

Patogenicidad de cepas de *Metarhizium anisopliae* (L.) y *Beauveria bassiana* sobre *Rhynchophorus palmarum**

Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (L.) and *Beauveria bassiana* on *Rhynchophorus palmarum*

Cómo citar este artículo:

Alvarado, H. L., Montes, L. G., Gomes, H., Bustillo, A. E. & Mesa, E. (2013, Junio 30). Patogenicidad de cepas de *Metarhizium anisopliae* (L.) y *Beauveria bassiana* sobre *Rhynchophorus palmarum*. *Palmas*, 34(2), 15-24.

Autores
Hanna L. Alvarado M. Auxiliar de investigación. Programa de Plagas y Enfermedades. Cenipalma. halvarado@cenipalma.org
Luis G. Montes B. Auxiliar de investigación. Programa de Plagas y Enfermedades. Cenipalma. lmontes@cenipalma.org
Hamilton Gomes de Oliveira Líder Área Entomología hasta 2011.
Alex E. Bustillo P. Líder Área Entomología. Programa de Plagas y Enfermedades. Cenipalma. abustillo@cenipalma.org
Eloína Mesa F. Investigadora Asociada. Evaluación Económica y Biometría. Cenipalma. emesa@cenipalma.org
Palabras CLAVE
Palma de aceite, <i>Elaeis guineensis</i> , picudo negro, Colombia. Oil palm, <i>Elaeis guineensis</i> , oil palm weevil, Colombia.
Recibido: mayo 6 de 2013 Aprobado: mayo 30 de 2013



Resumen

En Colombia las poblaciones del picudo de la palma, *Rhynchophorus palmarum* L., (Coleoptera: Dryophthoridae: Rhynchophorinae), se han incrementado por la mayor disponibilidad de tejidos para su reproducción, como resultado de la enfermedad de la Pudrición del cogollo (PC) y la erradicación incorrecta de palmas. Esta situación es alarmante si se tiene en cuenta que este insecto es el vector del nematodo causante de la enfermedad el Anillo rojo (AR), y que ocasiona la muerte de palmas con la PC. Por tal motivo, se investiga en la búsqueda de enemigos naturales que contribuyan con la regulación de sus poblaciones. El objetivo de esta investigación fue encontrar cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, que puedan infectar adultos y larvas de *R. palmarum*. Se evaluó la patogenicidad de 24 cepas de *M. anisopliae* (L.) y *B. bassiana* sobre adultos de *R. palmarum*, posteriormente las cepas que causaron la mayor mortalidad se evaluaron sobre el estado larval. Los resultados indicaron que las cepas de *M. anisopliae* (L.) más patogénicas fueron CPMA1105, CPMA1104 y CPMA1001, las cuales provenían de adultos de *R. palmarum*, causando mortalidades del 87, 83 y 80 % sobre adultos y 27, 36 y 45 % sobre larvas de *R. palmarum*, respectivamente.

* Artículo de investigación científica y tecnológica.

Abstract

The population of oil palm weevils, *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Dryophthoridae: Rhynchophorinae) in Colombia, has increased since the extensive availability of tissues in fermentation process left by poor oil palm eradication methods, when oil palms must be destroyed due to Bud rot. This situation is very important since *R. palmarum* is the vector of the nematode *Bursaphelenchus cocophilus*, the causal agent of the Red Ring disease. Additionally, *R. palmarum* is capable of causing death to diseased palms with Bud rot. Research was undertaken to find natural enemies which can contribute to *R. palmarum* population regulation. The goal of this study was to prove different strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, against adults and larvae of *R. palmarum*. 24 isolates of *M. anisopliae* (L.) and *B. bassiana* were tested under laboratory conditions, against adults of *R. palmarum*. Subsequently, strains which were more pathogenic to adults were tested against larvae of *R. palmarum*. The *M. anisopliae* (L.) strains CPMA1105, CPMA1104 and CPMA1001, were the most pathogenic to adults and larvae of *R. palmarum*. Under laboratory conditions these strains caused 87, 83 and 80 % mortality on adults, and 27, 36 and 45 % on larvae, respectively.



