

PORTE PAGADO

PERMISO DE ADPOSTAL.

No. 93

SANTAFÉ DE BOGOTÁ, COLOMBIA

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

ISSN-0120-0488

PUBLICACION OFICIAL DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

VOLUMEN 19

Arpeluparthe Joo de la Cruz

NUMERO 4

OCTUBRE-DICIEMBRE 1993



REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

PUBLICACION OFICIAL DE LA
SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

Vol. 19

No. 4

Octubre-Diciembre 1993



Portada:
"Mariposeando"
Fotografía:
Jorge Alberto Aldana

Estos son nuestros servicios ¡utilícelos!

- Servicio de correo ordinario • Servicio de correo certificado • Servicio de certificado especial • Servicio encomiendas aseguradas • Encomiendas contra reembolso • Servicio cartas aseguradas • Servicio de filatelia • Servicio de giros • Servicio electrónico burofax • Servicio internacional APR/SAL • Servicio CORRA • Servicio respuesta comercial • Servicio tarifa postal reducida • Servicios especiales.

Teléfonos para quejas y reclamos 334 03 04 - 341 55 36 Bogotá

**Correos
de Colombia**



Adpostal

**Cuenta con nosotros
Hay que creer en los Correos de Colombia**

JUNTA DIRECTIVA SOCOLEN

Presidente

Aristóbulo López-Avila

Visepresidente

Alfredo Acosta Gómez

Secretaria

Judith Sarmiento Camargo

Tesorero

Hugo Calvache Guerrero

Revisor Fiscal

Jorge García Becerra

Vocales

Principales

Rubén Restrepo Mejía
Miguel Benavides Rosero
Emilio Luque Zabaleta

Suplentes

Iván Zuluaga Cardona
Dora Alba Rodríguez S.
Raul Pardo Puentes



Editor Director

Lázaro Posada Ochoa

Comité Editor

Juan Raigosa B.
Raul Velez A.
Hugo Calvache G.
Emilio Luque Z.
Rubén Restrepo M.
Dora A. Rodríguez S.

Diagramación Electrónica e impresión
IMAGEN arte & video

Tiraje

1.000 ejemplares

Licencia MinGobierno

002274/81

Permiso Adpostal

3208

Tarifa Postal Reducida para Libros y Revistas
239 de Adpostal

Permiso Porte Pagado

No. 093 de Adpostal

Nota:

Socolén no se responsabiliza por las ideas emitidas por los autores

Sociedad Colombiana de Entomología
Apartado Aéreo No. 43672
Santafé de Bogotá, Colombia

CONTENIDO

Ciclo de vida y hábitos de *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) (Hymenoptera: Braconidae)

Guillermo A. León M.
Ana Lucía Erazo G.

113

Biología del gusano de seda, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae)

J. Alonso Alvarez R.

119

Bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari)

María Teresa González G.
Francisco J. Posada F.
Alex E. Bustillo P.

123

Resistencia enzimática a insecticidas en larvas de *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae)

Edison Valencia
Cecilia Plata
Carlos Corredor
César Cardona

131

Cultivos trampa para el control del cañero del tabaco, *Faustinus apicalis* (Faust) (Coleoptera: Curculionidae)

Alberto Soto Giraldo

139

Fauna de hormigas asociadas con forrajes tropicales y su implicación como depredadoras de huevos y ninfas de L. salivazo de los pastos, *Aeneolamia* spp.

Claudia Alejandra Medina
Stephen L. Lapointe
Patricia Chacón

143

Estudio sobre la compatibilidad del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. con formulaciones comerciales de fungicidas e insecticidas

Armando Rivera Malo

151

Evaluación de una metodología para la cría masiva de *Bracon kirkpatricki* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae)

Ana Milena Astudillo M.
Héctor A. Vargas G.
Jades Jiménez V.

159

Ciclo de vida de *Lincus tumidifrons* Rolston (Hemiptera: Pentatomidae), vector de la marchitez sorpresiva de la palma de aceite

Fanny Alvañil Alvarez

167

CICLO DE VIDA Y HÁBITOS DE *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) (Hymenoptera: Braconidae)

LIFE CICLE AND HABITS OF *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) (Hymenoptera: Braconidae)

Guillermo A. León M.
Ana Lucía Erazo G.

RESUMEN

Se estudió el ciclo de vida y los hábitos de *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) y se elaboró una tabla de fertilidad. El estudio se realizó bajo las condiciones ambientales del laboratorio de Entomología del ICA en el Centro de Investigaciones "Palmira" (T=24°C; H.R.=73%), utilizado como huésped del parasitoide larvas de *Ephestia kuehniella* (Zeller). La duración del huevo fue de 0,98 días; la larva del parasitoide pasa por cinco instares y su duración total fue de 6,7 días; las pupas macho y hembra duraron, en promedio, 4,49 y 4,56 días, respectivamente. Los adultos hembras duraron en promedio 29,4 días y los machos 27,8 días. El período de preoviposición fue de 2,5 días y el de oviposición de 15 días. La fecundidad total fue de 38,6 huevos por hembra, con un promedio de 1,4 huevos diarios. El tiempo hasta el 50% de mortalidad de la población fue de 25 días.

Palabras claves: *Bracon kirkpatricki*, Ciclo de vida, Parasitoides, Control biológico.

SUMMARY

The life cycle and habits of *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) were studied and a fertility table was constructed. The studies were conducted at the ICA Entomology laboratory in Palmira (T=24°C; R.H.=73%). The hosts utilized to rear the parasitoid were larvae of *Ephestia kuehniella* (Zeller). The incubation period was 23.5 hours; the larvae showed five instars and a total duration of 6.7 days; the pupal period averaged 4.49 and 4.56 days for male and female, respectively. Adult females lived an average of 29.4 days and males 27.8 days. Preoviposition period was 2.5 days and oviposition period was 15 days. Total fecundity was 38.6 eggs per female with an average of 1.4 eggs per day. Time until 50% death of the population was 25 days.

Key words: *Bracon kirkpatricki*, Life cycle, Parasitoids, Biological control.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales causas que limitan la producción en el cultivo del algodón es la presencia de insectos plagas, porque estas disminuyen los rendimientos y aumentan los costos cuando es necesario tomar medidas de control.

El *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) (Hymenoptera: Braconidae) es uno de los componentes importantes del manejo integrado de plagas del algodón y se presenta como una solución biológica adecuada, ya que parasita al picudo del algodón, *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae), al gusano rosado de la India, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), al gusano rosado colombiano, *Sacadodes pyralis* (Dyar) (Lepidoptera: Noctuidae) y, en menor grado, al gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Adams et al. 1969; Cross et al. 1969), plagas que ocasionan daños graves al cultivo al afectar directamente las estructuras reproductivas.

La cría masiva de *B. kirkpatricki* y su posterior liberación en el campo ha sido empleada en varios países, obteniéndose resultados favorables y destacándose como uno de los principales agentes de control biológico de las plagas del algodón.

Por ser un insecto originario de las regiones tropicales del África (Bryan et al. 1969; Cross et al. 1969; Engroff y Watson 1975) y ante la necesidad de conocer los aspectos fundamentales para su cría masiva bajo las condicio-

nes de Colombia, se adelantaron investigaciones referentes a su biología y hábitos, lo cual constituyó el principal objetivo de este trabajo.

El *B. kirkpatricki* fue descrito y registrado por Wilkinson en 1927 como parasitoide de *P. gossypiella* y de otras 11 especies de lepidópteros (Cross et al. 1969), y posteriormente fue distribuido como agente de control biológico a Egipto, Islas Barbados y los Estados Unidos (Bryan et al. 1969; Engroff y Watson 1975; Luna 1975).

A los Estados Unidos fue introducido por el USDA en 1935 y se utilizó en programas de control biológico, especialmente para el manejo de *P. gossypiella* y *A. grandis*, presentando buenos resultados cuando se liberó al iniciarse el período de floración. En 1966 se registraron niveles de parasitismo superiores al 85% sobre *A. grandis*, cuando se liberaron entre 2.000 y 6.000 individuos por acre (Cross et al. 1969; USDA 1978).

En México, su introducción se realizó en 1972 para ser producido masivamente y liberado en el campo; durante las primeras liberaciones, en Hermosillo, se encontraron porcentajes de parasitismo entre el 22 y el 36% sobre larvas de *P. gossypiella* y *A. grandis* recolectadas en el campo (Luna 1975; Morales 1975); posteriormente, en Oaxaca, controló poblaciones de *A. grandis* en un 40% (Aquino 1984).

En relación con el ciclo de vida del parasitoide, Aquino (1984) y Montañón (1984) señalan que la duración del huevo es de 24 horas en promedio, pudiendo disminuir hasta 18 horas

I.A. Sección Entomología - ICA, Centro de Investigaciones "Palmira", A.A. 233. Palmira, Colombia y Estudiante de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia, respectivamente.

cuando la temperatura alcanza 31°C; las larvas pasan por cinco instares y la duración promedio de cada instar es de 2 a 3 días.

Folsom, citado por Cross et al. (1969), presenta el siguiente ciclo de vida de *B. kirkpatricki*: huevo 18 a 19 horas; larva 51 a 88 horas, pasando por cuatro instares; prepupa 2 a 3 días y pupa de 3 a 6 días. Según el mismo autor, el estado adulto puede durar más de 40 días y las hembras pueden colocar, en promedio, hasta 4 huevos diarios. El número de huevos colocados por hembra varió entre 57 y 175, con promedio de 132, y observó que la oviposición se incrementa con una temperatura promedio de 21°C. Ponce (1986) afirma que *B. kirkpatricki* pasa por tres instares larvales.

Bryan et al. (1969) señalan que la relación de sexos es variable en *B. kirkpatricki* y que las hembras no copuladas producen sólo machos, definiendo esta clase de reproducción como partenogénesis facultativa del tipo arrenotoquia.

En la elección del huésped para la reproducción masiva de *B. kirkpatricki* se deben tener en cuenta, entre otros factores, la facilidad de cría en el laboratorio y el porcentaje de recuperación de adultos del parasitoide; en este sentido, *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) presenta ventajas en comparación con otros huéspedes probados como *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae), *A. grandis* y *S. frugiperda*; por lo tanto *E. kuehniella* puede ser empleado como huésped para la cría masiva de *B. kirkpatricki* (Bryan et al. 1969; Luna 1976; Montaña 1984; Morales 1975).

MATERIALES Y MÉTODOS

En el laboratorio de Entomología del Centro de Investigación "Palmira", en Palmira (Valle), con temperatura promedio de 24°C y una humedad relativa del 73%, se estableció una cría de *B. kirkpatricki*, utilizando como

huésped larvas de *E. kuehniella* alimentadas con maíz molido, dentro de cajas mantequilleras plásticas.

Para los estudios biológicos del parasitoide se aislaron 40 parejas de adultos recién nacidos del parasitoide en sendos vasos plásticos diseñados para tal fin.

Cada 24 horas se expusieron a la parasitación dos larvas de *E. kuehniella* por cada pareja de *B. kirkpatricki*; durante todo el período de vida de los adultos del parasitoide se efectuaron conteos del número de huevos colocados diariamente y se hicieron las anotaciones correspondientes para cada una de las 40 parejas del estudio; con dichas observaciones se logró determinar la duración del período de preoviposición, el número de huevos depositados por día, el total de huevos por hembra, la duración del período de oviposición y la longevidad de los adultos. Las posturas se observaron hasta el nacimiento de las larvas con el fin de determinar el porcentaje de eclosión. Simultáneamente, se hicieron observaciones referentes a los hábitos del parasitoide en todas sus etapas de desarrollo.

Con el fin de realizar las mediciones y observaciones de los estados inmaduros, se aislaron individualmente, en cajas de petri, 30 huevos del parasitoide recién ovipositados sobre larvas de *E. kuehniella*; estas cajas se numeraron y marcaron para facilitar el seguimiento diario a cada uno de los huevos y posteriormente de las larvas resultantes.

Con la ayuda del microscopio estereoscópico se observaron las características morfológicas y se midió el tamaño de los huevos; en el estado larval se hicieron mediciones del largo y ancho de la cápsula cefálica correspondiente a cada muda; se registró el número de mudas, la duración de cada instar y el tiempo total del estado larval; simultáneamente, se establecieron las características más relevantes de la larva en cada instar. También se hicieron observaciones sobre la prepupa; y

para la pupa se registraron las características morfológicas y la duración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El *B. kirkpatricki* es un ectoparásito con metamorfosis completa que pasa por cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto.

Huevo. Los huevos son depositados sobre o cerca del huésped y cada hembra puede colocar uno o más huevos por larva del huésped (Fig. 1). Los huevos son alargados, de color blanco traslúcido y de consistencia blanda; presentan una pequeña curvatura y se ensanchan gradualmente. El corion es liso, delgado y transparente (Fig. 2). El largo de los huevos osciló entre 0,7 y 0,9 mm con un ancho de 0,15 y 0,20 mm (Tabla 1). El período de incubación fue de 23,5 horas (Tabla 2). Antes de la eclosión se puede observar, a través del corion, la larva completamente formada, con la cabeza y las mandíbulas bien definidas.

Larva. La larva se desarrolla en forma solitaria o gregaria fuera del huésped (Fig. 3); en este estudio pasó por cinco instares, lo cual concuerda con lo indicado por algunos autores (Aquino 1984; Montaña 1984), pero contradice lo afirmado por Ponce (1986). Las larvas recién nacidas son de color blanco traslúcido y a medida que se desarrollan toman una coloración crema similar a la del huésped. Son apodas y tienen 13 segmentos bien diferenciados, sin incluir la cabeza.

En el primer instar larval posee setas sensoriales en los espacios intersegmentales de su parte costal; la cabeza es casi cuadrada, con un par de mandíbulas esclerotizadas bien desarrolladas en forma de hoz; además presenta un apéndice caudal, razón por la cual este instar se define como mandibulado-caudado. La larva tuvo una longitud promedio de 0,71 mm por 0,17 mm en su parte más ancha (Tabla 1). La cápsula cefálica midió, en promedio, 0,129 mm de longitud por 0,148 mm de ancho (Tabla 1). La

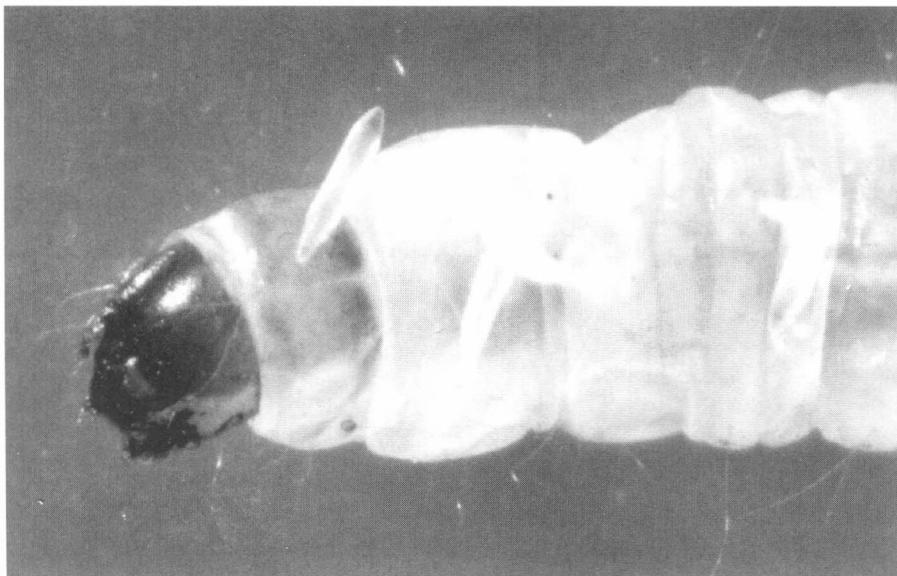


Figura 1. Huevos de *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) sobre una larva de *Ephestia kuehniella* (Zeller).

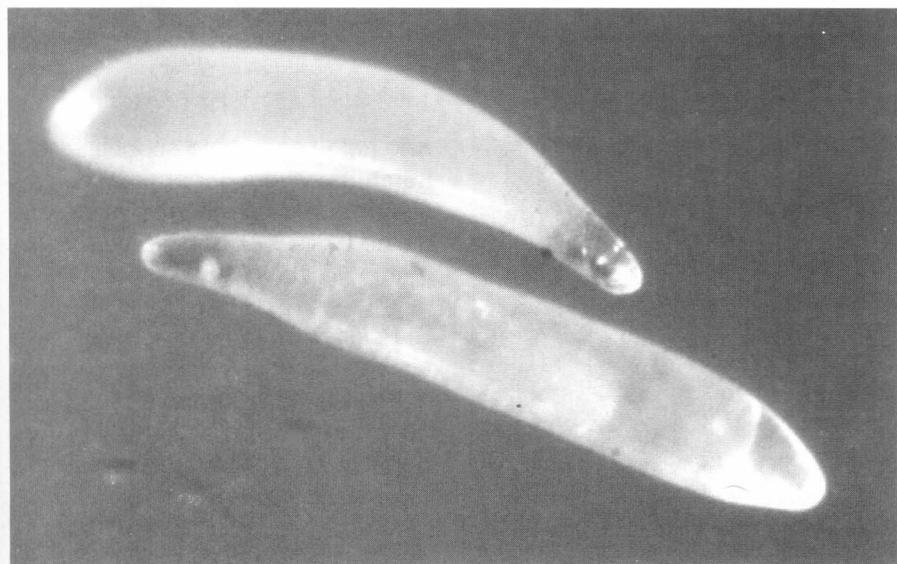


Figura 2. Huevos de *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson).

duración de este instar fue en promedio de 0,81 días (Tabla 2).

A partir del segundo instar, el apéndice caudal empieza a desaparecer y la larva se define como del tipo himenopteriforme; posee una cabeza redondeada y carnosa con mandíbulas bien definidas; el color del cuerpo es blanco cremoso y carece de setas sensoriales; en este instar, la larva alcanzó, en promedio, 0,97 mm de longitud y 0,26 mm en su parte más ancha, con

una cápsula cefálica de 0,141 mm de longitud y 0,165 mm de ancho (Tabla 1). Este instar tuvo una duración de 0,94 días en promedio (Tabla 2).

El tercer instar es similar al segundo en forma y tipo de larva, pero es de mayor tamaño; el cuerpo es más robusto y los apéndices bucales están bien esclerotizados, por lo cual se hacen más visibles; el apéndice caudal se reduce a una pequeña protuberancia; el cuerpo toma una forma

curvada y presenta manchas claras laterales que corresponden a los espiráculos. La larva de este instar, completamente desarrollada midió, en promedio, 1,49 mm de largo por 0,48 mm en su parte más ancha. La cápsula cefálica midió 0,162 mm de longitud por 0,182 mm de ancho (Tabla 1). La duración de este instar fue de 0,30 días, en promedio (Tabla 2).

En el cuarto instar, la larva conserva las características del estado anterior y midió, en promedio, 2,10 mm de longitud por 0,7 mm de ancho, con una cápsula cefálica de 0,230 y 0,294 mm de longitud y ancho, respectivamente (Tabla 1). Este instar duró, en promedio, 0,69 días.

El quinto instar larval comprende dos fases de desarrollo: la primera antes de excretar por única vez los desechos llamados meconio, y la segunda después de ello, con lo cual se inicia el último período larval denominado prepupa, durante el cual teje el cocoon de empupamiento. La larva de 5o. instar, bien desarrollada, alcanzó, en promedio, 3,7 mm de longitud por 1,3 mm en su parte más ancha. La cápsula cefálica midió, en promedio, 0,317 mm de longitud por 0,358 mm de ancho. La duración de este instar fue en promedio 2,80 y 1,14 días, antes y durante la prepupa, respectivamente. La duración total del estado larval fue en promedio de 6,7 días (Tabla 2).

Pupa. El *B. kirkpatricki* empupa dentro de un cocoon de seda blanco de 3,8 x 1,5 mm, fabricado con una sustancia producida por la larva en su último instar. La pupa mide, en promedio, 2,8 mm de largo por 0,10 mm de ancho; es del tipo exarata, de color blanco cremoso, con ojos compuestos de color café oscuro y tiene todos los apéndices, como antenas, patas y alas bien diferenciados; la hembra presenta un ovipositor que sale del VI segmento abdominal. La duración de este estado fue de 4,56 días para las hembras y de 4,49 días para los machos (Tabla 2).

Tabla 1. Dimensiones de *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson), (T=24°C; H.R.=73%). CI-Palmira.

Estado	No. de Observac.	Long. promed.		Ancho prom.		Cápsula cefálica			
		mm	±D.E.	mm	±D.E.	Long. prom. mm	±D.E.	Ancho Prom. mm	±D.E.
HUEVO	30	0,81	0,07	0,17	0,02				
LARVA									
1er. Instar	30	0,71	0,06	0,17	0,01	0,129	0,00	0,148	0,01
2o. Instar	30	0,97	0,18	0,26	0,04	0,141	0,01	0,165	0,01
3er. Instar	30	1,94	0,24	0,48	0,07	0,162	0,02	0,182	0,01
4o. Instar	30	2,10	0,30	0,71	0,12	0,230	0,01	0,294	0,03
5o. Instar	30	3,72	0,65	1,33	0,25	0,317	0,06	0,358	0,02
Prepupa	30	3,55	0,51	1,28	0,16				
PUPA	30	2,85	0,50	1,01	0,31				
				Expansión alar mm. ± D.E.		Long. ovipositor prom. mm. ± D.E.			
ADULTO									
Hembra	30	3,52	0,48	7,02	0,80	1,49	0,25		
Macho	30	3,43	0,43	6,11	0,55				

Tabla 2. Ciclo de vida de *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson), a T=24°C y H.R.=73%. CI-Palmira

Estado	Duración promedio	
	Días	±D.E.
HUEVO	0,98	0,65
LARVA		
1o. instar	0,81	0,84
2o. instar	0,94	0,78
3o. instar	0,30	0,42
4o. instar	0,69	0,95
5o. instar	2,80	0,96
Prepupa	1,14	0,88
Total larva	6,70	2,26
PUPA		
Hembra	4,56	0,83
Macho	4,49	0,60
ADULTO		
Macho	27,87	16,89
Hembra	29,49	13,18

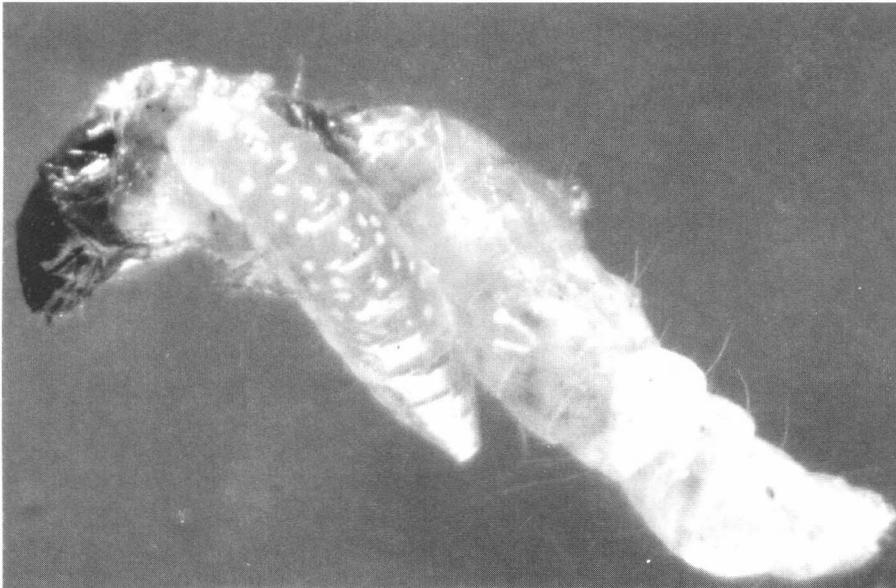


Figura 3. Larva de *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) desarrollándose sobre una larva de *Ephestia kuehniella* (Zeller).

Adulto. Los adultos, hembras y machos (Fig. 4), miden, en promedio, 3,5 y 3,4 mm, respectivamente; son de color castaño claro, con antenas filiformes de 26 segmentos, el último de estos es en forma de huso; ojos compuestos de color negro; palpos

maxilares de 6 segmentos y los labiales de 3; alas transparentes con pelos diminutos.

Las hembras se diferencian de los machos por la presencia de un ovipositor en forma de aguja, el cual

sale del VI segmento abdominal. Las hembras viven generalmente más tiempo que los machos con un promedio de 29,49 y 27,87 días, respectivamente (Tabla 2).

El *B. kirkpatricki* puede copular inmediatamente después de su emergencia y las hembras ovipositar aún siendo vírgenes. La reproducción es partenogenética del tipo arrenotoquia facultativa, ya que la descendencia de hembras vírgenes consistió siempre de machos, lo cual confirma lo expuesto por varios autores (Aquino 1984; Bryan et al. 1969; Cross et al. 1969).

Las hembras de *B. kirkpatricki* tienen un período de preoviposición de 2,5 días y en promedio ovipositan durante 15 días, con una fecundidad total de 38 huevos. El mayor porcentaje de oviposición se observó entre el 6o. y 12o. día de edad. Los parámetros de fertilidad se presentan en la Tabla 3.

En la Tabla 3 se destaca un buen porcentaje de eclosión de los huevos; la rata de fecundidad de 1,4 huevos/

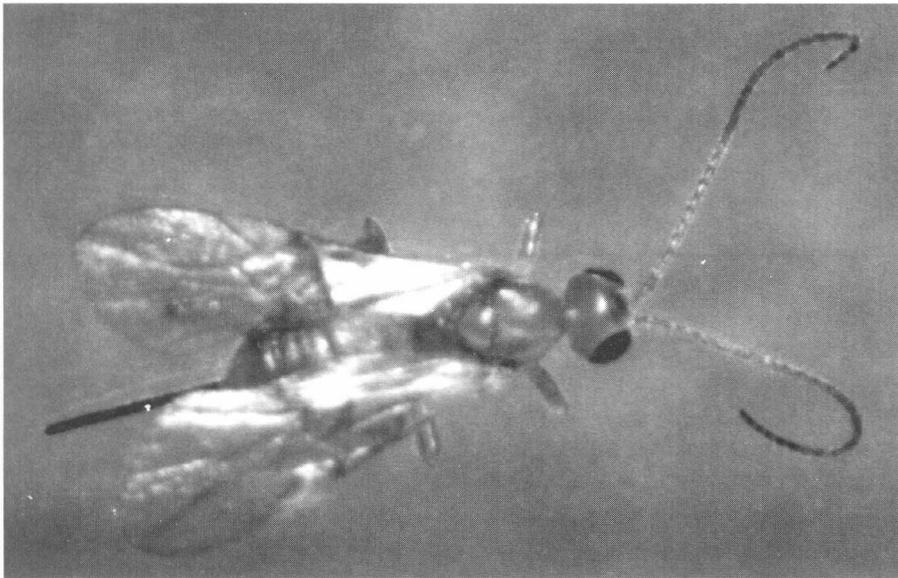


Figura 4. Hembra de *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson)

Tabla 3. Parámetros de fertilidad de *B. kirkpatricki* (Wilkinson) a T=24°C ; H.R.= 73%. CI-Palmira

Período de preoviposición (días)	2,5
Período de oviposición (días)	15,4
Fecundidad total (No. huevos/hembra)	38,6
Porcentaje de eclosión (%)	87,9
Rata de fecundidad (huevos/hembra/día)	1,4
Tiempo hasta el 50% de mortalidad (días)	25,0

hembra/día, fue relativamente baja comprada con la de 4,0 reportada por Cross et al. (1969).

En general, los anteriores parámetros poblacionales aseguran la supervivencia de la especie bajo condiciones de laboratorio; sin embargo, en una cría masiva deben ser incrementados para obtener los máximos rendimientos. Una de las formas de lograr dicho objetivo es ajustando el tiempo de parasitación en relación con el número de larvas expuestas a cada hembra de *B. kirkpatricki*.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El *Bracon kirkpatricki* (Wilkinson) es un ectoparásito con metamorfosis completa y bajo las condiciones del estudio (T=24°C; H.R. = 73%) tuvo un duración promedio de 0,98 días en huevo; 6,7 días en larva, pasando por cinco instares; 4,56 días de período pupal para las hembras y 4,49 días para los machos; el promedio de duración en estado adulto fue de 27,87 y 29,49 días para los machos y las hembras, respectivamente.
- La larva en el primer instar es del tipo mandibulado-caudado y del segundo al quinto instar es del tipo himenopteriforme. En el quinto instar pasa por dos formas: antes de expulsar el meconio y después, cuando toma las características de la prepupa.
- La pupa es del tipo exarata y se encuentra dentro de un capullo o cocoon blanco.
- En promedio, el período de preoviposición fue de 2,5 días y el

de oviposición de 15,46 días. La mayor oviposición se presentó entre los días 6o. y 12o.

- Los parámetros de fertilidad encontrados aseguran la supervivencia de la especie; sin embargo, es necesario adelantar estudios básicos para determinar las mejores relaciones entre el tiempo de parasitación y el número de larvas parasitadas por hembra por día.
- Se recomienda desarrollar una metodología de cría masiva del parasitoide que asegure buena producción y rentabilidad.
- Es necesario realizar estudios sobre eficiencia y adaptabilidad de *B. kirkpatricki* en el campo, efectuando liberaciones y evaluaciones de parasitismo sobre plagas del algodón como *A. grandis*, *P. gossypiella* y *S. pyralis*.

BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, C.H.; CROSS, W.C.; MITCHELL, H.C. 1969. Biology of *Bracon mellitor*, a parasite of the boll weevil. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 62 no. 4, p. 889-896.
- AQUINO, V. 1984. Estudios preliminares para el establecimiento del control de calidad del *Bracon kirkpatricki* Wilk. y *Ephesttia kuehniella*. En: 9a. Reunión Control Biológico. Oaxaca, México. p. 210-220 (Mimeografiado).
- BRYAN, D.; JACKSON, C.; STONER, A. 1969. Rearing cotton insect parasites in the laboratory. U.S. Department of Agriculture Products Research Report 109. 13p.
- CLAUSEN, C.P. (Ed.). 1978. Introduced parasites and predators of arthropod pest and weeds: A world review. Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Washington. Agriculture Handbook No. 480. 545p.
- CROSS, W.C.; MCGOVERN, W.L.; MITCHELL, H.C. 1969. Biology of *Bracon kirkpatricki* and field releases of the parasite for control of the boll weevil. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 62 no. 2, p. 448-454.

- ENGROFF, B.W.; WATSON T.F. 1975. Influence of temperature on adult biology and population growth of *Bracon kirkpatricki*. *Annals of the Entomological Society of America* (Estados Unidos) v. 68, p.1121-1125.
- LUNA SALAS, J.F. 1975. Comparación de cuatro diferentes huéspedes para la reproducción de *Bracon kirkpatricki*. *Fitófilo* (México). v. 28, p. 45-48.
- MONTAÑO, V. 1984. Introducción y cría del *Bracon kirkpatricki* Wilk. parásito del picudo del algodón *Anthonomus grandis* Boheman. Facultad de Agronomía, Universidad del Tolima. 167p. (Tesis Ing. Agrónomo).
- MORALES, A. 1975. Situación actual del control biológico dentro del complejo de plagas del algodón en la Costa de Hermosillo. *Fitófilo* (México) v. 28, p. 49-52.
- PONCE, B. 1986. Ciclo de vida de *Bracon kirkpatricki* Wilk (Hym.: Braconidae) en dos hospederos *Ephesia* (*Anagasta*) *kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae) y *Anthonomus grandis* Boh. En: Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, 13°, Cali, Julio 16-18. 1986. Resúmenes. SOCOLEN, Cali. p. 43.

BIOLOGÍA DEL GUSANO DE SEDA, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae)

BIOLOGY OF SILKWORM *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae)

J. Alonso Alvarez R.*

RESUMEN

En Colombia, poco se conoce sobre la biología del gusano de seda. Con el objetivo de generar información básica sobre el ciclo de vida de este insecto, se llevó a cabo un estudio en el Laboratorio de Entomología del Centro de Investigación "Tibaitatá" del ICA, en Mosquera (Cund.) (T=24°C; H.R. 70-80%). Los resultados obtenidos indican que la duración promedio de los estados de huevo y pupa fue de 11,00 y 15,40 días, respectivamente. Las larvas pasaron por cinco instares, con duración promedio de 4,60; 6,00; 6,06; 6,47 y 9,87 días, para un total de 33 días. La duración total de huevo adulto fue de 59,40 días. El ancho promedio de la cápsula cefálica para cada instar fue de 0,54; 1,02; 1,65; 2,51 y 3,58 mm. La relación de crecimiento entre un instar y el siguiente fue de 1,86; 1,62; 1,52 y 1,43.

Palabras claves: Gusano de Seda, *Bombyx mori*, Ciclo de Vida.

