

PATOGENICIDAD DEL HONGO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. SOBRE LA CHINCHE *Monalio dissimulatum* DISTANT PLAGA DEL CACAOTERO *Theobroma cacao* L.

John Montealegre R.*

Dora A. Rodriguez **

COMPENDIO

Ensayos previos con varias especies de hongos entomopatógenos sobre la chinche *Monalio dissimulatum* Distant (Hem.; Miridae) dieron prioridad al patógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Se evaluaron dos cepas de *B. bassiana* una procedente de *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) (Col; Curculionidae) (Bb T 011) y otra aislada de *M. dissimulatum* (Bb 012), a dosis crecientes de 1×10^6 , 2.5×10^8 , 5×10^8 , 7.5×10^8 y 1×10^9 conidias/ml. Todos los insectos tratados, independiente de su estado de desarrollo biológico, fueron susceptibles al ataque patogénico de las dos cepas. Para ambas cepas fungosas, la dosis a la cual se obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad significativa estuvo entre 2.5×10^8 y 7.5×10^8 conidias/ml, con mortalidades que variaron entre 33.75 - 49.75 y 43.75 - 62.5 para Bb T 011, 68.75 - 86.87 y 78.12 - 89.37 para Bb 012 al cabo de 10 y 15 días respectivamente. La cepa Bb 012 fue mas virulenta sobre *M. dissimulatum* que Bb T 011.

ABSTRACT

Previous test with several entomopathogenic fungus species on *Monalio dissimulatum* Distant bug (Hem. ; Miridae) gave priority to the pathogen *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Two *B. bassiana* strains were evaluated: one of them coming from *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) (Col.; Curculionidae) (Bb T 011) and the other isolated from *M. dissimulatum* (Bb 012), to 1×10^6 , 2.5×10^8 , 5×10^8 , 7.5×10^8 and 1×10^9 conidium/ml increasing dosage. All insects treated independently of its biological state of development were susceptibles to the pathogenic attack of the two strains. For both fungus strains the dosage at which a higher percentage of significant mortality was obtained ranged between 2.5×10^8 and 7.5×10^8 conidium/ml with mortalities that ranged between 33.75 - 49.75 and 43.75 - 62.5 for Bb T 011, 68.75 - 86.87 and 78.12 - 89.37 for Bb 012 in 10 and 15 days respectively.

1. INTRODUCCION

En Colombia, la "chinche de la mazorca" *Monalio dissimulatum* Distant (Hemiptera: Miridae) se considera como la plaga más limitante en la producción de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tanto ninfas (cinco estados) y adultos de esta chinche succionan la savia del endocarpio de las mazorcas, produciendo heridas que provocan el aborto de los frutos jóvenes;

los frutos grandes quedan expuestos al ataque de insectos perforadores y hongos fitopatógenos como *Phytophthora* sp. y *Monilophthora* sp (Figuroa, 1952 ; Bustos, 1977).

Los insecticidas químicos han sido el arma tradicional e indiscriminada para el control del insecto, lo cual causa perjuicios en los insectos benéficos, reguladores biológicos de la mayoría de plagas, y a los polinizadores, principal-

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia - Palmira.

** Instituto Colombiano Agropecuario ICA. A. A. 151123, Tibaitatá

mente dípteros ceratopogónidos del género *Forcipomyia* (Figueroa, 1983). En busca de alternativas de manejo que interfieran al mínimo con la fauna benéfica, se planteó el uso de hongos patógenos, agentes microbiales de gran perspectiva dentro del control integrado de plagas.

Probablemente, el primer registro a nivel mundial de hongos patógenos a insectos fue el de un ascomiceto del género *Cordyceps* en 1726 (Lipa, 1975). En 1835, Bassi de Lodi informa el Hyphomyceto *Beauveria Bassiana* (Balsamo) Vuillemin como agente causal de la "muscardina blanca" del gusano de seda *Bombyx mori* L. (Dunn y Mechalas, 1963; Steinhilber, 1967). En los años siguientes se registró gran número de hongos patógenos de insectos, pero la idea de utilizarlos contra las plagas agrícolas y pecuarias surgió años después con los trabajos de Pasteur y LeConte (Dunn y Mechalas, 1963).

En Colombia, *B. bassiana* se ha encontrado atacando a los lepidópteros *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Noctuidae), *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Pyrilidae); a los coleópteros curculiónidos *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier), *Cosmopolites sordidus* Germar y al himenóptero Vespidae *Polistes* sp (Rodríguez, 1984 a).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos probar la patogenicidad del hongo *Beauveria bassiana* en la chinche *Monalonion dissimulatum*, determinar la dosis y el tiempo óptimo con los cuales se obtiene el mayor porcentaje de mortalidad, aislar el patógeno de la población natural del insecto y comparar la patogenicidad de las dos cepas en condiciones de campo.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La investigación se realizó en ICA, Palmira Valle, a 1001 m. s. n. m.; precipitación y temperatura promedio anual de 1021.9 mm y 23.67°C respectivamente; humedad relativa del 76 o/o. Los ensayos se realizaron en lotes de cacao híbrido que oscilan entre los

10 y 12 años de edad, durante enero-septiembre de 1987; en estos lotes se realizaron todas las prácticas culturales convencionales a excepción del uso de insecticidas para el control de plagas.