Introducción

El picudo *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Dryophthoridae: Rhynchophorinae) ha adquirido gran importancia en Colombia como insecto plaga del cultivo de la palma de aceite y ha sido señalado como el vector del nematodo que origina la enfermedad Anillo rojo (AR) (Griffith, 1987; Chinchilla, 1988; Sánchez Potes, 1987). Su importancia radica en el incremento de sus poblaciones debido a la atracción que generan los tejidos en fermentación, que se convierten en los sitios con las condiciones ideales para su reproducción, y que provienen de palmas enfermas por la Pudrición del cogollo (PC) o cortes ocasionados por prácticas de renovación, poda y cosecha (Aldana *et al.*, 2010 b). Las hembras ovipositan en estos sitios y al emerger las larvas se alimentan del tejido blando del cogollo y las bases peciolares (Griffith, 1987; Chinchilla, 1988;

Acosta, 1991; Sánchez Potes, 1987), lo que en algunos casos ocasiona la muerte de la palma.

Las prácticas de manejo de *R. palmarum* están dirigidas a disminuir sus poblaciones y la incidencia de las enfermedades. Estas prácticas están basadas en la captura de adultos utilizando trampas con atrayentes y la eliminación correcta de palmas enfermas para evitar la reproducción del insecto o la diseminación del agente causal del Anillo rojo (Motta *et al.*, 2008); no obstante, es necesario implementar nuevas alternativas de manejo biológico que puedan mitigar el ataque de la plaga. Para implementar estas prácticas de manejo es necesario buscar y evaluar enemigos naturales, como los hongos entomopatógenos, que contribuyan a regular sus poblaciones.

La patogenicidad que han demostrado tener cepas de *M. anisopliae* (L.) y *B. bassiana* sobre



diferentes insectos de la familia Dryophthoridae como *Rhynchophorus ferrugineus* (Gindin *et al.*, 2006) y *Cosmopolites sordidus* (Castillon, 2000), y sobre otros insectos del orden Coleoptera que son plaga en cultivos de palma de aceite como *Oryctes rhinoceros* (Ramle *et al.*, 1999), sustenta que estos hongos también pueden ser patogénicos sobre *R. palmarum* y que es posible desarrollar su uso como una alternativa de manejo.

Los hongos de los géneros *Beauveria* y *Metarhizium* son patógenos de insectos que causan una muerte temprana por penetración y proliferación dentro de su hospedero. El insecto muere al ser privado de nutrientes solubles en su hemolinfa, por la invasión o digestión de sus tejidos y/o la liberación de toxinas por parte del hongo (Roberts y Humber, 1981). La duración de las diferentes fases del ciclo del hongo en el insecto depende de la especie atacada y las condiciones ambientales presentes durante la infección (Bustillo, 2002). Por tanto, aunque en condiciones de laboratorio es común encontrar que la muerte se ocasione en un periodo de tiempo medio de 4 a 6 días (Butt y Goettel, 2000), también es posible que se observen tiempos letales mayores como el visto en *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) de 24 días (Muerrle *et al.*, 2006) y de 50 días en *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Meissle *et al.*, 2009).

Esta investigación evaluó la patogenicidad de cepas de *M. anisopliae* (L.) y *B. bassiana* sobre *R. palmarum*, para que en futuras investigaciones sean evaluadas para el control de esta plaga en plantaciones de palma de aceite.

Materiales y métodos

Ubicación

La reproducción de los hongos se llevó a cabo en el laboratorio de microorganismos entomopatógenos ubicado en Bogotá y los bioensayos, en el laboratorio de entomología del Campo Experimental Palmar de La Vizcaína, ubicado en Barrancabermeja (Santander).