SUMMARY

Being an exotic insect, the silkworm biology is little known in Colombia. A study was conducted to obtain basic information on the life cycle of this insect at the Entomology Laboratory of the Research Center "Tibaitatá", of the Colombian Agricultural Institute (ICA) at Mosquera (Cund.) (T=24°C; R.H.=70-80%). The mean duration, in days, of the egg and the pupal stages was 11.0 and 15.40, respectively. The larvae passed through five instars; the mean duration, in days, of each instar was 4.60; 6.00; 6.06; 6.47 and 9.87, respectively; for a total of 33 days. The total duration in days, from egg to adult, was 59.40. The mean head capsule width for each instar was 0.54; 1.02; 1.65; 2.51 and 3.58 mm, and the growth ratio was 1.86; 1.62; 1.52 and 1.43.

Key words: *Bombyx mori*, Silkworm, Life cycle.

INTRODUCCIÓN

La agroindustria serícola comprende el conjunto de actividades relacionadas con la producción de seda natural, desde la conservación de las razas

puras, líneas mejoradas, hibridación de las mismas para producción comercial de huevos, cría del gusano de seda y obtención de capullos, cultivo de la morera y extracción de la seda cruda hasta la fabricación de la tela.

La cría del gusano de seda, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), se ha convertido en una actividad muy importante para los agricultores minifundistas, en los departamentos de Risaralda y Cauca, constituyéndose en una nueva fuente de ingresos y una alternativa para la diversificación agrícola en Colombia.

Por ser el gusano de seda un insecto exótico y porque la mayoría de las investigaciones sobre el mismo se han llevado a cabo en el continente asiático, en Colombia se conoce muy poco sobre la biología de este insecto, considerado como uno de los más útiles al hombre.

La información sobre la biología del gusano de seda es de gran importancia, no sólo para el establecimiento de las crías comerciales del mismo, sino también para el mejoramiento genético de la especie y la posterior producción de huevos para las crías comerciales.

REVISIÓN DE LITERATURA

El gusano de seda *B. mori* es originario de China, donde por muchos años guardaron celosamente el secreto de su cría (Tazima 1984).

Se considera que el promotor de la sericultura en Colombia fue el médico Manuel Vicente de la Roche. Patiño (1970) indica que de la Roche, en el año de 1868, llevó el gusano de seda a la ciudad de Medellín e inclusive logró fabricar algunas telas en el taller que estableció para tal fin. Sánchez

(1935) reporta que fue en el año de 1879, cuando de la Roche importó semillas de morera desde Francia, y con ellas estableció cultivos en Antioquia, con muy buen éxito. Lo cierto es que en el año de 1894, el gusano de seda estaba naturalizado en el departamento de Antioquia (Patiño 1970).

En el año de 1912, el médico Enrique Sánchez trajo nuevamente semillas de morera desde Francia, y con ellas inició cultivos en la ciudad de Bucaramanga. En 1915, Sánchez, como miembro del Congreso de la República, tabajó por la expedición de la Ley 13 de 1915, por medio de la cual se fomentaba la industria de la seda, y tuvo la suerte de ser el fundador y director de la escuela para la enseñanza de tal industria que en cumplimiento de dicha ley se creó en Bucaramanga, siendo esta la primera institución de su género en el país (Sánchez 1935).

Ya para el año de 1930 existían cultivos de morera y cría del gusano de seda en Vélez (Sant.)¹ y en La Plata (Huila)². Los capullos producidos en esta ciudad se enviaban a Guateque (Boy.) para su procesamiento en forma artesanal.

La biología del gusano de seda, al igual que la de otros insectos, está influenciada por las características del medio ambiente, en especial temperatura, humedad y nutrición.

Kogure (1933), citado por Sakaguchi (1978), mostró que la temperatura óptima para la cría del gusano de

¹ Cecilia Fernández, 1992. Comunicación personal

² María Josefa Valencia de Vargas, 1992. Comunicación personal.

* I.A., Ph. D. Investigación Básica Agrícola - Entomología. Centro de Investigación "Tibaitatá" ICA. Apartado Aéreo 151123, El dorado. Santafé de Bogotá, D.C., Colombia

seda, fue de 30°C desde el I hasta el III instar; 25°C durante el IV instar y de 20 a 25°C durante el V instar. De esta manera el autor concluye que la especie tiene cinco instares larvales.

Sakaguchi (1978), en relación con la duración de los instares larvales del gusano de seda; raza japonesa, indica lo siguiente: I- 4,0 días; II- 3,5 días; III- 4,0 días; IV- 5,0 días y V- 6,0 días; la prepupa demora 4 días y 10 días el estado de pupa. El mismo autor anota que las larvas de razas chinas tienen un período larval inferior en un día al de las japonesas.

Tazima (1964) reporta que cuando las larvas del gusano de seda se criaron a una temperatura entre 23 y 25°C, la duración del ciclo de vida fue como sigue: I- 3-4 días; II- 2-3 días; III- 3-4 días; IV- 5-6 días; V- 6-8 días. La prepupa tuvo una duración de 4-5 días y la pupa demoró 9-14 días. El estado de huevo tuvo una duración de 9-12 días, sin diapausa; y de 11-14 días para huevos después de la diapausa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Entomología del Centro de Investigación "Tibaitatá" del ICA, en Mosquera (Cund.), durante los años de 1991 y 1992, a una temperatura promedio de 24°C y una humedad relativa entre 70% y 80%.

Las crías se iniciaron con huevos F₂ provenientes de los híbridos (F₁) de Taheix Shoan que se comercializan en el país. Posteriormente se utilizaron huevos obtenidos en el mismo laboratorio, pero sin diapausa.

Al emerger los adultos, se dejaron copular durante dos horas y luego se separaron manualmente. Las hembras se confinaron en porrones de vidrio con papel toalla en la base para facilitar el manejo de los huevos.

Los huevos así obtenidos se colocaron en vasos plásticos en forma de cono truncado de 7 cm de alto por 9 y 12 cm de diámetros superior e inferior, respectivamente. El papel toalla se humedeció con regularidad para evi-

tar el resecamiento. Las larvas recién nacidas se colocaron individualmente en vasos plásticos, iguales a los mencionados anteriormente. Diariamente, a mañana y tarde, se les suministró hojas de morera, único alimento conocido. El número y la duración de los instares se determinó con base en las mudas y en las cápsulas cefálicas, para lo cual las larvas se revisaron diariamente. Las cápsulas cefálicas se recogieron y posteriormente se midió su ancho con una escala micrométrica ajustada a un microscopio de disección.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ciclo de vida

Al igual que en otras especies, la duración del ciclo de vida del *B. mori* está influenciada por las condiciones bajo las cuales se realice el estudio. Los resultados de este estudio se presentan en las Tabla 1.

Huevo: Las hembras depositan los huevos en forma individual sobre cualquier superficie que localice como sustrato. Son de forma elíptica con el corión liso, y miden 1 mm de ancho por 1,3 mm de largo. Recién puestos son de color amarillo pálido. A medida que se desarrolla el embrión, el color de los huevos varía. A las 40 horas de edad, los huevos adquieren una coloración rosada y a las 72 horas, su coloración es ocre.

A una temperatura de 24°C y una humedad relativa entre el 70% y 80%,

el período de incubación de huevos sin diapausa, fue, en promedio, de 11,00 ± 2,3 días. Este resultado no está de acuerdo con lo reportado por Tazima (1964), posiblemente debido a condiciones diferentes de cría.

Larva: La observación individual del desarrollo larval y la medición del ancho de la cápsula cefálica de cada instar permitieron comprobar que los híbridos de *B. mori* que se comercializan en Colombia, pasan por cinco instares larvales (Tabla 1).

Las larvas, antes de salir del huevo, abren un orificio en el corión, pero al salir no lo consumen. Recién nacidas son de color casi negro, con la cabeza y las patas torácicas de color negro. El cuerpo está cubierto con setas largas y de color café claro (Fig. 1). Las setas salen de dos verrugas localizadas en la parte anterior de los tres segmentos torácicos y de los ocho segmentos abdominales; sobre el octavo segmento abdominal se observa un cuerno caudal. El primer instar larval tuvo una duración promedio de 4,60 días. Durante este instar, las larvas roen la epidermis de las hojas de morera dejando manchas traslúcidas y huecos muy pequeños.

Antes de la primera muda, la larva pierde movimiento y los tres segmentos torácicos y el primero abdominal se tornan de un color plateado; el resto del cuerpo es de color café claro. El ancho de la cápsula de la cabeza fue, en promedio, de 0,55 mm.

Tabla 1. Duración promedio, en días, de los estados de *Bombyx mori* L. y ancho promedio de la cápsula cefálica de los diferentes instares (T=24°C; H.R.=70-80%). Mosquera (Cund.) 1991-1992.

Estado	No. obs.	Duración en días		Ancho cápsula en mm		Rango	Relación crec.
		\bar{x}	± D.E.	\bar{x}	± D.E.		
HUEVO							
(sin diapausa)	50	11,00	± 2,3684				
LARVA							
1o. instar	50	4,60	± 0,2482	0,5475	± 0,0149	0,5220-0,5742	
2o. instar	50	6,00	± 0,0000	1,0991	± 0,0321	0,9570-1,0440	1,86
3o. instar	50	6,06	± 0,7912	1,6489	± 0,0051	1,5660-1,6878	1,62
4o. instar	50	6,47	± 0,2575	2,5113	± 0,0065	2,4674-2,5688	1,52
5o. instar	50	9,87	± 0,5334	3,5875	± 0,0222	3,3570-3,8850	1,43
LARVA - total		33,00					
PUPA		15,40	± 1,3517				
Total		59,40					

El segundo instar tuvo una duración promedio de 6,0 días y la cápsula cefálica mostró un ancho de 1,11 mm. Al iniciar este instar aparecen numerosas setas o pelos secundarios y cortos sobre todo el cuerpo. Las setas sobre las verrugas ya no son tan notorias y el color del cuerpo es grisáceo. Las larvas, al alimentarse, pueden abrir huecos de forma irregular en las hojas de morera.

Durante el tercer instar, cuya duración promedio fue de 6,06 días, se observaron larvas de coloración blanca con manchas en la parte dorsal del cuerpo. Las manchas reciben diferentes nombres según su localización y forma, así: 1). Manchas oculares sobre el II segmento torácico; 2). Manchas lunares sobre el II segmento abdominal y 3). Manchas estelares sobre el V segmento abdominal (Tazima 1964) (Fig. 2).

La presencia o ausencia de estas manchas es una característica genética y puede estar asociada con el origen geográfico de una línea o raza del gusano de seda (Tazima 1984). Bajo las condiciones en las cuales se desarrolló el presente estudio, el período larval tuvo una duración promedio de 33 días, más largo que el reportado por Tazima (1964) y por Sakaguchi (1978). Durante los instares IV y V no se presentan cambios en la morfología externa de las larvas.

Los datos consignados en la Tabla 1 sobre la relación de crecimiento de las larvas del gusano de seda indican que este no es constante a través de su desarrollo sino que decrece. Estos resultados no están de acuerdo con la ley de Dyar, pero sí lo están con lo reportado por Jobin et al. (1992).

Una vez la larva alcanza su completo desarrollo cesa de comer; el cuerpo toma una coloración blanca translúcida e inicia la búsqueda de un sustrato apropiado para la construcción de un capullo sedoso y posterior transformación en pupa.

Pupa: A los 4 ó 5 días de iniciada la construcción del capullo, la larva se transforma en pupa. Las pupas son de tipo obtecta; recién formadas son de color verde claro y a las 24 horas de tornan de color café. La duración promedio de este estado fue de 15,40 días.

El capullo formado por el gusano de seda (Fig. 3) es el producto comercial por el cual se cría el insecto. El capullo puede ser de forma ovalada, redonda o semejante a una vaina de maní, dependiendo de la línea o raza.

Adulto: Es una polilla de color crema claro (Fig. 4). El aparato bucal está atrofiado, por lo cual no se alimentan. Poseen alas bien sean normales o pequeñas, pero por la domesticación, la habilidad para el vuelo se ha perdido. Las hembras tienen un abdomen más desarrollado que los machos, pero ambos sexos presentan antenas bipectinadas.



Figura 1. Larva recién nacida. Obsérvese la coloración y las setas sobre su cuerpo. (Foto: A. López-Avila)

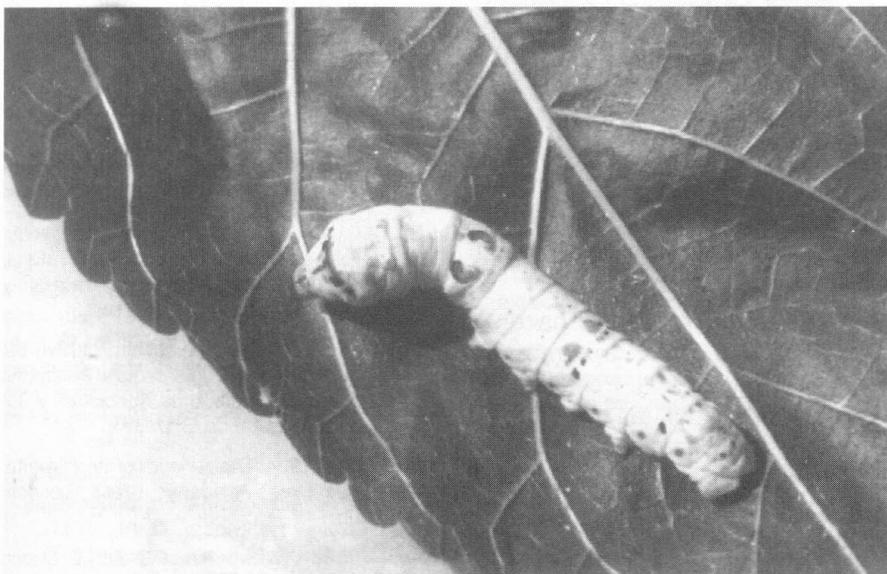


Figura 2. Manchas típicas sobre dorso de la larva del gusano de seda. (Foto: A. López-Avila)

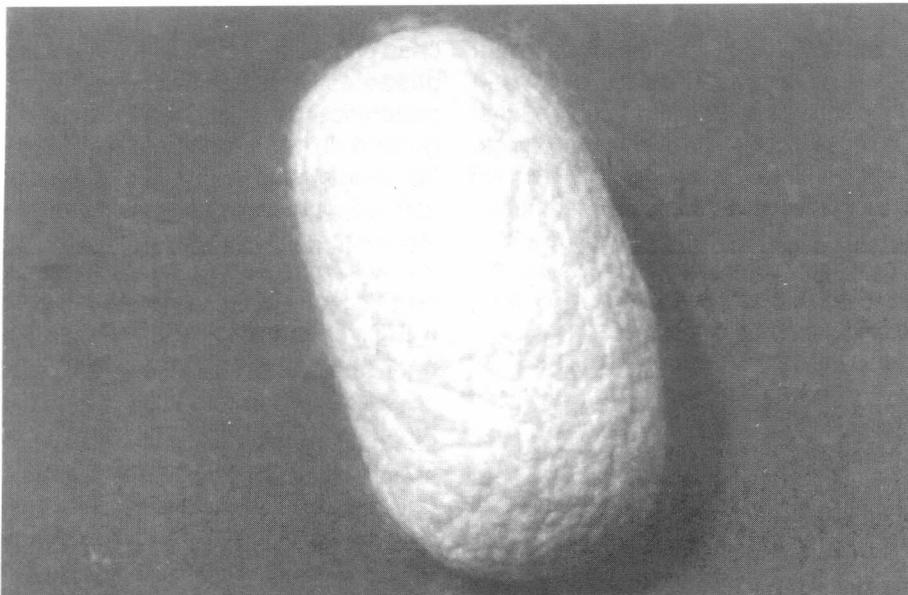


Figura 3. Capullo típico del gusano de seda. Nótese la superficie corrugada (Foto: A. López-Avila)

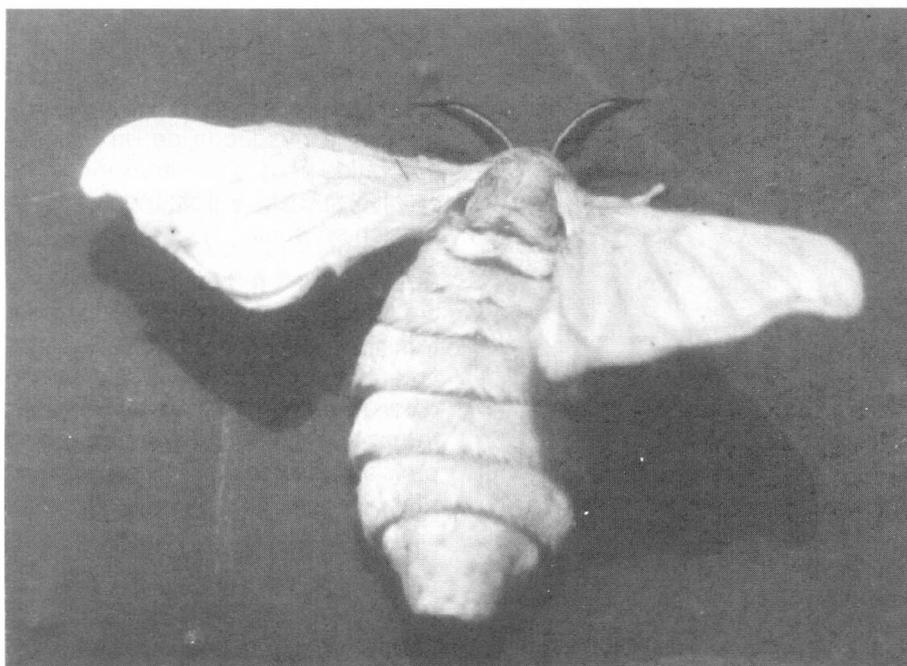


Figura 4. Hembra del gusano de seda, mostrando el abdomen abultado (Foto: A. López-Avila)

Los adultos copulan tan pronto emergen del capullo, lo cual ocurre normalmente en las primeras horas de la mañana. Las hembras prefieren la oscuridad para la oviposición, la cual parece no ser estimulada por la cópula, puesto que tanto las hembras copuladas como las que no lo han sido, tienden a ovipositar de manera similar. El número potencial de huevos por

hembra está determinado al nacer, ya que durante su vida, la hembra no forma nuevos huevos. Posiblemente debido a lo anterior, las hembras depositan los huevos en un corto período. Durante el primer día como adulto, la hembra oviposita un 86% del total de huevos; en el segundo día un 11% y durante el tercer día el 3% restante. No se justifica mantener hembras vi-

vas por más de dos días, puesto que en dichos días ovipositan el 97% de los huevos. Los resultados anteriores se obtuvieron al observar 25 hembras, las cuales ovipositaron, en promedio, 521 huevos.

CONCLUSIONES

El estudio de la biología del gusano de seda, *Bombyx mori* L., permite concluir lo siguiente:

1. En Colombia, bajo condiciones favorables y con una duración promedio de 59,40 días para el ciclo de vida del insecto, es factible realizar seis crías anuales.
2. En las distintas zonas serícolas del país es conveniente adelantar pruebas de adaptación y de rendimiento, para precisar en cuantos días se alarga o acorta el ciclo del insecto.
3. Con base en las pruebas de adaptación y rendimiento se podrán escoger los materiales del gusano de seda más aconsejables para cada zona productora del país.

BIBLIOGRAFÍA

- JOBIN, L.; HEBERT, C.; BOURASSA, J.P. 1992. Head capsule width of larval populations of the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantridae) in Quebec with reference to Dyar's hypothesis. *Environmental Entomology* (Estados Unidos) v. 2 no. 1, p. 90-93.
- PATIÑO, V.M. 1970. Plantas cultivadas y animales domésticos en América equinocial. *Animales domésticos introducidos*. Tomo V. Imprenta Departamental, Cali (Colombia). p. 21-23.
- SAKAGUCHI, B. 1978. Post-embryonic development of the silkworm. *En: Y. Tazima*. (Ed). *The silkworm: An important laboratory tool*. Kodansha, Tokyo. p. 31-51.
- SÁNCHEZ, S. 1935. Sericultura. Cultivo del gusano de seda. Suplemento al Boletín del Comercio, Ministerio de Agricultura y Comercio, Bogotá. no. 6, p. 39.
- TAZIMA, Y. 1964. *The genetics of the silkworm*. Logos Press-Academic Press, London. 235p.
- , 1984. *Silkworm moths*. *En: I.E. Mason* (Ed.) *Evolution of domesticated animals*. Longman, London. p. 416-424.

BIOENSAYO PARA EVALUAR LA PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. SOBRE LA BROCA DEL CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (Ferrari)

BIOESSAY TO TEST THE PATHOGENICITY OF *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. ON THE COFFEE BERRY BORER *Hypothenemus hampei* (Ferrari)

María Teresa González G.¹
Francisco J. Posada F.¹
Alex E. Bustillo P.¹

RESUMEN

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), es el insecto plaga más importante que afecta el cultivo del café. Entre las medidas de control de tipo biológico, el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. puede jugar un papel importante en la reducción de sus poblaciones. En la presente investigación se estandarizó un método de bioensayo para evaluar la patogenicidad del hongo *B. bassiana* sobre *H. hampei*. La evaluación de la patogenicidad se hizo sobre broca criada en el laboratorio en granos de café pergamino. Las brocas fueron desinfectadas por inmersión en hipoclorito de sodio al 0,5% durante 10 minutos y luego se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Posteriormente se expusieron al hongo usando una concentración de 1×10^7 conidias/ml durante dos minutos. Las brocas, después de expuestas al inóculo, se colocaron individualmente en frascos de vidrio de 4 cm³ de capacidad con papel de filtro húmedo y tapados con algodón. En esta forma permanecieron 24 horas, después de este tiempo, a cada frasco se le adicionó un grano de café pergamino con 45% de humedad, encerado y libre de inóculo. El experimento se organizó en un diseño completamente al azar con tres tratamientos compuestos por: el aislamiento Cenicafé Bb-9205 obtenido de *Diatraea saccharalis*, denominado Bb-9205 DS, este mismo aislamiento pero activado en broca y denominado Bb-9205 BFC y un testigo. Se utilizaron tres repeticiones, cada una con 30 brocas. Los resultados muestran que 24 horas después de la inoculación, las brocas infectadas presentan una menor actividad, pérdida de las patas y antenas, y, por consiguiente, inhibición en la actividad de brocado. En los tratamientos con *B. bassiana*, el porcentaje de brocado fue de 14,44% mientras en el testigo fue de 44,44%. El promedio de mortalidad causado por Bb-9205 DS fue de

88,88% y para Bb-9205 BFC de 100%. Se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P \geq 0,05$). El tiempo letal medio (TL_{50}) fue de 92,4 horas para Bb-9205 DS y de 54,72 horas para Bb-9205 BFC. Se identificaron cinco etapas en el desarrollo de *B. bassiana* sobre *H. hampei*: inoculación a muerte, muerte a inicio de micelio, muerte a cubrimiento con micelio, muerte a conidiogénesis y muerte a liberación de conidias. Estas etapas tuvieron una duración para Bb-9205 DS de 20,16; 31,92; 56,40; 83,28 y 198 horas, respectivamente, y de 20,88; 44,4; 66,88; 116 y 182 horas para Bb-9205 BFC, respectivamente. Este bioensayo se puede utilizar como un modelo para probar diferentes entomopatógenos a evaluar contra *H. hampei*.

Palabras claves: *Beauveria bassiana*, Broca del café, *Hypothenemus hampei*, Hongos entomopatógenos, Control microbiológico, Patogenicidad, Control biológico.

SUMMARY

The coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) is the most serious insect pest of the coffee plantations. Among the biological control methods the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. may play an important role in borer population reduction. In this research a bioassay method was standardized to test the pathogenicity of *B. bassiana* on *H. hampei*. Adults of the borer were obtained from a laboratory mass rearing using parchment coffee at 45% R.H. The borers were desinfested with sodium hypochlorite at 0,5% for 10 minutes and rinsing the excess in three washes with sterile distilled water. The experiment was organized in a complete randomized design using three treatments formed by isolate Cenicafe Bb-9205 from *Diatraea saccharalis* (Bb-9205 DS), the same isolate passed through the borer (Bb-9205 BFC) and a control. Thirty adults of the borer were used per replication. These insects were exposed to the fungus using a concentration of 1×10^7 conidia/ml for two minutes and then transferred individually in glass vials (4 cc of capacity) with a piece of wet paper inside and capped with absorbent cotton. Twenty four

hours later a berry of waxed-parchment coffee with 45% of humidity was added as a substrate. Infected insects showed a reduced activity, lost of legs and antennae and therefore inability to bore the coffee grain. Treated insects with the fungus resulted in lower grain attack (14.44%) compared with control insects (44.44%). There were significant differences ($P \geq 0.05$) among treatments, average mortality was 88.88% for isolate Bb-9205 DS and 100% for Bb-9205 BFC. Mean lethal time (TL_{50}) was 92.4 hours with isolate Bb-9205 DS and 54.72 hours with Bb-9205 BFC. Five stages of development of *B. bassiana* on *H. hampei* were recognized: inoculation to death, death to initial mycelial growth, death to micelial coverage, death to conidiogenesis and death to discharge of conidia. These stages lasted 20.16; 31.92; 56.40; 83.28 and 198 hours for Bb-9205 DS and 20.88; 44.40; 66.88; 116 and 182 hours for Bb-9205 BFC. This bioassay can be used as a model to evaluate different entomopathogens to be tested against *H. hampei*.

Key words: *Beauveria bassiana*, Coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, Entomopathogenic fungi, Microbiological control, Pathogenicity, Biological control.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la broca del fruto del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), es el mayor enemigo del cultivo del café en Colombia. La broca está considerada como la plaga insectil que mayor daño causa al cultivo del café, porque su ataque se dirige a la almendra o endospermo donde puede reproducirse (Decazy 1990). Los daños causados por la broca están representados en la pérdida de peso de las almendras al ser atacadas por las larvas, caída de los frutos en estado acuoso y alteración en la calidad de la bebida al beneficiar conjuntamente

¹ Bacterióloga, Ing. Agrónomo e Ing. Agrónomo M. Sc., Ph. D., respectivamente. Disciplina Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE. Chinchiná, Colombia.

granos sanos y brocados que además son contaminados por microorganismos (Cárdenas 1991). Esta plaga fué registrada por primera vez en Colombia en el año de 1988, en la frontera con el Ecuador, cerca a Tumaco (Nar.). En la actualidad se encuentra ampliamente distribuída en los departamentos de Antioquia, Caldas, Cauca, Cundinamarca, Huila, Putumayo, Quindío, Risaralda, Tolima y Valle, infestando cerca de 100.000 hectáreas.

La estrategia generalizada para el manejo de las poblaciones de la broca del café en los países donde a llegado, se basa en el control químico, el cual causa mortalidad inmediata sobre las poblaciones de broca, pero tiene efectos negativos sobre el agroecosistema y sobre la salud de la vida animal, lo que amerita la búsqueda de otras alternativas de control como pueden ser, el uso de parasitoides o de organismos entomopatógenos.

El hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Hyphomycetos) es uno de los agentes de control biológico más importantes para la represión de muchas plagas (Ferron 1978; Evans 1982) y se considera que puede llegar a ser muy eficiente en programas de control de la broca del café (Bustillo 1991a). Sin embargo, no existe hasta el momento una metodología confiable para evaluar este hongo bajo condiciones de laboratorio.

Para la evaluación de un entomopatógeno sobre un huésped dado se requiere desarrollar una metodología de bioensayo confiable y reproducible que garantice el control del insecto plaga. La patogenicidad de un entomopatógeno puede evaluarse bajo condiciones de laboratorio empleando insectos susceptibles y un método de cría que permita la sobrevivencia y la expresión de los síntomas y signos de la enfermedad causada por el hongo a evaluar. El método de bioensayo a probar debe permitir estimar la mortalidad, la distribución de la mortalidad diaria, el tiempo letal medio (TL_{50}) y el ciclo de desarrollo del patógeno sobre

el insecto huésped. Esta investigación tuvo por objetivo determinar estos parámetros mediante la evaluación de la patogenicidad de *B. bassiana* cepa Bb-9205 aislada directamente de larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae), la cual se comparó con la obtenida una vez se reactivó sobre la broca del café.

REVISIÓN DE LITERATURA

La broca del café, *H. hampei*, es considerada, después de la enfermedad de la cereza del café (CBD), como la plaga más importante del cultivo, debido a su hábito de atacar directamente la cereza del café, lo cual hace difícil su control (Muller 1990). Se considera que el control de la broca se debe realizar a través de un programa de manejo integrado conformado por varios componentes de control biológico como son el hongo *B. bassiana* y los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* Betrem y *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethyridae) (Moore y Prior 1988; Bustillo 1991b).

El *B. bassiana* es uno de los entomopatógenos más estudiados para el control biológico de muchas plagas (Roberts y Yendol 1971). Este hongo se ha encontrado atacando al *H. hampei* en los sitios de origen del café, en los países a donde este ha sido llevado y donde se ha introducido la broca (Bustillo 1991a). Los primeros registros de la incidencia del hongo sobre la broca fueron realizados en el Congo Belga en la década del 30 (Pascalet 1939; Steyaert 1935).

La incidencia del hongo *B. bassiana* sobre la broca del café, bajo condiciones de campo, varía de un país a otro; por ejemplo, en Costa de Marfil y en Kenya, las infecciones han sido raras (Ticheler 1963; Murphy y Moore 1990), pero se han registrado altos niveles en Camerún, Honduras, México y Ecuador (Pascalet 1939; Tronconi et al. 1986; Barrera et al. 1990; Klein et al. 1988). Estas diferencias se pueden deber a factores climáticos o a que la

broca está mejor adaptada al hongo en su sitio de origen en el Africa, pero es susceptible a los aislamientos que encuentra en los nuevos sitios que coloniza (Prior 1987).

El *B. bassiana* causa epizootias en poblaciones de broca cuando las condiciones ambientales son favorables, pero estas infecciones naturales muchas veces no son suficientes para detener el avance de la plaga. Las condiciones de vida de la broca del café la hacen naturalmente susceptible a la infección por el hongo, ya que tanto este como la broca se desarrollan óptimamente bajo condiciones de alta humedad (Moore y Prior 1988).

Resultados de estudios de laboratorio y de campo indican que el hongo podría utilizarse eficientemente en la reducción de las poblaciones de broca al depositar suficiente inóculo para inducir o acelerar el proceso de infección en el campo (Jiménez 1992; Tronconi et al. 1986; Fernández et al. 1985; Bustillo et al. 1991). Sin embargo, el comportamiento del hongo puede ser variable según las condiciones de temperatura, humedad y radiación solar presentes en el agroecosistema (Ferron 1978; Ignoffo 1975). La temperatura óptima está entre 20 y 30°C, y las humedades superiores al 90% son más favorables. La precipitación debe mantener una humedad suficiente para una buena esporulación (Pascalet 1939; Alves 1986b).

El hongo *B. bassiana* puede infectar a la broca independientemente de la variedad de café. Villacorta (1984), en Brasil, encontró infecciones tanto en frutos de café robusta como de *Coffea arabica* L. var. Mundo novo. El efecto del hongo es más visible sobre frutos verdes, en los cuales se está iniciando la penetración de la broca, debido a que esta queda más expuesta a la infección (Pascalet 1939). La germinación de las conidias de *B. bassiana* ocurre en un período de 12 horas después de la inoculación. El hongo penetra a través del integumento por acción mecánica y efectos

enzimáticos, lo cual toma otras 12 horas. Después de unas 72 horas de la inoculación, el insecto está totalmente colonizado. La duración de las diferentes fases de este ciclo depende de la especie atacada y de las condiciones ambientales presentes durante la infección (Alves 1986a).

La habilidad de un hongo entomopatógeno para sobreponerse a los mecanismos de defensa de sus huéspedes se debe en gran parte a la producción de toxinas, lo cual constituye uno de los componentes principales de la patogenicidad y uno de los más difíciles de establecer. La muerte causada por toxinas puede ser considerada cuando los insectos mueren rápidamente después de la infección y a menudo no muestran evidencia de una infección fungal extensiva.

Las enzimas extracelulares o metabolitos secundarios como las lecitinas, coagulasas, hialuronidasas son otro tipo de sustancias frecuentemente encontradas en ciertos microorganismos que contribuyen a la patogenicidad del hongo (Khachatourians 1991). El hongo *B. bassiana* presenta variaciones en su eficiencia para atacar un determinado insecto. Recientemente, Jiménez (1992) comprobó que existen diferencias en virulencia entre las razas de *B. bassiana* a la broca del café. Bajo condiciones de laboratorio, este autor evaluó 46 aislamientos provenientes de diferentes huéspedes y de diferentes sitios de origen, y encontró que el 35% de ellos causó mortalidades inferiores al 50% y cinco de ellos alcanzaron niveles de infección superiores al 80%. Igualmente, Paccola y Azevedo (1990) encontraron variabilidad natural del hongo *B. bassiana* cuando fue aislado de diferentes huéspedes. El aislamiento obtenido de larvas de *D. saccharalis* se caracterizó como potencialmente patógeno hacia insectos plagas debido a los patrones enzimáticos lipasa, amilasa y proteasa que le confieren mayor patogenicidad. Las diferencias en patogenicidad podrían deberse a

respuestas internas del huésped, y por parte del hongo a características fisiológicas y genéticas (Ignoffo 1975).

