

## Evaluación de hongos y nematodos para el control de *Haplaxius crudus*, vector de la Marchitez letal (ML) de la palma de aceite en Colombia

Miriam Rosero Guerrero<sup>1</sup>, Jesús Arvey Matabanchoy Solarte<sup>2</sup>, Alex Enrique Bustillo Pardey<sup>3</sup>

### Notas del Director

La palma de aceite es un cultivo que presenta muchos problemas de enfermedades, pero aquellas que están asociadas con insectos merecen más atención por la complejidad que representa el vector de una enfermedad como es *Haplaxius crudus* (Van Duzee) (Hemiptera: Cixiidae) y la enfermedad que transmite a la palma de aceite, en este caso la Marchitez letal. A pesar de que no se conoce con precisión cuál es el agente causal de esta marchitez, si se sabe que *H. crudus* es el portador que, cuando está infectado y se alimenta del follaje de la palma, es capaz de diseminar la enfermedad en las plantaciones de palma de aceite. Por lo tanto, se requieren medidas de control que puedan reducir las poblaciones de estos insectos, que se albergan en sus estados inmaduros en las raíces de las gramíneas y cuyos adultos vuelan a alimentarse de la palma.

Uno de los propósitos del Programa de Plagas y Enfermedades es que las investigaciones estén dirigidas hacia la productividad y sostenibilidad del cultivo de la palma, donde las plagas se combatan dentro de un programa de manejo integrado cuyo principal componente sea el aprovechamiento de la biodiversidad y el uso de controladores biológicos, como pueden ser los hongos y nematodos entomopatógenos. La investigación ha permitido que este tipo de controladores estén disponibles comercialmente para que sean utilizados en el control de muchas plagas del agro. Sin embargo, antes de adoptar estas medidas, es indispensable realizar estudios que permitan demostrar que son patógenos hacia la plaga, que tengan alta virulencia y que demuestren que son capaces de, una vez en la plantación,

afectar la plaga, que en este caso es *H. crudus*. El presente documento presenta los resultados del Área de Entomología de Cenipalma, sobre la selección de una cepa del hongo *Metarhizium anisopliae* y de dos especies de nematodos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, que muestran ser candidatos importantes para incluirlos en un programa de control en plantaciones infestadas por *H. crudus* e infectadas por la Marchitez letal.

**José Ignacio Sanz Scovino, Ph.D.**  
Director Ejecutivo de Cenipalma

### Introducción

Las ninfas de *Haplaxius crudus* (Van Duzee) (Hemiptera: Cixiidae), se desarrollan en las raíces de los pastos y se localizan a niveles superficiales del suelo, a menudo debajo de hojarasca en descomposición a una profundidad de 3 cm (Figura 1), (Howard y Gallo, 2006). En estado adulto se alimenta del follaje de varias especies de palmas, entre ellas la palma de aceite, en la cual se considera vector de la Marchitez letal (ML), una de las principales enfermedades en la Zona Oriental de Colombia (Arango *et al.*, 2011) que ha causado la erradicación de 214.133 plantas afectadas (Coordinación de Manejo Sanitario, Fedepalma 2013, información no publicada).

La palma infectada presenta necrosis en las puntas de las brácteas de las inflorescencias inmaduras, los frutos de los racimos se desprenden fácilmente y se presenta secamiento de los folíolos desde la punta hacia la base. Generalmente, este síntoma va precedido de una franja amarilla que se hace más difusa a medida que la enfermedad avanza (Martínez *et al.*, 2011).

Entre las medidas de control de la Marchitez letal, Cenipalma recomienda la detección temprana de la enfermedad, erradicación de la palma afectada, monitoreo de poblaciones de *H. crudus* con trampas pegajosas amarillas y la erradicación de las gramíneas y ciperáceas de las plantaciones, reemplazándolas por coberturas de hoja ancha (Fedepalma, Cenipalma, 2011). El uso de hongos y nematodos entomopatógenos para controlar ninfas de *H. crudus* aportan nuevas

<sup>1</sup> Asistente de Investigación, Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma. Villanueva, Casanare, mrosero@cenipalma.org

<sup>2</sup> Auxiliar de Investigación, Cenipalma. Villanueva, Casanare, jmatanchoy@cenipalma.org

<sup>3</sup> Ing. Agr., Ph. D., Líder Área Entomología, Programa de Plagas y Enfermedades. Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma, abustillo@cenipalma.org



Figura 1. *Haplaxius crudus*. A) Adulto de *H. crudus* recién emergido; B) Ninfas de *H. crudus*.

herramientas para el control de este vector y así, reducir el impacto de la ML, por lo cual el objetivo de este trabajo es seleccionar cepas de *Metarhizium anisopliae* y especies de nematodos entomopatógenos para el control de este insecto. En este documento se presentan los avances de esta investigación.