Insectos

Los adultos de *R. palmarum* se colectaron en trampas con feromona de agregación y cebo vegetal aislado en un dispensador (Aldana *et al.*, 2010a), en plantaciones de palma de aceite, cada 3 a 4 días. Los insectos se llevaron al laboratorio y se mantuvieron allí entre 8 y 13 días para seleccionarlos por vigor y que estuvieran libres de infecciones. Luego, se ubicaron en grupos de 30 individuos en recipientes plásticos de 32 cm de largo por 22 cm de ancho y 6,5 cm de altura, con una malla galvanizada en la tapa y con trozos de caña como alimento. Los adultos de *R. palmarum* se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1,0 % durante un minuto y se lavaron tres veces en agua purificada estéril (APE) para retirar los residuos del desinfectante; luego se secaron con una toalla de papel absorbente estéril. El APE se obtuvo de un purificador de osmosis inversa con membrana, esterilizada en autoclave (All American System) a 15 psi y 120°C durante 15 minutos.

Las larvas de *R. palmarum* se obtuvieron en el laboratorio. Para conseguir las posturas, se mantuvieron hembras y machos adultos en recipientes con caña de azúcar como sustrato de alimentación y oviposición. Las cañas con posturas se retiraron diariamente y a los 10 días las larvas de I instar se individualizaron en recipientes plásticos. Las larvas se alimentaron con trozos de caña hasta que llegaron al IV-V instar para ser usadas en el bioensayo.

Hongos entomopatógenos

Cepas. Se aislaron cepas de *M. anisopliae* (L.) y *B. bassiana* a partir de adultos de *R. palmarum* colectados en campo en la Zona Central (Puerto Wilches y Barrancabermeja) y en la Zona Suroccidental (San Andrés de Tumaco). Se aislaron mediante siembra directa y rayado en medio de cultivo (Valencia, 2004; Chase *et al.*, 1986) y se identificaron las especies de hongos entomopatógenos mediante observaciones

macroscópicas y microscópicas con la técnica de microcultivo, y utilizando la clave de Barnett y Hunter (1998). Además, se evaluaron cepas de la colección de microorganismos entomo-

patógenos que tenían como hospedero original insectos del orden Coleoptera o habían resultado patogénicos sobre *Demotispa neivai* y otras especies (Tabla 1).

Tabla 1. Cepas de *Metarhizium anisopliae* (L.) (Ma) y *Beauveria bassiana* (Bb) evaluadas sobre adultos de *Rhynchophorus palmarum*.

Trat.	Código	Localidad	Hospedero
1	CPMa1004	San Andrés de Tumaco (Nariño)	Larva de <i>Strategus aloeus</i>
2	CPBb1101	Puerto Wilches (Santander)	Adulto de <i>Rhynchophorus palmarum</i>
3	CPMa0603	Barrancabermeja (Santander)	Adulto de <i>Demotispa neivai</i>
4	CPMa1105	Puerto Wilches (Santander)	Adulto de <i>Rhynchophorus palmarum</i>
5	CPMa1005	Puente Sogamoso (Santander)	Larva de <i>Strategus aloeus</i>
6	CPMa1101	Barrancabermeja (Santander)	Pupa de <i>Strategus aloeus</i>
7	CPBb0404	San Andrés de Tumaco (Nariño)	Larva de <i>Stenomoma cecropia</i>
8	CPBb0413	Puente Sogamoso (Santander)	Pupa de <i>Stenomoma cecropia</i>
9	CPMa1001	Puerto Wilches (Santander)	Adulto de <i>Rhynchophorus palmarum</i>
10	CPMa1002	Puente Sogamoso (Santander)	Pupa de <i>Strategus aloeus</i>
11	CPMa0604	Barrancabermeja (Santander)	Adulto de <i>Demotispa neivai</i>
12	CPBb0502	Puerto Wilches (Santander)	Larva de <i>Euprosterina elaeasa</i>
13	CPMa0402	Puerto Wilches (Santander)	Larva de <i>Strategus aloeus</i>
14	Testigo	No Aplica	No Aplica
15	CPBb0403	Se desconoce	<i>Hypothenemus hampei</i>
16	CPBb0408	Puerto Wilches (Santander)	Larva de <i>Dirphia gragatus</i>
17	CPBb0409	Puerto Wilches (Santander)	Larva de <i>Stenomoma cecropia</i>
18	CPMa0401	Puerto Wilches (Santander)	Se desconoce
19	CPMa1102	Puerto Wilches (Santander)	Adulto de <i>Rhynchophorus palmarum</i>
20	CPMa0801	Yarima (Santander)	Larva de <i>Strategus aloeus</i>
21	MTBUC001*	Puerto Wilches (Santander)	Adulto de <i>Rhynchophorus palmarum</i>
22	CPMa0602	Barrancabermeja (Santander)	Adulto de <i>Demotispa neivai</i>
23	CPMa1003	La Cabaña (Mesetas)	Larva de <i>Strategus aloeus</i>
24	CPMa1104	Puerto Wilches (Santander)	Adulto de <i>Rhynchophorus palmarum</i>
25	CPMa1106	San Andrés de Tumaco (Nariño)	Adulto de <i>Rhynchophorus palmarum</i>

