

Notas del Director

En el futuro inmediato, para el manejo de plagas y enfermedades, el palmicultor deberá no solamente tener en cuenta como lograr un control apropiado del organismo para que no produzca daños económicos, sino también deberá utilizar tecnologías que no afecten las condiciones ambientales ni a las personas que la están aplicando, ni mucho menos generen efectos residuales en el producto, en este caso el aceite de palma.

Cada vez los países importadores de productos agrícolas están poniendo más cuidado, no sólo a como llega el producto sino en que condiciones se produce y que posibles residuos de pesticidas puede traer.

A partir del próximo año (2006), los exportadores de frutas a Europa tendrán que estar certificados con la Euregap, que otorga una entidad australiana y está relacionada con todos los procesos de producción e implicaciones sociales y ambientales (www.euregap.org).

En varias plantaciones malasia son conscientes que si en dos o tres años no tienen esta certificación, se puede cerrar el mercado europeo para los productos y subproductos del aceite de palma. Debemos estar conscientes de lo que esto representa para el mercado futuro del aceite de palma.

Es por ello que con el manejo de plagas y enfermedades no sólo debemos seleccionar tecnologías que controlen efectivamente estos organismos sino que no dejen residuos en el aceite. Debemos intensificar la búsqueda de herramientas que nos permitan obtener un producto que sea competitivo a nivel ambiental, social y económico.

El énfasis de Cenipalma, desde su establecimiento, ha sido el del manejo integrado de plagas y en una de las áreas en las que se ha trabajado ha sido la selección de entomopatógenos para el control de las principales plagas del cultivo.

En este Ceniavances se presentan resultados del trabajo en el que se evalúan aislamientos del Banco de Entomopatógenos de Cenipalma (BEC), a partir de criterios de alta patogenicidad y rápida velocidad de esporulación.

PEDRO LEÓN GÓMEZ CUERVO
Director Ejecutivo

Evaluación del efecto de hongos entomopatógenos como estrategia de control de *Leptopharsa gibbicarina*, principal inductor de la pestalotiopsis en la zona central*



Introducción

L*eptopharsa gibbicarina* es una chinche que de manera directa no causa mayores reducciones en la producción del cultivo de la palma de aceite. Sin embargo, cuando se evalúa su efecto sobre la defoliación producida por la enfermedad denominada Pestalotiopsis, de la cual se le considera su principal inductor, esta puede alcanzar una reducción de hasta el 30% del área foliar efectiva (Arias y Benítez, 2004), lo que hace que las poblaciones del insecto sean consideradas como un problema sanitario de gran importancia en el cultivo.

En la actualidad el manejo de esta plaga es realizado a través del uso generalizado del insecticida Monocrotofos, el cual es aplicado principalmente por absorción radical o por inyección al estípote, ya que otras alternativas de control basadas en la utilización de insectos depredadores como las hormigas del género *Crematogaster* y microorganismos entomopatógenos como los hongos *Beauveria* sp., *Paecilomyces* sp. y *Sporotrix* sp., no han podido, con algunas excepciones ser implementados como estrategia de control de la plaga.

En un programa de manejo integrado de plagas el control biológico es un componente importante, dentro de ellos los entomopatógenos son una herramienta que normalmente se utiliza en manejo de plagas de la palma de aceite. A partir de la priorización en la investigación que realiza anualmente Cenipalma junto con los productores se definió la necesidad de buscar y seleccionar hongos entomopatógenos que puedan ser utilizados bajo un programa de manejo integrado. Las actividades se iniciaron

con la evaluación de la efectividad de control sobre el insecto en condiciones semicontroladas de los aislamientos del BEC (Banco de Entomopatógenos de Cenipalma), a partir de criterios de alta patogenicidad y rápida velocidad de esporulación.

Materiales y métodos

Condiciones experimentales

Teniendo en cuenta que la manipulación del insecto en laboratorio causa grandes porcentajes de mortalidad en los individuos, los ensayos se realizaron en condiciones semicontroladas en campo.

Para la aplicación de los tratamientos se seleccionó un lote en donde se presentaron altas poblaciones de *L. gibbicarina*. Dentro de esta área se ubicaron hojas del nivel 25 de palma que tuvieran una población superior a 100 chinches por hoja, tanto de ninfas como de adultos. Las hojas que cumplieron con esta característica fueron encerradas en mangas de tul y constituyeron las unidades experimentales.