Para reproducir el hongo en el laboratorio se utilizó el medio nutritivo Sabouraud dextrosa agar con extracto de levadura y semisintético (SS) (Navarro, 1983; Rodríguez, 1984b); la temperatura de incubación de las colonias fue 26 a 27°C, durante 10 días para obtener buena esporulación. Para los ensayos de campo, la multiplicación masiva de la cepa fungosa se realizó en arroz precocido de acuerdo con ensayos previos de multiplicación de la cepa efectuados en el ICA Tibaitatá Bogotá.

Basados en experiencias previas con *Monalonion dissimulatum* se trabajó en el campo. Para registrar la mortalidad, los insectos se confinaron en jaulas cilíndricas de 12 cm de diámetro y 23 cm de largo, forradas con anejo tipo mosquitero. En cada extremo lleva una manguilla de tela; una para sujetar la jaula al árbol y la otra para manipular los insectos.

Inicialmente, en un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones y dos mazorcas por repetición, con 25 insectos cada una, se evaluaron tres cepas entomopatogénicas: T006 y T011 de *B. bassiana* y T001 de *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorokin aisladas de los coleópteros *Cosmopolites sordidus* (German), *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) y *Ancognatha* sp. respectivamente en dosis de 200×10^6 conidias/ml de agua y un testigo al cual se aplicó agua destilada. En vista de los resultados, se decidió utilizar la cepa *B. bassiana* (Bb) T011, para el ensayo de dosis patogénicas.

En el ensayo "dosis patogénicas de Bb T011" se utilizó un diseño de bloques al azar con cuatro bloques, empleando mazorcas grandes y sanas como unidades experimentales en cada repetición*; en cada una se colocaron 20 ninfas

* Dos criterios de clasificación (tratamientos y bloques) con interacción, para lo cual se emplearon dos repeticiones por tratamiento dentro de cada bloque.

que oscilaban entre el segundo y quinto instar. Se evaluaron cinco dosis (1, 250, 500, 750 y 1000 millones de conidias/ml) usando un segundo reaislamiento a partir de adultos y ninfas de *Monalonia*.

Las mazorcas se escogieron y se rotularon dentro del cacaotal (una por árbol), formando los bloques entre árboles cercanos; los seis tratamientos se sortearon a los grupos de 12 árboles (1 a 12, 13 a 24, 25 a 32 y 33 a 48), correspondientes al número de mazorcas utilizadas por bloque. Las aspersiones de la suspensión de conidias en las mazorcas con los insectos, se hicieron con 25 cm³/mazorca del líquido a la concentración requerida, usando atomizadores manuales y agitando continuamente; no se quitaron las jaulas de las mazorcas en el momento de la aplicación para no causar daño a los insectos.

Las lecturas de porcentaje de mortalidad diaria se tomaron durante 15 días. Los insectos muertos se recolectaron diariamente para mantenerlos en el laboratorio en condiciones de alta humedad relativa con el fin de constatar la mortalidad por micosis. Los datos de porcentaje de mortalidad por micosis acumulada durante 10 y 15 días, se analizaron estadísticamente por medio del análisis de varianza y prueba de Duncan.

Se aisló otra cepa de *B. bassiana*, 012, de una ninfa de cuarto estado de desarrollo encontrada en condiciones naturales, en otro lote donde no se había hecho tratamientos con el hongo. Como el crecimiento y esporulación en medio Sabouraud fue más rápido que el de la cepa Bb T 011, fue más fácil la obtención de una alta concentración de conidias y menor el tiempo de incubación de la colonia. Por tanto, se realizó un ensayo igual a Bb T 011, con el fin de comparar los resultados de mortalidad teniendo en cuenta la rapidéz de desarrollo de las colonias.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Con las cepas *B. bassiana* T006 y T 011 y *M. anisopliae* T001 se obtuvo una mortali-

dad micótica de 54, 90 y 77 o/o respectivamente a los 10 días de observación; en el testigo la mortalidad fue del 15 o/o, debido a posible contaminación. El análisis de varianza mostró que la mortalidad fue producto de los tratamientos (Probabilidad 1 o/o). La prueba de Duncan mostró diferencias significativas entre todos los tratamientos; no obstante, la cepa más patogénica fue Bb T 011 y por ende seleccionada para continuar los ensayos.

De otra parte el bloqueo por vecindad de árboles fue significativo (probabilidad 5 o/o), lo cual puede explicarse en parte por el efecto del sombrero en el microclima u otros factores que puedan afectar ya sea la resistencia del huésped o la patogenicidad del microorganismo (Steinhaus, 1967).