* Corresponde al aislamiento CPMa1001 producido por un laboratorio en convenio.



Reproducción de hongos para los bioensayos. Todas las cepas de los hongos en estudio se sembraron en medio de agar con insecto, el cual se preparó con 39 g de Papa Dextrosa Agar (PDA) o 65 g de Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), adicionándole 5 g de tegumento de adultos de *R. palmarum* y 0,05 g de clorotetraciclina por litro de medio (González *et al.*, 2001). Los medios inoculados con los hongos se incubaron a 25 °C durante 15 días. Al cabo de este tiempo, se colectaron las esporas y se sembraron en medio líquido a base de papa, en bandejas de aluminio cubiertas con una película plástica. El medio líquido se preparó con 50 g de papa deshidratada para puré, 5 g de azúcar y 1 g de sal en un litro de agua purificada. Las bandejas inoculadas con los hongos se incubaron en el cuarto de crecimiento a una temperatura entre 18 y 26,6 °C y humedad relativa entre 33 y 63 %, durante 15 días. Luego de este tiempo las bandejas se destaparon en sus extremos para deshidratar el medio por un periodo de 8 a 12 días, tiempo para el cual se colectaron las esporas con un pincel y se depositaron en un recipiente de vidrio estériles. Los hongos cosechados se mantuvieron en la nevera hasta su uso en el ensayo.

Bioensayo con adultos de *R. palmarum*

De cada hongo se prepararon 400 ml de suspensiones de conidias en APE adicionando Tween 80 al 0,1 %. Luego se cuantificó la concentración de esporas por conteo directo en cámara Neubauer y se determinó el porcentaje de esporas germinadas, en medio Agar-Agua para los aislamientos de *B. bassiana* y en medio SDA para *M. anisopliae* (L.) (Vélez *et al.*, 1997). Los adultos de *R. palmarum* se sumergieron en una suspensión que tenía una concentración de 10^7 esporas/ml, durante 30 segundos (Ramle *et al.*, 1999). Para el tratamiento testigo los insectos se sumergieron solo en APE con Tween 80 al 0,1 %. Las evaluaciones se realizaron cada 2 días durante 24 días. La evaluación consistió en contar y retirar los insectos muertos, los cuales se desinfestaron

con hipoclorito de sodio al 0,5 % y se ubicaron en cámaras húmedas, para registrar la esporulación del hongo en estudio o la presencia de microorganismos saprofitos sobre los insectos.

Se utilizó un diseño de bloques incompletos balanceado con 25 tratamientos y 30 bloques. Se evaluaron cinco tratamientos en cada bloque y cada uno se repitió seis veces. Los tratamientos correspondieron a 17 cepas de *M. anisopliae* (L.), siete de *B. bassiana* y un testigo. Además del tratamiento testigo incluido en los 25 tratamientos evaluados (T14), se establecieron testigos para cada bloque (T0) como comparación adicional (Tabla 1). La unidad experimental se conformó con 30 adultos de *R. palmarum* confinados en una bandeja plástica con trozos de caña. Los datos se analizaron a través de un análisis de varianza y se usó una prueba de t, para comparar las medias ($p > |t|$) usando el programa SAS 9.0.