Selección de aislamientos a partir del BEC

Se evaluaron 21 aislamientos de distintos géneros de hongos entomopatógenos entre los que se encontraban *Beauveria*, *Verticillium* y *Paecilomyces*, recuperados de insectos pertenecientes a diferentes ordenes (Tabla 1). Se utilizó un diseño de bloques incompletos con 22 tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento, 21 hongos y un testigo absoluto. El testigo fue una hoja a la cual no se le aplicó ningún aislamiento.

*Carolina Valencia Cortés. Microbióloga. Investigadora Auxiliar.
Edger Benítez Sastoque. I. A. M.Sc. Inv. Asociado. Campo Experimental, Palmar de La Vizcaina.

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

Número	Género	Aislamiento
1	<i>Paecilomyces</i>	P0003
2	<i>Paecilomyces</i>	P0004
3	<i>Beauveria</i>	<i>Beauveria bassiana</i> *
4	<i>Verticillium</i>	VI001
5	<i>Beauveria</i>	B 032
6	<i>Metarhizium</i>	Mt 001
7	<i>Verticillium</i>	VI 002
8	<i>Beauveria</i>	B 023
9	<i>Paecilomyces</i>	P005
10	<i>Beauveria</i>	B 028
11	<i>Beauveria</i>	B 017
12	<i>Beauveria</i>	B 030
13	<i>Beauveria</i>	B 015
14	<i>Beauveria</i>	B 013
15	<i>Beauveria</i>	B 033
16	<i>Beauveria</i>	B 010
17	<i>Beauveria</i>	B 024
18	<i>Beauveria</i>	B 025
19	<i>Beauveria</i>	B 014
20	<i>Beauveria</i>	B 006
21	<i>Beauveria</i>	B 002
22		TESTIGO

* Formulación comercial.

Los aislamientos que fueron utilizados en los tratamientos (Tabla 1), se cultivaron en cajas de petri con Agar Sabureaud Dextrosa acidificado con ácido láctico al 0.1%. El inóculo del hongo se preparó mediante la suspensión de las esporas de cada aislamiento en una solución de agua destilada con Tween® 80 al 0.1%. La concentración de cada una de las suspensiones utilizada en la infección de los insectos, se ajustó mediante diluciones en serie a 10⁸ conidios mL⁻¹. Para la aplicación de los tratamientos en el campo se utilizó un atomizador con 100 mL de cada uno de los aislamientos a la concentración establecida (Tabla 2).

Tabla 2. Aislamientos evaluados y la concentración utilizada en cada tratamiento

Tratamiento	Aislamiento	Concentración
1	P 003	1.5 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
2	P 004	1.9 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
3	<i>Beauveria bassiana</i> *	2.3 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
4	VI001	1.4 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
5	B 032	1.7 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
6	Mt 001	1.9 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
7	VI 002	2.4 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
8	B 023	1.3 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
9	P005	1.5 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
10	B 028	1.8 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
11	B 017	1.6 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
12	B 030	1.7 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
13	B 015	1.4 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
14	B 013	2.2 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
15	B 033	1.8 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
16	B 010	1.9 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
17	B 024	1.6 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
18	B 025	1.5 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
19	B 014	2.4 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
20	B 006	1.7 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
21	B 002	1.8 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
22	TESTIGO	-

* Formulación comercial.

El conteo de la población inicial (ninfas y adultos) en cada unidad experimental, se efectuó antes de la aplicación de los tratamientos. Las evaluaciones se realizaron siete y catorce días después de la aplicación (DDA) de los tratamientos y se registró el número de individuos muertos y esporulados presentes en cada tratamiento.

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 confirmar así la presencia del hongo sobre los individuos.