La patogenicidad de un microorganismo y el desarrollo de la infección son el resultado de un número de componentes tanto del patógeno como del huésped, tales como la rápida germinación, la velocidad de reproducción, la tasa de esporulación, el tiempo de exposición, la producción de toxinas y el estado fisiológico del huésped (Kachaturians 1991).

Los antecedentes expuestos permiten inferir que el hongo *B. bassiana* puede ser considerado como un componente promisorio en el manejo integrado de la broca del café debido a las ventajas que ofrece, como son: su fácil manejo, la rapidez con que se colonizan sus huéspedes y, principalmente, por la preservación del ecosistema cafetero.

El desarrollo de un bioplaguicida requiere, inicialmente, la selección de razas o biotipos altamente patógenos hacia el insecto a controlar, para lo cual se debe establecer un sistema de bioensayo adecuado (Hall y Papierok 1982). Por lo tanto se hace necesario evaluar mediante bioensayos el potencial patógeno de los aislamientos de *B. bassiana* con que cuenta CENICAFE, para asegurar el uso del mejor material en el control de la broca del café bajo condiciones de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los especímenes de *H. hampei* utilizados en el experimento fueron obtenidos de la unidad de cría de parasitoides que tiene CENICAFE, en Ansermanuevo (Valle). La broca se crió sobre café pergamino con un 45% de humedad, previamente tratado con fungicidas y recubierto con cera natural. Posteriormente, los insectos se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% durante 10 minutos y tres enjuagues con agua destilada estéril. Se seleccionaron los especímenes más

activos, completamente sanos, negros o melaminizados y con una edad inferior a 8 días, en promedio, para garantizar la homogeneidad del material biológico utilizado.

Del cepario de *B. bassiana* del laboratorio de entomopatógenos de CENICAFE se tomó, como inóculo para este trabajo, el denominado Bb-9205 aislado de larvas de *D. saccharalis* colectadas en caña de azúcar en Candelaria (Valle).

El experimento se organizó en un diseño completamente al azar. Se evaluaron tres tratamientos: el primero con el aislamiento Cenicafé Bb-9205 aislado directamente de *D. saccharalis* que en adelante se denominará Bb-9205 DS, el segundo tratamiento fue la misma cepa pasada por broca que se denominará Bb-9205 BFC y el tercero el testigo. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones y se emplearon 30 insectos por repetición.

Los aislamientos se purificaron en el medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), en cajas de petri de 9 cm de diámetro. La edad de los cultivos fue inferior a 30 días.

El inóculo se preparó suspendiendo el hongo, proveniente de tubos de ensayo, en 10 ml de agua destilada estéril y dos gotas de Tween 80 al 0,1%. La concentración del inóculo se determinó con un hemocitómetro, ajustándola posteriormente a 1×10^7 conidias/ml. La viabilidad del inóculo se determinó antes de los bioensayos, evaluando la germinación de las conidias a las 24 y 48 horas en cajas de petri con SDA acidificado e incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Para realizar el experimento, las brocas se desinfectaron previamente. Primero se tomaron las brocas del testigo, separando un grupo de 90 individuos al azar, los cuales se sumergieron por dos minutos en agua destilada estéril y se dispusieron en forma individual dentro de frascos de vidrio transparente de 2 cm de diámetro y 4 cm de altura que contenían un disco de pa-

pel de filtro húmedo. Los frascos se taparon con un tapón de algodón, bien ajustado, para impedir la salida del insecto y mantener las condiciones de humedad.

La metodología empleada para la inoculación de los tratamientos consistió en colocar en inmersión el número total de brocas (tratamientos) en una caja de petri que contenía la suspensión 1×10^7 conidias/ml y se agitó por dos minutos. Cumplido el tiempo de exposición se retiró el exceso de inóculo de las brocas invirtiendo la caja de petri sobre un papel toalla seco. Posteriormente, con la ayuda de un pincel, los insectos se colocaron individualmente en los frascos y se distribuyeron en tres repeticiones por tratamiento, de 30 individuos cada una. Cada repetición fue confinada dentro de cajas de galletas con una mota de algodón húmedo, para crear una atmósfera saturada de humedad propicia para desencadenar el proceso de la patogénesis. Venticuatro horas más tarde se adicionó a cada uno de los frascos un grano de café pergamino seco, como se describió inicialmente, el cual sirvió como sustrato alimenticio.

Para proveer la humedad adecuada en el interior de cada uno de los frascos, diariamente, y con una jeringa estéril, se adicionaron 0,2 ml de agua destilada estéril. Los tratamientos y el testigo fueron mantenidos bajo condiciones de luz alterna, a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y una humedad relativa superior al 90%.

La mortalidad de las brocas se evaluó diariamente durante 10 días después de la inoculación, utilizando para ello un estereoscopio que permitía realizar la disección de los granos sin causar daño a la broca. Se registró la mortalidad total y la mortalidad causada por el hongo. Con los datos obtenidos se estimó el porcentaje de mortalidad, la distribución de la mortalidad diaria, el tiempo letal medio (TL_{50}) y las etapas de desarrollo del hongo sobre la broca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las pruebas de viabilidad realizadas a las suspensiones de conidias dieron porcentajes de germinación superiores al 80%, lo cual indica la buena calidad biológica del patógeno evaluado en el experimento. La calidad del inóculo se relaciona directamente con la viabilidad de las conidias y con el tiempo de sobrevivencia del hongo en el medio. Diferencias en la viabilidad de las conidias generan variabilidad en las respuestas, las cuales podrían ser atribuidas a diferencias de patogenicidad (Lazo 1990).

La práctica de desinfección superficial de las brocas mediante el tratamiento con hipoclorito de sodio al 0,5% durante 10 minutos, no ocasionó mortalidad al insecto ni inhibió el proceso de germinación de las conidias en los tratamientos. Esto concuerda con lo registrado por Jiménez (1992), quien obtuvo una sobrevivencia del 80% en el testigo al efectuar desinfección de los granos con hipoclorito de sodio al 5% durante 5 minutos. El bioensayo permitió la sobrevivencia de las brocas por un tiempo superior a 10 días, suficiente para la evaluación del experimento y para la expresión de los síntomas y signos de la enfermedad en los tratamientos.

Al cabo de 24 horas se empezaron a observar los primeros síntomas de la enfermedad en las brocas tratadas con el hongo *B. bassiana*. Se observó una menor actividad y pérdida de apéndices como patas y antenas, así como una disminución en la capacidad de brocado. En los tratamientos con *B.*

bassiana, el porcentaje de brocado en los granos pergamino fue de 14,44%, mientras que en el testigo alcanzó un nivel de 44,44%, lo que significa que las brocas infectadas por el hongo tienen una menor capacidad de causar daño y de penetrar en los granos.

En la patogenicidad del aislamiento Bb-9205 se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0,05$) antes y después de pasar el hongo por la broca al igual que en el testigo. El porcentaje de mortalidad causado por el aislamiento Bb-9205 DS fue de 88,88%, y para el aislamiento Bb-9205 BFC fue del 100%. En el testigo no se presentó mortalidad por el hongo, ni por contaminantes. La mortalidad atribuida a factores de manipulación fue de 3,33% en el testigo y de 11,11% para el aislamiento Bb-9205 DS (Tabla 1). Entre las posibles causas de mortalidad por otros factores se identificó la manipulación de las brocas, el escape de los recipientes y causas fisiológicas como la inanición.

El porcentaje de mortalidad con el aislamiento Bb-9205 BFC fue superior en 11,12%, comparado con el Bb-9205 DS, lo cual puede atribuirse a que el patógeno adquirió mecanismos de agresividad al pasar por el huésped susceptible (Khachatourians 1991).

La mortalidad diaria (Fig. 1) presentó una distribución variable en la población sometida a los tratamientos en estudio. Para el aislamiento Bb-9205 DS, la mortalidad de las brocas se inició después de las 12 horas de la inoculación, el mayor porcentaje (36,25%) se presentó a las 108 horas.

Tabla 1. Mortalidad promedio de *H. hampei* causada por *B. bassiana*

Aislamiento	Total Adultos	Mortalidad promedio		
		<i>B. bassiana</i> ^a		Otras causas
Bb-9205 DS	90	88,88	b	3,33
Bb-9205 BFC	90	100,00	a	0,00
Testigo	90	0,0	c	11,11

^a Promedios seguidos por la misma letra no presentan diferencia significativa. (Prueba de Duncan $P \leq 0,05$)

La mortalidad se registró aún 228 horas después de la inoculación. Para el Bb-9205 BFC, la mortalidad se inició antes de 12 horas y el mayor porcentaje de mortalidad (56,66%) se obtuvo a las 60 horas y esta se extendió hasta las 132 horas después de la inoculación. El aislamiento Bb-9205 BFC mató más rápidamente a *H. hampei* como se observa en la Figura 1.

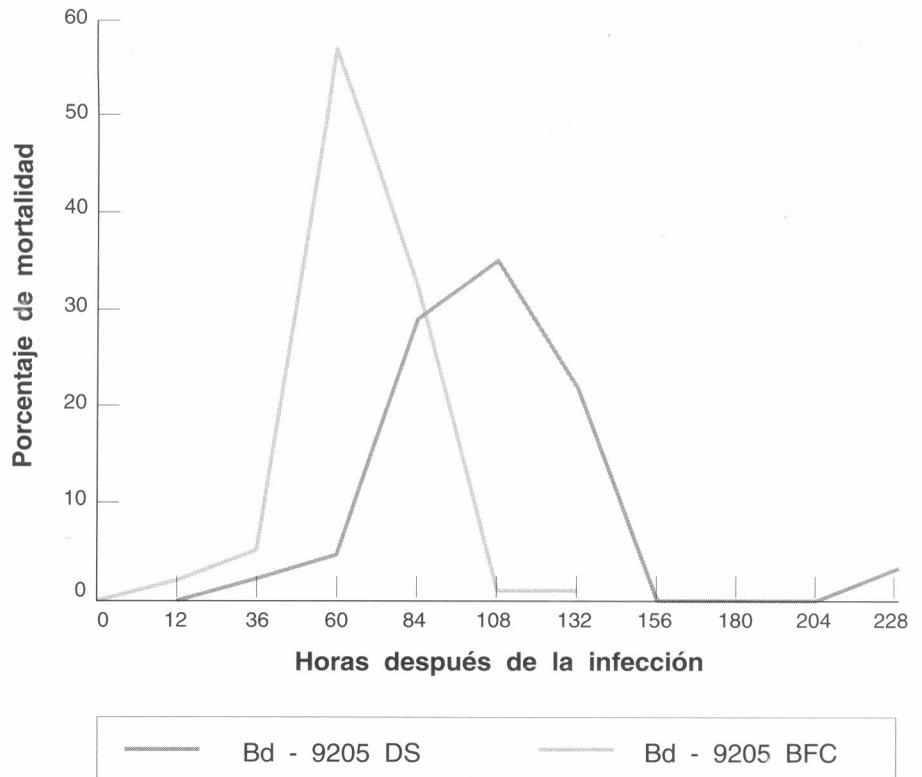


Figura 1. Distribución de la mortalidad diaria de *Hypothenemus hampei* causada por el aislamiento de *Beauveria bassiana* (Bb-9205) obtenido sobre larvas de *D. saccharalis* y activado en broca.

Los resultados de este estudio permiten concluir que aislamientos del hongo que sean activados sobre el huésped al cual se van a dirigir, son más patogénicos que cuando no se pasan a través de este. También es importante destacar cómo aislamientos provenientes de otros insectos pueden ser potencialmente más activos contra insectos de otros órdenes. Lo anterior ha sido documentado por otros investigadores (Jiménez 1992; Paccolla y Azevedo 1990; Moore y Prior 1988).

En el ciclo de desarrollo del hongo sobre la broca se identificaron cinco etapas: Inoculación a muerte, muerte a inicio de micelio, muerte a cubrimiento de micelio, muerte a conidiogénesis y muerte a liberación de conidias (Tabla 2). Estas etapas expresan los signos de la enfermedad, los cuales se caracterizaron por el aspecto y el tiempo de duración.

En el tratamiento con el aislamiento Bb-9205 DS, las brocas murieron en

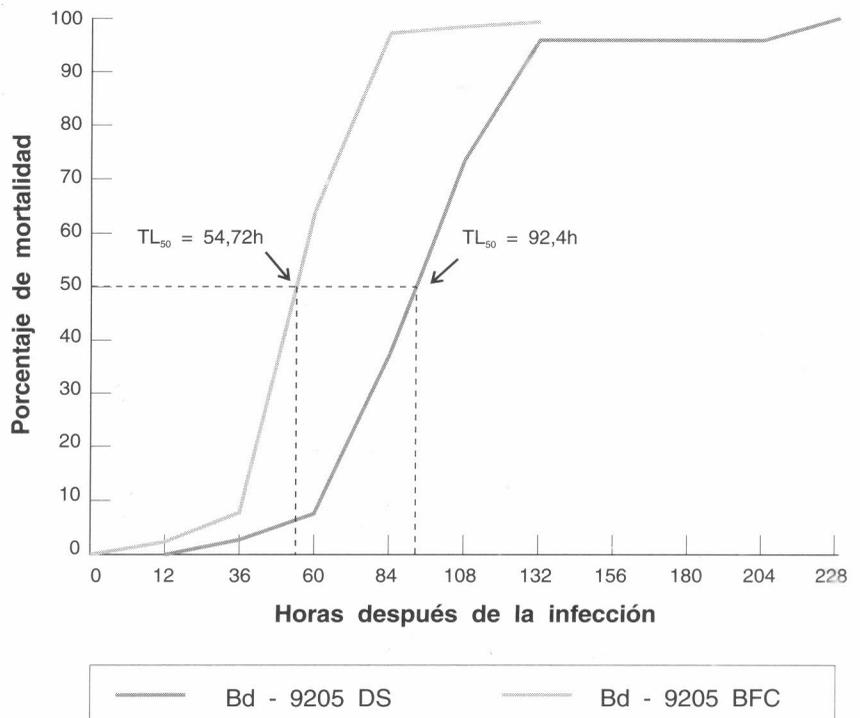


Figura 2. Mortalidad acumulada y tiempo letal medio (TL₅₀) de la broca del café *H. hampei* infectada con el aislamiento Cenicafé Bb-9205 de *Beauveria bassiana*.

106,1 horas, en promedio, mientras que para la cepa Bb-9205 BFC la duración fue de 66,72 horas, en promedio, después de la inoculación. La etapa de muerte a inicio de micelio en las brocas tratadas con el aislamiento Bb-9205 DS duró 20,16 horas y para el Bb-9205 BFC fue de $20,88 \pm 6,72$ horas, en promedio.

En relación con la etapa de muerte a cubrimiento de micelio, la duración fue de $31,92 \pm 14,40$ horas para el aislamiento Bb-9205 DS y de $44,4 \pm 6,96$ horas, en promedio, después de la inoculación para el aislamiento Bb-9205 BFC. La duración de la etapa muerte a conidiogénesis con el aislamiento Bb-9205 DS fue de 56,40 horas y para el aislamiento Bb-9205 BFC fue de 66,88 horas, en promedio, después de la inoculación.

Con respecto a la etapa de muerte a liberación de conidias, el tiempo de duración fue de 83,28 horas con el aislamiento Bb-9205 DS y de 116,0 horas, en promedio, después de la inoculación para el aislamiento Bb-9205 BFC.

El tiempo transcurrido desde la inoculación a la liberación de conidias para el tratamiento con el aislamiento Bb-9205 DS fue de 198 horas, en promedio, después de la inoculación y de 182 horas para el aislamiento Bb-9205 BFC. La tendencia en la duración del ciclo de desarrollo del hongo sobre la broca del café fue menor con el aislamiento Bb-9205 BFC. Estos resultados indican la conveniencia de reactivar el hongo mediante pase por brocas, lo cual se traduce en la obtención más rápida y abundante de inóculo en el ambiente.

Es importante destacar que las manifestaciones del hongo generalmente se inician en las partes intersegmentales de la broca. Posteriormente, todo el cuerpo de la broca es cubierto por el hongo, incluyendo las áreas quintinizadas. La conidiogénesis es altamente dependiente de las condiciones de humedad y se caracteriza por la pre-

Tabla 2. Duración de las diferentes etapas de desarrollo de *B. bassiana* sobre la broca del café bajo condiciones de laboratorio ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)

Etapas de desarrollo	Tratamientos	No. adultos	Tiempo en horas	
			Promedio	\pm D.E.
Inoculación a muerte	Bb-9205 DS	82	106,56	32,40
	Bb-9205 BFC	90	66,72	17,52
Muerte a producción de micelio	Bb-9205 DS	29	20,16	12,48
	Bb-9205 BFC	90	20,88	6,72
Muerte a cubrimiento micelial	Bb-9205 DS	45	31,92	14,40
	Bb-9205 BFC	33	44,40	6,96
Muerte a conidiogénesis	Bb-9205 DS	60	56,40	16,32
	Bb-9205 BFC	85	68,88	7,68
Muerte a liberación de conidias	Bb-9205 DS	67	83,28	20,64
	Bb-9205 BFC	86	116,00	14,64
Tiempo total	Bb-9205 DS	69	198,00	24,24
	Bb-9205 BFC	87	182,16	11,28

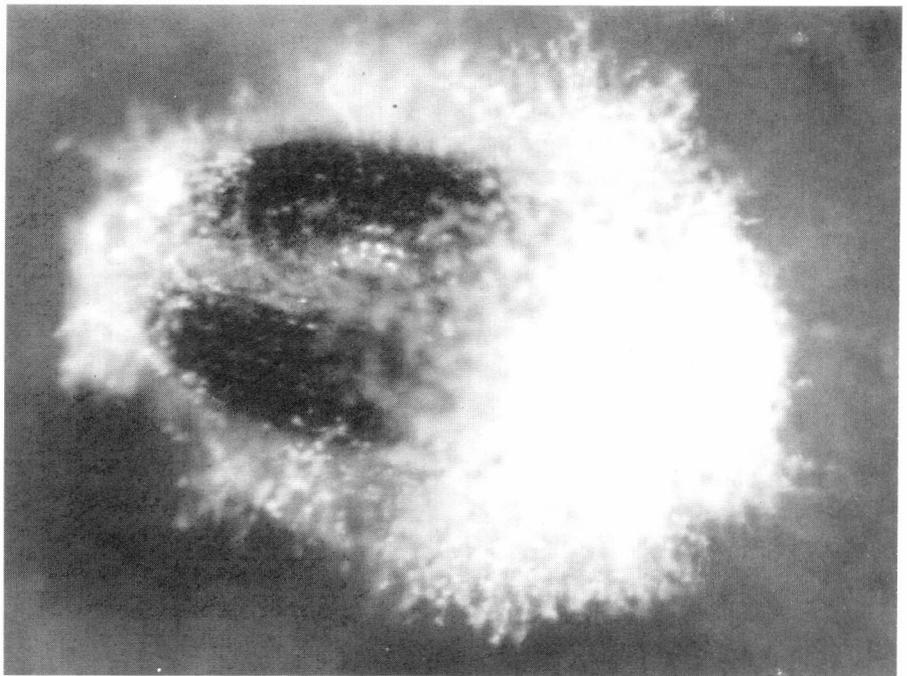


Figura 3. Formación de conidióforos en la etapa de conidiogénesis del hongo *Beauveria bassiana* sobre la broca del café

sencia de conidióforos, de los cuales emergen conidias de aspecto blanco cristalino (Fig. 3), finalmente se presenta la liberación de conidias de aspecto pulverulento, caracterizada por el desprendimiento de estas.

La individualización de las brocas permitió realizar evaluaciones de la patogenicidad ocasionada por la acción directa del hongo sobre cada una de

ellas y no como consecuencia de la oportunidad de enfermarse por la presencia permanente de inóculo, lo cual ocurre cuando se evalúa la patogenicidad sobre poblaciones en la que una broca enferma puede estar afectando la población y servir de vehículo para la infección del grupo como lo registrado por Lazo (1990), Méndez (1990) y García (1991). Otro aspecto de este bioensayo fue que no se utilizó como

sustrato para la broca un medio nutritivo con agar como el utilizado por Jiménez (1992) y así no hay incidencia de contagio causado por otros individuos que al enfermarse producen infección en el resto de la población cuando se realiza el bioensayo con grupos.

CONCLUSIONES

1. La metodología de bioensayo utilizada en esta investigación es confiable, de fácil manejo y reproducible para realizar los estudios de patogenicidad del hongo *B. bassiana* sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei*.
2. Parámetros como el porcentaje de mortalidad, la mortalidad diaria, el tiempo letal medio (TL₅₀) y las etapas de desarrollo del hongo deben tenerse en cuenta para determinar el potencial patogénico de los diferentes aislamientos del hongo *B. bassiana* sobre la broca del café.
3. El método de bioensayo permite evaluar la calidad de cualquier hongo entomopatógeno producido en medios diferentes, con diferentes tiempos de almacenamiento, diferentes formulaciones y concentraciones, y seleccionar las mejores cepas para el control biológico de la broca del café.
4. La reactivación del hongo, mediante el pase por la broca, incrementó la patogenicidad de la cepa Bb-9205 en un 11,12% y disminuyó el tiempo medio de mortalidad en 37,68 horas. Estos resultados sugieren la conveniencia de reactivar las cepas de *B. bassiana* mediante el pase por el huésped susceptible.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVES, S.B. 1986a. Fungos entomopatógenicos. En: S.B. Alves (Ed.). Controle Microbiano de Insetos. Cap. 3. Métodos utilizados em patologia e controle microbiano. Editora Manole Ltda, Sao Paulo, Brasil, p. 237-277.
- ALVES, S.B., 1986b. Fungos entomopatógenicos. En: S.B. Alves (Ed.). Controle Microbiano de Insetos. Cap. 2. Agentes entomopatógenicos no controle microbiano. Editora Manole Ltda, Sao Paulo, Brasil, p. 73-126.
- BARRERA, J.F.; MOORE, D.; ABRAHAM, Y.J.; MURPHY, S.T.; PRIOR, C. 1990. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Mexico and possibilities for further action. En: Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference-Pest and Diseases. 1990. p. 391-396.
- BUSTILLO, A.E.; CASTILLO, H.; VILLALBA, D.; MORALES, E.; VÉLEZ, P.E. 1991. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. In: Colloque Scientifique International sur le Cafe, 14o., San Francisco (Estados Unidos), 14-19 Juillet. 1991. ASIC, Paris. p. 679-686.
- , 1991a. Uso potencial del entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. En: Seminario sobre la broca del café. SOCOLEN. Medellín, octubre 1990. Miscelánea Sociedad Colombiana de Entomología (Colombia), no. 18. p. 91-105.
- , 1991b. Perspectivas de un manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei*, en Colombia. En: Seminario sobre la broca del café. SOCOLEN, Medellín, octubre 1990. Miscelánea Sociedad Colombiana de Entomología (Colombia) no. 18, p. 106-118.
- CÁRDENAS, R. 1991. La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867). En: Seminario sobre la broca del café. Medellín, octubre 1990. Miscelánea Sociedad Colombiana de Entomología (Colombia) no. 18, p. 1-13.
- DECAZY, B. 1990. Descripción, biología, ecología y control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.). En: Conferencias Conmemorativas 50 años de CENICAFE 1938-1988. CENICAFE, Chinchiná, Colombia. p. 133-139.
- EVANS, H.C. 1982. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystems: an appraisal. Ecological Entomology (Inglaterra) v. 7, p. 47-60.
- FERNÁNDEZ, P.M.; LECUONA, R.E.; ALVES, S.B. 1985. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Coleoptera: Scolytidae), con el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867) (Coleoptera: Scolytidae). Ecosistema (Brasil) v. 10, p. 176-182.
- FERRON, P. 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Annual Review of Entomology (Estados Unidos) v. 23, p. 409-442.
- HALL, R.A.; PAPIEROK, B. 1982. Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. Parasitology (Inglaterra) v. 84, p. 205-240.
- GARCÍA C., A.M. 1991. Informe Anual de Labores. CENICAFE, Chinchiná. 20p.
- IGNOFFO, C.M. 1975. Biological control of insects research. Environmental Letters (Estados Unidos) v. 8 no. 1, p. 23-40.
- JIMÉNEZ, J.A. 1992. Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. Cenicafé (Colombia) v. 43 no. 3, p. 84-88.
- KHACHATOURIANS, G. 1991. Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. In: D.K. Arora; I. Ajello; K.G. Mukerji. (Eds.). Handbook of Applied Mycology, Vol. 2. Humans, Animals and Insects. Marcel Dekke, New York. p. 613-663.
- KLEIN, K.C.; ESPINOZA, O.; TANDAZO, A.; CISNEROS, P.; DELGADO, D. 1988. Factores naturales de regulación y control biológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei*). Sanidad Vegetal (Ecuador) v. 3 no. 3, p. 5-30.
- LAZO A, R.R. 1990. Susceptibilidad de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, y su tolerancia al oxiclورو de cobre. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 61p. (Tesis Magister of Science).
- MÉNDEZ, L.I. 1990. Control microbiano de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), con el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) en el Soconusco, Chiapas. Chapingo, México. 135p. (Tesis de Maestría)
- MOORE, D.; PRIOR, C. 1988. Present status of biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases. (Inglaterra). 1988. v. 9, p. 1119-1123.
- MULLER, R.A. 1990. Algunos aspectos de un problema patológico grave que constituye una amenaza para la caficultura latinoamericana. La antracnosis de los frutos del café arabica (Coffee Berry Disease o CBD). En: Conferencias Conmemorativas 50 años de CENICAFE 1938-1988. CENICAFE, Chinchiná, Colombia. p. 124-132.
- MURPHY, S.T.; MOORE, D. 1990. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) previous programmes and possibilities for the future. Biocontrol News and Information (Inglaterra) v. 11 no. 2, p. 107-117.

- PACCOLA M. L.D.; AZEVEDO, J.L. 1990. Variabilidade natural no fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. Arquivos de Biologia e Tecnologia (Brasil) v. 33 no. 3 p. 657-672.
- PASCALET, P. 1939. La lutte biologique contre *Stephanoderis hampei* ou scolyte du cafeier au Cameroun. Revue de Botanique Applique et the Agriculture Tropical v. 49 no. 219, p. 753-764.
- PRIOR, C. 1987. Use of the fungal pathogen *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. for the control of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* Ferr.). FEDERACAFE, Bogotá. 3p. (Mecanografiado).
- ROBERTS, D.W.; YENDOL, W.G. 1971. Use of fungi for microbial control of insects. In: H.D. Burges; N.W. Hussey (Eds.). Microbial Control of Insects and Mites. Chap. 5. Academic Press, London p. 125-149.
- STEYAERT, R.L. 1935. Un ennemi naturel du *Stephanoderis*, le *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Etude des facteurs ambiants requissant sa pullulation. Institute de Etudes Agronomiques du Congo Belge, 46p. (Serie Scientifique no. 2).
- TICHELER, J.H.G. 1963. Estudio analítico de la epidemiología del escolítido de los granos de café, *Stephanoderis hampei* Ferr., en Costa de Marfil (Traducción G. Quiceno). Cenicafé (Colombia) v. 14 no. 4, p. 123-294.
- TRONCONI, N.M.; ARGUCIA, R.A.; MUÑOZ, R.J. 1986. Evaluación de la eficiencia de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin en el control de la broca del fruto del cafeto (*Hypothenemus hampei* Ferr. 1867). En: Seminario de Investigación Cafetera, 4o. IHCAFE, Tegucigalpa, D.C., julio 9-11 1986. Instituto Hondureño del Café. Tegucigalpa. p. 167-174.
- VILLACORTA, A. 1984. Ocorrença de *Beauveria* sp. infectando a broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) en Lavouras no estado do Paraná. Anais da Sociedade Entomologica do Brasil (Brasil) v. 13, p. 177-178.

RESISTENCIA ENZIMÁTICA A INSECTICIDAS EN LARVAS DE *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae)

ENZYMATIC RESISTANCE TO INSECTICIDES IN LARVAE OF *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae)

Edison Valencia*
Cecilia Plata*
Carlos Corredor*
César Cardona**

RESUMEN

El *Heliothis virescens* (Fabricius) es un insecto plaga de importancia en varios cultivos tropicales y su control depende estrechamente del uso de insecticidas químicos. Este insecto muestra una gran capacidad para el desarrollo de resistencia, principalmente por mecanismos metabólicos. Se determinaron los niveles de resistencia fisiológica en larvas de *H. virescens* comparando una población de la Costa Atlántica (resistente) y una del Valle del Cauca (susceptible), mediante aplicaciones tópicas *in vivo* de los insecticidas y en ensayos *in vitro* de actividad enzimática (esterasas, carboxilesterasas y sistema de oxidasas de función mixta-MFOs). La aplicación se hizo sobre larvas de tercer instar. Los productos aplicados fueron: endosulfan, triazophos, metilparation, deltametrina y fenvalerato. El extracto enzimático se obtuvo a partir de larvas del quinto instar sobrevivientes a la DL_{90+n} (n=1 a 10). Para el sistema MFOs, un grupo de larvas se sometió al consumo de dieta artificial suplementada con fenobarbital sódico como inductor. La actividad del citocromo P-450, de las esterasas y de las carboxilesterasas se determinó por métodos espectrofotométricos. Los resultados para la población del Valle del Cauca mostraron: 1) Una mayor mortalidad para todos los tratamientos; 2) Una menor actividad general del sistema MFOs; 3) Un grado similar de inducibilidad del sistema MFOs para las dos poblaciones; 4) Una actividad promedio de esterasas y carboxilesterasas ligeramente inferior en comparación con la Costa y 5) Variaciones significativas en la actividad de esterasas y de carboxilesterasas según el insecticida utilizado. Lo anterior permitió concluir que: El sistema MFOs, como uno de los mecanismos de resistencia, es más eficiente en la población de la Costa y el grado de

inductibilidad fue similar en las dos poblaciones. Todo esto indica que *H. virescens* del Valle del Cauca está capacitado genéticamente para desarrollar resistencias, aún cuando esta población muestra actualmente niveles aceptables de susceptibilidad como consecuencia de un manejo racional en el empleo de insecticidas. Con respecto a las esterasas y carboxilesterasas se admite la posibilidad de que los patrones de comportamiento molecular sean el resultado del manejo y presión de selección por aplicaciones comerciales previas a la recolección del pie de cría de cada población en el campo.

Palabras claves: Resistencia enzimática, Resistencia a insecticidas, *Heliothis virescens*, Actividad enzimática.

SUMMARY

Heliothis virescens (Fabricius) is an important pest of several tropical crops and its control depends on the use of chemical insecticides in a very narrow way. This insect shows a big capacity for the development of resistance, mainly based on metabolic mechanisms. We have determined the physiological resistance levels in larvae of *H. virescens* by comparison of two populations of the pest, one from the North Atlantic Coast (resistant) and the other from the Valle del Cauca (susceptible), using topical applications *in vivo* and test of enzymatic activity *in vitro*, (esterases, carboxylesterases and Mixed Function Oxidases System, MFOs). The application was done over third instar larvae. The products used were: endosulfan, triazophos, methyl parathion, deltamethrin and fenvalerato. The enzymatic extracts were obtained from fifth instar larvae, surviving to the DL_{90th} (n=1 to 10). For the MFOs, a group of larvae was fed with artificial diet added sodic phenobarbital as enzymatic inducer. The activity of cytochrome P-450, esterases and carboxylesterases was determined by spectrophotometric methods. The results for the population from the Valle del Cauca (susceptible) show: 1) A higher mortality for all the treatments. 2) A lower general activity of the MFOs. 3) A similar grade of inducibility of the

MFOs in comparison to the resistant population. 4) A slightly lower average activity of esterases and carboxylesterases than the activity reported for *H. virescens* from the Atlantic Coast. 5) Significant variations on the activity of esterases and carboxyl esterases depending on the insecticide tested. These informations allow to conclude that: The MFOs, as one of the resistance mechanism, is more efficient in the population from the Atlantic Coast and the grade of inducibility of this system is similar for both populations. This show that *H. virescens* from the Valle del Cauca is genetically able to develop resistance, although this population has at present, a normal susceptibility as a result of a rational use of chemical insecticides. With respect to the esterases and carboxylesterases activity, it is accepted that these molecular behavior patterns could be the result of the management and selection pressure related to commercial applications, already done before the collection of the insects from field, belonging to each one of the colonies under this study.

Key words: Enzymatic resistance, Resistance to insecticides, *Heliothis virescens*, Enzymatic activity.

INTRODUCCIÓN

La agricultura es la primera fuente de producción de alimentos, principalmente porque los productos de origen vegetal son casi siempre más baratos que los obtenidos de animales. Sin embargo, al lado de la agricultura ha existido un problema casi tan antiguo como la agricultura misma, se trata de los insectos que compiten con el hombre atacando los cultivos. Estos organismos han sido denominados plagas.