Bioensayo con larvas

Las larvas de IV-V instar de *R. palmarum* se sumergieron durante 30 segundos en una suspensión que contenía 1×10^8 esporas/ml. Las evaluaciones se realizaron cada 2 días durante 20 días contando y retirando los insectos muertos. Estos insectos se desinfestaron, se ubicaron en cámaras húmedas y se observaron los signos de la infección.

Se utilizó un diseño completamente aleatorio con cuatro tratamientos, las tres cepas que presentaron mayor mortalidad en la prueba con adultos y un testigo, con 11 repeticiones. La unidad experimental consistió en un recipiente de aluminio de 0,5 litros de capacidad, con una larva de IV-V instar de *R. palmarum* y un trozo de caña.

Resultados y discusión

Cepas

Durante la presente investigación, ingresaron a la Colección de Hongos Entomopatógenos de

Cenipalma cinco cepas de *M. anisopliae* (L.) y una cepa de *B. bassiana* a partir de adultos de *R. palmarum* colectados en campo, para ser evaluados en esta investigación (Figura 1).



Figura 1. Adulto de *Rhynchophorus palmarum* infectado por *Metarhizium anisopliae*. (Foto: Hanna Alvarado).

Reproducción de hongos para los bioensayos

La reproducción de los hongos en agar con cutículas de insectos obvió el proceso de reactivación sobre insectos de las cepas que se evaluaron en este estudio. El proceso de deshidratación del medio que hizo parte de la reproducción de los hongos en medio líquido, afectó la viabilidad de CPMa0801, CPMa1005, CPMa1101, CPMa1002, CPMa0402, CPMa0401 y MTBUC001, la cual se evidenció en porcentajes de germinación de esporas inferiores a 50 %. Las 17 cepas restantes presentaron porcentajes de germinación superiores al 60 % y en algunos casos fueron superiores al 80 %, lo que demuestra que no se afectaron por las condiciones en el proceso de reproducción y almacenamiento (Tabla 2).

Tabla 2. Germinación de esporas de las cepas de hongos utilizadas para infección de adultos de *Rhynchophorus palmarum*. (Bb: *Beauveria bassiana*; Ma: *Metarhizium anisopliae*).

Aislamiento	Germinación (%)
CPMa1004	57,7
CPBb1101	53,4
CPMa0603	49,9
CPMa1105	70,3
CPMa1005	48,7
CPMa1101	40,9
CPBb0404	88,6
CPBb0413	61,7
CPMa1001	75,5
CPMa1002	34,2
CPMa0604	59,8
CPBb0502	82,2
CPMa0402	47,6
CPBb0403	88,2
CPBb0408	84,4
CPBb0409	62,9
CPMa0401	32,4
CPMa1102	80,0
CPMa0801	12,9
MTBUC001	41,3
CPMa0602	61,5
CPMa1003	71,4
CPMa1104	66,6
CPMa1106	84,8

Bioensayo con adultos

De las 24 cepas evaluadas, 13 presentaron una mortalidad significativamente mayor a la del testigo ($Pr < 0,0001$), dentro de las que se encuentran nueve de *M. anisopliae* (L.) y cuatro de *B. bassiana* (Tabla 3). En este grupo de 13 cepas se encuentran los aislamientos obtenidos en este estudio a partir de adultos de *R. palmarum* y aislamientos con otros hos-



pederos originales, con diferentes grados de patogenicidad. Esto demuestra la importancia de evaluar cepas aisladas inicialmente del in-

secto sobre el cual se va hacer el control, pero también que aislamientos obtenidos de otros insectos pueden ser patogénicos.

Tabla 3. Mortalidad de adultos de *Rhynchophorus palmarum* causada por cepas de *Metarhizium anisopliae* (L.) (Ma) y *Beauveria bassiana* (Bb). Proporción de adultos que mostraron esporulación por el hongo.