Los resultados a los 7 y 14 DDA fueron analizados mediante análisis de covarianza. Para la prueba de comparaciones se optó por una prueba T, aunque se reconoce que el mejor sistema es la comparación de los promedios a través de una prueba de Dunnett, entre el testigo y las demás tratamientos, sin embargo, este ajuste bajo modelos mixtos generó una comparación muy conservadora que no permitía la selección de los tratamientos, p.e. para el caso de total de ninfas a los 14 días, aunque la prueba de F fue altamente significativa (p=0.0034) el ajuste de Dunnett como prueba de comparación no identificó ningún promedio diferente del testigo, el valor más bajo conseguido fue la comparación del testigo contra el aislamiento B032 con un valor de P=0.1257, el cual está muy alejado de P=0.05.

Resultados

Teniendo en cuenta que los conteos de individuos en las unidades experimentales eran diferentes antes de la aplicación de los tratamientos se utilizó como covariable este valor tanto para ninfas como para adultos, en la Tabla 3 se muestra el resumen de los análisis de varianza estimados. En esta tabla se puede observar como las covariables son significativas. En cuanto al porcentaje de mortalidad se observó que en la primera lectura 7 DDA, se presentan diferencias significativas con P=0.05 entre el testigo y los aislamientos VI001, B017, B015, B024, B025, B014, B028, B030 y B013 (Fig. 1). En la segunda lectura realizada 14 DDA se observa diferencias significativas, P=0.05, con los aislamientos B023, B002, B017, B015, B033 y B028, Mt001, B030, B013, B025 y B014 (Fig. 1).

A los 7 DDA no se observa efecto sobre el total de las poblaciones de adultos o ninfas pero si sobre los porcentajes totales de mortalidad y esporulación, las covariables son efectivas en el análisis del número de individuos pero no permiten detectar efectos significativos de los tratamientos, excepto cuando evalúan los porcentajes de mortalidad y esporulación. En la evaluación a los 14 DDA sigue sin alterarse el efecto sobre los adultos, pero ahora tanto los conteos iniciales de adultos como de ninfas son covariables significativas, contrario a la lectura a los 7 DDA donde solo el número inicial de adultos fue significativo; para el total de ninfas se observa que ya hay efecto de los tratamientos y que sigue siendo significativa la covariable; para los porcentajes de esporulación y mortalidad se presenta el mismo comportamiento que en la lectura a los 7 días.

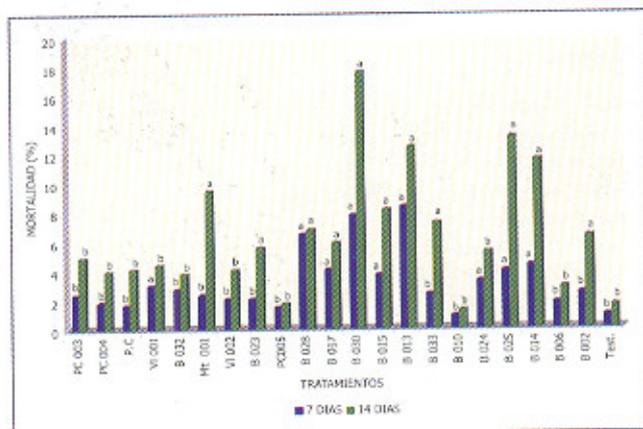


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de los tratamientos. Promedios con diferente letra son estadísticamente diferentes al testigo (P=0.05) bajo prueba de T (P.C. corresponde a un producto comercial).

Tabla 3. Análisis de varianza y covarianza para las variables evaluadas en los dos momentos de evaluación.