## Metodología

Los experimentos con hongos se realizaron en el laboratorio del Palmar del Oriente S.A.S., y en casa de malla, en las instalaciones de Cenipalma en Villanueva, Casanare, mientras que los experimentos con nematodos se realizaron en las instalaciones de Villanueva. Se evaluaron 12 cepas de *M. anisopliae* y ocho especies de nematodos que correspondieron a cuatro especies de la familia Steinernematidae y cuatro a Heterorhabditidae (Figura 2). El experimento tuvo dos fases, una en laboratorio para seleccionar los entomopatógenos por patogenicidad y la otra, en casa de malla simulando condiciones de campo para establecer diferencias entre estos organismos por virulencia.

En laboratorio se emplearon 14 raíces de maciega (*Paspalum virgatum* L.) como unidad experimental en una caja Petri de 9 cm de diámetro. En casa de malla se empleó como unidad experimental una plántula de *P. virgatum* sembrada en un tubo de PVC de 88,3 cm<sup>2</sup>, la cual se infestó con 10 ninfas de *H. crudus*. En una segunda etapa se evaluaron los hongos y nematodos más viru-

lentos y se emplearon bandejas plásticas de 690 cm<sup>2</sup> con tres macollas de *P. virgatum*, infestadas con 17 ninfas de *H. crudus*, para simular una condición de campo (Figura 2).

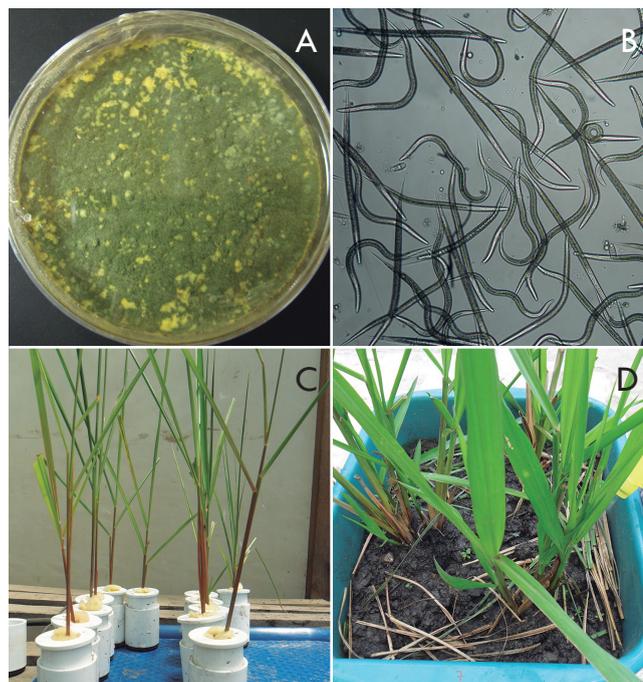


Figura 2. Detalles de los entomopatógenos y las unidades experimentales. A. *Metarhizium anisopliae* en medio de cultivo; B. Nematodos entomopatógenos observados al microscopio 10X; C. Tubo de PVC con plántulas de *Paspalum virgatum*; D. Bandeja plástica con plántulas de *Paspalum virgatum*.

Los experimentos con hongos se realizaron independientemente de los experimentos de nematodos. El estudio se organizó bajo un diseño completamente aleatorio, con seis repeticiones por tratamiento. Para analizar los datos se hizo un análisis de varianza al 95 % de confiabilidad y las diferencias entre tratamientos se determinaron a través de la prueba de comparación de medias de Duncan con la ayuda del programa estadístico SAS 9.3. Las dosis empleadas en cada experimento se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Dosis empleadas con hongos y nematodos entomopatógenos en los experimentos de laboratorio y casa de malla para el control de *Haplaxius crudus*.