Existen diversas alternativas para el manejo de los insectos plagas, entre las cuales se destaca el control químico

* Sección Bioquímica, Facultad de Salud, Universidad del Valle. Cali, Colombia

** Entomólogo. Programa de Frijol CIAT. Apartado Aéreo 6713. Cali, Colombia.

co como un elemento importante, debido a la rapidez y facilidad con que soluciona este tipo de problemas. Sin embargo, cuando el control químico se emplea en forma irracional e indiscriminada ocasiona problemas peores que las mismas plagas, entre los cuales se pueden mencionar: los problemas ecológicos, por la destrucción de especies inofensivas y de los enemigos naturales de las plagas; los problemas toxicológicos, por el riesgo de intoxicación aguda de las personas que manejan los plaguicidas, así como por la presencia de residuos en los alimentos; los problemas económicos, por el aumento en las poblaciones de las plagas debido a la eliminación de sus enemigos, pero principalmente por causa de fenómenos de resistencia, y en ambos casos es necesario aumentar las dosis aplicadas, incrementar la frecuencia de aplicaciones e incluso recurrir a mezclas de diferentes insecticidas, lo cual incrementa significativamente los costos de producción.

El cultivo del algodón constituye un renglón económico de gran importancia en Colombia y en América, básicamente por la gran cantidad de empleos directos e indirectos que genera. El gusano bellotero del algodonero, *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), es una plaga clave que afecta drásticamente los rendimientos de este cultivo. Este insecto tiene gran capacidad para desarrollar resistencia, principalmente por los siguientes mecanismos:

- La baja penetración del insecticida en la cutícula.
- El elevado metabolismo por acción de enzimas degradativas.
- La baja sensibilidad en el sitio de acción debido a grandes modificaciones en las proteínas receptoras de la membrana de la célula nerviosa.

Dentro de las principales enzimas detoxificantes en *H. virescens* se destacan:

- Un sistema de oxidasas de función mixta (MFOs), cuya actividad es determinada a través del citocromo P-450.
- Diversos tipos de esterasas, como fosfatasa, carboxilesterasas y arilesterasas.
- Glutation-S transferasas.

En términos generales, la resistencia a insecticidas se puede diagnosticar y estudiar a través de pruebas de eficacia con rango de dosis, recurriendo a métodos como aplicaciones tópicas, discos de hoja aplicados con el ingrediente activo ("Deep Test") y exposición de los insectos adultos a tubos impregnados con el insecticida ("Adult-vial Test"). Sin embargo, cuando se quiere profundizar en las verdaderas causas de la resistencia es necesario realizar pruebas bioquímicas como son la medición de las actividades enzimáticas y los estudios electroforéticos de isoenzimas. Por esta razón, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo general la comparación de los niveles de resistencia fisiológica en larvas de *H. virescens* de dos poblaciones: la línea de la Costa Atlántica (resistente) y la del Valle del Cauca (susceptible); por medio de: aplicaciones tópicas *in vivo* y ensayos de actividad enzimática *in vitro*.

Los objetivos específicos fueron:

- Determinar la dosis letal media (DL_{50}) y la dosis discriminante (DL_{90+n}), para cada insecticida.
- Medir la actividad de esterasas totales.
- Medir la actividad de carboxil esterasas.
- Medir la actividad del sistema de oxidasas de función mixta (MFOs) sin inducción previa e inducido con fenobarbital.

La hipótesis de trabajo (Ho) fueron:

1. No existen diferencias significativas entre las dosis media y discri-

minante de la población de *H. virescens* del Valle del Cauca y las dosis encontradas para la población de la Costa Atlántica.

2. No hay diferencias de importancia estadística entre la actividad de esterasas totales y carboxilesterasas y *H. virescens* del Valle del Cauca y los niveles de actividad de estas enzimas para la población de la Costa.
3. No se presentan diferencias significativas en términos de la actividad del sistema de oxidasas de función mixta de *H. virescens* de la población del Valle del Cauca con respecto a la actividad encontrada para la población de la Costa Atlántica.

MATERIALES Y METODOS

Los insecticidas aplicados y su rango de dosis fueron:

endosulfán:	25 - 0,12 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ larva
triazofos:	52 - 4,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
metilparation:	35 - 0,375 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
deltametrina:	0,6 - 0,00625 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
fenalaterato:	0,6 - 0,018 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

Para las aplicaciones topicales *in vivo* se utilizó un diseño completamente al azar, y en el caso de las pruebas de actividades enzimáticas se siguió un diseño de casos y controles.

Los trabajos entomológicos se realizaron en el Centro Experimental de Hoechst Colombiana S.A. en el corregimiento de Rozo, en Palmira (Valle), y los trabajos bioquímicos se llevaron a cabo en la Universidad del Valle, Facultad de Salud, Sección Bioquímica.

Para el establecimiento de las colonias de *H. virescens* se recolectaron larvas en cultivos comerciales de algodón durante el período próximo al final del cultivo. Estas larvas se criaron en rejillas con dieta artificial para obtener larvas pertenecientes a la segunda generación, sobre las cuales se hicieron las aplicaciones topicas, empleando el método estándar de la So-

ciudad Entomológica de América (ESA) que reúne las siguientes condiciones:

- Solvente: Acetona
- Microaplicador Bukard: 1 µl/larva
- Peso larval promedio: 17 ± 3 mg
- Mínimo 8 horas postmuda en larvas seleccionadas
- 100 larvas / tratamiento
- Registro de mortalidad: 48 horas después de la aplicación.

Prueba de actividad de esterasas totales

Para esta prueba se utilizó el método de Koren, Yawetz y Perry (1984) adaptado para las larvas de *H. virescens*. Inicialmente se tomaron, al azar, tres larvas de quinto instar entre las sobrevivientes a la DL_{90+n} de cada producto por duplicado. Estas larvas se fijaron en cajas de petri con parafina para su disección. Posteriormente se efectuó un corte longitudinal por la línea mesal ventral, y de esta manera se logró extraer el intestino medio de cada larva en buffer de fosfatos 0,1M; pH 7,5/4 C. También fue necesario eliminar el contenido del intestino y remover los órganos internos adheridos al mismo.

Después, los intestinos se suspendieron en buffer frío, hasta el momento en que se efectuó la homogenización de los mismos en buffer de fosfatos 5mM, pH 7,4. Finalmente, 1 nl de la suspensión enzimática se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos con el fin de dar inicio al ensayo enzimático, para lo cual se tomaron 2 ml de buffer de fosfatos 0,1M y pH 7,2 para servirlos en cubetas de cuarzo; a cada cubeta se le adicionaron 50 µl de extracto enzimático sin agitación. Posteriormente se agregaron 100 µl de p-nitrofenil acetato 2,5 mM disuelto en etanol; en este momento las cubetas se agitaron por triple inversión y se determinó el incremento de absorbancia (por liberación del p-nitrofenol) a 405 nm en un espectrofotómetro Gilford Response II con un coeficiente de extinción de: 16,24 /mM.cm para el p-nitrofenol.

Prueba de actividad de carboxylesterasas

Para esta prueba se empleó un método similar al anterior, pero utilizando un buffer de fosfatos 0,1M y pH 8,0 durante el ensayo enzimático.

Ensayos de actividad del sistema de oxidasas de función mixta

Estos ensayos se llevaron a cabo empleando larvas de *H. virescens* de quinto instar sobrevivientes a la dosis discriminante. En este caso se implementaron dos modalidades: con o sin inducción por medio de 30 mg de fenobarbital sódico por kg de dieta artificial.

Para la prueba enzimática se empleó el método de Yu y Terriere: se disecaron larvas del quinto instar para extraer los intestinos medios, después se efectuó la homogenización de 5 intestinos medios en 12 ml de buffer de fosfatos 0,1M y pH 7,8 con glicerol al 20%, en un homogenizador eléctrico durante 30 segundos. El homogenizado crudo se filtró a través de gasa neutra y se realizó una primera centrifugación a 1.000 g durante 15 minutos para remover los núcleos y los residuos celulares; el sobrenadante se filtró a través de lana de vidrio. Luego se realizó una centrifugación a 10.000 g por 15 min para remover las mitocondrias; este segundo sobrenadante también se filtró en lana de vidrio. Finalmente se hizo una ultracentrifugación a 105.000 g durante una hora para obtener las fracciones microsomales destinadas al ensayo enzimático. El precipitado microsomal se suspendió en buffer de fosfatos 0,1M y pH 7,5 que contenía ditiotreitól

1 mM, y glicerol al 20%. La suspensión de microsomas se utilizó inmediatamente para el montaje de ensayos.

En el ensayo enzimático, la actividad de citocromo P-450 (que indica la actividad del MFOs) se determinó a través del método de Omura y Sato: cubetas con un buffer apropiado y la suspensión microsomal se trataron con nitrógeno gaseoso (control) y CO (muestra). Por último se leyeron las diferencias de absorbancia a 450 y 490 nm, simultáneamente para ambas cubetas.

Para todas las pruebas enzimáticas, el contenido de proteínas se determinó con el método de Lowry, utilizando seroalbúmina bovina como solución patrón.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dosis letal media (DL₅₀) y Dosis discriminante (DL_{90+n})

Los resultados de las aplicaciones tópicas (Tabla 1) muestran diferencias significativas en términos de la DL₅₀ y DL₉₀ para las dos poblaciones estudiadas. Para todos los productos aplicados, la población de *H. virescens* de la Costa mostró valores superiores en sus DL₅₀ y DL₉₀. Esto último se explica por las diferencias correspondientes a las curvas de mortalidad que presenta cada producto según su particular mecanismo de acción (Burt et al. 1978). Así por ejemplo, en el caso de insecticidas fosforados (inhibidores de la enzima acetil colinesterasa), la DL₉₀ es 2-6 veces mayor que la DL₅₀, y para los insecticidas tipo piretroide (acción sobre receptores de membrana), la DL₉₀ es 10-20 veces mayor.

Tabla 1. Aplicaciones tópicas. Dosis letal media y discriminante en *H. virescens*, F₂

Insecticidas	<i>H. virescens</i> Costa Atlántica		<i>H. virescens</i> Valle del Cauca		Factor de resistencia R/S DL ₉₀
	DL ₅₀ (µg/µl)	DL ₉₀ (µg/µl)	DL ₅₀ (µg/µl)	DL ₉₀ (µg/µl)	
Endosulfan	3,4	12,5	1,54	8,93	1,4
Triazofos	9,5	14,2	2,77	3,84	3,7
Metilparation	4,3	15,3	1,22	3,8	4,03
Deltametrina	0,108	0,62	0,064	0,26	2,4
Fenvalerato	0,15	1,2	0,156	0,87	1,37

El factor de resistencia promedio (FR=DL90 - Costa / DL90 - Valle) para todos los productos, fue igual a $2,58 \pm 0,03$. Los insecticidas endosulfan y fenvalerato presentaron los FR más bajos, posiblemente debido a sus características químicas (Khany y Bederka 1974), así como a su manejo en cada zona, haciendo que estas sustancias sean atípicas dentro de su correspondiente grupo. El endosulfan es un éster cíclico de ácido sulfuroso, y su degradación se efectúa principalmente a través del metabolismo secundario con la participación de enzimas conjugativas del grupo de las Glutacion-S transferasas (Gould y Hodgson 1980). Este hecho reduce ostensiblemente la probabilidad de que se dé una alta incidencia de resistencia, pues se sabe que los mecanismos metabólicos de resistencia son del tipo primario (Brattsen 1979). Por otro lado, el fenvalerato es un piretroide con pocos sitios de ataque metabólico y presenta cuatro isómeros con potencia insecticida diferencial. Esto último implica que el insecto totalmente resistente, debería estar en capacidad de tolerar los cuatro isómeros y existe una muy baja probabilidad de que esto suceda (Hoechst 1989).

Desde el punto de vista de manejo, como el endosulfan se aplica principalmente para el control del picudo del algodón, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), la presión de selección sobre *H. virescens* es circunstancial e indirecta, y en cuanto al fenvalerato, debido a su alta especificidad sobre *H. virescens* y a su elevado costo comercial, se aplica sólo cuando el único problema es *Heliothis*, situación muy poco frecuente, ya que esta plaga aparece muchas veces en complejo con otras plagas, lo cual exige el empleo de insecticidas menos específicos.

Con respecto a la deltametrina, otro piretroide con un FR superior al reportado para el fenvalerato, cabe anotar que debido a su uso indiscriminado en

la Costa Atlántica durante 1984, la plaga se hizo resistente y que el valor moderado de resistencia en la actualidad se debe a que en la Costa su uso se ha suprimido con la consecuente dilución de la resistencia y a que la alta utilización de este insecticida para el control del gusano rosado de la India, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Valle del Cauca, ejerce una presión selectiva indirecta sobre las poblaciones de *H. virescens*. Los FR para los organofosforados triazofos y metilparation fueron los mayores en el presente estudio. El máximo FR=4,03 obtenido para metilparation se explica por su amplia utilización para el control del picudo del algodón, especialmente al final del cultivo, seleccionando las poblaciones sobrevivientes de *H. virescens*.

En segundo lugar, se tiene el FR=3,7 del triazofos. Aún cuando se trata de un insecticida de poca utilización, en la Costa se aplica contra *H. virescens* en un producto comercial formado por la mezcla de triazofos y clorpirifos para el control de *Spodoptera* sp. (Lepidoptera: Noctuidae). Además, el triazofos y el metilparation son productos que por tener azufre dentro de su radical fosfato (fosforotioatos), tie-

nen mayores probabilidades de resistencia cruzada (Koren et al. 1984). Finalmente hay que recalcar que *H. virescens* es una especie naturalmente tolerante al triazofos sin que se haya efectuado una selección previa (Attia 1980).

Actividad de esterases totales (Figuras 1, 2, 3 y 4)

El valor promedio de la actividad de esterases totales para la población de la Costa Atlántica fue significativamente mayor (1,923 nM/min) que para el Valle del Cauca (1,529 nM/min). Esta es una consecuencia directa de las aplicaciones comerciales indiscriminadas efectuadas en la Costa.

Los valores obtenidos con la población del Valle del Cauca muestran una mayor actividad de esterases totales en las larvas seleccionadas con triazofos. Este hecho indica que el pie de cría obtenido de lotes comerciales de cultivo de algodón en esta zona presentó una alta incidencia de individuos seleccionados con este producto, y además evidencia que los insecticidas organofosforados son sustratos de diversos tipos de esterases (Brooks 1972).

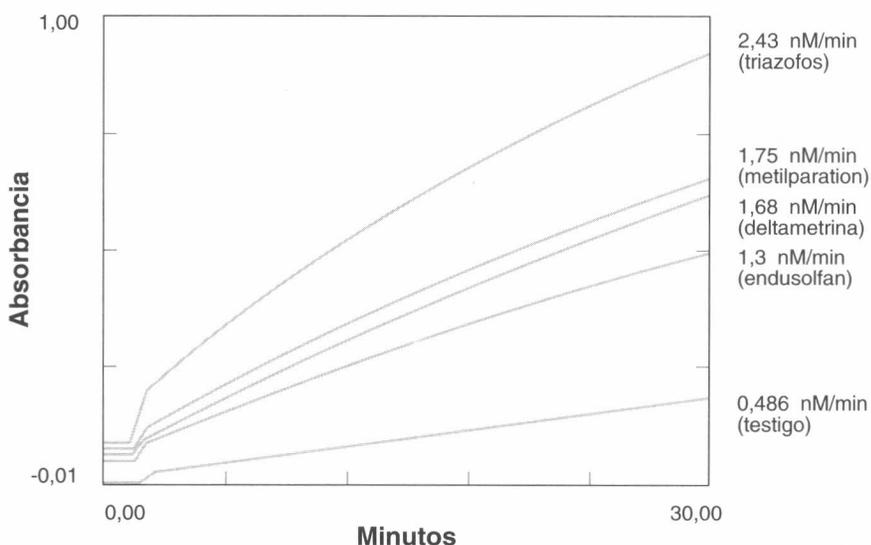


Figura 1. Actividad de esterases totales. *H. virescens* - Valle del Cauca. F₂. Análisis= ; Muestras=1,2,3,4

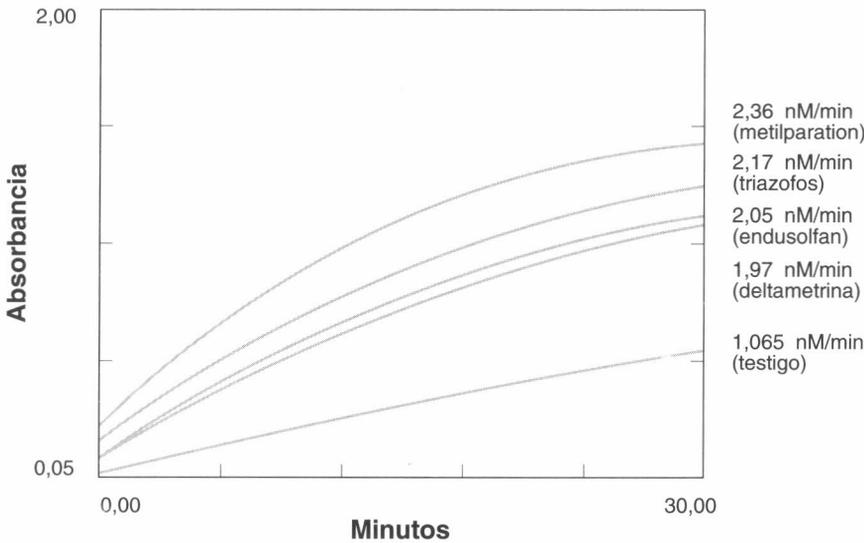


Figura 2. Actividad de estererasas totales. *H. virescens* - Costa Atlántica. F₂. Análisis=1; Muestras=1,2,3,4,5

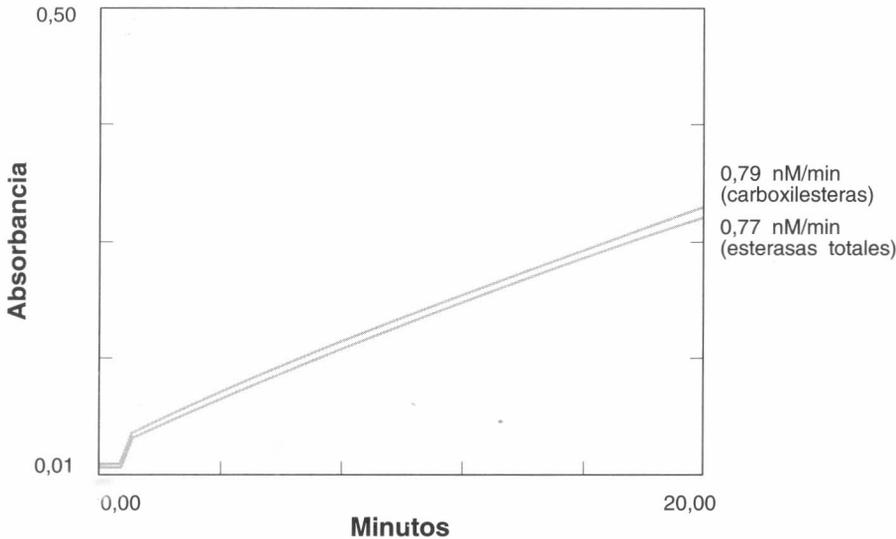


Figura 3. Actividad de carboxilesterasas y estererasas totales DL₉₀ de fenvalerato. *H. virescens* - Valle del Cauca. F₂. Análisis= ; Muestras=1,2

El segundo producto con niveles importantes de actividad de estererasas totales fue el metilparation, el cual, a pesar de tener poca utilización en el Valle del Cauca por la ausencia del picudo, presenta un alto riesgo de resistencia cruzada con el triazofos.

El valor de la actividad de estererasas totales encontrado para la deltametrina que puede considerarse intermedio para el Valle del Cauca, confirma el hecho de que el empleo de este producto al final de temporada para el

control del gusano rosado de la India, está seleccionando las poblaciones de *H. virescens* que aparecen simultáneamente con ese insecto.

En relación con el endosulfan, se observa una actividad de estererasas totales inferior al promedio debido, seguramente, al empleo mínimo de este producto en los cultivos de algodón del Valle del Cauca. En segundo lugar, sus características moleculares descritas (Valencia 1988) sugieren dificultades estéricas para la acción de las estererasas (Hana 1987).

Los bajos niveles de actividad de estererasas totales para fenvalerato (Fig. 5) están directamente relacionados con los altos valores de eficacia reportados para este insecticida en algunas localidades del país. Dos características de su estructura química pueden estar reduciendo su sensibilidad a ataques enzimáticos: una es la presencia del grupo alfa-ciano (-CN) en posición CIS con el oxígeno del grupo carboxílico. En segundo lugar, existe un grupo metil butilato también en posición CIS al otro lado del grupo carbonilo que impide el acceso al sitio catalítico de la enzima e incrementa su afinidad por los receptores presentes en la membrana de la célula nerviosa como ha sido reportado para diferentes especies (Oppenorth y Welling 1976).

La actividad de las estererasas totales para la población de la Costa Atlántica mostró no solamente un promedio general mayor, sino que la posición de la jerarquía de algunos insecticidas cambió sustancialmente. Las larvas seleccionadas con metilparation presentaron los mayores valores de actividad y significativamente superiores a los valores del Valle del Cauca.

El siguiente producto en importancia fue el triazofos cuya actividad enzimática en las larvas de la Costa fue realmente menor que en las larvas del Valle, donde el empleo de este insecticida es más frecuente.

Lo contrario sucedió en el caso del endosulfan, cuyos valores de actividad de estererasas fueron mayores para la población de la Costa, donde el producto se aplica sólo contra *A. grandis* y en mezcla con otros insecticidas contra *H. virescens* (Sperts 1981).

En el cuarto lugar de importancia se tiene la población seleccionada con deltametrina, pero es de anotar que si bien los valores de actividad están en el promedio, siguen siendo mayores que los encontrados para *H. virescens* del Valle del Cauca. Esto se explica por la gran presión de selección ejer-

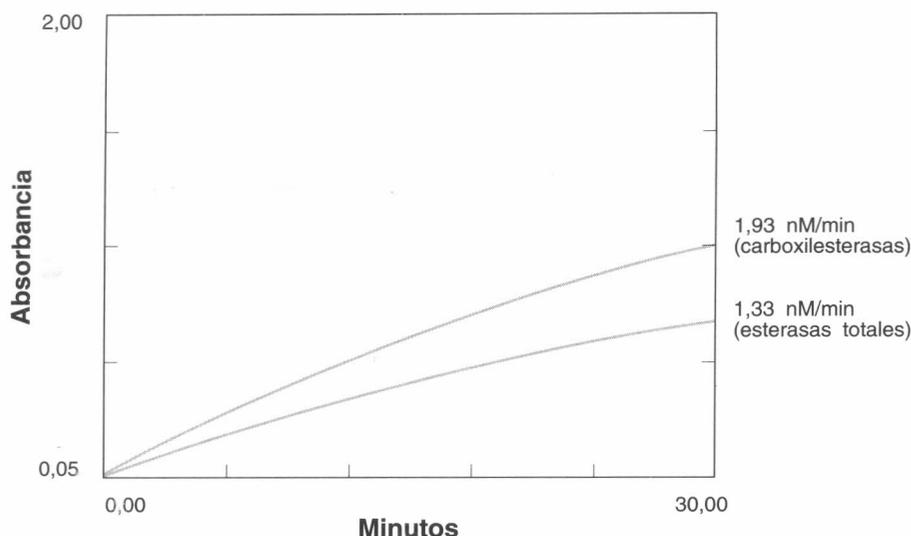


Figura 4. Actividad de carboxilesterasas y esterases totales DL₉₀ de fenvalerato. *H. virescens* - Costa Atlántica. F₂. Análisis=2 ; Muestras=1,2

cida sobre este insecto por muchos piretroides similares a la deltametrina en la Costa Atlántica.

Los valores para el fenvalerato fueron nuevamente los más bajos, pero mayores que los hallados para la población del Valle del Cauca.

Finalmente fué interesante comprobar que la actividad esterases totales de los testigos absolutos (controles sin aplicación), fue la menor para las dos poblaciones y que la actividad basal para el testigo de la costa fue 2,19 veces mayor que la registrada para la población del Valle. Este hecho indica que a lo largo de dos generaciones de cría en el laboratorio, persisten las diferencias entre las dos poblaciones debidas a la presión selectiva y al manejo del *H. virescens* en cada zona.

Actividad de carboxilesterasas (Fig. 3-6)

Para la población de la Costa Atlántica (Fig. 6) se observan valores de actividad de carboxilesteras significativamente mayores.

En la población del Valle del Cauca (Fig. 5), la deltametrina presentó el valor más alto, lo cuál resulta lógico si se considera que los piretroides son

particularmente sensibles al ataque de las carboxilesterasas, por tener en su grupo central un ester carboxílico (Brattsen 1979). En esta zona, el triazofos ocupó el segundo lugar como consecuencia de la alta actividad fosfatásica reportada para las carboxilesterasas.

Las posiciones intermedias de metilparation y el endosulfan son consecuencia de su poca utilización en el

Valle, y para el fenvalerato los valores fueron los más bajos y no diferentes de los hallados para las esterases totales (Fig. 3).

Los resultados para la población de la Costa (Fig. 6) muestran drásticos cambios de posición en la jerarquía de actividad de estas enzimas: El metilparation ocupó el primer lugar, seguido por la deltametrina y el endosulfan, en tanto que la actividad encontrada para las larvas seleccionadas con triazofos fue la más baja del grupo. En relación con el fenvalerato (Fig. 4 y 5) se observa un incremento de la actividad con respecto al *H. virescens* del Valle del Cauca y diferencias significativas con la actividad de las esterases totales. Cabe destacar que no hubo diferencias con respecto a los testigos absolutos de ambas poblaciones, lo cual indica la posibilidad de inducción enzimática (Síntesis de novo) ya demostrada en otras especies de insectos (Burt et al. 1978).

Estos resultados son consecuencia directa del empleo indiscriminado de los piretroides contra el *H. virescens*, debido a los altos niveles de población de este insecto en la Costa Atlántica.

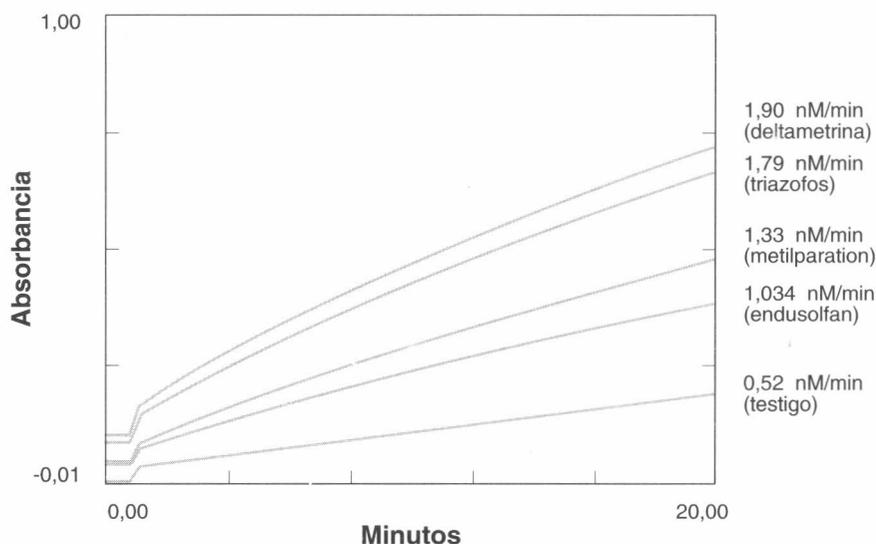


Figura 5. Actividad de carboxilesterasas *H. virescens* - Valle del Cauca. F₂. Análisis= ; Muestras=1,2,3,4,5

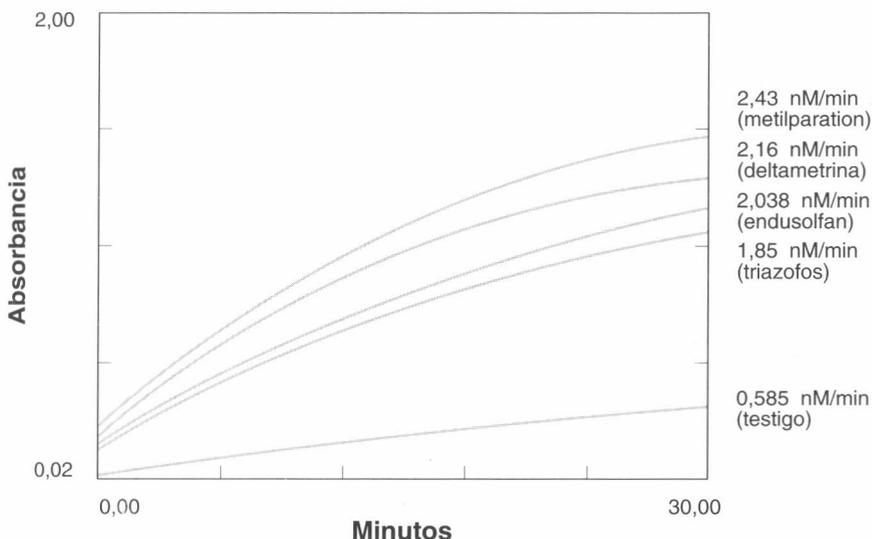


Figura 6. Actividad de carboxilesterasas *H. virescens* - Costa Atlántica. F₂. Análisis=2; Muestras=1,2,3,4,5

Tabla 2. Resultados del sistema de oxidasas de función mixta. Actividad del citocromo P-450. Línea: Valle del Cauca.

Insecticida (DL _{90-n})	Actividad enzimática						Grado de Inducib.
	Sin inducción			Con inducción			
	AAbs CO-N	Cont. proteínas mg/ml	Actividad espec. nM/mg Prot.	AAbs CO-N	Cont. proteínas mg/ml	Actividad espec. nM/mg Prot.	
Testigo absoluto	0,070	13,80	0,056	0,163	14,3	0,125	2,23
Endosulfan	0,124	16,20	0,085	0,381	16,4	0,256	3,01
Triazofos	0,205	14,60	0,154	0,854	15,6	0,600	3,89
Metilparation	0,211	15,70	0,148	0,430	15,9	0,297	2,00
Deltametrina	0,146	14,80	0,108	0,262	15,4	0,187	1,73
Fenvalerato	0,112	12,24	0,100	0,202	12,6	0,175	1,75

Tabla 3. Resultados del sistema de oxidasas de función mixta. Actividad del citocromo P-450. Línea: Costa Atlántica.

Insecticida (DL _{90-n})	Actividad enzimática						Grado de Inducib.
	Sin inducción			Con inducción			
	AAbs CO-N	Cont. proteínas mg/ml	Actividad espec. nM/mg Prot.	AAbs CO-N	Cont. proteínas mg/ml	Actividad espec. nM/mg Prot.	
Testigo absoluto	0,103	10,30	0,110	0,223	9,6	0,261	2,37
Endosulfan	0,145	10,14	0,157	0,419	10,2	0,451	2,87
Triazofos	0,300	11,60	0,284	0,946	10,8	0,970	3,42
Metilparation	0,329	10,70	0,338	0,769	10,5	0,805	2,38
Deltametrina	0,164	9,56	0,189	0,253	8,7	0,321	1,70
Fenvalerato	0,138	9,21	0,165	0,213	8,3	0,284	1,72

Sistema de oxidasas de función mixta (MFOs) (Tablas 2, 3 y 4)

La actividad de MFOs sin previa inducción con fenobarbital fue significativamente más alta en las larvas aplicadas con insecticidas organofosforados para ambas poblaciones de

H. virescens. El mayor valor dependió de la frecuencia de utilización de cada producto en cada zona, siendo superiores los datos encontrados para la población de la Costa.

Para los insectos de las dos localidades fue consistente que endosulfan,

deltametrina y fenalverato presentaron los valores más bajos.

Estos resultados sugieren que el sistema MFOs tiene poca participación como mecanismo principal de resistencia a este tipo de productos, o que forma parte de un complejo de respuestas metabólicas en el cual las esterasas (en el caso de los piretroides) y las glutatión-S transferasas (para endosulfan) serían las más importantes (Goult y Hodgson 1980).

Lo más interesante, con respecto al MFOs, es la demostración por primera vez de que el grado de inducibilidad de este sistema enzimático es similar para las dos poblaciones. En efecto, para el *H. virescens* del Valle del Cauca y de la Costa, los coeficientes de inducibilidad no fueron estadísticamente diferentes. Esto indica que ambas poblaciones están capacitadas genéticamente para responder a la presión selectiva ejercida por los insecticidas y que un manejo irracional de estos productos podría inducir el sistema MFOs en ambas zonas.