Cepa	Mortalidad acumulada			Pr > t **	Esporulación (%)
	días después de inoculación				
	8	16	24		
CPMa1104*	6,1	26,7	87,1	<0,0001	60,7
CPMa1001*	8,9	29,4	85,7	<0,0001	61,7
CPMa1105*	8,3	25,6	82,8	<0,0001	57,1
CPBb0409	10,6	32,8	78,3	<0,0001	69,9
CPBb1101*	15	34,4	77,1	<0,0001	48,9
CPMa0604	14,4	46,7	75,4	<0,0001	22,2
CPMa0401	14,4	36,7	72,8	<0,0001	61,4
CPMa0603	8,3	38,9	69,3	<0,0001	25,8
CPMa1106*	17,8	51,7	65,4	<0,0001	43,2
CPBb0408	15,6	37,8	64,8	<0,0001	52,9
CPBb0413	10,0	52,8	59,6	<0,0001	66,7
CPMa0402	20,6	55,6	58,4	<0,0001	19,8
CPMa1102*	23,3	56,9	67,2	<0,0001	63,5
CPMa0602	4,4	7,2	47,4	0,0024	38,2
CPBb0403	15,6	25,0	41,7	0,0017	50,0
MTBUC001	11,1	21,7	39,7	0,0182	49,2
CPBb0502	6,1	15,6	31,6	0,0485	51,9
CPMa1004	14,4	21,7	29,9	0,1599	35,6
CPBb0404	6,7	14,4	28,9	0,1183	22,2
CPMa1003	13,3	21,7	28,6	0,1362	50,0
CPMa1002	9,4	17,8	27,9	0,1127	41,8
CPMa0801	10,6	21,7	25,6	0,1814	22,0
CPMa1005	11,1	18,9	22,2	0,3307	25,0
CPMa1101*	5,0	12,8	22,1	0,3333	22,5
TESTIGO	4,4	7,2	12,2	-	28,6

* Hongos aislados a partir de adultos de *Rhynchophorus palmarum*.

** Diferencias estadísticas con el testigo Pr<0,0001. Comparación de medias prueba de t. Programa SAS 9.0.

Resultados similares fueron encontrados por Gerding *et al.*, 2000, quienes evaluaron en laboratorio la patogenicidad de tres aislamientos de *M. anisopliae* (L.) var. *anisopliae* sobre *O. sulcatus* y encontraron que los aislamientos de *M. anisopliae* (L.) fueron patogénicos sobre larvas de este insecto, con variación en su virulencia. Del mismo modo, Padilla *et al.*, 2000, registraron variabilidad en la patogenicidad de aislamientos evaluados sobre broca del café y concluyeron que la patogenicidad encontrada no obedecía al hospedante original de los aislamientos evaluados.

El periodo de tiempo para alcanzar mortalidades mayores al 80 % fue de 24 días (Tabla 3). Estos resultados concuerdan con los registrados en otros trabajos donde se evaluaron aislamientos de *Metarhizium* spp. sobre adultos del orden Coleoptera y en los cuales también se usó la inmersión como método de inoculación (Muerrle *et al.*, 2006; Meissle *et al.*, 2009; Gindin *et al.*, 2006). Por ejemplo, Gindin *et al.*, 2006, emplearon dos métodos de inoculación sobre *R. ferrugineus*: por contacto directo con esporas en sustrato de arroz y por aspersión de una suspensión concentrada del hongo (1×10^8 esporas/ml), obteniendo una mortalidad del 100 % en ambos casos, pero en un periodo de tiempo diferente. Con el primer método (conidios secos) el 100 % de mortalidad se alcanzó después de 15 días de inoculados los insectos y con el método de conidios en suspensión, solo hasta después de 30 días.

De las cepas que causaron mortalidades mayores al 80 %, solo la cepa CPMa1001 presentó una esporulación superior al 60 % (Tabla 3). Este aislamiento es promisorio debido a que además de causar mortalidades mayores al 80 %, esporuló en la mayoría de los individuos infectados, y esto es importante porque indica la oportunidad de seleccionar aislamientos que al producir un alto número de esporas en el campo van a generar una infección secundaria manteniendo el inóculo necesario para infectar nuevamente la población del insecto (Bustillo, 2005).