DDA	Variable	Efecto	G.L.	Valor F	Pr>F
7	Adultos	Tratamiento ¹	77	0,53	0,9497 ^{ns}
		Covariable Adultos t ₀	77	24,39	<0,0001 [*]
		Covariable Ninfas t ₀	76	2,5	0,1177 ^{ns}
	Ninfas	Tratamiento ¹	76	1,37	0,1594 ^{ns}
		Covariable Adultos t ₀	76	0,54	0,4659 ^{ns}
		Covariable Ninfas t ₀	76	5,67	0,0197 [*]
	Porcentaje de esporulaciones	Tratamiento ¹	76	2,02	0,0139 [*]
		Covariable Adultos t ₀	76	3,41	0,0689 ^{ns}
		Covariable Ninfas t ₀	76	0,58	0,4504 ^{ns}
	Porcentaje de mortalidad	Tratamiento ¹	77	75	0,0402 [*]
		Covariable Adultos t ₀	76	2,25	0,1375 ^{ns}
		Covariable Ninfas t ₀	76	0,42	0,5198 ^{ns}
14	Adultos	Tratamiento ¹	77	1,14	0,3300 ^{ns}
		Covariable Adultos t ₀	77	34,7	<0,0001 [*]
		Covariable Ninfas t ₀	72	8,89	0,0039 [*]
	Ninfas	Tratamiento ¹	72	2,39	0,0034 [*]
		Covariable Adultos t ₀	77	0,45	0,5057 ^{ns}
		Covariable Ninfas t ₀	72	5,22	0,0252 [*]
	Porcentaje de esporulaciones	Tratamiento ¹	73	2,26	0,0055 [*]
		Covariable Adultos t ₀	72	0,98	0,3255 ^{ns}
		Covariable Ninfas t ₀	72	0,05	0,8238 ^{ns}
	Porcentaje de mortalidad	Tratamiento ¹	73	2,18	0,0077 [*]
		Covariable Adultos t ₀	72	0,27	0,6025 ^{ns}
		Covariable Ninfas t ₀	72	0,00	0,9542 ^{ns}

¹ Si las covariables no fueron significativas el valor corresponde al análisis sin covariables, en el caso de que alguna de las covariables fuera significativa la prueba de F corresponde al análisis con dicha covariable.

* Significativo con $P < 0,05$; ^{ns} No significativo; t₀ Cuento inicial antes de la aplicación de los tratamientos; G.L. Grados de libertad del denominador

Para las pruebas de comparación solo se evaluaron los porcentajes de mortalidad y esporulación. En cuanto, al porcentaje de esporulación, para la primera lectura realizada 7 DDA se observa que los aislamientos V1001, V1002, Mt001, B017, B013, B028, B015, B030, B025 y B014 presentan diferencias significativas, con respecto al testigo. En la segunda evaluación realizada 14 DDA, se observa que los aislamientos P003, P004, V1001, B023, B017, B033, B024, Mt001, B028, B030, B015, B013, B025 y B014, son diferentes al testigo a un $P=0,05$, (Fig. 2).

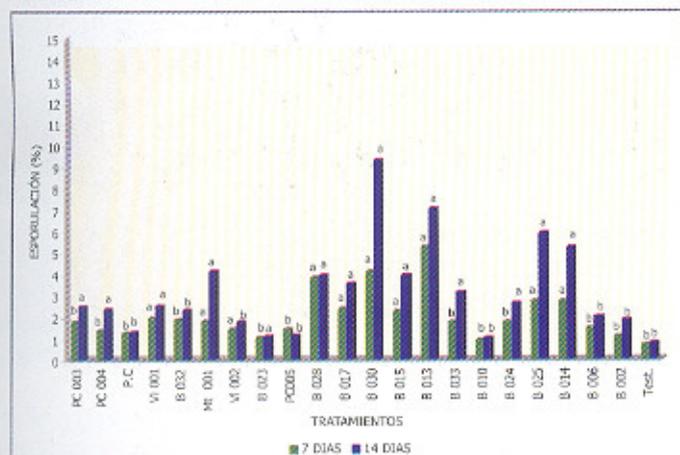


Figura 2. Porcentaje de esporulación de los aislamientos evaluados. Promedios con diferente letra son estadísticamente diferentes al testigo, $P=0,05$, bajo prueba de T (P.C.: corresponde a un producto comercial).

Discusión

El uso de covariables ayudó a identificar sobre que estado de la población de *L. gibbicularis* están actuando los entomopatógenos, para este caso se puede ver como a los 7 DDA no hay efecto sobre el número de adultos ni sobre el número de

ninfas, pero si sobre los porcentajes de mortalidad de los mismos y esporulación, lo que indica que aunque si hay efecto de los entomopatógenos, en este tiempo su efecto sobre estos dos estados de desarrollo de manera independiente no es significativo, pero si lo es cuando se considera su mortalidad conjunta. Para la segunda lectura se observa como el efecto de los entomopatógenos se concentra sobre los estados ninfales y no sobre los adultos, es pertinente analizar que las covariables tanto de número inicial de adultos como de ninfas son significativas, lo que implica que parte de la población inicial de ninfas cambio de estado y paso a adulto durante estas dos semanas, contrario al número de ninfas el cual solo se ve afectado por ellas mismas y no por el número de adultos, lo que implica que la descendencia de estos adultos todavía no ha emergido. En los porcentajes tanto de mortalidad como de esporulación se observa el mismo comportamiento de la primera lectura.