CONCLUSIONES

1. Las DL₅₀ y DL₉₀ fueron siempre menores para la población de *H. virescens* del Valle del Cauca.
2. La actividad promedio de las esterasas y de las carboxilesterasas fue ligeramente mayor para la población de la Costa Atlántica.
3. Existen variaciones significativas en la actividad de esterasas totales y las carboxilesterasas para ambas poblaciones, según el insecticida aplicado.
4. El *H. virescens* de la Costa Atlántica mostró una actividad del sistema MFOs significativamente mayor con respecto a todos los insecticidas.
5. Ambas poblaciones de *H. virescens* presentaron un grado similar de inducibilidad del sistema MFOs.

Tabla 4. Comparación de la actividad del MFOs *Heliothis* Costa Atlántica vs. *Heliothis* Valle del Cauca.

Insecticida (DL _{90+N})	Actividad enzimática nMoles/mg prot.						Razón de
	H. virescens-Valle			H. virescens-Costa			Actividad
	Actividad específica		Grado	Actividad específica		Grado	R/S
	No inducida	Inducida	Inducib.	No inducida	Inducida	Inducib.	Sin induc.
Testigo absoluto	0,056	0,125	2,23	0,110	0,261	2,37	1,96
Endosulfan	0,085	0,256	3,01	0,157	0,451	2,87	1,85
Triazofos	0,154	0,600	3,89	0,284	0,970	3,42	1,84
Metilparation	0,148	0,297	2,00	0,338	0,805	2,38	5,44
Deltametrina	0,108	0,187	1,73	0,189	0,321	1,70	2,97
Fenvaltaro	0,100	0,175	1,75	0,165	0,284	1,72	2,84

6. Existe corelación entre la mortalidad y la actividad enzimática de cada población según el manejo del insecto en cada zona.

BIBLIOGRAFÍA

ATTIA, F.I.G. 1980. Synergism studies with organo phosphorus resistant strains of the Indian meal moth. *Journal of Economic Entomology* (Estados Unidos) v. 73, p. 184-185.

BRATTSSEN, L.B. 1979. Biochemical defense mechanisms in herbivores against plant allelochemicals. *In: Herbivores their interactions with secondary plants.*

BROOKS, G.T. 1972. Pathways of enzymatic degradation of pesticides. *In: F. Coulston and F. Korte* (Eds.). *Environmental quality and safety.* Academic Press, New York. p. 106-164.

BURT, M.E.; KUHR, R.J.; BOWERS, W.S. 1978. Metabolism of precocene II in the cabbage looper and European corn borer. *Pesticide Biochemistry and Physiology* (Estados Unidos) v. 9, p. 300-303.

GOULD, F.; HODGSON, E. 1980. Mixed-function oxidase and glutathione transferase activity in last instar *Heliothis virescens* larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology* (Estados Unidos) v. 11, p.

HANA, E.M. 1987. Spectrophotometric method for the evaluation of total esterase activity in aphids. *Journal of Insect Physiology* (Estados Unidos) v. 32, p. 128-134.

HOECHST. 1989. Technical Information, Thiodan insecticide Acaricide. 25p.

KHAN, M.A.; BEDERKA, J.P., Jr. 1974. Survival in toxic environments. Academic Press, New York. 553p.

KOREN, B.; YAWETZ, A.; PERRY, S. 1984. Biochemical properties characterizing the development of tolerance to malathion in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* (Estados Unidos) v. 77, p. 864-867.

OPPENORTH, F.J.; WELLING, W. 1976. Biochemistry and physiology of resistance. *In: C.F. Wilkinson* (Ed.). Plenum Press, New York. p. 507-511.

SPARKS, T.C. 1981. Development of insecticide resistance in *Heliothis* spp. in the Americas. *Bulletin of the Entomological Society of America* (Estados Unidos) v. 27, p.

VALENCIA, E. 1988. Insecticidas selectivos como alternativas para el manejo integrado de plagas. Hoechst Colombiana S.A. División Agropecuaria, Centro Experimental Hoecol, Cali, Colombia. (Publicación Internacional).

CULTIVOS TRAMPA PARA EL CONTROL DEL CAÑERO DEL TABACO, *Faustinus apicalis* (Faust) (Coleoptera: Curculionidae)

TRAP CROPS FOR THE CONTROL OF THE TOBACCO STEM BORER *Faustinus apicalis* (Faust) (Coleoptera: Curculionidae)

Alberto Soto Giraldo*

RESUMEN

El cañero del tabaco, *Faustinus apicalis* (Faust), es la plaga que ocasiona las mayores pérdidas económicas a los tabacaleros en la Costa Atlántica colombiana. Con este trabajo se pretendió desarrollar un método de control de este barrenador, mediante el uso de cultivos trampa, para lo cual se utilizaron los siguientes materiales: tomate Roma VF, berenjena Black Beauty, girasol y tabaco. Alrededor del área de la parcela para tabaco se sembraron tres surcos del correspondiente cultivo trampa con 30 días de anticipación, observándose cómo los adultos del cañero del tabaco tienen una gran preferencia por el cultivo de berenjena. Cuando se utilizó esta como cultivo trampa, el tabaco fue el menos atacado por la plaga y produjo los mayores rendimientos (42,6% más que el testigo) y mejor calidad por clases, comparado con el resto de los tratamientos.

Palabras claves: Tabaco, *Faustinus apicalis*, Cultivos trampa, Juan viejo, Cañero del tabaco, Control cultural.

SUMMARY

The tobacco stem borer is the insect pest that causes the highest economic losses to tobacco growers in the Colombian Caribbean Coast. The present work aimed to controlling this stem borer through the use of trap crops. Thus, the following materials were used: the tomato Roma VF, the eggplant Black Beauty, a sunflower cultivar and a tobacco cultivar. Around the tobacco plots, 3 rows of the trap crop used were sown 30 days before the tobacco planting. It was observed that the adults of the stem borer has a strong preference for the eggplant. When this plant species protected the tobacco plots, this crop suffered a very mild attack of the insect pest, and gave superior yields (42,6% higher than the check). The quality of the harvest classes was also better compared with that of the other treatments.

Key words: Tobacco, *Faustinus apicalis*, Trap crops, Tobacco stem borer, Cultural control.

INTRODUCCIÓN

Entre los problemas más graves y complejos que afrontan los tabacaleros en la Costa Atlántica se encuentran las plagas, y entre ellas la más importante es el cañero del tabaco, *Faustinus apicalis* (Faust) (Coleoptera: Curculionidae), conocido también con los nombres de Juan viejo ó candelilla. Esta plaga se presenta desde la época del semillero hasta el final del cultivo, y el principal daño es ocasionado por el insecto en el estado de larva.

Para su control se han utilizado agroquímicos, los cuales han resultado ineficientes y antieconómicos para los productores insolventes, como son la mayoría de los agricultores tabacaleros.

Este barrenador de los tallos se ha constituido, por sus hábitos de alimentación, oviposición, dinámica poblacional y manejo tradicional que le dá el agricultor, en un problema de alto riesgo, el cual se ha perpetuado en toda la zona tabacalera.

REVISIÓN DE LITERATURA

Gallego (1964) reportó este insecto como *Collabismodes* sp. (Coleoptera: Curculionidae) en Bucaramanga (Sant.) y sus alrededores en 1937, y en Bolívar (Ant.) en diciembre de 1938, aunque los tabacaleros santandereanos informan haberlo observado por primera vez en 1932.

En un estudio realizado por Saumeth (1990) concluye que en toda la zona

tabacalera de la Costa Atlántica existe el cañero del tabaco, *F. apicalis*, donde las infestaciones iniciales de insecto son superiores al 90% y tienden a subir durante el ciclo vegetativo del cultivo. Se indica además que los agricultores no diferencian al cañero, y lo confunden con otras plagas como las chinches (Hemiptera) y el papelerero del tabaco, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), y que a pesar de la alta incidencia de la plaga, el agricultor no conoce la importancia del problema. Además señala que no hay estudios que indiquen las alternativas para combatir esta plaga con productos químicos ya que el mismo agricultor en cada cosecha está aumentando el problema de cañero, al no destruir la soca y por lo tanto da lugar a la proliferación de la plaga.

Según Bautista y Dueñas (1987), los síntomas que presentan las plantas afectadas por el ataque de *F. apicalis* depende de la edad de estas y de la época del ataque. Cuando el ataque se inicia en planta jóvenes, estas presentan un marchitamiento general en las hojas más nuevas, detienen su crecimiento y posteriormente rebrotan los chupones. El daño principal es causado por la larva, la cual hace galerías a lo largo de la médula de la planta y la destruye totalmente. En ataques tempranos, el adulto alcanza a salir por la parte superior del tallo. Estos autores estudiaron los diferentes estados biológicos del insecto y encontraron lo siguiente:

* Ing. Agrónomo. Grupo Multidisciplinario de Tabaco, ICA. Centro de Investigación "Car-men de Bolívar", Km 1 vía a Zambrano (Bol.)

Huevo: Es ovipositado en el tallo, en la nervadura central de las hojas, especialmente en el envés, y también cerca al pecíolo; el sitio de postura es un agujero realizado por el pico de la hembra y se reconoce por una pequeña depresión de color negro, que se debe al excremento con que la hembra sella el orificio de oviposición. Los huevos son elípticos, de color blanco amarillento, brillantes y lisos. La duración del estado de huevo es de 4 a 5 días.

Larva: Es ápoda, curvada en forma de C, con cuerpo de color amarillento y cabeza de color marrón. La duración del período larval es de 17 a 20 días.

Pupa: Es de coloración blanca. Próxima a la emergencia del adulto resaltan dos puntos negros que corresponden a los ojos. La pupa es exarata y se encuentra dentro de un cocoon (cámara) compuesto por desechos medulares y excrementos. La duración del estado pupal es, en promedio, de 5 a 9 días.

Adulto: Es un gorgojo o picudo de forma redondeada, de color pardo oscuro y mide entre 5 y 6 mm de longitud. Es poco activo y cuando se siente atacado no vuela sino que se deja caer. La hembra comienza a ovipositar muy tempranamente, debido a lo corto del período vital que es de 23 a 28 días. La principal diferencia entre hembras y machos es que estos presentan la parte frontal de la cabeza y los dos tercios del pico recubierto por escamas de color blanco, mientras que en las hembras el pico es de color negro brillante y completamente liso. Gallego (1946) indica que las variaciones de clima influyen sobre la población y desarrollo del insecto. Además, este autor encontró que las mayores oviposiciones se presentaron en zonas relativamente secas y durante los meses de mayor intensidad solar.

Rosillo (1971) registra como huéspedes del cañero al bledo (*Amaranthus* sp.), la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.), el chamico (*Datura stramonium* L.), el tomate (*Lycopersicum esculen-*

tum Miller), el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), el lulo (*Solanum quitoense* L. n.), la berenjena (*Solanum melongena* L.) y el pimentón (*Capsicum annuum* L.), entre otros.

En cuanto al control de esta plaga, Garcés (1972) recomendó hacer aplicaciones preventivas semanales o cada 10 días, comenzando desde el trasplante hasta el primer corte de tabaco con los siguientes insecticidas: tricolorfon en dosis de 0,1 kg i.a./100 l de agua, carbaryl en dosis de 0,5 a 0,75 kg i.a./ha y malathion en dosis de 0,5 a 1 kg i.a./ha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó entre febrero y diciembre de 1991, en el Centro de Investigación "El Carmén de Bolívar" del ICA, en el municipio del Carmen de Bolívar (Bol.), con una altitud de 152 msnm, temperatura promedio de 26,7°C, humedad relativa del 75%, precipitación anual de 1,201 mm, enmarcado en la zona de vida bosque seco tropical (bst).

Los siguientes materiales se utilizaron como cultivos trampa: tomate Roma VF, berenjena Black Beauty, girasol y tabaco. Se utilizó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones.

Alrededor de la parcela a sembrar con tabaco, cultivo principal, se sembraron tres (3) surcos del correspondiente cultivo trampa 30 días antes de transplantar del tabaco. La distancia entre las parcelas de tabaco y el cultivo trampa fue de 1,5 m. En la parcela dejada para tabaco se sembraron 6 surcos de 12 m de largo, con una distancia entre surco de 1 m y 0,5 m entre plantas. La distancia de siembra en los cultivos trampa se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos y distancias de siembra de los cultivos trampa.

Tratamiento	Distancia de siembra (m)	
	Entre surcos	Entre plantas
T ₁ = Tomate	0,8	0,5
T ₂ = Berenjena	0,8	0,8
T ₃ = Girasol	0,8	0,25
T ₄ = Tabaco (testigo)	1,0	0,5

En los cultivos trampa se realizaron evaluaciones semanales sobre el número de adultos de cañero presentes externamente. Al cumplir las plantas su ciclo vegetativo o cuando se observaron síntomas de muerte por ataque de la plaga, los tallos se abrieron longitudinalmente para evaluar el número de larvas, prepupas, pupas y adultos, y el porcentaje de daño ocasionado.

Después de la siembra del tabaco, como cultivo principal, semanalmente se arrancaron 5 plantas tomadas al azar por tratamiento, cuyos tallos se abrieron longitudinalmente para evaluar, como en los cultivos trampa, las larvas, prepupas, pupas y adultos, y el porcentaje de daño; además se evaluó el rendimiento teniendo en cuenta las clases de tabaco.

Cabe anotar que durante la realización del presente trabajo no se aplicó ningún insecticida para controlar el *F. apicalis*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las evaluaciones realizadas a los diferentes cultivos trampa se observó que sólo hasta la 4a. semana de transplantar estos cultivos al sitio definitivo aparecieron los primeros adultos de *F. apicalis* en berenjena, y a partir de la 5a. semana se presentaron en los demás tratamientos.

Los adultos de *F. apicalis* mostraron una gran preferencia por el cultivo de berenjena (2,1 adultos/por planta), siguiéndole en su orden el tratamiento testigo, el girasol y el tomate (Tabla 2).

Tabla 2. Lectura de los primeros adultos de *Faustinus apicalis* en los cultivos trampa. Carmen de Bolívar (Bol.). 1991.

Tratamiento	No. promedio de adultos/planta
T ₁ = Tomate	0,06
T ₂ = Berenjena	2,10
T ₃ = Girasol	0,37
T ₄ = Tabaco (testigo)	0,43

Con relación al grado de infestación por larvas de *F. apicalis* en los diferen-

tes cultivos trampa, los resultados del ensayo indican que estas aparecieron a partir de la 5a. semana después del transplante. La berenjena presentó el mayor número promedio de larvas/planta, seguida por el tabaco (testigo) y tomate (Tabla 3.). Al abrir los tallos de girasol no se observó ningún estado biológico del insecto ni daños ocasionados por la plaga. También en berenjena se presentó el mayor número promedio por planta de prepupas, pupas y adultos, comparado con el resto de los tratamientos (Tabla 3).

En cuanto al porcentaje de daño ocasionado por las larvas de *F. apicalis* en los diferentes cultivos trampa se observa que la berenjena fue la más afectada presentando un 87,2% de daño, seguida por el tabaco (testigo) y el tomate (Tabla 3).

Cuando el cultivo de berenjena terminó su ciclo vegetativo, se realizó una última inspección del insecto y en el interior del tallo se encontraron hasta 87 estados biológicos del insecto/planta y un daño de la médula de la planta del 100% (Fig. 1).

En cuanto al grado de infestación por *F. apicalis* en el cultivo de tabaco y el porcentaje de daño ocasionado por la plaga (Tabla 4) se observó lo siguiente:

Larva: En relación con la infestación de larvas de cañero en tabaco (Tabla 4) se observa que la berenjena, como cultivo trampa, presentó el menor número promedio de larvas/planta comparado con los tratamientos de tabaco (testigo), girasol y tomate.

Prepupa: El tabaco, en el tratamiento con berenjena, como cultivo trampa, presentó el menor número promedio de prepupas/planta (0,19), seguido por tabaco testigo.

Pupa: En los tratamientos con berenjena y tomate como cultivos trampa, el tabaco presentó el menor número promedio de pupas/planta seguido por el girasol y el tabaco testigo.

Adulto: De nuevo en la berenjena como cultivo trampa, el tabaco presentó el menor número promedio de adultos/planta (0,19), seguido por el girasol, el tomate y el tabaco testigo.

Porcentaje de daño: El porcentaje promedio de daño causado por las larvas de *F. apicalis* a las plantas de tabaco fue menor en el tratamiento con berenjena como cultivo trampa, siguiéndole en su orden los tratamientos con tomate, tabaco testigo y girasol.

Cabe destacar que en la última lectura el porcentaje de daño para el tratamiento con berenjena como cultivo trampa, el porcentaje de daño fue del 76,6%, comparado con el resto de tratamientos que osciló entre el 98 y 100%.

Según los datos de la Tabla 5, el rendimiento promedio de tabaco, en peso seco por parcela, no presentó diferencia estadística significativa al nivel del 5%; sin embargo, los mayores rendimientos de tabaco se obtuvieron cuando el cultivo trampa fue berenjena, seguido por el tomate y el tabaco testigo. Los registros de campo indican que la parcela de tabaco cuyo cultivo trampa fue berenjena produjo el 42,6% más que el tabaco testigo.

Al comparar los rendimientos promedios de tabaco y el porcentaje de rendimiento por clases para cada uno de los tratamientos (Tabla 5), se observa que el tratamiento con berenjena, como cultivo trampa, produjo los mayores rendimientos del ensayo y que de este rendimiento el 16% (1,18

Tabla 3. Número de larvas, prepupas, pupas y adultos, porcentaje de daño de *Faustinus apicalis* en cultivos trampa. (Promedio de 21 lecturas). Carmen de Bolívar (Bol.) 1991.

Tratamiento	Larva	Prepupa	Pupa	Adulto	% daño
T ₁ = Tomate	2,39	0,67	0,58	0,32	26,16
T ₂ = Berenjena	7,20	2,76	5,14	4,83	87,20
T ₃ = Girasol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T ₄ = Tabaco (testigo)	2,65	0,26	0,68	0,63	74,10

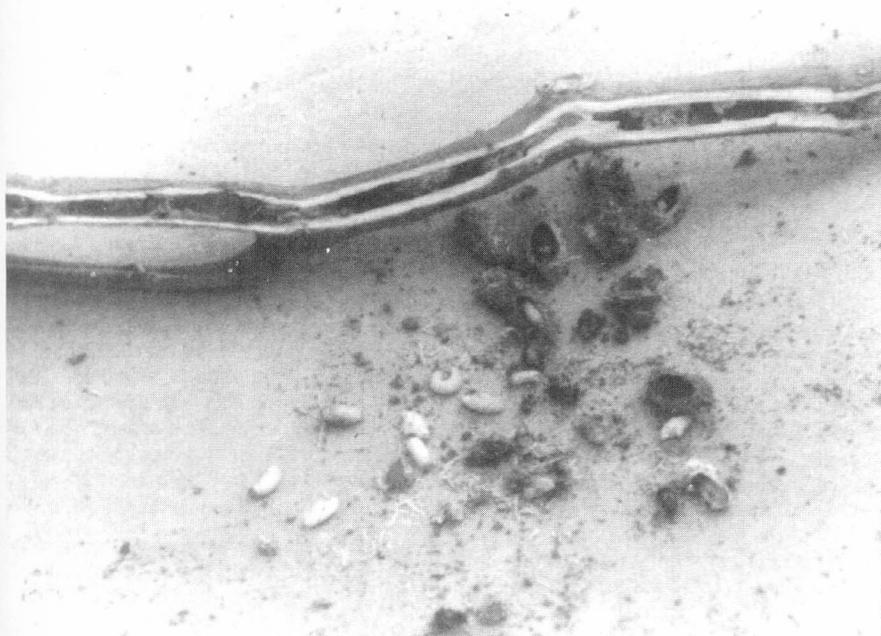


Figura 1. Inspección final de *Faustinus apicalis* en berenjena. Obsérvense las larvas, las pupas y los cocoones y el deterioro del tallo.

Tabla 4. Número promedio de larvas, prepupas, pupas y adultos, y porcentaje de daño por *Faustinus apicalis* en tabaco (promedio de 21 lecturas). Carmen de Bolívar (Bol.). 1991.

Tratamiento	Larva	Prepupa	Pupa	Adulto	% daño
T ₁ = Tomate	1,88	0,31	0,39	0,25	47,60
T ₂ = Berenjena	1,57	0,19	0,39	0,19	43,25
T ₃ = Girasol	1,79	0,29	0,42	0,23	52,19
T ₄ = Tabaco (testigo)	1,63	0,25	0,45	0,30	51,47

Tabla 5. Rendimiento de tabaco en t/ha después de 15 cortes y porcentaje por clases en el ensayo de cultivo trampa contra el *Faustinus apicalis*. Carmen de Bolívar (Bol.). 1991.

Tratamiento	Clase de tabaco						Promedio \bar{x}
	1ª	%	2ª	%	3ª	%	
T ₁ = Tomate	0,51	8,2	3,11	50,0	2,60	41,8	2,072
T ₂ = Berenjena	1,18	16,0	3,90	52,7	2,31	31,3	2,466
T ₃ = Girasol	0,61	12,5	1,74	36,0	2,50	51,5	1,619
T ₄ = Tabaco (testigo)	0,71	12,0	2,86	48,0	2,38	40,0	1,984

Tabla 6. Precio de venta de tabaco por clases de la producción obtenida en el ensayo de cultivos trampa contra *Faustinus apicalis*. Carmen de Bolívar (Bol.). 1991.

Tratamiento	Clase y precio						Total \$
	1ª	(\$400)	2ª	(\$300)	3ª	(\$240)	
T ₁ = Tomate	0,17	68	1,04	312	0,87	208,8	588,8
T ₂ = Berenjena	0,39	156	1,30	390	0,77	184,8	730,8
T ₃ = Girasol	0,20	80	0,58	174	0,83	199,2	453,2
T ₄ = Tabaco (testigo)	0,24	96	0,95	285	0,79	189,6	570,6

t/ha) correspondió a tabaco de primera clase, el 52,7% (3,9 t/ha) a tabaco de segunda clase y únicamente el 31,3% (2,31 t/ha) a tabaco de tercera clase, muy superior al resto de los tratamientos.

Si se tienen en cuenta los precios de venta del tabaco en el mercado al momento de la cosecha (Clase 1a. a \$400/kilo; Clase 2a. a \$300/kilo y Clase 3a. a \$240/kilo) se aprecia igualmente que el tratamiento con berenjena, como cultivo de trampa fue el más productivo (\$730.800) seguido de los tratamientos con tomate, tabaco testigo y girasol.

Como ventaja adicional al uso de cultivos trampa se encuentra la producción de dichos cultivos. Durante el presente experimento se cosecharon 76,5 kilos de tomate y 90,3 kilos de berenjena, que representan un ingreso adicional para los agricultores.

CONCLUSIONES

1. Los adultos del cañero del tabaco, *Faustinus apicalis* (Faust), tienen una gran preferencia por el cultivo de berenjena, presentándose más en este cultivo que en el mismo tabaco. La berenjena presentó el mayor grado de infestación por larvas,

prepupas, pupas y adultos de *F. apicalis*; igualmente, este fue el cultivo trampa más atacado por dicha plaga.

2. Cuando se utilizó la berenjena como cultivo trampa, en el tabaco dentro de la parcela se presentó la menor infestación por el cañero y además se presentó el menor porcentaje de daño ocasionado por este insecto.
3. El tabaco, cuyo cultivo trampa fue berenjena, produjo los mayores rendimientos del ensayo y la mejor calidad por clases comparado con el resto de tratamientos.
4. A pesar del daño ocasionado por el *F. apicalis* al cultivo de berenjena, este produjo frutos que representan un ingreso adicional al agricultor.

BIBLIOGRAFÍA

- BAUTISTA, L.; DUEÑAS, J. 1987. Biología de *Faustinus* pos. *apicalis* en tabaco. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Córdoba, Montería. p. 15-32. (Tesis Ing. Agrónomo).
- GALLEGO, F.L. 1946. Juan Viejo (*Collabismodes* sp.). En: Plagas del tabaco. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional, Medellín. s.p. (Estudio Fundamental no. 10).
- GARCES, M. 1972. El cañero del tabaco *Faustinus* pos. *apicalis*. ICA, Carmen de Bolívar (Bol.). 4p. (Mimeografiado).
- ROSILLO, M.A. 1971. Estudio preliminar a la biología del gusano minador del tallo. Ministerio de Agricultura, Bogotá, Colombia. 45p.
- SAUMETH, M.S. 1990. Generalidades y evaluación del daño del cañero del tabaco *Faustinus* sp. en las zonas del Carmen de Bolívar, Plato, Ovejas, San Pedro, San Juan y San Jacinto. ICA, Carmen de Bolívar (Bol.). 9p. (Mimeografiado).

FAUNA DE HORMIGAS ASOCIADAS CON FORRAJES TROPICALES Y SU IMPLICACIÓN COMO DEPREDADORAS DE HUEVOS Y NINFAS DEL SALIVAZO DE LOS PASTOS, *Aeneolamia* spp.

ANT FAUNA ASSOCIATED WITH TROPICAL PASTURES AND ITS ROLE AS PREDATORS OF EGGS AND NYMPHS OF THE SPITTLEBUGS *Aeneolamia* spp.

Claudia Alejandra Medina¹

Stephen L. Lapointe²

Patricia Chacón³

RESUMEN

Actualmente se está incrementando la utilización de las áreas de sabana con el establecimiento de forrajes introducidos, como pastos del género *Brachiaria*. A pesar de la buena adaptación de los *Brachiaria* a suelos ácidos e infértiles, presentan una alta susceptibilidad al salivazo de los pastos *Aeneolamia* spp.. Aquí se reportan los resultados de un estudio sobre las hormigas asociadas a las pasturas nativas e introducidas y su papel como depredadores del salivazo. Se encontró un grupo de especies de hormigas depredadoras generalistas, las cuales consumen los huevos del salivazo dispuestos artificialmente en el campo. *Solenopsis* spp., *Wasmannia* sp. y *Pheidole* spp. fueron las hormigas que se observaron de manera más persistente sobre las masas de huevos y ninfas de primer instar del salivazo. Otras especies como *Paratrechina* sp., *Ectatomma ruidum* Roger y *Camponotus* sp.1 también se observaron consumiendo principalmente huevos de la plaga. Para estudiar la diversidad, composición específica y abundancia de las hormigas asociadas a las pasturas nativas e introducidas se muestrearon parcelas con cebos colocados a diferentes distancias. Con los cebos colocados a 5 m se capturó hasta el 83% de las especies colectadas utilizando varios métodos de colección más dispendiosos, como captura manual y excavación de nidos. Con todos los métodos se colectó un total de 41 especies de hormigas asociadas a todas las pasturas. Entre las pasturas introducidas, *B. decumbens* cv. Basilisk tuvo el mayor número

de hormigas asociadas (18 especies). También se documentaron los patrones de distribución espacial de los nidos de *Brachymyrmex* sp., *E. ruidum* y *Camponotus* sp.1, antes y después de la preparación del suelo para la siembra de un lote de híbridos de *Brachiaria*. Los nidos de *Camponotus* sp.1 no aparecieron después de la preparación del suelo, pero se encontraron nidos de una especie de *Solenopsis*.

Palabras claves: Hormigas, Control biológico, *Aeneolamia* sp., *Brachiaria* spp., Sabana nativa, Pastos tropicales.

SUMMARY

Currently, there is an increasing utilization of tropical savanna areas with established pastures of introduced grasses of the genus *Brachiaria*. Despite their excellent adaptation to acid and infertile soils, *Brachiaria* grasses are highly susceptible to the spittlebugs *Aeneolamia* spp.. Here we report on the results of a study about ants associated with introduced and native pastures and their role as predators of spittlebugs. We found a group of generalist predatory ants that consume spittlebug eggs artificially placed in the field. Ants of the genera *Solenopsis*, *Wasmannia* and *Pheidole* were observed most persistently preying upon spittlebug egg masses and first-instar nymphs. Other species such as *Paratrechina* sp., *Ectatomma ruidum* and *Camponotus* sp.1 were also observed consuming spittlebug eggs. To study the diversity, species composition and abundance of ants associated with introduced and native pastures, we sampled plots by placing baits at different distances. Baits placed every 5 m captured up to 83% of the species collected with more time-consuming methods such as manual collection and nest digging. A total of 41 ant species associated with all pastures were collected with all methods. Among the introduced pastures, *B. decumbens* cv. Basilisk had the greatest number of associated ants (18 species). The patterns of spatial distribution of nests of *Brachymyrmex* sp., *E. ruidum* and *Camponotus* sp.1 in a plot before and after soil preparation for sowing

Brachiaria hybrids were also documented. After soil preparation, *Camponotus* sp.1 nests disappeared, but nests of one *Solenopsis* species were found in the plot.

Key words: Ants, Biological control, *Aeneolamia*, sp., *Brachiaria* spp., Native pastures, Tropical pastures.

INTRODUCCIÓN

En los trópicos americanos, las sabanas ocupan grandes extensiones, como es el caso de los Llanos Orientales entre Colombia y Venezuela, que cubren una superficie de aproximadamente medio millón de kilómetros cuadrados (Sarmiento 1984; Sarmiento y Monasterio 1975). Actualmente existen programas de manejo de sabanas con miras a optimizar su utilización agrícola. Las pasturas nativas tienen baja productividad y calidad de forraje, lo que ha llevado al establecimiento de pasturas introducidas que se adaptan a las condiciones de baja fertilidad y a los suelos ácidos (CIAT 1989, 1990). Pastos del género *Brachiaria* han mostrado buena adaptación a las condiciones edáficas de América tropical; sin embargo, su uso es limitado por su alta susceptibilidad a varios géneros de la familia Cercopidae (Homoptera), siendo las especies de *Aeneolamia* las más limitantes en los Llanos Orientales de Colombia (Ferrufino y Lapointe 1989; Lapointe et al. 1989).

El programa de Forrajes Tropicales del CIAT está implementando una metodología de selección de híbridos de *Brachiaria* resistentes al salivazo

¹ Estudiante de Biología-Entomología. Universidad del Valle. Programa Entomología de Forrajes Tropicales, CIAT. Apartado Aéreo 6713. Cali, Colombia.

² Entomólogo. Programas de Arroz y Forrajes Tropicales, CIAT. Apartado Aéreo 6713. Cali, Colombia.

³ Profesor Titular. Departamento de Biología, Universidad del Valle. Apartado Aéreo 25360. Cali, Colombia.

de los pastos, *Aeneolamia* spp., infestando artificialmente con huevos obtenidos de una colonia masal. Esta metodología, en la que se disponen los huevos superficialmente en el campo, facilitó el aprovechamiento de los huevos por especies de hormigas depredadoras, dificultando así la evaluación de los híbridos de *Brachiarina*.

Algunos autores reconocen a las hormigas como uno de los grupos de artrópodos más abundantes en las sabanas tropicales (Lamotte 1975; Lavelle 1983; Lévioux 1983; Chamorro y Soto 1986). Aunque no se conoce a fondo la composición de su espectro trófico, se sabe que las hormigas tienen un papel importante en el flujo de energía en los ecosistemas de sabanas actuando como detritívoras y como consumidoras primarias y secundarias (Bucher 1982; Gandar 1982; Lamotte 1975).

Dentro de las consumidoras primarias se encuentran hormigas altamente especializadas y de gran importancia económica como las pertenecientes a la tribu Attini, especialmente *Atta* y *Acromyrmex*, siendo *A. landolti* (Forel) una plaga importante, por consumir gramíneas de alto valor forrajero como *Andropogon gyanus* Kunth (Eiten 1982; Fowler 1985; Lapointe et al. 1990). Del grupo de consumidoras secundarias es poco lo que se conoce. Existen algunos trabajos realizados principalmente en las sabanas africanas por Lamotte (1975) y Lévioux (1983). En Suramérica, a excepción de las Attini, no se conoce aún la fauna de hormigas que ocupa los ecosistemas de sabanas, aunque existen trabajos muy generales como el de Zuccaro y Bulla (1985) y el de Chamorro y Soto (1986).

En el grupo de hormigas consumidoras secundarias hay especies depredadoras oportunistas, que se han denominado así por su capacidad de explotar recursos alimenticios temporales y disponibles (Brian 1983; Holldobler y Wilson 1990). Estas especies se han caracterizado, además,

por su gran capacidad de colonización, encontrándose asociadas a sistemas de cultivos y áreas perturbadas (Risch y Carroll 1986).

En general, las actividades agrícolas tienen un efecto sobre la dinámica natural de los ecosistemas; la preparación del suelo, así como otras prácticas agronómicas, afectan la fauna de artrópodos, eliminando especies y dando paso a la colonización por otras (Saks y Carroll 1980; Risch y Carroll 1982). La fauna de invertebrados en sabanas tropicales es todavía desconocida, así como también es desconocido el efecto en general del establecimiento de pasturas introducidas sobre tal ecosistema. Con la presente investigación se quiere contribuir al conocimiento de la fauna de hormigas asociadas con sabanas nativas y pasturas introducidas, estableciendo diferencias en la composición de especies en áreas nativas y perturbadas. También se examina el posible efecto de un grupo de especies depredadoras sobre los huevos y ninfas del salivazo de los pastos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Centro de Investigación "Carimagua" del ICA-CIAT, ubicado en San Pedro de Arimena (Meta), con una localización geográfica de 4° 30' de latitud norte y 7° 30' de longitud oeste y con una altura sobre el nivel del mar de 200 m. Corresponde a la zona de los Llanos Orientales caracterizada como sabana isohipertérmica bien drenada con una pluviosidad promedio anual de 2.240 mm. Los suelos son infértiles y ácidos (Fletcher y Cortez 1983).