Según las curvas de mortalidad por micosis, los hongos Bb T 011 y Ma T001 mostraron mayor grado de patogenicidad para *M. dissimulatum* (Fig. 1). Las cepas Bb T 006 y Bb T 011 mostraron diferencias en cuanto a la actividad patogénica. Algunos autores trabajando con biotipos del mismo hongo en diferentes insectos, concluyen que el efecto de las diversas cepas de hongos entomopatógenos sobre sus huéspedes depende de su grado de virulencia (Fargues, 1972; Doberski, 1981). Este aspecto es importante para la selección de cepas virulentas para la plaga que se desee controlar. El tiempo en que ocurrió la mayor mortalidad con cada cepa fue de cinco a seis días (Fig. 2).

En el ensayo de dosis patogénicas con *B. bassiana* T011 se encontraron diferencias altamente significativas en la mortalidad acumulada a los 10 y 15 días (1×10^6 conidias/ml = 21.25 y 35 o/o, 2.5×10^8 = 33.75 y 43.75 o/o, 5×10^8 = 43.12 y 55.62 o/o, 7.5×10^8 = 49.75 y 62.5 o/o, 1×10^9 = 52.5 y 65.62 o/o), lo cual demuestra el efecto del patógeno en las diferentes dosis evaluadas sobre ninfas y adultos de *M. dissimulatum*.

Transcurridos los primeros 10 días, para evitar muertes de los insectos por inanición observadas en el primer ensayo, se trasladaron

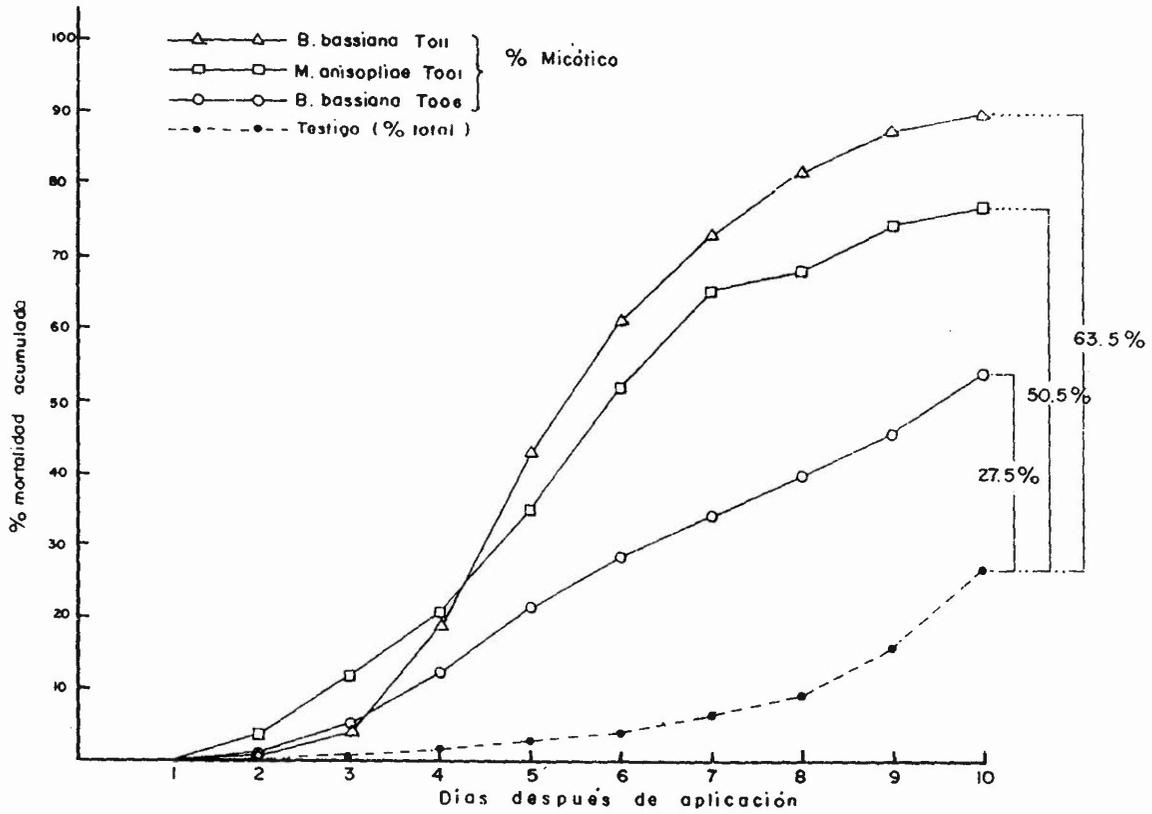


Fig. 1. Comportamiento letal de cepas fungosas entomopatógenas sobre *M. dissimulatum*