Bioensayo con larvas

Las cepas de *M. anisopliae* (L.) CPMa1105, CPMa1001 y CPMa1104, seleccionadas por producir las mortalidades más altas sobre adultos, demostraron ser también patogénicas sobre larvas de *R. palmarum* (Figura 2). El aislamiento CPMa1001 presentó una mortalidad mayor a los demás aislamientos evaluados (45,46 %); además, el tratamiento testigo no presentó mortalidad (Tabla 4).



Figura 2. Larva de *Rhynchophorus palmarum* infectada por *Metarhizium anisopliae*. (Foto: Luís G. Montes).

Tabla 4. Mortalidad en larvas de *Rhynchophorus palmarum*, causada por cepas nativas patogénicas a adultos, 12 días después de la inoculación.

Cepas	Mortalidad (%)	Esporulación (%)
CPMa1105	27,3 a	33,3
CPMa1104	36,4 a	0,0
CPMa1001	45,5 a	20,0
Testigo	0	-

En otros trabajos *M. anisopliae* (L.) también demostró ser patógeno a varios estados de desarrollo de un mismo insecto. Gindin *et al.*, 2006, seleccionaron un aislamiento de *M. anisopliae* (L.) por causar una mortalidad del 100 % en lar-



vas de *R. ferrugineus*, a los 7 días de inoculación y ser patógeno a los estados de huevo y adulto.

Solo los aislamientos CPMA1105 y CPMA1001 esporularon (Tabla 4). La esporulación se observó en el 33,3 % de larvas muertas tratadas con el aislamiento CPMA1105 y en el 20,0 % de larvas muertas con el aislamiento CPMA1001. Las larvas inoculadas con CPMA1104 presentaron una consistencia blanda característica de microorganismos saprófitos, como bacterias.

Conclusiones

Este estudio permitió caracterizar cinco cepas de *M. anisopliae* (L.) y una de *B. bassiana* por su patogenicidad a *R. palmarum*, las cuales se depositaron en la colección de hongos

entomopatógenos de Cenipalma. De estas, tres (CPMA1104, CPMA1105 y CPMA1001) son patógenas sobre larvas de IV y V instar, y adultos de *R. palmarum*. Estas cepas son promisorias para desarrollar investigaciones encaminadas al control de *R. palmarum* en plantaciones de palma de aceite.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a Colciencias quien a través del Programa de Jóvenes Investigadores e Innovadores apoyó esta investigación. También a Palmas Oleaginosas Bucarelia S.A. y a Palmeras de Yarima por el apoyo en el desarrollo de esta investigación; así como a Fedepalma-Fondo de Fomento Palmero.



Referencias bibliográficas

- Acosta, G. A. 1991. Pudrición del cogollo en palma de aceite: observaciones y manejo. Palmas (Colombia), 12 (2): 49-54.
- Aldana, R. C.; Aldana, J. A.; Moya, O. M. 2010a. Biología, hábitos y manejo de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae). Fedepalma-Cenipalma. Boletín Técnico 23, 54 p.
- Aldana, R. C.; Aldana, J. A.; Calvache, H.; Franco, P. N. 2010b. Manual de plagas de la palma de aceite en Colombia. Cuarta Edición. Convenio 0094 de 2009 Sena-Cenipalma. Bogotá, Colombia. 198 p.
- Barnett, H.; Hunter, B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. Burgess Publishing Company. Minneapolis. 218 p.
- Bustillo, A. E. 2002. Los hongos entomopatógenos en el control de insectos plagas. En: Cenicafé. Memorias Curso Internacional Teórico - Práctico. Sección I. Entomopatógenos de la broca del café, Chinchiná, Colombia, p. 1 - 53.
- Bustillo, A. E. 2005. El papel del control biológico en el manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Rev. Acad. Colomb. Cienc. 29 (110): 55-68.
- Butt, T.; Goettel, M. 2000. Bioassays of entomogenous fungi. p. 141-194. En: Navon, A.; Ascher, K. Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. CAB International. New York. USA. 315 p.
- Castrillón, C. 2000. Distribución de las especies de picudo del plátano y evaluación de entomopatógenos nativos en el departamento de Risaralda. Corpoica-Comité de Cafeteros de Risaralda-UMATA Departamento de Risaralda. Manizales. 72 p.
- Chinchilla, C. 1988. El síndrome del Anillo rojo-hoja pequeña en palma aceitera y cocotero. Oil Palm Operations (Costa Rica). Boletín Técnico, 4 (2): 125.