En Carimagua se encuentran áreas dedicadas a la investigación en forrajes tropicales, calidad y productividad de pasturas y manejo de sabanas nativas entre otros proyectos. Parte del área se encuentra sembrada con ensayos de plantas forrajeras introducidas como pastos del género *Brachiarina* y *A. gyanus*, así como también se encuentran áreas de sabana

nativa, las cuales están siendo caracterizadas en su composición florística. El trabajo de inventario de especies de hormigas se realizó principalmente en estos tres tipos de vegetación: sabana nativa, *A. gyanus* y *Brachiarina* spp.

Colección de Hormigas

Se realizaron colecciones de hormigas en los siguientes tipos de forrajes: *Brachiarina decumbens* Stapf. cv. Basilisk, *B. dictyoneura* cv. Llanero, *B. humidicola* cv. Pasto Humidícola, *B. brizantha* (Hochst) Stapf. cv. Marandú, *A. gyanus* cv. Carimagua 1 y en la sabana nativa. El material se obtuvo por medio de colección manual, excavación de nidos y a través de muestreos con cebos, como se describe a continuación.

- Colección manual y excavación de nidos

La colección manual de hormigas se realizó revisando la superficie del suelo, la parte aérea y radicular de las plantas. Se excavaron los nidos reconocidos en las diferentes praderas, colectando, en lo posible, miembros de las diferentes castas de la sociedad (obreras, reinas y machos).

- Muestreo con cebos

Se utilizaron trampas cebadas que consisten en cajitas circulares de 3,5 cm de diámetro (área 7,1 cm²), las cuales tienen perforaciones de 2 x 2 mm de lado, un total de 44 en la cara inferior y 34 en la cara superior. En su interior se dispuso sardina enlatada como cebo. Las trampas se colocaron sobre la superficie del suelo, distribuyéndolas de forma uniforme en el área muestreada, a distancias que variaron entre 3 y 15 m. El tiempo de exposición de las trampas en el campo fue de cuatro horas, luego del cual se recogieron en cajas petri y se sellaron con una película parafinada. Las muestras luego se llevaron al laboratorio para su separación e identificación. El material colectado se determinó, al menos, hasta el nivel taxonómico

de género, empleando las claves de Holldobler y Wilson (1990), Mackay y Mackay (1989) y Fernández (1990). Algunos especímenes fueron enviados a especialistas para su confirmación e identificación a especie.

- Evaluación de una Metodología de muestreo de hormigas en ecosistemas de sabanas.

En una sabana nativa, en una sabana derivada (sabana intervenida que presenta plantas nativas e introducidas) y en un lote de híbridos de *Brachiaria*, se realizó un mayor esfuerzo de colección, combinando los diferentes métodos de muestreo: cebos colocados en varias fechas, excavación de nidos y colección manual. Además se evaluó la eficiencia de captura del muestreo con cebos, seleccionando una densidad de cebos que permitiera coleccionar un porcentaje conocido de las especies capturadas empleando los diferentes tipos de muestreo. Con este fin, se realizó un ensayo con tres densidades de cebos en un diseño de bloques al azar. Cada una de las vegetaciones arriba mencionadas se dividió en tres bloques, cada uno con tres subparcelas con una densidad diferente de cebos. En la sabana nativa y en la sabana derivada los tratamientos evaluados fueron 4, 9 y 36 cebos por subparcela de 30 x 30 m (i.e., 5, 10 y 15 m de distancia entre cebos).

En el lote de híbridos de *Brachiaria* se aumentó la densidad de los cebos reduciendo el tamaño de las parcelas a 18 x 18 m y variando las distancias entre los cebos a 3, 6 y 9 m.

El ensayo se repitió en tres fechas diferentes para los tres tipos de vegetación. El análisis de los datos se realizó mediante un análisis de varianza para un diseño de bloques al azar, con estructura factorial (SAS 1982). Las fuentes de variación fueron día, evaluación y tratamientos (densidad de cebos).

Se calculó el índice de diversidad de Shannon (Ludwing y Reynolds 1988) para las especies de hormigas colec-

tadas en los diferentes tipos de vegetación. Para la sabana nativa y para un lote de híbridos, la diversidad fue estimada en tres ocasiones y los valores obtenidos fueron comparados por medio de la prueba de Mann y Whitney (Siegel 1978).

Reconocimiento de Nidos

Para el reconocimiento de nidos de las especies de hormigas de la sabana se identificaron en la superficie del suelo, las aberturas y entradas a las galerías subterráneas pertenecientes a hormigas, identificando la especie que la habita. Al reconocer las entradas, estas se marcaron y posteriormente se realizaron excavaciones para buscar cámaras con crías, así también como para coleccionar muestras de los miembros de la sociedad.

Distribución Espacial de los Nidos

Por el fácil reconocimiento de sus nidos y su alta frecuencia en los muestreos, se seleccionaron tres especies de hormigas para estudiar su distribución espacial y ver el efecto de la preparación del suelo sobre dicha distribución. Se aplicó el método recomendado por Ludwing y Reynolds (1988), que consiste en marcar un transecto en la mitad de una área y dentro de esta marcar unidades muestrales. Se realizó un transecto de 217 m de largo x 3 m de ancho, y se marcaron unidades muestrales de 3 x 3 m. En estas unidades se señalaron y contaron los nidos de tres especies de hormigas: *Ectatomma ruidum* (Roger), *Brachymyrmex* sp. y *Camponotus* sp. 1. Con los datos obtenidos se estableció el patrón de distribución, computando la varianza con el número de nidos a diferentes tamaños de bloques. Los bloques se formaron uniendo varias unidades muestrales contiguas. Se hicieron gráficos de la varianza contra el tamaño de las unidades muestrales y se obtuvieron los patrones de distribución espacial de los nidos de las especies antes y después de la preparación del suelo para

la siembra de un lote de híbridos de *Brachiaria*.

Hormigas Depredadoras

Masas de huevos y ninfas del salivazo de los pastos, *A. reducta* Lallemand, fueron colocadas sobre papel filtro. Los huevos y ninfas se obtuvieron de una colonia del insecto mantenida en el CIAT, en Palmira (Valle) (Lapointe et al. 1989). Las masas se dispusieron en la superficie del suelo en lotes de *B. decumbens* cv. Basilisk y de híbridos de *Brachiaria*. Se realizaron observaciones sobre la depredación por hormigas y se coleccionaron especímenes para su identificación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hormigas Asociadas con Forrajes Tropicales

Se colectó un total de 41 especies de hormigas pertenecientes a 19 géneros de las 6 subfamilias neotropicales (Tabla 1). El mayor número de especies correspondió a la subfamilia Myrmicinae, en la cual se encontraron varias especies de los géneros *Solenopsis* y *Pheidole*.

Con todos los métodos de colección empleados se coleccionaron 15 especies en la sabana derivada y un total de 12 especies de hormigas en la sabana nativa y en el lote de híbridos de *Brachiaria*. Al evaluar las diferentes densidades de cebos se encontraron diferencias significativas en el número de especies y de individuos colectados con 4, 9 o 36 cebos en las dos áreas evaluadas: 900 m² (Fig. 1; ANOVA: F = 39,3; G.L. = 2,24; P = 0,0001), y 324 m² (Fig. 2; ANOVA: F = 45,94; G.L. = 2,12; P = 0,0001). El mayor número de especies se colectó con 36 cebos en 900 m² y 36 cebos en 324 m². El mayor porcentaje de especies obtenido con cebos del total de especies de hormigas colectadas, se obtuvo con la densidad de 36 x 900 m², o sea con cebos a 5 m de distancia. Con este método se obtuvo hasta el 83% del total de las especies. El método de muestreo con cebos fue el

más efectivo y rápido, por lo cual se siguió utilizando en los muestreos posteriores.

Se encontraron diferencias tanto en el número como en la composición de especies de hormigas en las diferentes praderas muestreadas, encontrándose el mayor número de especies en la sabana nativa, la sabana derivada y en *A. gayanus*. El menor número de especies se encontró en las praderas de *Brachiaria* (Tabla 1).

La diferencia en la composición de especies se relacionó con las diferencias en el tipo de vegetación que conforman las praderas estudiadas. Las especies depredadoras dependen de la fauna de fitófagos que visitan las plantas, y para las especies consumidoras de material vegetal son importantes los atractivos que la planta ofrece, tales como los nectarios u otro tipo de exudados, además de forraje, semillas e inflorescencias.

La sabana nativa esta conformada por una gran diversidad de plantas entre gramíneas, leguminosas y otras. En lugares con plantas nativas se encontraron especies de hormigas que no se encontraron en las praderas con un sólo tipo de forraje. Algunos pastos como *A. bicornis*, *A. selloanus* y *A. gayanus* presentaron nectarios en la base de las láminas foliares, por lo cual se observaron soportando altas poblaciones de por lo menos dos especies de *Camponotus*. En este tipo de plantas también se encontraron escamas y cóccidos (Homoptera) que atraían especies de hormigas como *Camponotus* y *Paratrechina*. Se encontraron otras especies como las del género *Pheidole* y la especie *Pseudomyrmex termitarius* (F.R. Smith), las cuales se observaron depredando termitas. Estas especies no se encontraron en los otros tipos de vegetación.

Las especies más abundantes y ampliamente distribuidas fueron *E. ruidum* Roger y *Brachymyrmex* sp., las cuales se encontraron en todos los tipos de vegetación estudiados. *Solenopsis*

Tabla 1. Especies de hormigas colectadas en diferentes tipos de vegetación en "Carimagua". San Pedro de Arimena (Meta).

Especies	Tipos de vegetación							
	B. de.	B. br.	B. dy.	B. hu	A. ga.	S. na.	Hib.	S. d.
PONERINAE								
<i>Ectatomma ruidum</i> Roger	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>E. tuberculatum</i> (Olivier)							x	x
<i>Hypoponera</i> sp.								+
<i>Odontomachus bauri</i> Emery								
<i>Anochetus simoni</i> Emery	+							
<i>Pachycondyla conmutata</i> (Roger)						+		
ECITOMINAE								
<i>Labidus coecus</i> (Latreille)							+	+
<i>Labidus</i> sp.	x							
FORMICINAE								
<i>Brachymyrmex</i> sp.	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Camponotus subtitutus</i> Emery								+
<i>Camponotus</i> sp. 1					x	x		x
<i>Camponotus</i> sp. 2						x		
<i>Camponotus</i> sp. 3							+	
<i>Paratrechina</i> sp. 1		x			x	x		x
<i>Paratrechina</i> sp. 2		x						
<i>Conomyrma</i> sp. 1						x		
<i>Conomyrma</i> sp. 2						+	+	
<i>Conomyrma</i> sp. 3							+	
PSEUDOMYRMICINAE								
<i>Pseudomyrmex termitarius</i> (F.R. Smith)						x		x
MYRMICINAE								
<i>Cyphomyrmex striatus</i>								+
<i>Cyphomyrmex</i> sp.								
<i>Mycocetopus smithi</i> Forel	+							+
<i>Acromyrmex landolti</i> Forel					x	+		+
<i>Wasmannia</i> sp. 1	x					x		
<i>Wasmannia</i> sp. 2	x							
<i>Wasmannia</i> sp. 3								x
<i>Crematogaster</i> sp. 1	x	x			x	x	x	x
<i>Crematogaster</i> sp. 2							x	x
<i>Crematogaster</i> sp. 3								
<i>Crematogaster</i> sp. 4								
<i>Pheidole</i> sp. 1	x	x			x		x	x
<i>Pheidole</i> sp. 2	x					x		
<i>Pheidole</i> sp. 3	+						+	+
<i>Pheidole</i> sp. 4	+							
<i>Solenopsis</i> sp. 1	+							
<i>Solenopsis</i> sp. 2	x						x	
<i>Solenopsis</i> sp. 3								
<i>Solenopsis</i> sp. 4	x	x	x	x	x		x	x
<i>Solenopsis</i> sp. 5			+					
<i>Solenopsis</i> sp. 6	+							
<i>Ephebomyrex naregelli</i> (Forel)				+				

B. de. = *Brachiaria decumbens*; B. Br. = *B. brizantha*; B. dy. = *B. dyctioneura*; B. h. = *B. humidicola*; A. ga. = *Andropogum gayanus*; S. na. = Sabana nativa; Hib. = Híbridos; S. d. = Sabana derivada. (X = colectadas con cebos; + = otro tipo de colección).

sp. 4 se encontró en todos los tipos de vegetación menos en la sabana nativa. Se encontraron dos especies nuevas del género *Cyphomyrmex* colectadas en lotes de híbridos de *Brachiaria*, las cuales se observaron llevando inflorescencias a sus nidos. Se colectaron especímenes del género *Epebomyrmex*, recientemente registrado en Colombia¹. Esta especie fue colectada en una zona caracterizada por suelos con un alto contenido de arcilla y se encontró alimentándose de semillas principalmente de *B. dictyoneura* y *Axonopus purpusii*.

En la Tabla 2 se muestran los valores de los índices de diversidad calculados para los diferentes tipos de vegetación estudiados. *B. decumbens* cv. Basilisk fue la especie de *Brachiaria* con mayor índice de diversidad y número de especies de hormigas, 18 en total. Esta planta presenta macollas grandes y a su alrededor se acumula mucho material vegetal y hojarasca, lo que crea un sitio ideal para los nidos temporales de muchas especies de hormigas. *B. humidicola* cv. Pasto Humidícola y *B. dictyoneura* cv. Llanero fueron las que presentaron el menor número de especies de hormigas encontradas y el índice de diversidad más bajo. Se compararon los índices de diversidad para la sabana nativa y

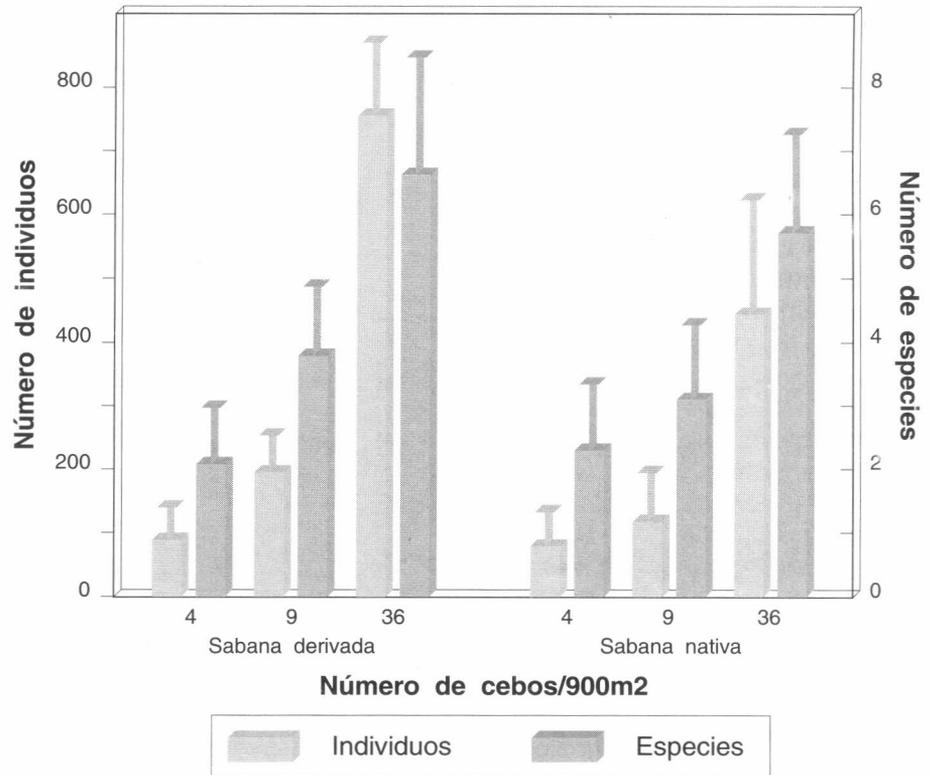


Figura 1. Número promedio de especies e individuos de hormigas colectados con 4, 9 y 36 cebos colocados en un área de 900 m², en una sabana derivada y en una nativa. Las barras de error corresponden a la desviación estándar (n=9).

un lote de híbridos de *Brachiaria*. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Prueba de Mann y Whitney: $U = 9$; $n_1 = n_2 = 3$; $P = 0,1$; prueba de dos colas).

Reconocimiento de nidos

Todas las especies de hormigas se encontraron nidificando en el suelo. Algunas especies presentaron galerías definidas con entradas caracte-

rísticas, mientras que otras, especialmente varias especies de Myrmicinae, se encontraron en sustratos temporales.

Entre las especies que se encontraron en nidos definidos están: *E. ruidum*, con una entrada caracterizada por una torrecita de barro con un agujero circular de aproximadamente 5 mm de diámetro; *Camponotus* sp. 1 también presenta una entrada circular de menor tamaño que la de *E. ruidum*, pero bien definida; *Brachymyrmex* se reconoció por los restos de subsuelo de color rojizo en forma de montoncitos pequeños; y *Pheidole* sp. forma sociedades grandes con galerías hasta de un metro de profundidad, cuya entrada es una abertura de forma irregular y oblicua.

Distribución Espacial de los Nidos

Las Figuras 3 y 4 muestran los patrones de distribución espacial de los

¹I. Zenner de Polanía. Comunicación personal. C.I. "Tibaitatá", ICA, Apartado Aéreo 151123 Eldorado. Santafé de Bogotá, Colombia.

Tabla 2. Índice de Diversidad de hormigas y ocupación de cebos en siete tipos de vegetación en Carimagua. San Pedro de Arimena (Meta).

Vegetación	Porcentaje de ocupación cebos	Índice de diversidad
Gramíneas comerciales		
<i>A. gyanus</i> cv. Carimagua 1	78,6	0,98
<i>B. brizantha</i> cv. Marandú	78,6	0,30
<i>B. decumbens</i> cv. Basilisk	71,4	1,22
<i>B. humidicola</i> cv. Pasto humidicola	78,6	0,30
<i>B. dictyoneura</i> cv. Llanero	71,4	0,63
Híbridos de <i>Brachiaria</i>	63,7	1,66*
Sabana nativa	95,2	1,45*

* Promedio de tres muestras. No significativamente diferentes, Prueba de Mann y Whitney.

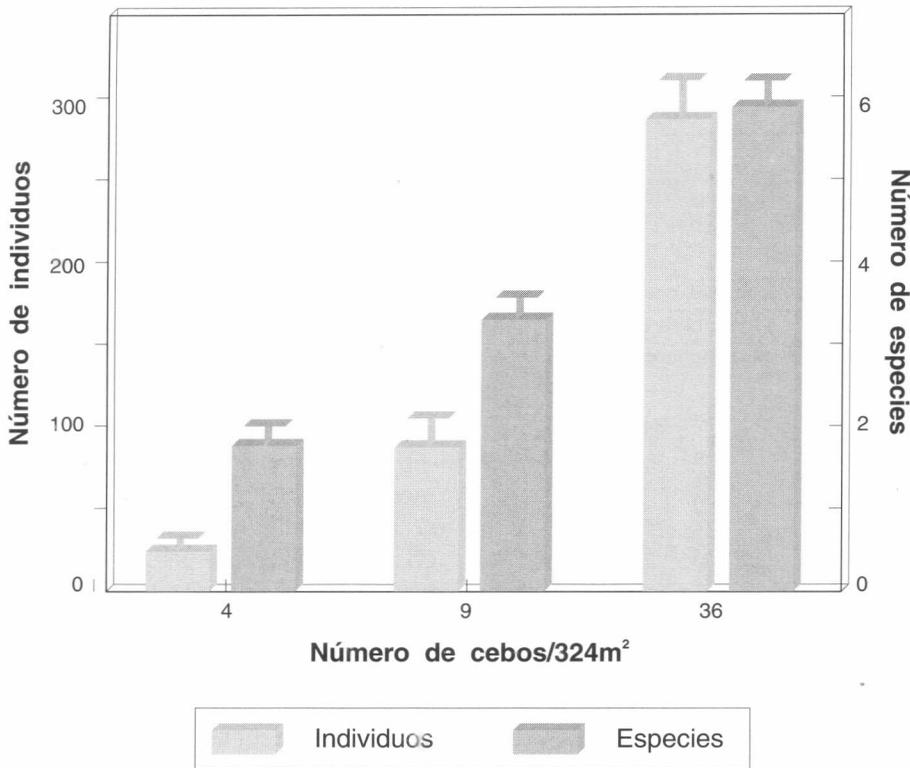


Figura 2. Número promedio de especies e individuos de hormigas colectados con 4, 9 y 36 cebos en un área de 324 m² en un lote de híbridos de *Brachiaria*. Las barras de error corresponden al error estándar (n=9).

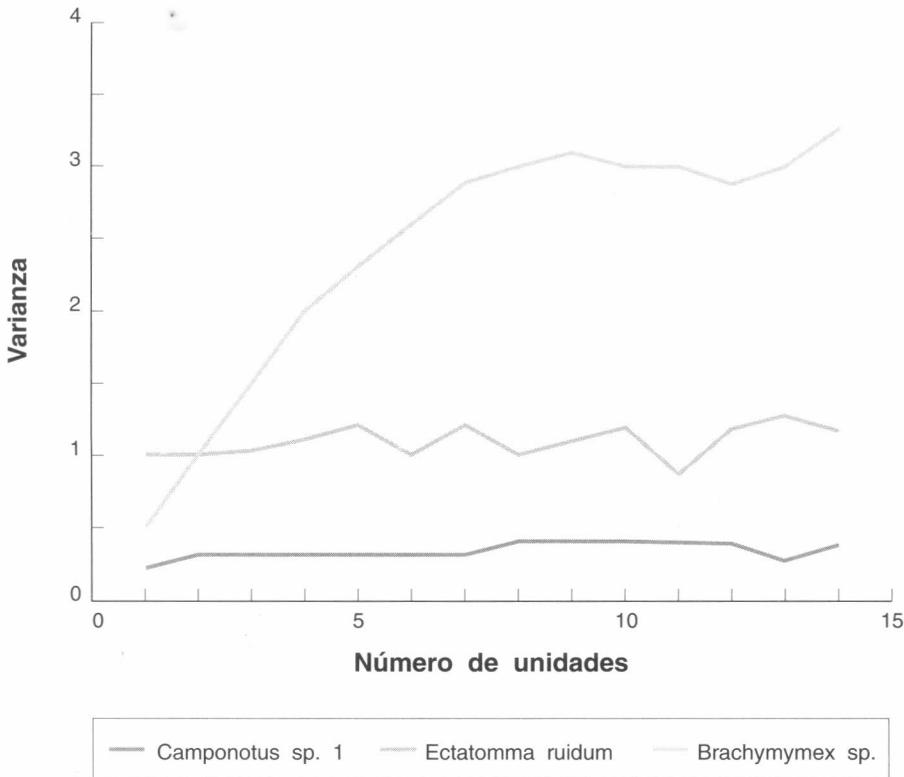


Figura 3. Patrones de distribución espacial de nidos de *E. ruidum*, *Brachymyrmex* sp. y *Camponotus* sp.1 en una pradera antes de la preparación del suelo en Carimagua.

nidos de *E. ruidum*, *Brachymyrmex* sp., *Camponotus* sp. 1 y *Solenopsis* sp. 2, en una pradera, antes y después de la preparación del suelo. El patrón agregado se reconoce por una relación varianza promedio $\sigma^2/\bar{x} > 1$ y en la Figura 1 la varianza aumenta formando un pico de agregación. Este patrón lo presentó *Brachymyrmex* sp. antes y después de la preparación del suelo. Una distribución al azar se reconoce por una curva irregular, donde los valores de varianza σ^2 fluctúan al azar dentro de los diferentes tamaños de unidades muestrales. Este patrón lo presentó *E. ruidum* antes de la preparación. El patrón de distribución uniforme se caracteriza por una varianza baja que no fluctúa en los diferentes tamaños de unidades muestrales. *Camponotus* sp.1 presentó este tipo de distribución antes de la preparación del suelo. Después de la preparación del suelo y la siembra de un lote de híbridos de *Brachiaria*, los nidos de *Camponotus* sp. desaparecieron completamente y un mes después la especie no apareció en los muestreos ni fueron observados sus nidos. *Camponotus* sp. 1 se ha observado alimentándose de los nectarios de plantas de *A. gayanus* y *A. bicornis*. Al reemplazar una pradera nativa por un lote de híbridos de *Brachiaria* desaparecen este tipo de gramíneas influyendo posiblemente en el desplazamiento de *Camponotus*. Después de la preparación del suelo aparecieron nidos de una especie de *Solenopsis*, los cuales presentaron un patrón de distribución al azar. Esto mostró la gran capacidad de colonización y adaptación a áreas modificadas de especies de tipo generalista como son las *Solenopsis*.

Hormigas Depredadoras

En el estudio se encontró un grupo de especies de hormigas depredadoras generalistas principalmente de los géneros *Solenopsis*, *Wasmannia* y *Pheidole*. Estas especies se observaron llevando huevos y ninfas del salivazo de los pastos de las masas locadas superficialmente. Se realiza-

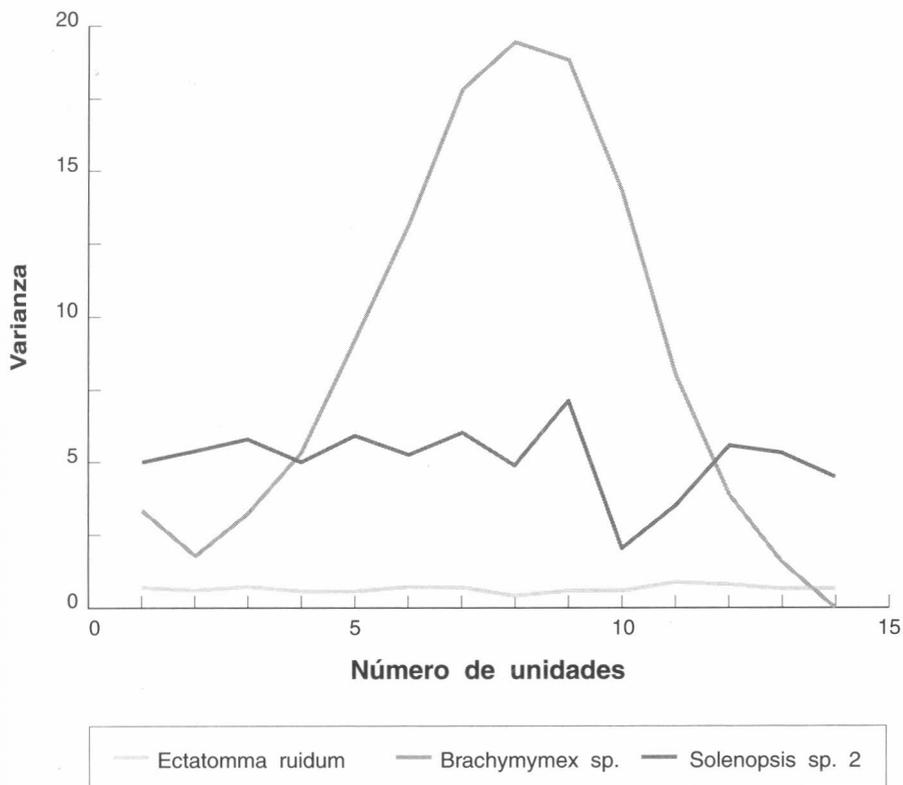


Figura 4. Patrones de distribución espacial de nidos de *E. ruidum*, *Brachymyrmex* sp. y *Solenopsis* sp.2 después de la preparación del suelo y la siembra de un lote de híbridos de *Brachiaria*.

ron observaciones repetidas de una hora, en las cuales especies como *Solenopsis* y *Pheidole* llevaron al nido masas de más de 200 huevos. Las diferentes especies de *Solenopsis* (subgénero *Diplorhoptrum*) fueron las que más rápido localizaron la fuente de alimento, forrajeando en gran número sobre los huevos. Estas especies tienen un sistema de comunicación avanzado, lo que les permite localizar el alimento y reclutar rápidamente a los otros miembros de su colonia (Holldobler y Wilson 1990).

Paratrechina sp.1 y *E. ruidum* se observaron sobre la masa de huevos de una forma menos persistente. A pesar de que *E. ruidum* consume presas grandes, también se le observó llevando masas de huevos. *Camponotus* sp.1 se observó consumiendo huevos directamente sobre la masa sin llevarlos al nido.

Aunque no se midió el efecto de estas especies depredadoras sobre la pla-

ga bajo condiciones naturales, se conoció de la capacidad de estas especies para aprovechar diferentes tipos de recursos alimenticios, sobre todo si estos se presentan de manera abundante. La infestación artificial con huevos de salivazo en los híbridos de *Brachiaria* se ha visto obstaculizada por la depredación de estas especies de hormigas sobre los huevos utilizados en el ensayo.

Bajo condiciones naturales, el salivazo protege sus huevos al enterrarlos en el suelo, lo cual hace poco probable que las hormigas los depreden. Las ninfas de primer instar están más expuestas a la depredación por hormigas mientras buscan un lugar para fijarse a la planta y secretar la espuma que les dará protección hasta el estado adulto. Hasta ahora no se conoce que las hormigas tengan un efecto sobre la plaga, pero en este trabajo, como en el de Hewitt y Nilakhe (1986) en Brasil, se reconoce que las hormigas son potenciales depredadoras de

huevos y ninfas de varias especies del salivazo de los pastos. Bajo condiciones naturales, las hormigas pueden estar teniendo efectos significativos sobre la plaga al depredar ninfas de primer instar, sin que este efecto haya sido evaluado.

Ultimamente, en diferentes partes del mundo se están realizando investigaciones sobre la dinámica de especies de hormigas depredadoras generalistas en agrosistemas (Saks y Carroll 1980; Way y Khoo 1992; Perfecto y Sediles 1992). Estas investigaciones muestran resultados similares en cuanto a que existen especies de hormigas con gran capacidad de colonizar áreas perturbadas y que en la mayoría de los casos están actuando como controladoras de otros insectos plagas en diferentes sistemas de cultivos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro de Investigaciones "Carimagua" y la colaboración prestada por el equipo de Protección de Plantas, en especial la ayuda de Humberto Zamora en el trabajo de campo; a Fernando Fernández del Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, en Santafé de Bogotá; a Edgar Palacios y Philip S. Ward de la Universidad de California, quienes colaboraron con la identificación de las hormigas. También se agradece a Miguel S. Serrano por su apoyo en el desempeño del trabajo, así como a todo el personal del laboratorio de Entomología de Forrajes Tropicales del CIAT, en Palmira. Agradecemos a J.W. Miles por todos sus aportes y a Fernando Zapata por sus sugerencias y comentarios.

BIBLIOGRAFÍA

BRIAN, M.V. 1983. Social insect ecology and behavioural biology. Chapman and Hall. London.

BUCHER, E.H. 1982. Chaco and Caatinga - South American arid savannas, woodlands and thickets. In: B.J. Huntley; B.H. Walter. (Eds.). Ecology of Tropical Savannas. Springer-verlag, Berlín. p.48-78.