En general, se observa que los tratamientos tienen un efecto sobre la población de *Leptopharsa gibbicularis*. En cuanto, a la evaluación del porcentaje de mortalidad 7 DDA, solamente se presentan diferencias significativas en 9 de los 21 aislamientos evaluados, de los cuales 8 pertenecen al género *Beauveria* y 1 al género *Verticillium* (*Lecanicillium*). En este tiempo ninguno de los 3 aislamientos del género *Paecilomyces* evaluados muestra diferencias significativas con el testigo ($P=0,05$), a pesar que este género es reportado por diferentes autores como controlador de insectos chupadores como *Leptopharsa gibbicularis* (Alean, 2003). Los organismos que presentaron diferencias significativas con el testigo pertenecen a los hongos Deuteromycetes considerados controladores de insectos chupadores principalmente las especies *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuellmin, *Verticillium lecanii* (Zimm.), *Aschersonia aleyrodii* Webber y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith. (Alean, 2003).

En cuanto al análisis de los datos obtenidos en la segunda evaluación 14 DDA, los aislamientos B028, B017, B030, B015, B013, B025 y B014 que habían presentado diferencias significativas en la primera evaluación nuevamente presentan diferencias significativas con el testigo ($P=0,05$), los tratamientos Mt001, B023 y B002 que en la primera evaluación no habían presentado diferencias significativas con el testigo ($P=0,05$), presentan diferencias en la segunda evaluación lo que sugiere que estos aislamientos requieren de un tiempo mayor para causar mortalidad a los individuos de *Leptopharsa gibbicularis*. Por otro lado se observa que los aislamientos B024 y V1001 que en la primera evaluación presentaron diferencias significativas con el testigo, en la segunda lectura desapareció su efecto y se igualaron al testigo. Los aislamientos P003, P004, B032, P005, P.C., B010, B006 y V1002, no presentan diferencias significativas con el testigo en cuanto al porcentaje de mortalidad 7 y 14 DDA, estos resultados permiten afirmar que la efectividad del manejo de las poblaciones de insectos plaga con hongos entomopatógenos esta determinada en gran parte por la selección de cepas altamente patógenas para las especies de insectos que se busque controlar.

Al revisar los porcentajes de mortalidad acumulada, los valores alcanzados oscilan entre el 7% para el tratamiento V1001 y el 26% para el tratamiento B030. Estos porcentajes de mortalidad son considerados bajos, más aun si se tiene en cuenta que las poblaciones del insecto en algunas épocas del año pueden superar los 100 individuos por hoja.

En cuanto a los porcentajes de esporulación, en la evaluación realizada a los 7 DDA se observa que los tratamientos V1001, B028, B017, B030, B015, B013, B025 y B014 que habían presentado diferencias significativas en cuanto al porcentaje de mortalidad a los 7 DDA, también presentan diferencias significativas con respecto al testigo para esta variable. Los aislamientos Mt001 y V1002 que en la evaluación del porcentaje de mortalidad a los 7 DDA no presentaron diferencias significativas con el testigo, si presentan diferencias respecto al mismo en el porcentaje de esporulación, lo que sugiere que aunque no tienen valores altos de mortalidad si tendrían la capacidad de esporular rápidamente, característica que se considera importante si se busca que el entomopatógeno se

establezca en el campo, ya que con los ciclos generacionales más rápidos el hongo estaría menos afectado por factores climáticos, contrario a los hongos con ciclos generacionales más largos los cuales sería más vulnerables a las variaciones del clima.

A los 14 DDA los aislamientos B028, B014, B030, B015, B013, B025 y B017 además, de presentar diferencias significativas con el testigo en cuanto al porcentaje de mortalidad a los 7 y 14 DDA y en el porcentaje de esporulación a los 7 DDA, también presentan diferencias significativas en este momento de la evaluación, lo que los hace los aislamientos más promisorios para trabajos posteriores de formulación y evaluación en campo.