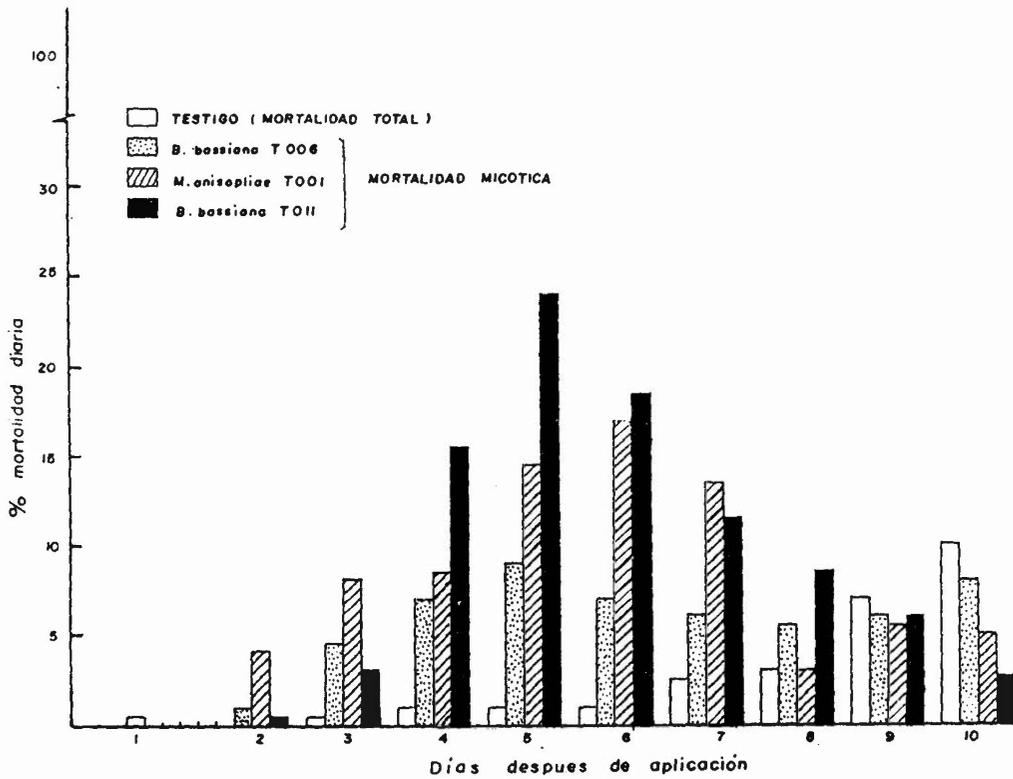


Fig. 2. Variación en la mortalidad diaria de *M. dissimulatum*, con los diferentes tratamientos.

los insectos del testigo por el necrosamiento de las mazorcas al alimentarse las chinches. Esta causa de muerte, junto con la pérdida de resistencia del insecto al final de su ciclo biológico (Ferron, 1978) y lesiones de adultos al volar dentro de las jaulas posiblemente hizo que el porcentaje de mortalidad diaria se incrementara a partir del día trece en las dosis más bajas (Fig. 3); en las dosis más altas no se apreció este fenómeno posiblemente porque los insectos disponían aún de alimento y la competencia entre estos fue menor (la mayoría de insectos murió en los primeros 10 días).

Existió dependencia del porcentaje de mortalidad de la dosis del inóculo (Fig. 3); la mayor mortalidad (52.5 y 65.62 o/o acumulada en 10 y 15 días respectivamente) se registró con la dosis más alta y fue disminuyendo a medida que la concentración del inóculo se redujo, lo cual está de acuerdo con los trabajos de Dunn y Mechalas (1963), Fargues y Remaudiere (1977) y Barson (1977). La mayor mortalidad se obtuvo en los primeros 10 días (Fig. 4). De otra parte, la mortalidad en 10 días a la dosis de 2.5×10^8 (33.75 o/o) fue muy baja comparada con el 90 o/o obtenido en el primer ensayo, en el mismo tiempo y a la dosis de 2×10^8 conidias/ml. Según la prueba de Duncan, para los datos de mortalidad obtenidos tanto en 10 como en 15 días, la dosis a la cual se obtuvo mayor mortalidad significativa sobre *M. dissimulatum* estuvo entre 2.5×10^8 y 7.5×10^8 conidias/ml de suspensión.

La cepa *B. bassiana* 012 mostró alta patogenicidad después de pasarla dos veces por su huésped, lo cual se observó en los porcentajes de mortalidad obtenidos a las diferentes dosis ($1 \times 10^6 = 12.5$ y 18.12 o/o, $2.5 \times 10^8 = 68.75$ y 78.12 o/o, $5 \times 10^8 = 81.25$ y 86.87 o/o, $7.5 \times 10^8 = 86.87$ y 89.37 o/o, $1 \times 10^9 = 86.87$ y 90.62 o/o de mortalidad acumulada a los 10 y 15 días respectivamente); según el análisis de varianza, estos porcentajes de mortalidad sobre *Monalonion* fueron producto de la aplicación fungosa y no efecto del azar (probabilidad 1 o/o). La mayoría de insectos sucumbieron en los primeros siete días

del tratamiento (Fig. 5). De nuevo, la dosis que causó mayor mortalidad significativa de *M. dissimulatum* en los dos períodos (10 y 15 días) estuvo en el rango 2.5×10^8 y 7.5×10^8 conidias/ml; no hay que olvidar que esta cepa se mostró más específica en su patogenicidad sobre su hospedero original (*Monalonion*) que *B. bassiana* T011 aislada de *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) (Col.; Curculionidae). No obstante, algunas razas fungosas entomopatogénicas pueden ser más virulentas en especies diferentes de su hospedero original (Rombach y otros, 1986).