- CHAMORRO, C.E.; SOTO, L.H. 1986. Cambios en la comunidad macrofaunística en suelos del Vichada afectados por las quemadas. *Acta Biológica Colombiana* (Colombia) v. 1 no. 3.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. 1989. Informe Anual. Programa de Pastos Tropicales. CIAT, Palmira, Colombia (Documento de Trabajo no. 69).
- . 1990. Informe Anual. Programa de Pastos Tropicales. CIAT, Palmira, Colombia (Documento de Trabajo no. 90).
- EITEN, G. 1982. Brazilian "Savannas". In: B.J. Huntley; B.H. Walter. (Eds.). *Ecology of Tropical Savannas*. Springer-verlag, Berlín. p. 25-47.
- FERNÁNDEZ, F. 1990. Hormigas cazadoras de Colombia (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). Facultad de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 355p. (Tesis de Biólogo).
- FERRUFINO, A.; LAPOINTE, S.L. 1989. Host plant resistance in *Brachiaria* grasses to the spittlebug *Zulia colombiana*. *Entomología Experimentalis et Applicata* (Holanda) v. 51, p. 155-162.
- FLETCHER, G.A.; CORTEZ, A. 1983. Estudio semidetallado de los suelos del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias Carimagua (ICA-CIAT). Ministerio de Hacienda y Crédito Público. Instituto Geográfico "Agustín Codazzi" Bogotá.
- GANDAR, M.V. 1982. Trophic ecology and plant/herbivore energetics. In: B.J. Huntley; B.H. Walter (Eds.). *Ecology of Tropical Savannas*. Springer-verlag, Berlín. p. 514-534.
- HEWITT, G.B.; NILAKHE, S.S. 1986. Environmental factors affecting the survival of eggs and early instar nymphs of spittlebugs *Zulia entreriana* (Berg) and *Deois flavopicta* Stal during the rainy season in Central Brasil. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* (Brasil) v. 15 no. 1, p. 61-76.
- HOLDOBLER, B.; WILSON, E.O. 1990. The Ants. Harvard University Press, Cambridge. 732p.
- LAMOTTE, M. 1975. The structure and function of a tropical savanna ecosystem. In: F. Golley; E. Medina. (Eds.). *Tropical Ecological Systems*. Vol. 11. Springer-verlag, New York. p. 179-222.
- LAPOINTE, S.L.; SOTELO, G.; ARANGO, G. 1989. Improved technique for rearing spittlebugs (Homoptera: Cercopidae). *Journal of Economic Entomology* (Estados Unidos) v. 82 no. 6, p. 1764-1766.
- ; GARCÍA, C.A.; SERRANO, M.S. 1990. Control of *Acromyrmex landolti* in improved pastures in the colombian savanna. In: R.K. Vander Meer; K. Jaffe; A. Cedeño. (Eds.). *Applied Myrmecology: A world perspective*. Westview Press, Boulder, Colorado. p. 511-518.
- LAVELLE, P. 1983. The soil fauna of tropical savannas. I. The Community structure. In: F. Bourlière. (Ed.). *Ecosystems of the World 13, Tropical Savannas*. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam. p. 477-484.
- LÉVIEUX, J. 1983. Mode d'exploitation des ressources alimentaires epigées de savannes africaines par la fourmi *Mymecaria eumenoides* G. *Insectes Sociaux* (Francia) v. 30 no. 2, p. 165-176.
- LUDWING, J.A.; REYNOLDS, J.F. 1988. *Statical Ecology*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- MACKAY, W.P.; MACKAY, E.E. 1989. Clave de los géneros de hormigas en México (Hymenoptera: Formicidae). Simposio Nacional de Insectos Sociales, 20. Sociedad Mexicana de Entomología, Oaxtepec, Morales. Memorias.
- PERFECTO, I.; SEDILES, A. 1992. Vegetational diversity, ants (Hymenoptera: Formicidae), and herbivorous pests in a Neotropical agroecosystem. *Environmental Entomology* (Estados Unidos) v. 21 no. 1, p. 61-67.
- RISCH, S.J.; CARROLL, C.R. 1982. Effect of a keystone predaceous ant, *Solenopsis geminata* on arthropods in a tropical agroecosystem. *Ecology* (Estados Unidos) v. 63 no. 6, p. 1979-1983.
- ; ———. 1986. Effects of seed predation by a tropical ant on competition among weeds. *Ecology* (Estados Unidos) v. 67 no. 5, p. 1319-1327.
- SAKS, M.; CARROLL, C.R. 1980. Ant foraging activity in tropical agroecosystem. *Agro-Ecosystem* v. 6, p. 177-188.
- SARMIENTO, G.; MONASTERIO, M. 1975. A critical consideration of the environmental conditions associated with the occurrence of savanna ecosystems in tropical America. In: F. Golley; E. Medina. (Eds.). *Tropical Ecological Systems*. Vol. 11. Springer-verlag, New York.
- WAY, M.J.; KHOO, K.C. 1992. Role of ants in pest management. *Annual Review of Entomology* (Estados Unidos) v. 37, p. 479-503.
- ZUCCARO, G.; BULLA, L. 1985. Estudio comparativo de la entomofauna en cuatro sabanas venezolanas. *Acta Científica Venezolana* (Venezuela) v. 36, p. 365-372.

ESTUDIO SOBRE LA COMPATIBILIDAD DEL HONGO *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. CON FORMULACIONES CO- MERCIALES DE FUNGICIDAS E INSECTICIDAS

STUDY OF COMPABILITY OF FUNGUS *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. WITH COMMERCIAL FORMULATIONS OF FUNGICIDES AND INSECTICIDES

Armando Rivera Malo¹

RESUMEN

Los fungicidas triadimefon y hexaconazol causaron *in vitro* inhibición total de la germinación y el crecimiento del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., patógeno de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari); cyproconazol y oxiclóruro de cobre fueron menos tóxicos. Entre los insecticidas, fenitrothion fue el más perjudicial, seguido por pirimifos-metil y endosulfán, y el dicrotophos fue levemente inhibitorio. Por primera vez se registra en la literatura la formación de clamidosporas en *B. bassiana* inducidas en medio nutritivo.

Palabras claves: *Beauveria bassiana*, Hongos entomopatógenos, Fungicidas, Insecticidas, Compatibilidad.

SUMMARY

The fungicides triadimefon and hexaconazol caused *in vitro* total inhibition of germination and growth of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., a pathogen of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari); cyproconazol and copper oxychloride were less toxic. Among the insecticides, phenytriothion was the most detrimental, followed by pirimiphos-metil and endosulphan, dicrotophos was slightly less inhibitory. This is the first time that a fungal chlamydospore formation in *B. bassiana* is recorder.

Key words: *Beauveria bassiana*, Entomopathogenic fungi, Fungicides, Insecticides, Compatibility.

INTRODUCCIÓN

El hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hyphomycetos) es un entomopatógeno que ataca la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Co-

leoptera: Scolytidae); este hongo ha sido encontrado en Java, Sri Lanka, Uganda, Camerún, Jamaica, México, Brasil y Ecuador (Moore y Prior 1988) y recientemente en Colombia, donde hasta el momento se ha aislado de 30 especies de insectos (Bustillo 1991). Sus huéspedes son principalmente miembros de los órdenes Lepidoptera y Coleoptera, incluyendo insectos de importancia económica en la agricultura (Bustillo 1991; Storey y Gardner 1986).

El uso de *B. bassiana* para controlar insectos, como la broca del café, depende de la sobrevivencia de la conidia infectiva en el ambiente, la cual a su vez puede ser afectada por la interacción con agroquímicos. La actividad de varios insecticidas, nematocidas, fungicidas y herbicidas contra *B. bassiana* está bien documentada (Anderson y Roberts 1983; Gardner y Storey 1985; Lazo 1990; Loria et al. 1983; Olmert y Kenneth 1974; Ramarajahe Urs et al. 1967; Storey y Gardner 1986; Tedders 1981). La actividad potencial fungicida de estos agroquímicos podría alterar la epizootia natural de la enfermedad o disminuir la eficacia, en el campo, de las formulaciones aplicadas. Sin embargo, en Colombia aún no se han emprendido investigaciones que señalen el comportamiento del hongo *B. bassiana* frente a los plaguicidas, a excepción de los trabajos desarrollados en el Laboratorio de Patología de Insectos de CENICAFE (Vélez 1990).

Dentro del marco del Manejo Integrado de Plagas (MIP), la práctica del control microbiológico debe hacerse en forma coordinada con los componentes del MIP para que no interfieran en su ejecución, como podría ocurrir con el uso de fungicidas e insecticidas que limitan la población de enemigos naturales en los cultivos y reducen su impacto sobre las poblaciones de insectos plagas. Además, con el uso de entomopatógenos es posible disminuir en forma racional el impacto.

La mayoría de estudios de compatibilidad entre plaguicidas - *B. bassiana* han usado medios de cultivo líquidos o sólidos que contienen el producto a probar. Así, Clark et al. (1982), en medio líquido, hallaron que el fungicida mancozeb inhibe completamente al hongo, mientras que metiran y chloralonal inhiben el crecimiento, y el fungicida experimental CGA 48988 no lo afecta. También encontraron que los insecticidas azinphosmethyl, carbofuran y permethrin no afectaban al hongo en ninguna de las dosis probadas bajo las condiciones de laboratorio y de campo.

Loria et al. (1983), al evaluar en medio sólido el efecto de los fungicidas mancozeb, metiran, metalaxyl y chlorothalonil sobre *B. bassiana*, encontraron que mancozeb y metiran inhibieron sustancialmente al hongo bajo condiciones de laboratorio y de campo.

¹ Microbiólogo. Disciplina de Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE, Chinchiná, (Caldas), Colombia.

Tedders (1981) halló que *B. bassiana* es inhibido por los fungicidas trifenil hidróxido de zinc, benomyl y zineb; el dodine fue tóxico, en contraste con sulfuro y dinocap que afectaron en menor proporción el crecimiento del hongo en medio sólido.

Olmert y Kenneth (1974), haciendo pruebas con siete fungicidas, encontraron que benomyl y maneb tienen un fuerte efecto sobre *B. bassiana*; daconil tiene algún efecto, mientras que oxiclورو de cobre, dinocap, binapacryl y zineb no tienen efecto sobre el hongo bajo condiciones de laboratorio.

Lazo (1990), al probar la tolerancia de diez cepas de *B. bassiana* aisladas de adultos de brocas en diferentes zonas productoras de café en Honduras, encontró que todas sufrieron una reducción en la tasa de crecimiento micelial y en la esporulación en un medio que contenía 1.500 ppm de oxiclورو de cobre; sin embargo, las cepas poseían diferentes grados de tolerancia.

Ramarajahe Urs et al. (1967), al evaluar el efecto de seis insecticidas sobre *B. bassiana* en medio líquido, hallaron que dimecron fue el más inocuo, favoreciendo el crecimiento en todas las concentraciones probadas, mientras que el BHC fue el más tóxico. El efecto inhibitorio de endrin, malathion, folidol y DDT sobre el crecimiento del hongo disminuye en el orden citado.

Anderson y Roberts (1983), al evaluar seis aislamientos de *B. bassiana* con 13 insecticidas, hallaron que había poca diferencia entre el efecto de los insecticidas sobre los aislamientos. Los concentrados emulsionables (endosulfan, fenvalerato, permethrin, piperonil butóxido y oxamyl) con solventes aromáticos fueron más inhibitorios para el hongo; los piretroides (permethrin y fenvalerato) como materiales técnicos y formulados también fueron inhibitorios en menor proporción.

Anderson et al. (1989), al evaluar el efecto de cinco insecticidas, encontraron que abamectin, triflumuron, thuringiensin y carbaryl son compatibles con *B. bassiana*, mientras que fenvalerato mostró inhibición significativa bajo condiciones de laboratorio y de campo. Gardner y Storey (1985) hallaron que los herbicidas acifluorfen, alaclor, diclofob, dinoseb, fluazifob, metalaclor, oxifluorfen y paraquat inhiben el crecimiento micelial de *B. bassiana*. Igualmente encontraron que el glifosato y el horyzalin inhiben altamente el hongo en las dosis evaluadas.

Storey y Gardner (1986) intentaron determinar la germinación conidial en respuesta a varios adyuvantes de aspersión, comúnmente usados en mezclas de tanque con plaguicidas o como agentes humectantes en preparados de suspensiones de conidias para la diseminación artificial de hongos, además de estudiar el efecto de cuatro reguladores de crecimiento de plantas (RCP) sobre el hongo. Los resultados mostraron que los RCP flurprimidol, paclobutrazol y silaid inhiben la germinación y el crecimiento micelial en todas las concentraciones probadas, mientras mefluidide no lo hace *in vitro*. En cuanto a los adyuvantes, hallaron que de todos los probados: Miller-aide, Neu-film 17, Ortho X-77, Plyac, Pro-stik, Triton Ag-98, Triton CS-7 y Tween 80, sólo el Triton CS-7 inhibió la germinación conidial en laboratorio.

Alves (1986) referencia el efecto de varios fungicidas sobre *B. bassiana*, concluyendo que benomyl, captan, thiabendazole, maneb, granosan-L y panogen inhiben al hongo; en cambio, binapacryl, zineb, oxiclورو de cobre, daconil, pentacloronitrobenceno, dinocap y kasumin no lo hacen *in vitro*. Al estudiar la compatibilidad de *B. bassiana* con varios insecticidas, halló que los más compatibles fueron Dimetoato, Phosdrin, Folimat y Ambush, siendo los más perjudiciales Diazinon, Lannate y Super Rhodiatox;

igualmente encontró que los herbicidas bentazon, simazin, alachlor y oxadiazon son compatibles con el hongo, mientras que el 2,4,D amina y el dicamba 2,4,5,T son incompatibles en todas las dosis probadas.

Se ha observado que la adaptación de diferentes hongos a medios nutritivos que contienen cobre es estable y que esta estabilidad difiere según la especie (Parry y Wood 1958; Partridge y Rich 1962). Yamasaki y Tsuchiya, citados por Ashida (1968), encontraron que cepas de *Piricularia orizae* Cav. mantienen su resistencia al cobre después de pasar a través de la planta huésped. Incluso, se ha demostrado la inducción de clamidosporas en *Fusarium* sp. por soluciones salinas estériles y por sustancias del suelo (Ford et al. 1970; Hsu y lockwood 1973).

Los registros citados se refieren a la adaptación de los hongos en laboratorio. En contraste, en el campo hay poca evidencia de la aparición de cepas de patógenos resistentes a fungicidas a base de cobre (Parry y Wood 1958). Taylor (1953) halló, en pruebas de germinación, que las esporas de *Phylospora obtusa* (Schw.) Cke. procedentes de huertos tratados regularmente con una mezcla de Bordeaux fueron más resistentes al cobre que las esporas de huertos sin tratar.

El crecimiento radial de la colonia se ha empleado como criterio de inhibición (Olmert y Kenneth 1974); la germinación conidial también puede ser un criterio de compatibilidad (Clark et al. 1982; Gardner y Storey 1985; Storey y Gardner 1986). La importancia de medir estas variables es observar si existe algún efecto deletéreo sobre el hongo, como podría ser la inhibición del crecimiento celular o la germinación conidial, la muerte de todo o cierto porcentaje del micelio o de conidias, la inhibición de ciertas actividades metabólicas normales como la respiración y la inhibición de algún hábito normal como la esporulación (Ashida 1965); esto no indica que los efectos

de los plaguicidas pueden influir sobre los parámetros de la iniciación de una epizootia, como es la supervivencia del inóculo (Loria et al. 1983), sin olvidarse de que hay un período crítico para la germinación y el crecimiento de las conidias de *B. bassiana* después de la aspersión, cuando el efecto de los plaguicidas está minimizado (Anderson y Roberts 1983; Batista et al. 1983).

El objetivo de este estudio fue evaluar, *in vitro*, la compatibilidad del hongo *B. bassiana* con fungicidas usados en la zona cafetera colombiana para el control de la roya del café (*Hemileia vastatrix* Berk. y Br.) y con insecticidas de posible uso en programas de manejo integrado de la broca del café.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se utilizaron conidias del hongo *B. bassiana* cepa Cenicafé Bb-9002, aislado de adultos de *H. hampei*, proveniente de las formulaciones producidas en el laboratorio de Patología de Insectos de CENICAFE. Para el ensayo, en cajas de petri, se preparó el medio de cultivo para hongos Agar-Dabouraud-Dextrosa (SDA) acidificado con ácido láctico al 0,44% para evitar el crecimiento bacteriano.

Se evaluó la compatibilidad de *B. bassiana* con los fungicidas cyproconazol, hexaconazol, triadimefon y oxiclورو de cobre, y con los insecticidas pirimifos-metil, dicrotofos, fenitrothion y endosulfan. Se evaluaron la dosis comercial (DC), la mitad de la dosis comercial y 1/10 de la dosis comercial de estos plaguicidas (Tabla 1); el criterio para usar las dosis propuestas está basado en la idea de estimar hasta que punto existe compatibilidad de los productos con el hongo *B. bassiana* (Ignoffo et al. 1975).

Para evaluar la compatibilidad de los tratamientos con el hongo en el laboratorio, se midieron las siguientes variables:

- **Germinación de conidias:** en matraces de 250 ml se preparó el

SDA y se esterilizó en un autoclave durante 15 minutos; luego se adicionó ácido láctico al 0,44% y la cantidad adecuada del plaguicida a probar (Tabla 1). De esta mezcla se vertieron aproximadamente 15 ml en cajas de petri estériles (unidad experimental); una vez solidificada la mezcla, cada caja se inoculó con siete alícuotas de 5 µl de una suspensión de conidias del hongo *B. bassiana*, en concentración de 1 x 10⁶ conidias/ml y se incubaron a 25°C. La lectura se realizó a las 24 horas. De cada alícuota se tomaron cinco campos, en los cuales se evaluó, con microscopio de luz y con un aumento de 40X, el número de conidias germinadas y no germinadas, para determinar el porcentaje de germinación por alícuota; por tratamiento se evaluaron 10 cajas de petri; el testigo se hizo y se evaluó de igual manera pero sin adicionar ningún plaguicida al medio.

- **Crecimiento radial de la colonia:** en matraces se preparó el SDA, se esterilizó, se la adicionó ácido láctico al 0,44%, y luego cada una de las dosis de los plaguicidas a probar (Tabla 1), vertiendo 15 ml de la mezcla en cajas de petri estériles (unidad experimental). Una vez solidificada la mezcla, el hongo se inoculó en el centro de la

caja, con una alícuota de 5 µl en concentración de 1 x 10⁶ conidias/ml; las cajas se incubaron a 25°C. En este método y empleando un moniómetro de precisión (0,02 mm), marca Mitutoyo, se midió el diámetro de la colonia a los 5, 7, 9, 12, 18, 24, 27 y 30 días para registrar el desarrollo micelial. Por tratamiento se tomaron 10 unidades experimentales; el testigo se hizo y se evaluó de igual forma, pero el medio de cultivo no tenía ningún plaguicida. A través de todo el experimento se llevaron registros de temperatura durante el período en el cual se realizaron las evaluaciones.

El efecto de los tratamientos (Tabla 1), evaluado en cada una de las variables citadas, se organizó bajo un modelo completamente al azar. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y la comparación entre medidas se hizo por contrastes ortogonales con el procedimiento del modelo lineal general del Sistema de Análisis Estadístico (SAS 1988). Las variables se analizaron estadísticamente con un nivel de significancia del 0,05%. La unidad experimental fue cada una de las cajas de petri, y por tratamiento se tuvieron 10 repeticiones, según la variabilidad presentada en el crecimiento micelial en el laboratorio de Patología de Insectos de CENICAFE (Vélez 1990).

Tabla 1. Fungicidas, insecticidas y dosis evaluados en el estudio de compatibilidad con *B. bassiana*

Nombre genérico	Nombre comercial	Concentración y formulación	Dosis de i.a. en g/l		
			DC	1/2 DC	1/10 DC
FUNGICIDAS					
cyproconazol	Alto	10% SL	0,080	0,040	0,008
hexaconazol	Anvil	5% SC	0,200	0,100	0,020
triadimefon	Bayleton	25% CE	1,250	0,625	0,125
oxiclورو	Oxicloruro de cobre	50% PM	6,000	3,000	0,600
INSECTICIDAS					
pirimifos-metil	Actelic	50% CE	2,000	1,000	0,200
dicrotofos	Bidrin	48% CE	2,800	1,400	0,280
fenitrothion	Sumithion	54,3% CE	2,700	1,350	0,270
endosulfan	Thiodan	35% CE	2,100	1,050	0,210
DC	Dosis comercial		CE	Concentrado emulsionante	
SC	Solución concentrada		i.a.	Ingrediente activo	
PM	Polvo mojable		SL	Solución líquida	

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A las 24 horas de evaluación, todos los fungicidas e insecticidas probados inhibieron la germinación conidial de *B. bassiana* en la dosis comercial (DC); en la DC media, la germinación del hongo fue inhibida severamente por el oxiclورو de cobre (85,4%) y por el dicrotofos (77,8%); el cyproconazol en 1/10 de la DC, también inhibió fuertemente la germinación conidial (82,52%); el oxiclورو de cobre y el dicrotofos en 1/10 DC tuvieron un efecto moderado sobre la germinación de la conidia, 39,41 y 30,4%, respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de germinación de conidias de *B. bassiana*, en concentración de 1×10^6 c/ml, 24 horas después de la inoculación.

Producto	Dosis		
	DC	1/2 DC	1/10 DC
FUNGICIDAS			
cyproconazol	0,0	0,0	17,48
hexaconazol	0,0	0,0	0,00
triadimefon	0,0	0,0	0,00
oxiclورو de cobre	0,0	14,6	60,59
INSECTICIDAS			
Pirimifos-metil	0,0	0,0	0,00
dicrotofos	0,0	22,2	69,60
fenitrothion	0,0	0,0	0,00
endosulfan	0,0	0,0	0,00
Testigo	93,6		

En cuanto al efecto de los fungicidas en el desarrollo radial de la colonia de *B. bassiana* en cultivo sólido, todos mostraron completa inhibición en la DC, a los 30 días de evaluación; en la DC media, el oxiclورو de cobre ejerció una alta inhibición (97,39%) pero en 1/10 de la DC el oxiclورو de cobre no tuvo ningún efecto sobre el crecimiento de *B. bassiana* (Tabla 3, Fig. 1). Estos resultados concuerdan con los hallados por Lazo (1990) y Olmert y Kenneth (1974), en cuanto al efecto del oxiclورو de cobre sobre el hongo. El cyproconazol, en 1/10 de la DC, inhibió el desarrollo del hongo moderadamente (19,34%) (Fig. 2).

Entre los insecticidas probados, el fenitrothion fue el único que inhibió el crecimiento micelial en las dosis pro-

Tabla 3. Crecimiento radial promedio en mm y porcentaje de inhibición del hongo *B. bassiana* por fungicidas e insecticidas mezclados con SDA, 30 días después de la inoculación.

Producto	Dosis					
	DC		1/2 DC		1/10 DC	
	Crecim (mm)	% inhibic.	Crecm. (mm)	% inhibic.	Crecim. (mm)	% inhibic.
FUNGICIDAS						
cyproconazol	0,00	100,00	0,00	100,00	22,22	67,37
hexaconazol	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00
triadimefon	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00
oxiclورو de cobre	0,00	100,00	5,34	97,39	55,58	19,34
INSECTICIDAS						
pirimifos-metil	0,00	100,00	0,00	100,00	39,60	65,60
dicrotofos	43,09	40,35	50,18	21,08	51,08	20,58
fenitrothion	0,99	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00
endosulfan	7,69	96,07	22,25	71,65	38,04	42,38
Testigo	59,95	0,00	59,95	0,00	59,95	0,00

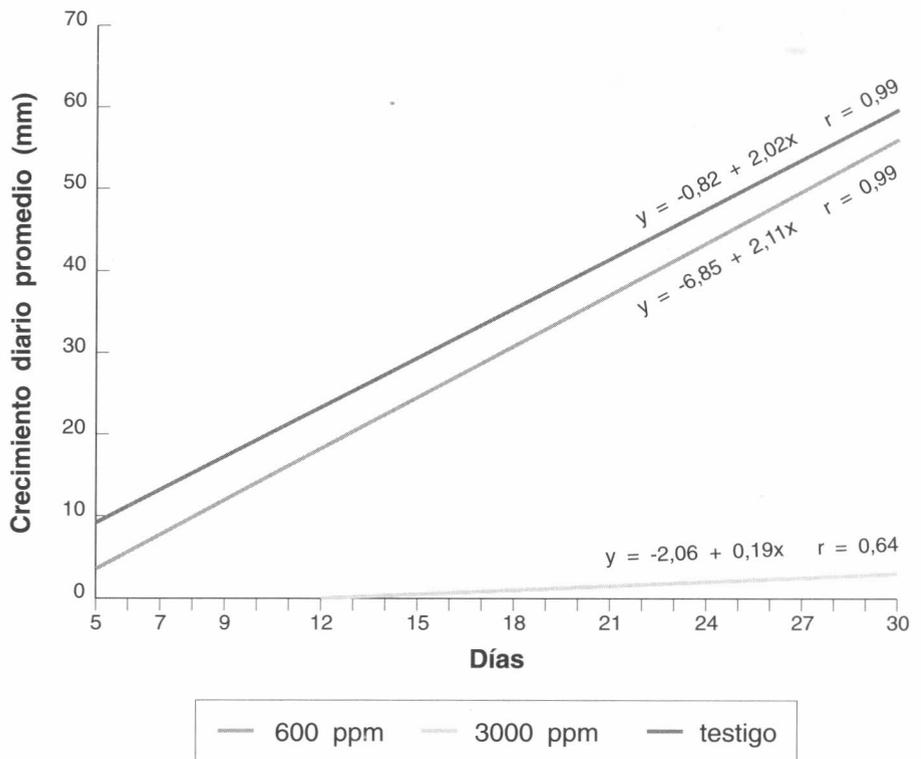


Figura 1. Crecimiento del hongo *B. bassiana* en presencia de oxiclورو de cobre.

badas; el pirimifos-metil lo hizo en la DC y en 1/2 de la DC, mientras que en 1/10 de la DC inhibió el 65,6% (Tabla 3); el endosulfan causó una alta inhibición (9%) en el crecimiento fúngico en la DC; en 1/2 de la DC, la inhibición fue del 71,65% y en 1/10 de la DC la inhibición fue del 42,38% (Tabla 3, Fig. 4). Estos resultados concuerdan

con los hallados por Alves (1986) y Olmert y Kenneth (1974), quienes encontraron que endosulfan tiene efecto sobre el crecimiento de *B. bassiana*. El dicrotofos fue el más inocuo entre los insecticidas, en la DC inhibió al hongo medianamente (40,35%), en la DC media presentó una leve inhibición, lo mismo que en 1/10 de la DC,

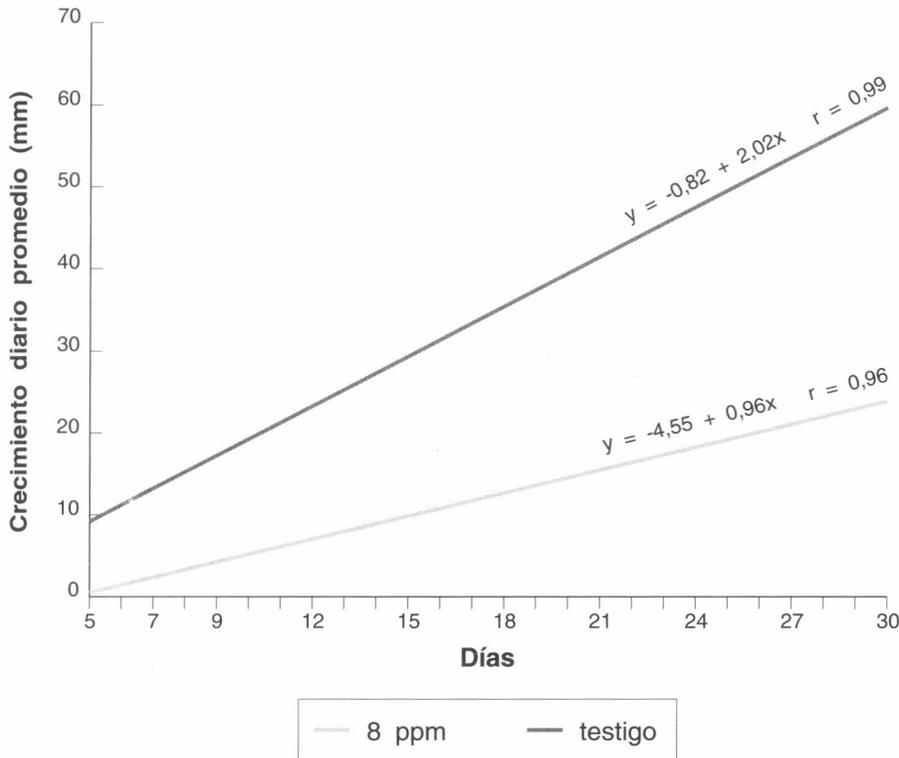


Figura 2. Crecimiento del hongo *B. bassiana* en presencia de cyproconazol.

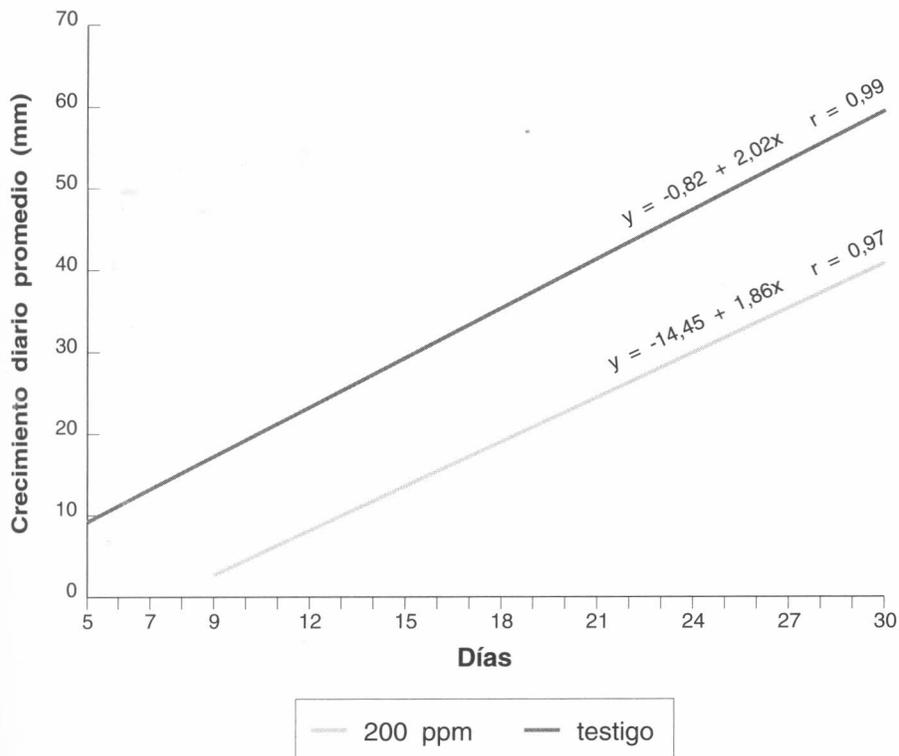


Figura 3. Crecimiento del hongo *B. bassiana* en presencia de pirimifos-metil.

21,58 y 20,58% respectivamente (Tabla 3, Fig. 5).

Los fungicidas ejercen una mayor inhibición que los insecticidas. Según la comparación de los interceptos y las pendientes, se observa que los insecticidas inhiben el crecimiento radial del micelio en los primeros días después de la inoculación, pero luego el hongo se adapta mucho más rápido al medio con dichos plaguicidas.

No todos los plaguicidas inhiben el crecimiento y desarrollo del hongo en igual proporción. Entre las dosis de oxiclورو de cobre que permiten el crecimiento del hongo, existe una diferencia significativa que fácilmente se observa en la gráfica de desarrollo radial de la colonia (Fig. 1). Con el dicrotofós, en la dosis comercial, hay un comportamiento más tóxico que con las otras dos dosis evaluadas, no existiendo diferencia significativa entre estas últimas (Fig. 5).

Los efectos de los plaguicidas sobre la germinación y el crecimiento *in vitro* de *B. bassiana* en medios nutritivos, son un indicador de posibles efectos en el campo, donde la supervivencia de la conidia, la germinación y la penetración son también factores importantes, además de que los efectos se minimizan al ser asperjado el material sobre una gran área (Anderson et al. 1989) y el tiempo de contacto es mínimo. Por otro lado, Ferron (1977) demostró, bajo condiciones controladas, que es posible que *B. bassiana* infecte insectos en humedades relativas bajas; lo mismo podría ocurrir con la broca en el hábitat cafetero, bajo las mismas condiciones, cuando la humedad óptima para la solubilización y absorción de los plaguicidas es menor.

En las evaluaciones de la morfología de la colonia *B. bassiana* en medios nutritivos que contenían oxiclورو de cobre se observó la formación de clamidosporas inducidas por este fungicida (Fig. 6). Lo mismo ocurre con otros hongos, como ha sido demostrado por Ford et al. (1970) y Hsu

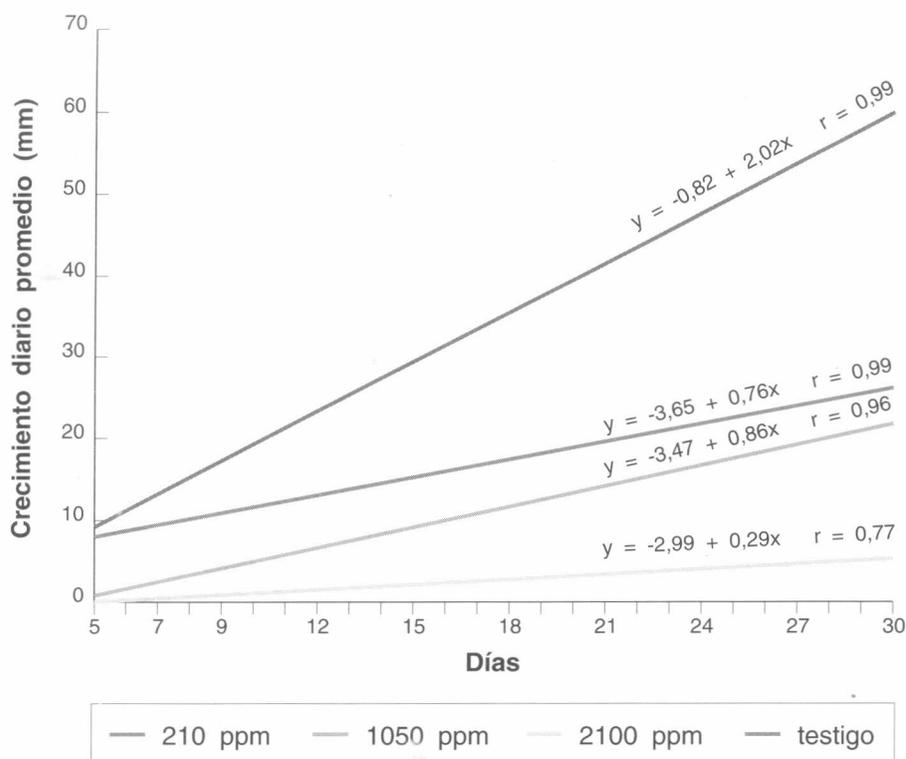


Figura 4. Crecimiento del hongo *B. bassiana* en presencia de endosulfan.