Entomopatógeno	Laboratorio	Casa de malla	
		Tubo PVC	Bandeja plástica
<i>Metarhizium anisopliae</i>	1 x 10 <sup>7</sup> conidias/ml	3,4 x 10 <sup>6</sup> conidias/cm <sup>2</sup>	2,2 x 10 <sup>8</sup> conidias/cm <sup>2</sup>
<i>Steinernema</i> spp. <i>Heterorhabditis</i> spp.	100JI/cm <sup>2</sup>	100JI/cm <sup>2</sup>	1304JI/cm <sup>2</sup>

Resultados

Mortalidad de *H. crudus* causada por *Metarhizium anisopliae*

En laboratorio, las cepas de *M. anisopliae* (CPMa1105, CPMa1107, CeMa9236 y CPMa1206) causaron mortalidades superiores a 85 %, y se seleccionaron para evaluar su virulencia (Figura 3C). Cuando los hongos se evaluaron bajo condiciones de casa de malla con plantas sembradas en tubos de PVC, las cepas evaluadas causaron mortalidades entre 83,3 y 90 %, pero no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $P \geq 0,05$ ), (Tabla 2). Cuando se evaluó la virulencia en bandejas plásticas simulando las gramíneas en una plantación infestadas con *H. crudus*, no se presentaron diferencias significativas entre las cepas CPMa1206, CPMa1105 y CPMa1107 con mortalidades de 77,2, 77,2 y 82,5 %, respectivamente. La cepa CeMa9236, que causó una mortalidad de 61,4 %, presentó diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) al compararla con las demás cepas evaluadas (Tabla 2).



Figura 3. Ninfas de *Haplaxius crudus* infectadas por nematodos y hongos entomopatógenos. A. Flacidez ocasionada por *Steinernema* sp.; B. Cambio de coloración ocasionada por *Heterorhabditis* sp. C. Ninfa infectada por *Metarhizium anisopliae*.

Tabla 2. Mortalidad (%) de ninfas de III instar de *Haplaxius crudus* causada por cepas de *Metarhizium anisopliae*, bajo condiciones de laboratorio y casa de malla.

Cepas de <i>M. anisopliae</i>	% mortalidad de ninfas de III instar de <i>H. crudus</i>		
	Laboratorio	Casa de malla	
		PVC	Bandejas plásticas
CPMa0401	65,0	.*	-
CPMa0501	80,0	-	-
CPMa1001	80,0	-	-
CPMa1003	25,0	-	-
CPMa1004	30,0	-	-
CPMa1101	45,0	-	-
CPMa1105	85,0	85,0 a**	77,2 a**
CPMa1107	88,3	90,0 a	82,5 a
CPMa1206	95,0	83,3 a	77,2 a
POMa1103	60,0	-	-
POMa1104	70,0	-	-
CeMa9236	90,0	83,3 a	61,4 b

\* Estas cepas no fueron seleccionadas para continuar con los experimentos de virulencia en casa de malla.

\*\* Datos en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba Duncan ( $P \geq 0,05$ ).

Mortalidad de *H. crudus* causada por nematodos entomopatógenos

En laboratorio se estableció que el IV instar de *H. crudus* es más susceptible a los nematodos con mortalidades superiores a 86 % (Tabla 3). En casa de malla empleando tubos de PVC se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos

Tabla 3. Mortalidad (%) de ninfas de III y IV instar de *Haplaxius crudus* causada por nematodos entomopatógenos, bajo condiciones de laboratorio.

Nematodos entomopatógenos	% mortalidad de ninfas	
	III instar	IV instar
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	45,2 a*	93,3 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (Tumaco)	.*	90,0 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (Gua 31)	47,6 a	90,0 a
<i>Steinernema colombiense</i>	57,1 a	86,7 a
<i>Steinernema websteri</i>	50,0 a	93,3 a
<i>Steinernema</i> sp. 1.	45,2 a	96,7 a
<i>Steinernema</i> sp. 2.	45,2 a	100,0 a

\* Datos en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba Duncan ( $P \geq 0,05$ ).

\*\* *Heterorhabditis* sp. (Tumaco) no se incluyó en la evaluación porque en ese momento no se había encontrado.