En este trabajo se comprobó, que independientemente del estado de desarrollo biológico del insecto y de la cantidad del inóculo, la mortalidad sobre *M. dissimulatum* apareció después de un período (2 - 3 días) de incubación de la enfermedad (Figs. 2, 4 y 6) y cuya variación dependió de la virulencia de la cepa; la mortalidad máxima se presentó entre el cuarto y quinto día después del tratamiento. Siendo el período de duración de los estados ninfales del insecto cuatro días en promedio, la mortalidad de la mayoría de chinches es diferida en el transcurso de los estados de desarrollo siguientes. Lo anterior corrobora el trabajo de Fargues y Rodríguez (1980) quienes encontraron resultados similares al estudiar la sensibilidad de larvas de *Spodoptera littoralis* Bois a dosis crecientes de esporas de *Nomuraea rileyi* (F.) Samson.

Mucho se ha discutido sobre los factores abióticos que influyen sobre la relación patógeno-hospedero. La temperatura permisible para la germinación de conidias de *B. bassiana* varía entre 0 y 40°C (Schairffemberg, citado por Barson, 1977) y para su crecimiento entre 20 y 30°C (Robert y Yendol, 1971); Ferron (1977) concluyó que la infección de *B. bassiana* sobre *Acanthoscelides obtectus* (Col.; Bruchidae) fue independiente de la humedad relativa. Con base en lo anterior, se concluyó que la información obtenida a través de los ensayos realizados puede deberse al efecto directo de los tratamientos (cepas fungosas a diferentes dosis de conidias/ml) y no a factores ajenos.

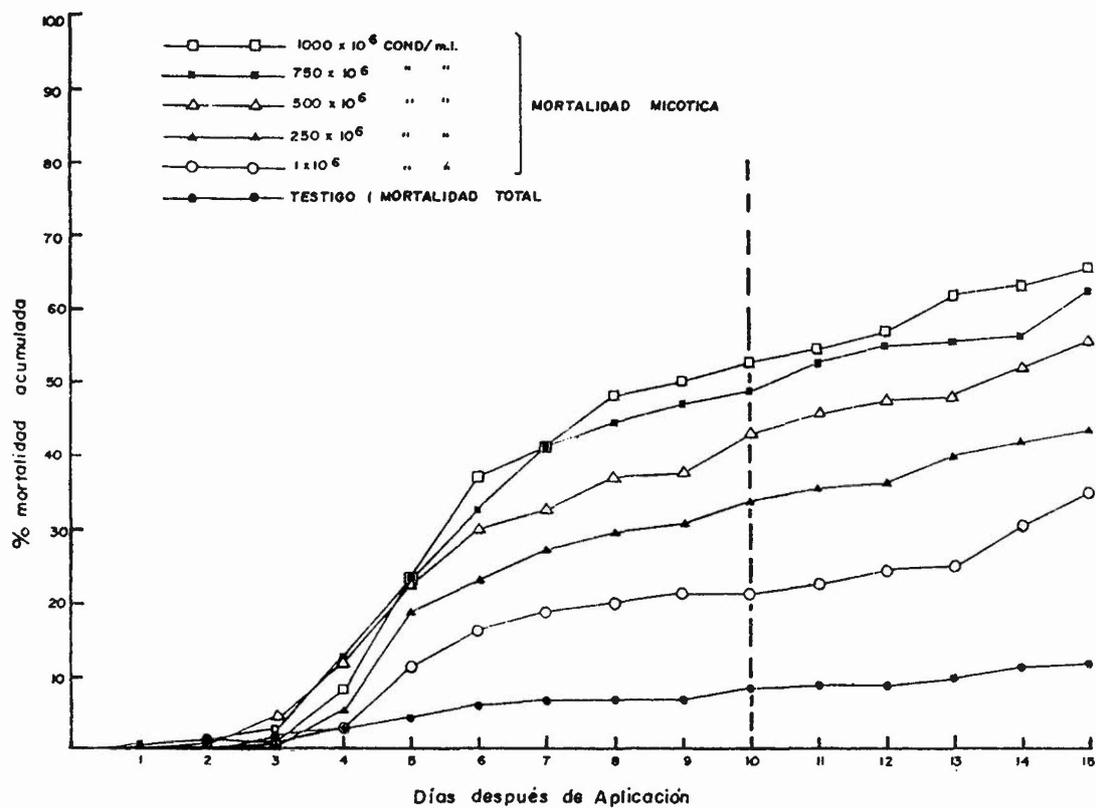


Fig. 3. Comportamiento entomopatogénico de *B. bassiana* (T 011) sobre *M. dissimulatum*, a diferentes dosis.