Los aislamientos P003, P004, VI001, Mt 001, B023 y B024 presentan diferencias significativas en el porcentaje de esporulación en la segunda evaluación. Sin embargo, se observa un mejor comportamiento en las variables evaluadas en los demás tratamientos.

Como conclusión se puede ver que los porcentajes de esporulación registrados en los tratamientos que presentan diferencias significativas con el testigo 14 DDA no superan en ningún caso el 12%, el cual es un valor bajo pero, sin embargo, significativo.

El producto comercial evaluado no presentó diferencias significativas en ninguna de las variables en los dos tiempos de evaluación, esto confirma que la formulación de un aislamiento para su comercialización debe estar respaldada por pruebas preliminares que permitan verificar la calidad y efectividad del producto que se va utilizar en el control de determinada plaga, antes de hacer su liberación y comercialización. Este resultado es una alerta para el palmicultor, quien debe revisar si los productos que aplica para el control de una plaga han sido suficientemente validados, pues de lo contrario, puede estar desperdiciando su dinero o en casos extremos generando impactos ecológicos invaluable.

Considerando que para la selección y la utilización de un hongo entomopatógeno se debe tener en cuenta que los aislamientos cumplan con ciertas características, como alta patogenicidad y rápida velocidad de esporulación, que aseguren adecuados porcentajes de control y además favorezcan el establecimiento del organismo en el campo, los trabajos posteriores sobre el uso de entomopatógenos para el control de *L. gibbicularina* solo considerarán los aislamientos B028, B030, B013, B025 y B014, los cuales se evaluarán de manera combinada con el objeto de determinar si de esta forma se alcanzan mayores porcentajes de mortalidad y esporulación.

Agradecimientos

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

Bibliografía

Alean, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias.

Arias, N., Benítez, E. 2004. Relación del complejo Pestalotiopsis – Leptopharsa gibbicularina con variables de producción y nutrición. En: Resúmenes Reunión Anual de Investigadores 2004, Bogotá Noviembre 8 y 9 de 2004.

Ceninotas

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Los microorganismos entomopatógenos se clasifican en cuatro grupos: bacterias, hongos, virus y nematodos. La forma como cada uno de estos ataca a su hospedero es diferente y está relacionada con las vías de entrada que utiliza el microorganismo para penetrar al interior de los insectos. En el caso de los hongos, se presentan dos fases en el proceso de infección: una fase patogénica y otra fase saprofitica. Para el desarrollo de la primera fase, es necesario que además de encontrar el hospedero específico, el hongo cuente con condiciones de temperatura y humedad adecuadas para la germinación de la spora y la formación del tubo germinal, el cual en su extremo terminal forma un abultamiento conocido como apresorio. A partir de este, el hongo penetra a través de la cutícula del insecto, proceso en el que intervienen mecanismos físicos (presión mecánica) y químicos (enzimas) que la degradan, facilitando el proceso de infección. Una vez el hongo se encuentra en el interior del cuerpo del insecto, produce enzimas como exoquitinasas, endoquitinasas, lipasas y esterases que descomponen el cuerpo, proliferando el micelio, el cual excreta toxinas que le causan la muerte al insecto.

En todos los casos de infección causada por hongos los insectos presentan síntomas como la pérdida de movimiento y coordinación, disminución en la alimentación y posteriormente la muerte. Una vez esto ocurre, si las condiciones ambientales son adecuadas, es decir, si se presenta una alta humedad relativa (superior al 70%) y una temperatura que oscile entre los 25 y 30 °C, se observará el proceso de esporulación del hongo sobre la superficie del insecto (Fig. 3), lo cual le permite infectar nuevos hospederos y continuar así con el desarrollo de su ciclo de vida.



Figura 3. Proceso de esporulación de *Beauveria* sp. en individuos adultos de *L. neivai*



Director: Pedro León Gómez Cuervo

Revisión de textos: Comité de Publicaciones de Cenipalma

Coordinación editorial: Oficina de Prensa

Diseño y diagramación: Briceno Gráfico

Impresión: Molher Ltda. Impresores

Esta publicación contó con el apoyo del Fondo de Fomento Palmero