidad y porcentaje de esporulación de los individuos. Los insectos muertos, sin esporular, fueron retirados y colocados en cámaras húmedas para favorecer la esporulación y corroborar la causa de la muerte de los individuos.

Se realizó el análisis estadístico de las pruebas de mortalidad, para ello, se aplicó una prueba de Tukey con $\alpha=0,05$.

Resultados y discusión

Selección de aislamientos a partir del BEC

Pruebas de mortalidad

En general, después de 18 días de aplicados los tratamientos todos los aislamientos evaluados causan mortalidad sobre estados larvales de *Stenoma cecropia* con valores que oscilan entre 36% y 100% para los aislamientos B039 y B042 que corresponden a los tratamientos T9 y T11 respectivamente. Los tratamientos T2 (B013); T4(B018); T9(B039) y T10(B040) causaron porcentajes de mortalidad inferiores a 50% con valores de 39,33%; 46%; 36% y 48% respectivamente. Los tratamientos T5(B019) y T8(B035), mostraron mortalidades de 73,33% y 77,34% los cuales se pueden considerar potencialmente promisorios para el control del insecto. Los demás tratamientos causaron porcentajes de mortalidad superiores al 80% con valores de 86,67%; 95,33%; 98%; 99,3% y 100% en los tratamientos T7(B025); T6(B021); T3(B016); T1(B006) y T11 (B042) respectivamente. Los testigos tratado y absoluto reportan

porcentajes de mortalidad de 1,3% y 0,7% respectivamente, lo que sugiere que la muerte en las larvas fue causada por efecto de la aplicación de los hongos evaluados (Fig. 2).



Figura 2. Porcentaje de mortalidad de los tratamientos. Promedios con diferente letra son estadísticamente diferentes al testigo (P = 0.05) bajo prueba de T

Al realizar el análisis de mortalidad en función del tiempo se observa que en las dos primeras evaluaciones tres y seis días después de aplicados los tratamientos T1(B006), T3(B016), T6(B021), T7(B025) y T11(B042) registran una mortalidad por encima del 90% del valor de mortalidad acumulada en la totalidad de las lecturas, con valores de 97,31%; 99,31%; 93,7%; 98,46% y 98,66% respectivamente. En los demás tratamientos, al mismo tiempo de evaluación, el porcentaje del valor total de mortalidad acumulada oscila entre 72,22% y 89,09%, lo que indica que independientemente de los valores totales de mortalidad alcanzados en cada uno de los tratamientos, la actividad patogénica de los hongos se expresa en las primeras horas después de tener contacto con el insecto, lo que sugiere la importancia de conferir al hongo algunas propiedades que lo protejan de las condiciones ambientales para no afectar la expresión de su capacidad patogénica durante las primeras horas que transcurren inmediatamente después de su aplicación en el campo. En las evaluaciones realizadas 9, 12, 15 y 18 días después de aplicados los tratamientos el incremento en la mortalidad en cada uno de los tratamientos no es significativo (Fig. 3).

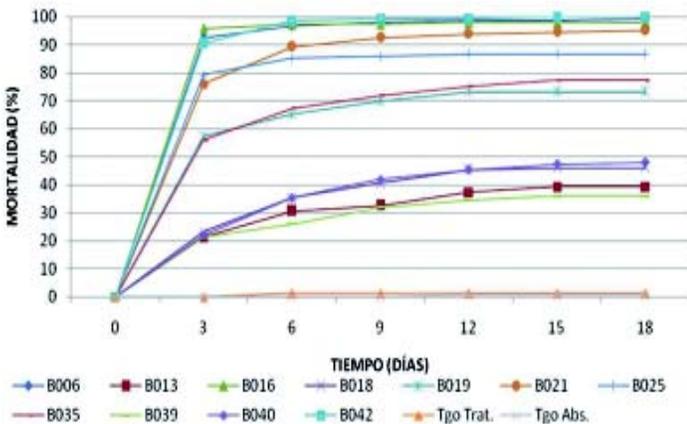


Figura 3. Mortalidad en el tiempo en cada uno de los tratamientos

Evaluación de la esporulación

Con respecto a la esporulación en general se observó que todos los hongos evaluados, tienen la capacidad de esporular sobre larvas del insecto; Sin embargo, existen diferencias en la capacidad de esporulación de los mismos.