- Chase, A. R.; Osborne, L. S.; Ferguson, V. M. 1986. Selective isolation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (L.) from an artificial potting medium. Florida Entomologist 69 (2): 285 -292.
- Gerding, M.; France A.; Cisternas, E. 2000. Evaluacion de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* (L.) var. *anisopliae* sobre *Otiorhynchus sulcatus* Fab. (Coleoptera: Curculionidae). Agric. Téc. [online]. 2000 60 (3) 216-223. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072000000300002&lng=en&nrm=iso>. ISSN 0365-2807. doi: 10.4067/S0365-28072000000300002. [Fecha revisión: 15 diciembre 2011]
- Gindin, G.; Levski, S.; Glazer I.; Soroker, V. 2006. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* (L.) and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. Iran. Phytoparasitica 34 (4): 370-379. Disponible en: <http://www.iraqi-datepalms.net/uploadedfiles/entomopathogenic%20fungi.pdf>. [Fecha revisión: 25 agosto 2011]
- González, M.; Jiménez, A.; Bustillo, A. 2001. Incremento de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*, utilizando integumento del insecto en el medio de cultivo. Manejo Integrado de Plagas, 60: 31-35. Costa Rica.
- Griffith, R. 1987. Red ring disease of coconut palm. Plant Disease 71 (2): 193-196.
- Meissle, M.; Pilz, C.; Romeis, J. 2009. Susceptibility of *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (L.) when feeding on *Bacillus thuringiensis* Cry3Bb1-expressing maize. Austria. Applied and Environmental Microbiology. 75(12): 3937-3943. Disponible en: <http://aem.asm.org/cgi/reprint/75/12/3937>. [Fecha revisión: 10 octubre 2011].
- Motta, D.; Aldana, R. C.; Franco, P. N.; Rairán, N.; Calvache, H.; Salamanca, J. C. 2008. Anillo Rojo-Hoja corta. Cenipalma. Boletín Técnico 9. Tercera edición. 29 p.
- Muerle, T.; Neumann, P.; Dames, J. Hepburn, H.; Hill, M. 1999. Susceptibility of Adult *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) to Entomopathogenic Fungi. Revista Econ. Entomol. 99(1): 1-6. Disponible en: http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/sanidad/323_Aethinia_tumida_suceptibilidad_fungica.pdf [Fecha revisión: 10 diciembre 2011].
- Padilla G.; Bernal M.; Vélez P.; E.; Montoya C. 2000. Caracterización patogénica y morfológica de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (L.) obtenidos de diferentes órdenes insectiles. Cenicafé 51 (1): 28-40.
- Ramle, M.; Mohd Bashi, W.; Normand, K.; Ali, A. S. Hamind, N. 1999. Pathogenicity of four isolates of *Metarhizium anisopliae* (L.) on rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* and pollinating weevil, *Elaeidobius kamerunicus* and its DNA profiles revealed by RAPD-PCR. PORING, International Palm Oil Conference (Agriculture): 513-526.
- Roberts, D. W.; Humber, R. A. 1981. Entomogenous fungi. p. 201-236. En: Cole, G.T.; Kendrick, W. B. Biology of Conidial Fungi. Volume II. Academic Press, New York. 660 p.
- Sánchez-Potes, A. 1987. El Anillo rojo del cocotero y la palma aceitera en Colombia. Biología, hábitos, hospedantes, alternativas y vectores de su agente causal *Rhadinaphelenchus cocophilus*. En: Fedepalma. Foro sobre el Anillo rojo. Santa Marta (Colombia). 33 p.
- Valencia, S. 2004. Manual de prácticas de microbiología básica. Universidad Nacional de Colombia. Ed. Unibiblos, Bogotá, Colombia. 140 p.
- 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 17, Cenicafé, Colombia, 37 p.