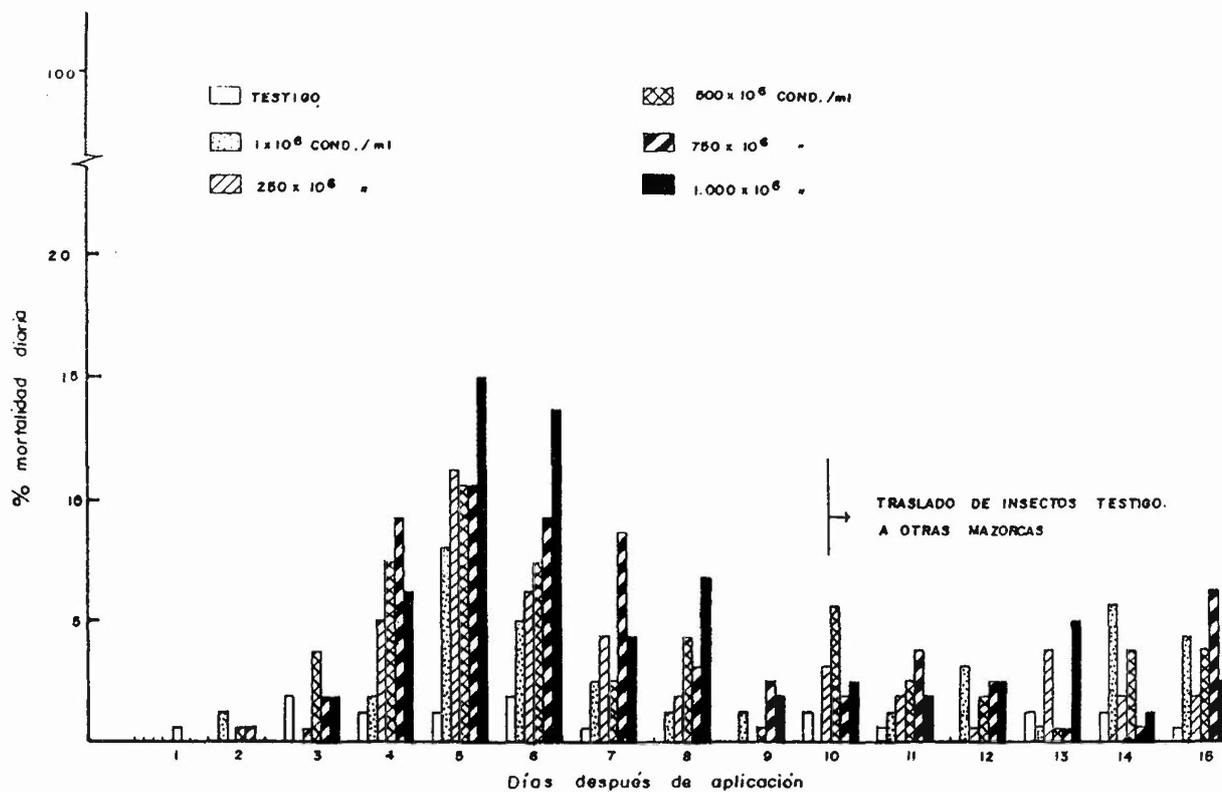


Fig. 4. Variación diaria en la patogenicidad de *B. bassiana* T 011 sobre *M. dissimulatum* (o/o mortalidad micótica).