Los porcentajes de esporulación de los individuos evaluados oscilan entre 12,73% y 100% al cabo de ocho días de observación. Los mejores porcentajes de esporulación se presentaron en los tratamientos T1(B006), T7(B025), T11(B042) y T3(B016) con valores superiores al 90% (Fig. 4). Los tratamientos T4(B018) y T9 (B039), mostraron bajos porcentajes de esporulación, con valores de 12,73% y 15,31% respectivamente, los demás tratamientos mostraron una buena capacidad de esporulación con valores por encima del 63%, al final de los ocho días de evaluación; esta característica es deseable, ya que una buena capacidad de esporulación favorece el establecimiento del inóculo en el campo.

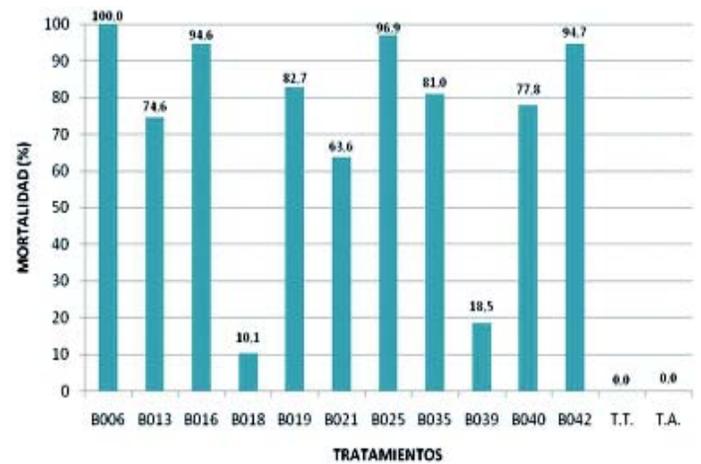


Figura 4. Porcentaje de esporulación en los tratamientos.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las pruebas de mortalidad y como segundo criterio los resultados de las pruebas de esporulación, se seleccionaron los tratamientos que mostraron en mortalidad valores superiores al 85% como lo fueron los tratamientos T1 (B006), T3 (B016), T7 (B025) y T11 (B042) cuyos porcentajes de mortalidad fueron de 98,7%; 98%; 86,7% y 98,7% respectivamente. El T6 (B021) causó un porcentaje de mortalidad de 94%, sin embargo, al revisar el valor de esporulación de las larvas de este tratamiento en laboratorio su resultado fue de 63,8% mientras que los aislamientos seleccionados muestran porcentajes de esporulación de 100%; 94,6%; 99,2% y 94,6% para los tratamientos T1 (B006), T3 (B016), T7 (B025) y T11 (B042) respectivamente.

La selección de los tratamientos que serán evaluados en campo se realizó teniendo en cuenta como primer parámetro un alto porcentaje de mortalidad y como segundo criterio, una alta capacidad de esporulación la que favorecería el establecimiento del hongo una vez éste sea aplicado en campo. Con los aislamientos evaluados se realizarán pruebas de tolerancia a altas temperaturas, baja humedad relativa y exposición a

radiación ultravioleta, con el fin de estimar el posible comportamiento de éstos cuando sean aplicadas en el campo. Adicionalmente se realizarán pruebas de patogenicidad en condiciones semicontroladas de campo.

Los resultados obtenidos en la fase de laboratorio permiten concluir que el uso de *Beauveria* resulta ser una alternativa promisoría para el control de *S. cecropia*.