- ( $P \leq 0,05$ ). *Heterorhabditis* sp. (Villa 14) causó una mortalidad de 60 % y se diferenció de *Heterorhabditis* sp. (Tumaco), *H. bacteriophora*, y *Heterorhabditis* sp. (Gua 31) que causaron mortalidades de 38,3, 36,7 y 28,3 %, respectivamente (Tabla 4).

En las evaluaciones con las especies de *Steinernema* spp. no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre *Steinernema* sp. 1 y *Steinernema* sp. 2, que causaron mortalidades de 71,7 y 70 %, respectivamente, pero sí se presentaron diferencias al compararlas con las especies de *S. colombiense* y *S. websteri* las cuales causaron mortalidades de 53,3 y 51,7 %, respectivamente (Tabla 4).

En el experimento con bandejas plásticas no se presentaron diferencias significativas entre las especies de *Heterorhabditis* spp., las mortalidades fueron superiores a 68 %. Las especies de *Steinernema* spp. causaron mortalidades superiores a 80 % y no se presentaron diferencias entre ellas (Tabla 4).

Tabla 4. Mortalidad (%) de ninfas de IV instar de *Haplaxius crudus* causada por nematodos entomopatógenos, bajo condiciones de casa de malla.

Nematodos entomopatógenos	% mortalidad ninfas de IV instar	
	PVC	Bandejas plásticas
	Experimento 1	
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	36,7 b*	71,6 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (Tumaco)	38,3 b	74,5 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (Gua 31)	28,3 b	74,5 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (Villa 14)	60,0 a	63,7 a
	Experimento 2	
<i>Steinernema colombiense</i>	53,3 b	84,3 a
<i>Steinernema websteri</i>	51,7 b	88,2 a
<i>Steinernema</i> sp. 1.	71,7 a	88,2 a
<i>Steinernema</i> sp. 2.	70,0 a	84,3 a

\* Datos en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba Duncan ( $P \geq 0,05$ ).

Además de la mortalidad, en ninfas de *H. crudus* se observó la muerte de adultos recién emergidos. La sintomatología obser-

vada fue coloración rojiza para las ninfas muertas por *Heterorhabditis* spp., mientras que las ninfas muertas por *Steinernema* spp. presentaron flacidez y una coloración amarillosa, parda y oscura (Figuras 3A y 3B).

## Conclusiones

Este estudio ha permitido la selección de *M. anisopliae* cepa CPMa1107 y los nematodos *Steinernema* sp. 1 y *Heterorhabditis* sp. (Tumaco), por causar mortalidades superiores a 70 % en ninfas de *H. crudus*. Los resultados permiten continuar con experimentos de evaluación de dosis, bajo condiciones de plantaciones comerciales de palma de aceite, con la finalidad de controlar poblaciones de *H. crudus* y así, brindar una alternativa de control de este insecto.

## Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a las plantaciones Guaicaramo S.A., y Palmar del Oriente S.A.S., por su colaboración en el desarrollo del estudio. Esta investigación se financió con aportes del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias, a través del proyecto C745-2011 suscrito entre Colciencias, Cenipalma y Fedepalma-Fondo de Fomento Palmero (FFP).

## Bibliografía

- Arango, M., Ospina, C., Sierra, J., Martínez, G. 2011. *Myndus crudus*: vector del agente causante de la Marchitez letal (ML) en palma de aceite en Colombia. Palmas 32 (2): 13-25.
- Fedepalma, Cenipalma, 2011. Guía de bolsillo para el manejo de la Marchitez letal (ML) de la palma de aceite. Convenio N° 00086/11 Sena-SAC, Fedepalma, Cenipalma, 30 p.
- Howard, F., Gallo, S. 2006. El cixíido americano de las palmas, *Myndus crudus* Van Duzee (Insecta: Hemiptera: Auchenorrhyncha: Fulgoroidea: Cixiidae). University of Florida- IFAS Extensión. 9 p.



Director: José Ignacio Sanz Scovino, Ph.D.  
 Revisión de textos: Comité de Publicaciones de Cenipalma  
 Coordinación editorial: Yolanda Moreno Muñoz - Esteban Mantilla  
 Diseño y diagramación: ACE – Alianza en Comunicación Empresarial Ltda.  
 Impresión: Javegraf

Esta publicación contó con el apoyo de Fedepalma - Fondo de Fomento Palmero