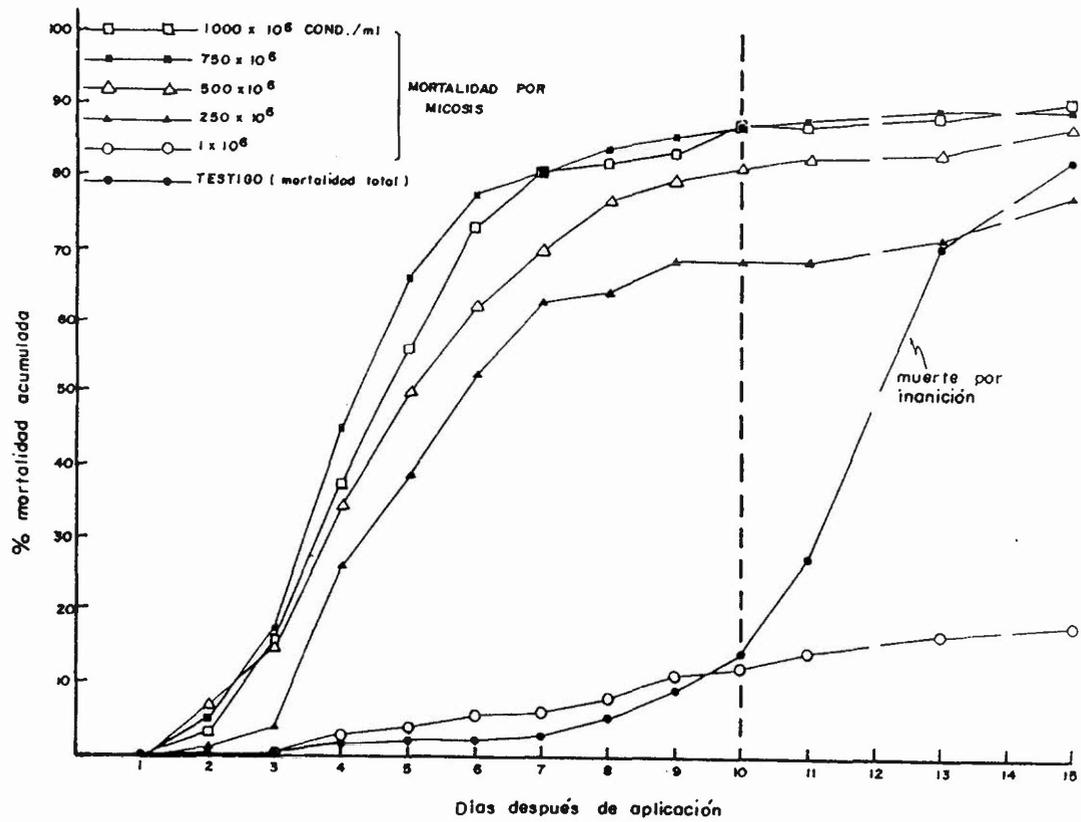


Fig. 5. Patogenicidad de *B. bassiana* 012 sobre ninfas y adultos de *M. dissimulatum*, a diferentes dosis.

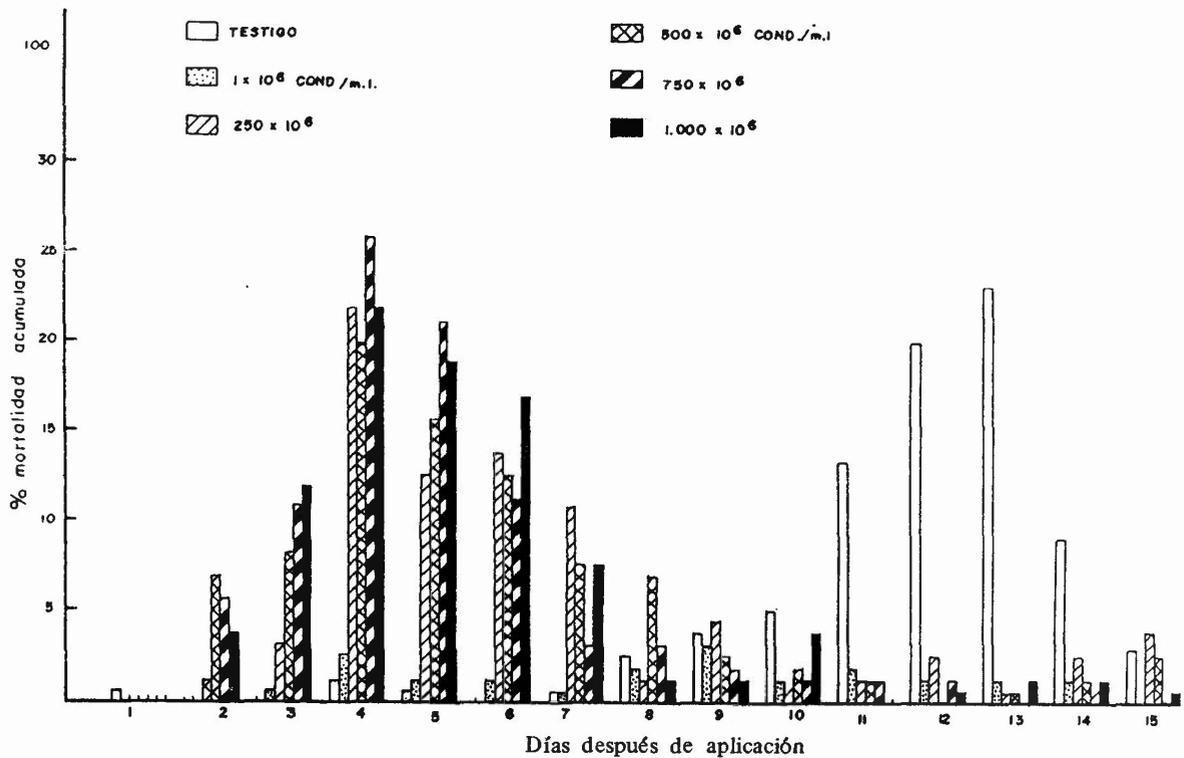


Fig. 6. Variación diaria en la patogenicidad de *B. bassiana* 012 sobre *M. dissimulatum* a diferentes concentraciones.