Sintomatología de larvas de *S. cecropia* afectadas por hongos entomopatógenos

Inicialmente se observa una inminente pérdida de coloración del integumento en las bandas longitudinales de la larva. En larvas sanas, la coloración de la superficie del meso y metatorax es verde, similar al follaje consumido por las mismas. En larvas afectadas, ésta coloración cambia tornándose rosada pálida; además se observan puntos de melanización en la región del abdomen. Una vez las larvas manifiestan los anteriores síntomas, dejan de alimentarse y cesa la producción de la seda con la que cubren el área de avance de consumo foliar y suspenden definitivamente la construcción de su cápsula protectora.

Las larvas enfermas por acción del hongo tienden a dejar su refugio o cápsula protectora donde posteriormente mueren (Fig. 5).

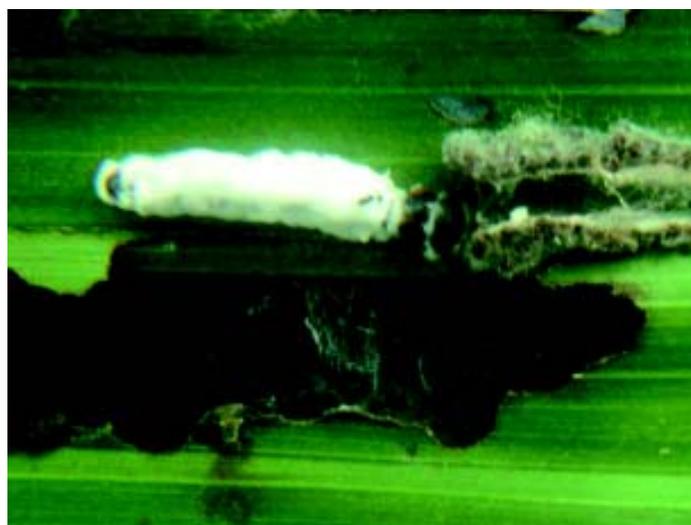


Figura 5. Muerte de larva cerca de la zona de refugio y alimentación

En las larvas enfermas se observan leves movimientos en forma de S y alteraciones en la respiración, poco a poco la velocidad de los mismos se va reduciendo hasta llegar a una parálisis de toda la zona de las pseudopatas, lo que dificulta su desplazamiento, en pocas horas la larva deja de moverse por completo y posteriormente muere. En individuos afectados por la cepa B006 se observó desarrollo micelial aún cuando la larva estaba viva (Fig. 6).



Figura 6. Crecimiento de micelio en larvas vivas de *Stenoma cecropia*

Agradecimientos

Los Autores desean expresar su agradecimiento a la plantación Palmas Oleaginosas Las Brisas S.A., por la colaboración prestada para la realización de este trabajo.

Bibliografía

Arias, N., Benítez, E. 2004. Relación del complejo Pestalotiopsis-*Leptopharsa gibbicarina* (Hemiptera: Tingidae) con variables de producción y nutrición. En: Resúmenes. Reunión Anual de Investigadores. Bogotá. Noviembre 8 y 9 de 2004.

Grijalva, O. 2000. Aislamiento y Multiplicación de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitoide natural de *Stenoma cecropia* Meyrick (Lepidoptera: Stenomidae) en palma de aceite. Tesis Ingeniero Agrónomo. Instituto Universitario de la Paz. Barrancabermeja (Colombia) 136p.

Zagatti, P. 1989. Feromonas sexuales de Lepidóptera. Biología, química y aplicaciones. Palmas (Colombia). 10. (2): 47-58.



Director: **José Ignacio Sanz Scovino**

Revisión de textos: **Comité de Publicaciones de Cenipalma**

Coordinación editorial: **Oficina de Comunicaciones**

Diseño y diagramación: **Briceño Gráfico**

Impresión: **Molher Ltda. Impresores**

Esta publicación contó con el apoyo del Fondo de Fomento Palmero