4. CONCLUSIONES

- 4.1. La chinche *Monalonia dissimulatum* Distant (Hem.; Miridae) es altamente susceptible al efecto entomopatogénico del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, independiente del estado de desarrollo en el cual se encuentre al momento de la aplicación.
- 4.2. Existe un período de incubación de la enfermedad fungosa dentro del insecto, presentando mayor efecto letal entre cuatro y seis días.
- 4.3. La cepa entomopatogénica *B. bassiana* 012 aislada de *Monalonia dissimulatum* en ICA Palmira, es más específica por su virulencia sobre la chinche *M. dissimulatum* que la cepa *B. bassiana* T011 aislada en Tibaitatá y proveniente de *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) (Col; Curculionidae).
- 4.4. La dosis óptima de *B. bassiana* necesaria para causar el mayor porcentaje de mortalidad en la chinche *M. dissimulatum* se encontró entre 2.5×10^8 y 7.5×10^8 conidias por mililitro de suspensión.

5. BIBLIOGRAFIA

1. BARSON, G. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* as a pathogen of the larval stage of the large Elm Bark beetle *Scolytus scolytus*. *Journal of Invertebrate Pathology* (EE. UU.), vol. 29, n. 3, p. 361-366. 1977.
2. BUSTOS, C. Fluctuación de la población de *Monalonia dissimulatum* Distant (Hemiptera: Miridae) enemigos naturales en cacao (*Theobroma cacao* L.) en el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP - ICA) Palmira. Tesis Ing. Agr. Palmira; Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1973. 63 p.
3. DOBERSKI, J.W. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the Elm Bark beetle *Scolytus scolytus*: pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus* to larvae and adults of *S. scolytus*. *Journal of Invertebrate Pathology* (Estados Unidos), vol. 37, n. 2, p. 188 - 194. 1981.
4. DUNN, P.H.; MECHALAS, B.J. The potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as a microbial insecticide. *Journal of Insect Pathology* (Estados Unidos), vol. 5, p. 451-459. 1963.
5. FARGUES, J. Etude des conditions d'infection des larves de doryphore *Leptinotarsa decemlineata* Say par *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. (Fungal Imperfecti). *Entomophaga* (Francia), Vol. 17, p. 319 - 337. 1972.
6. FARGUES, J.; REMAUDIERE, G. Considerations on the specificity of entomopathogenic fungi. *Mycopathologia* (Francia), vol. 62, n. 1, p. 31-37. 1977.
7. FARGUES, J.; RODRIGUEZ, D.A. Sensibilité des larves de *Spodoptera littoralis* (Lep.: Noctuidae) aux Hyphomycetes entomopathogenes *Nomuraea rileyi* et *Paecilomyces fumosus*. *Entomophaga* (Francia), vol. 25, n. 1, p. 43 - 54. 1980.
8. FERRON, P. Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (fungi imperfecti, Moniliales) in imagines of *Acanthoscelides obtectus* (Col.; Bruchidae). *Entomophaga* (Francia), vol. 22, n. 4, p. 393-396. 1977.
9. ————. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Annual review of Entomology* (Estados Unidos), vol. 23, p. 409 - 442. 1978.
10. FIGUEROA P, A. *Monalonia* sp. plaga importante en el Valle del Cauca Colombia. *Acta Agronómica* (Colombia), vol. 2, n. 4, p. 183-193. 1952.
11. FIGUEROA C, M. Dinámica e incidencia de *Forcipomyia* spp. (Diptera: Ceratoponidae) en la polinización de cacao *Theobroma cacao* L. en Palmira, Valle. Tesis Ing. Agr. Palmira, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1983. 90 p.
12. LIPA, J.J. An outline of insect pathology. Trad. Halina Markiewicz. Washington, USDA-NSF, 1975. 269 p.

13. NAVARRO, R. Técnicas de laboratorio y medios de cultivo para el aislamiento de hongos y bacterias patógenos de insectos. En: Seminario sobre patologías de insectos, Medellín, Mayo 11, 1984. Medellín, SOCOLEN, 1984. p.149-157.
14. RODRIGUEZ, D. A. Hongos entomopatógenos en Colombia. Revista Colombiana de Entomología, vol. 10, n. 1/2, p. 57-64. 1984 (a).
15. ————. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de hongos entomopatógenos y cría de insectos. En: Seminario sobre patología de insectos, Medellín, Mayo 11 de 1984. Medellín, SOCOLEN, 1984 (b). p.95 - 107.
16. ROBERTS, D. W.; YENDOL, W. G. Use of fungi for microbial control on insects. En: BURGESS, H. D.; HUSSEY, N. W. Microbial control of insects and mites. London, Academic, 1971. p. 125 - 149.
17. ROMBACH, M. C.; AGUDA, R. M.; SHEPARD, B. M.; ROBERTS, D. W. Infection of rice brown planthoper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) by field application of entomopathogenic Hyphomycetes (Deuteromycotina). Environmental Entomology (Estados Unidos), vol. 15, n. 5, p. 1070-1073. 1986.
18. STEINHAUS, E. A. Principles of insects pathology. New York, Hafner, 1967. 757 p.