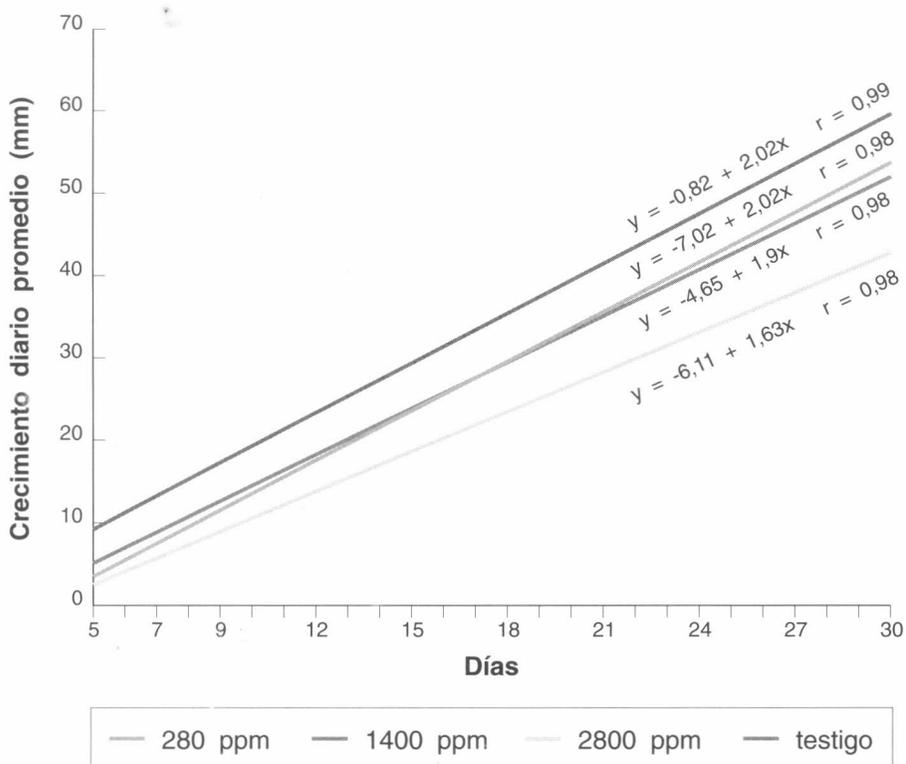


Figura 5. Crecimiento del hongo *B. bassiana* en presencia de dicofol.

y Lockwood (1973), quienes registraron la inducción de clamidosporas en *Fusarium* por diferentes compuestos. Se sugiere la realización de posteriores estudios *in vitro* y en el campo para analizar la conservación de características tales como patogenicidad, habilidad de esporulación y tasa de crecimiento en cepas de *B. bassiana* tolerantes al cobre. También se observó la inducción de sinemas y la rápida esporulación de *B. bassiana* (Fig. 7) en medios que contenían cyproconazol, aunque este compuesto impidió el crecimiento radial expansivo de la colonia.

CONCLUSIONES

- Para las aplicaciones del hongo *B. bassiana* y agroquímicos se debe tener en cuenta su compatibilidad y modificar si es necesario el momento y los métodos de aplicación.
- Las aplicaciones de mezclas de *B. bassiana* con los plaguicidas aquí estudiados no son recomendables, pues los resultados *in vitro* muestran que la germinación del hongo es afectada por estos.
- Es necesario adelantar investigaciones del efecto de estos plaguicidas sobre la supervivencia de *B. bassiana* en el campo y ampliar los estudios a otros agroquímicos.

AGRADECIMIENTOS

Este experimento fue financiado por el Centro Nacional de Investigaciones de Café - CENICAFE "Pedro Uribe Mejía" y conducido en sus instalaciones. El autor agradece a los Ingenieros Agrónomos Alex E. Bustillo P. y Francisco Posada F. por su invaluable ayuda en la lectura y comentarios a este manuscrito, y a Bernardo Chaves C. por la asistencia en el análisis estadístico.

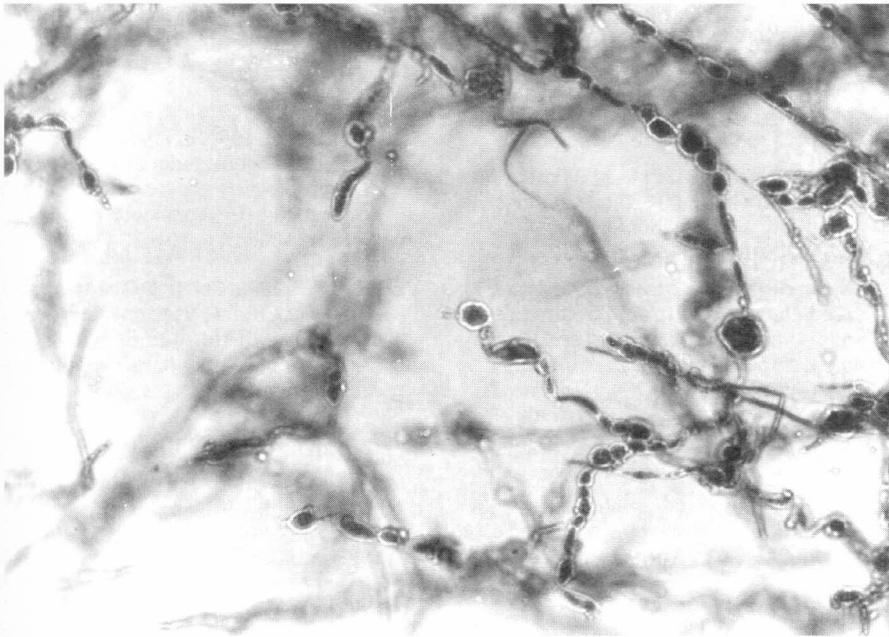


Figura 6. Clamidosporas de *B. bassiana* inducidas por oxiclورو de cobre mezclado con SDA.



Figura 7. Sinemas de *B. bassiana* inducidas por cyproconazol mezclado con SDA

BIBLIOGRAFÍA

ASHIDA, J. 1965. Adaptation of fungi to metal toxicants. Annual Review of Phytopathology (Estados Unidos) v. 3, p. 153-174

ALVES, S.B. 1986. Fungos entomopatogênicos. En: S.B. Alves. (Ed.). En: Controle Microbiano de Insetos, Capítulo II, Agentes entomopatogênicos no controle microbiano. Editora Manole Ltda, Sao Paulo, Brasil. p. 73-126

ANDERSON, T.E.; ROBERTS, D.W. 1983. Compatibility of *B. bassiana* isolates with insecticide formulations used in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) control. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 76, p. 1.427-1.441.

—; HAJEK, A.E.; ROBERTS, D.W.; PREISLER, H.K.; ROBERTSON, J.L. 1989. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): effects of combinations of *B. bassiana* with insecticides. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 82, p. 83-89.

BATISTA, F.A.; OLIVEIRA, L.J.; ALVES, S.B. 1983. Compatibilidad de insecticidas químicos con entomopatogênicos. O_ Biológico (Brasil) v. 53, p. 69-70.

BUSTILLO P., A.E. 1991. Uso potencial del entomopatogêno *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. En: Seminario sobre la broca de café. SOCOLEN, Medellín. Octubre 1990. Miscelánea Sociedad Colombiana de Entomología (Colombia) No. 18 p. 91-105.

CLARK, R.A.; CASAGRANDE, R.A.; WALLACE, D.B. 1982. Influence of pesticides on *B. bassiana*, a pathogen of the Colorado potato beetle. Environmental Entomology (Estados Unidos) v. 11, p.67-70.

FERRON, P. 1977. Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (Fungi imperfecti, Moniliales) in imagines of *Acanthoscelides obstrictus* (Col: Bruchidae). Entomophaga (Francia) v. 22, p. 393-396.

FORD, E.J.; GOLD, A.H.; SNYDER, W.C. 1970. Soil substances inducing chlamydospore formation of *Fusarium*. Phytopathology (Estados Unidos) v. 60, p. 124-128.

GARDNER, W.A.; STOREY, G.K. 1985. Sensivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 78, p. 1.275-1.279.

HSU, S.C.; LOCKWOOD, J.L. 1973. Chlamydospore formation in *Fusarium* in sterile salt solutions. Phytopathology (Estados Unidos) v. 63, p. 597-602.

IGNOFFO, C.M.; HOSTETTER, D.L.; GARCÍA, C.; PINNELL, R.E. 1975. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Nomurarea rileyi* to chemical pesticides used on soybeans. Environmental Entomology (Estados Unidos) v. 4, p. 765-768.

LAZO, R.R. 1990. Susceptibilidad de la broca del fruto del café (*Hypothenemus hampei*) al hongo entomopatogêno *Beauveria bassiana* y su tolerancia al oxiclورو de cobre. CATIE, Turrialba (Costa Rica). 61p. (Tesis Magister of Science).

LORIA, R.; GALAINI, S.; ROBERTS, D.W. 1983. Survival of inoculum of the entomopathogenic fungus *B. bassiana* as influenced by fungicides. Environmental Entomology (Estados Unidos) v. 12, p. 1724-1726.

MOORE, D.; PRIOR, C. 1988. Present status of biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. Brighton Crop Protection Conference - Pest and Diseases (Inglaterra) v. 9, p. 1119-1123.

- OLMERT I.; KENNETH, R.G. 1974. Sensivity of the entomopathogenic fungi *B. bassiana*, *V. lecanii* and *Verticillium* spp. to fungicides and insecticides. Environmental Entomology (Estados Unidos) v. 3, p. 33-38.
- PARRY, K.E.; WOOD, R.K.S. 1958. The adaptation of fungi to fungicides: adaptation to copper and mercury salts. Annals of Applied Biology (Estados Unidos) v. 46, p. 446-456.
- PARTRIDGE, A.D.; RICH, A.E. 1962. Induced tolerance to fungicides in three species of fungi. Phytopathology (Estados Unidos) v. 52, p. 1.000-1.004.
- RAMARAJAHE URS, N.V.; GOVINDU, H.C.; SHIVASHARIKARA, K.S. 1967. The effect of certain insecticides on the entomogenous fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae*. Journal of invertebrate Pathology (Estados Unidos) v. 9, p. 398-403.
- SAS INSTITUTE, INC. 1988. SAS Procedures guides. Release 6.03 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC (Estados Unidos). 441p.
- STOREY, G.K.; GARDNER, W.A. 1986. Sensitivity of the entomogenous fungus *B. bassiana* to selected plant growth regulators and spray additives. Applied and Environmental Microbiology (Estados Unidos) v. 52, p. 1-3.
- TAYLOR, J. 1953. The effect of continual use of certain fungicides of *Physalospora obtusa*. Phytopathology (Estados Unidos) v. 43, p. 268-270.
- TEDDERS, W.L.. 1981. In vitro inhibition of the entomopathogenic fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae* by six fungicides used in pecan culture. Environmental Entomology (Estados Unidos) v. 10, p. 346-349.
- VÉLEZA, P.E. 1990. Compatibilidad del hongo *B. bassiana* (Bals.) Vuill. con fungicidas e insecticidas. CENICAFE; Chinchiná (Caldas), Colombia. 40p. (Informe de Investigación sin publicar).

EVALUACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA LA CRÍA MASIVA DE *Bracon kirkpatricki* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae)

EVALUATION OF A METHOD FOR MASS REARING *Bracon kirkpatricki* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae)

Ana Milena Astudillo M.¹
Héctor A. Vargas G.²
Jades Jiménez V.³

RESUMEN

La cría masiva del *Bracon kirkpatricki* Wilkinson sobre larvas de *Galleria mellonella* (L.), se efectuó en el Laboratorio de Entomología de la Universidad del Valle, en Cali, a 970 msnm, una temperatura de 27°C y 65% de humedad relativa. El trabajo se planteó con el propósito de evaluar una metodología eficaz para la producción masiva del parasitoide *B. kirkpatricki* con proyección comercial. Se inició con la cría de *G. mellonella*, para lo cual se evaluaron, en forma comparada, recipientes metálicos cilíndricos de 0,108 m³ de capacidad contra su equivalente, 70 porrones de vidrio de 3.515,75 cm³ cada uno. Las principales variables de respuesta fueron el número de individuos producidos y el espacio funcional ocupado. Para la cría de *B. kirkpatricki* se evaluaron tres cámaras de parasitación: cámara pequeña (12 x 18 x 9 cm), mediana (31 x 16 x 9 cm) y grande (62 x 32 x 9 cm). Durante 15 días se realizaron dos parasitaciones diarias de 4 horas cada una. Las variables de estudio fueron: número de machos y hembras producidos, relación de sexos y porcentaje de parasitismo. Como resultado, los recipientes metálicos se constituyeron en un mecanismo muy funcional para la cría de *G. mellonella*, en cuanto al espacio ocupado se obtuvo 0,100 m³ contra 0,232 m³ de su equivalente en porrones de vidrio; en lo referente al número de larvas producidas no se observaron diferencias marcadas entre uno y otro sistema. La cámara de parasitación más funcional fue la grande, con un potencial para generar de 3.200 hasta 4.560 parasitoides por

día, con una relación de sexos de 1♀:1♂ y un 68% de parasitismo. Se logró un promedio de 5,0 parasitoides/larva.

Palabras claves: Crías masivas, *Bracon kirkpatricki*, *Galleria mellonella*, Parasitoides.

SUMMARY

The mass rearing of *Bracon kirkpatricki* Wilkinson on larvae of *Galleria mellonella* (L.) was carried out in the Entomology Laboratory of the Universidad del Valle, at Cali, 970 masl with 27°C and 65% of relative humidity. The object of the work was to evaluate an efficient method which would guarantee the mass rearing of the parasitoid *B. kirkpatricki* on *G. mellonella* larvae, with a commercial projection. Metal containers became a very functional mechanism for the rearing of *G. mellonella*. In regard to the occupation of space, 0,100 m³ was achieved against 0,232 m³ with its equivalent in glass flasks, although as far as the number of larvae produced is concerned, there were no marked differences between the systems. The most functional parasitization chamber was the large one (62 x 32 x 9 cm) with potential to generate between 3200 and 4560 parasitoids daily, with a sex relation of 1♀:1♂, and 68% parasitism, obtaining 5.0 parasitoids/larvae.

Key words: Mass rearing, *Bracon kirkyatricketi*, *Galleria mollonella*, Parasitoids.

INTRODUCCIÓN

Las plagas del algodón que cobran importancia en nuestro medio por los daños causados a nivel de las estructuras reproductivas son: el picudo del algodónero *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), el gusano rosado de la India, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) y el gusano rosado colombiano, *Sacadodes pyralis*

(Lepidoptera: Noctuidae) (Andrews y Quezada 1989).

El primer intento para el control biológico de estas plagas se inició con *Ectatoma tuberculatum* (Olivier) (Hymenoptera: Formicidae), hormiga depredadora que al ser atraída por los nectarios del algodón, ataca y mata muchos insectos incluyendo adultos de *A. grandis* (Clausen 1978).

La búsqueda de insectos parasitoides se inició en el Perú durante 1941 a 1945, donde se encontraron larvas del picudo peruano del algodónero, *A. vestitus* Boheman, altamente parasitadas por un Chalcididae y dos especies de Braconidae (Hymenoptera) (Clausen 1978). Un parasitoide externo gregario y promisorio es *Bracon kirkpatricki* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae), el cual fue probado, con buenos resultados, tanto contra *A. grandis* como contra *P. gossypiella* (Cross et al. 1969).

Cross et al. (1969) presentaron técnicas para la cría masiva de *B. kirkpatricki* fundamentadas en el uso de cajas de parasitación, para lo cual usaron cajas de petri plásticas con nylon donde se colocaban las avispas, y bandejas con larvas de *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), como huéspedes, las cuales se cubrían con pañuelos faciales. La misma técnica fue empleada por León (1988), pero usando cajas mantequilleras y como huéspedes larvas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae).

¹ Estudiante de Biología-Entomología. Universidad del Valle. Apartado Aéreo 26118. Cali, Colombia

² I.A., Profesor, Departamento de Biología, Universidad del Valle. Apartado Aéreo 25360 Cali, Colombia

³ I.A., Investigación y Desarrollo Biológico, Perkins Ltda. Apartado Aéreo 1015 Palmira (Valle), Colombia.

El valor de *B. kirkpatricki* como parasitoide funcional de *A. grandis*, *P. gossypiella*, *S. pyralis* y *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) motivó el presente trabajo, el cual consistió en evaluar una metodología para la cría masiva de *B. kirkpatricki* con proyección comercial, sobre larvas de *G. mellonella*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la laboratorio de la Sección de Entomología, Departamento de Biología, Universidad del Valle en Cali, a una altura de 970 msnm y con temperatura de 27°C y 65% de humedad relativa.

Comparación de la cría masiva de *G. mellonella* en dos tipos de estructuras de cría

A partir de una colonia básica de *G. mellonella*, mantenida en laboratorio, se obtuvieron las posturas necesarias para efectuar los ensayos de cría de las larvas, bien en porrones de vidrio o en recipientes metálicos.

Porrone de vidrio: Se usaron porrones de vidrio, con un volumen aproximado de 3.515,75 cm³. Como tratamiento se consideraron 70 porrones por repetición, cada uno con 200 g de una dieta compuesta principalmente de harina de maíz, levadura, germen de trigo, leche, miel, glicerina y agua, la cual fue suministrada por el Laboratorio de Entomología del ICA, en Palmira (Valle). Cada porrón fue infestado con 3,67 g de huevos, aproximadamente 14.000 huevos (Fig. 1).

Recipientes metálicos: La segunda técnica en la ampliación del sistema anterior, considerado como un segundo tratamiento, consistió en el uso de recipientes metálicos cubiertos con una tapa de tela oscura. Cada recipiente, con una capacidad de 0,108 m³, contenía una serie de cinco bandejas de anjeo. En cada bandeja se colocaron alrededor de 2 kg de dieta y se infestó con 3,67 g de huevos (Fig. 2).



Figura 1. Porrón de vidrio con dieta artificial e infestado con huevos de *G. mellonella* sobre tiras de papel toalla.

Para la evaluación comparada de las dos estructuras de cría se usaron dos tratamientos con tres repeticiones cada uno. Los tratamientos se montaron simultáneamente y las repeticiones se hicieron al tiempo para facilitar la

toma de datos de las variables en estudio, las cuales fueron principalmente: producción total de larvas de *G. mellonella* y espacio ocupado por cada sistema.

Comparación de tres cámaras de parasitación para la cría masiva de *B. kirkpatricki*

Para la multiplicación del parasitoide, la metodología se basó en las desarrolladas por Cross et al. (1969) y Bryan et al. (1971). En los ensayos para establecer la mejor técnica de cría de *B. kirkpatricki* bajo condiciones de laboratorio, se emplearon tres tamaños de cámaras de cría: una pequeña de 12 x 18 x 9 cm, una mediana de 31 x 16 x 9 cm y una grande de 62 x 32 x 9 cm (Fig.3).

La cepa del parasitoide se obtuvo del Laboratorio de Entomología del ICA, en Palmira; y como huésped se utilizaron larvas de *G. mellonella* de V instar, colocadas en paquetes de parasitación, consistentes en láminas de cartulina de 8 x 12 cm y forradas con pañuelos faciales. Con este material como base, se llevó a parasitar en cada una de las cámaras que según

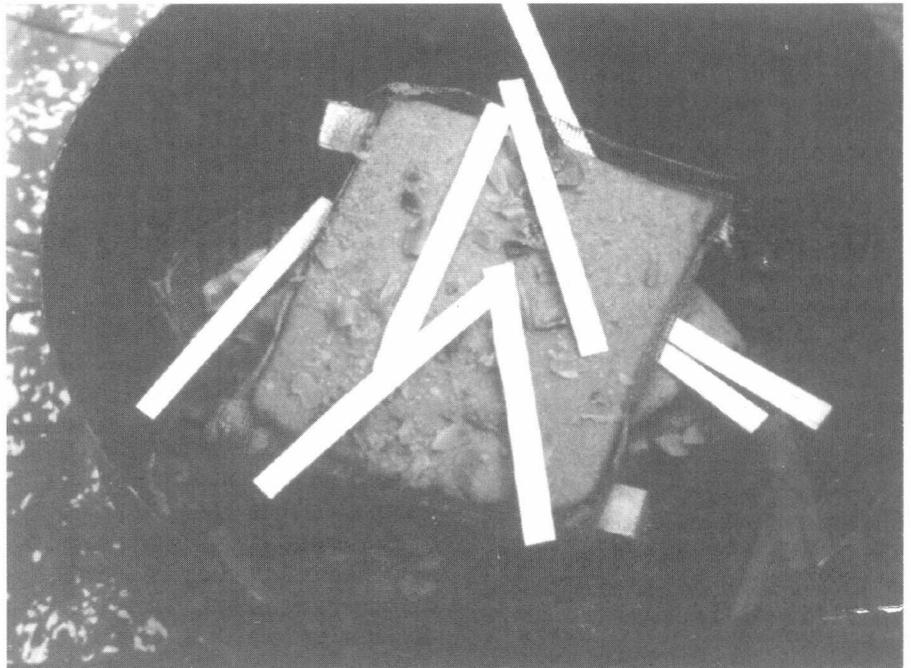


Figura 2. Recipiente metálico con dieta infestada con huevos de *G. mellonella* provistos en tiras de papel.

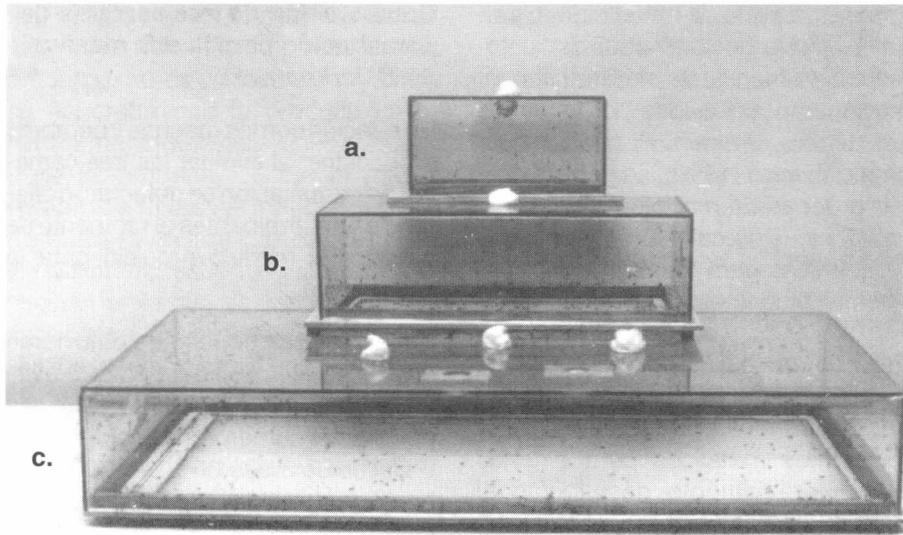


Figura 3. Tipo de cámaras de parasitación usadas para la cría masiva de *B. kirkpatricki*. a. pequeña b. mediana c. grande

Tabla 1. Distribución del material biológico por cámara de parasitación

Tipo de Cámara	Volumen cm ³	No. larvas de <i>G. mellonella</i> por cámara	No. de avispas de <i>B. kirkpatricki</i> por cámara
Pequeña	1.944	38	190
Mediana	4.464	100	500
Grande	17.856	320	1.600

su dimensión proveen un número determinado de avispas. La relación parasitoide - huésped fue de cinco avispas de *B. kirkpatricki* por cada larva de *G. mellonella*, la relación de macho a hembra para el parasitoide fue de 1:1 (Tabla 1).

El ensayo se efectuó durante 15 días, realizando dos parasitaciones diarias, de 4 horas cada una, y dejando entre cada exposición 1 hora de separación.

Los medios de parasitación se almacenaron y luego se trasladaron a cámaras de emergencia, donde las avispas se contaron y se separaron por sexos.

Los datos obtenidos se analizaron con base en un diseño completamente aleatorizado, con tres tratamientos y tres repeticiones cada uno. Además se realizó la prueba de Tukey para

establecer diferencias entre los porcentajes de parasitismo. En este ensayo, las variables consideradas fueron: Número de machos y hembras producidos, relación de sexos y porcentaje de parasitismo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparación de la cría masiva de *G. mellonella* en dos tipos de estructura de cría

Al comparar los resultados de la cría masiva de *G. mellonella* en dos estructuras de cría diferentes, no se encontraron diferencias significativas.

Los porrones de vidrio tuvieron como producción promedio 11.509,33 ± 2.251,46 larvas, en tanto los recipientes metálicos tan solo produjeron, en promedio, 10.025,00 ± 247,49 larvas, debido al excesivo escape de estas. Muy probablemente, la caída acci-

denal de rayos de luz sobre el recipiente causó el escape de las larvas, las cuales se caracterizan por ser fotosensibles.

Otras variables que se tuvieron en cuenta fueron: la eclosión de los huevos, que fue del 98% para ambos tratamientos; sin embargo, la producción final se vio afectada por el escape de las larvas pequeñas a través de la tela que cubrían los porrones o de las tapas de tela colocados sobre los recipientes metálicos.

Respecto a la producción de larvas por gramo de dieta, los porrones de vidrio produjeron, en promedio, 0,82 larvas, en tanto que en los recipientes metálicos se obtuvieron 0,71 larvas/g. Se aprecia que a mayor capacidad del recipiente, las larvas se pueden distribuir de tal manera que consumen lo suficiente para desarrollarse en forma adecuada y sin competencia por espacio.

En cuanto al tiempo de manipulación, se observaron diferencias entre las dos estructuras, siendo mayor para los porrones de vidrio, pues se requiere sacar la dieta de cada uno de ellos, resquebrajarla y obtener las larvas. En los recipientes metálicos, las larvas de quinto instar temprano e intermedio se aprovechan totalmente, pues se encuentran sobre las bandejas con dieta o desplazándose sobre las paredes del recipiente. Lógicamente, si se espera a que las larvas tejan el cocoon para empupar, el proceso se demorará más, sea cual fuese la estructura.

Tomando como base que la cantidad de dieta para 70 porrones es la misma que para un recipiente metálico (14 kilos), y aunque la relación larva por gramo de dieta varía de 0,82 larvas para porrones a 0,71 para recipientes metálicos, no existe diferencia en el costo por gramo de dieta producida. Por tanto, no se puede considerar, desde este punto de vista, como una desventaja para uno y otro sistema. El costo del gramo de dieta para los recipientes metálicos fue de \$1,44.

Los recipientes metálicos se constituyeron en un mecanismo muy funcional para la cría de *G. mellonella*, puesto que el espacio ocupado por cada uno, 0,108 m³, fue menor comparado contra 0,232 m³ de su equivalente en porrones de vidrio.

El manejo de 70 porrones es más dispendioso y requiere de estantes metálicos para acondicionarlos, mientras que un recipiente metálico que ocupa el mismo espacio equivalente a su capacidad, puede acomodarse para efectos de manejo en una unidad modular de tres pisos, cada piso con dos recipientes, de tal forma que un total de seis ocupen un área de 0,832 m².

En consecuencia, resaltan las diferencias que favorecen los recipientes metálicos, por la manera como facilitan una mayor producción de larvas por unidad de espacio. En síntesis, condiciones ambientales como temperatura entre 27 a 30°C, humedad relativa del 65%, oscuridad total para los primeros instares de desarrollo (para evitar el escape de las larvas), comodidad para el establecimiento de las larvas en la dieta, mejor producción de larvas por gramo de dieta, menor tiempo de manipulación y menor espacio ocupado, favorecen el desarrollo de *G. mellonella* en estas estructuras.

Colateralmente, dentro de las observaciones generales efectuadas sobre *G. mellonella*, se encontró que algunas larvas, tanto en los porrones como en los recipientes metálicos, fueron afectadas, en pequeña proporción, por un patógeno. Los síntomas manifestados en coloración negra y cierta flacidez, hicieron presumir la infección por bacterias, lo cual concuerda con lo expuesto por Waage (1990).

Para determinar si efectivamente se trataba de algún tipo de bacteria, se realizó un aislamiento sobre agar nutritivo, lo cual corroboró su existencia, pues básicamente presentaba buen crecimiento sobre el medio, formaba

esporas, a parte de haber sido extraído del fluido hemocélico. Esta sintomatología manifiesta similitud con infecciones ocasionadas por bacterias del género *Bacillus*. Por lo tanto, y según Waage (1990), se deben realizar pruebas de morfología descriptiva, técnicas de coloración y ensayos bioquímicos para identificar con mayor exactitud la especie.

Para determinar el posible factor de contaminación, se hizo un análisis. Se descartaron los porrones de vidrio o recipientes metálicos porque estos fueron previamente desinfectados. Probablemente en el proceso de preparación de la dieta aparezca el patógeno, aunque si bien es tratada con formaldehído al 10%, este preservativo no parece ser suficiente para impedir la contaminación de la bacteria, por lo cual se recomienda probar una dieta con antibióticos.

Comparación de tres cámaras de parasitación para la cría masiva de *B. kirkpatricki*.

En relación con los machos y hembras producidos, al evaluar las tres cámaras de parasitación se detectaron diferencias determinantes al momento de escoger el módulo propicio para la cría masiva.

En la cámara pequeña se obtuvieron en promedio 4.563,67 ± 662,20 avispas, alrededor de 304,24 parasitoides por día. El número promedio de machos fue de 3.009,00 ± 296,70 y el de hembras de 1.554,30 ± 366,20 (Fig.4), lo que da una relación de sexos de 1♂:1,95♀. Los datos revelan la disparidad existente entre el número de machos y hembras, lo cual da un desbalance en la relación de sexos.

La cámara mediana aportó, en promedio, 7.195,30 ± 686,90 avispas, o

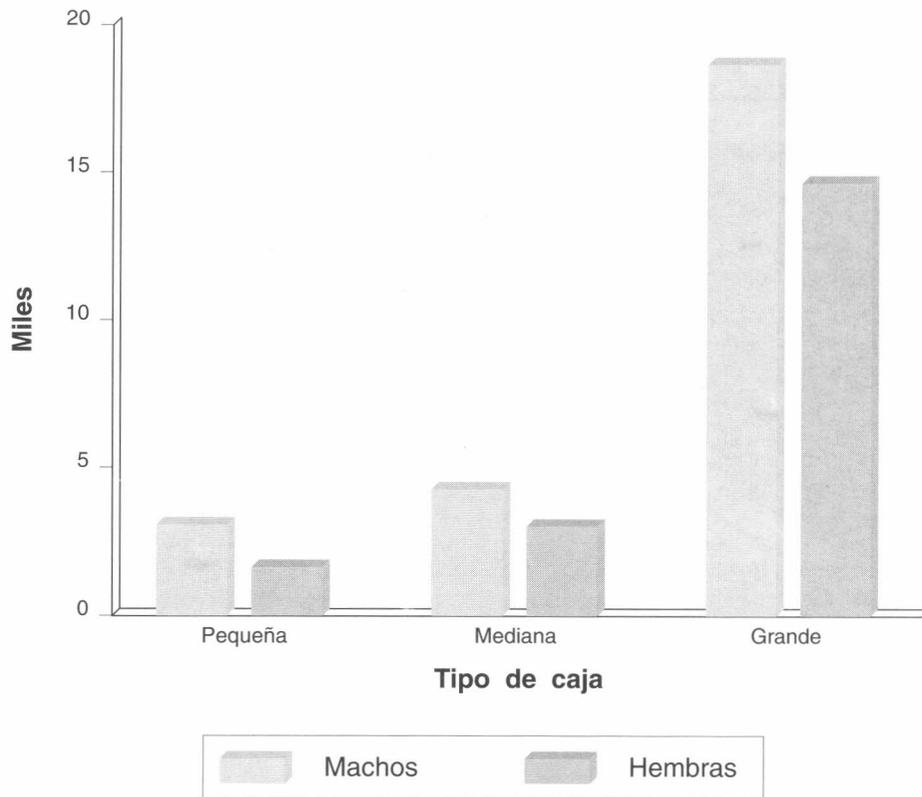


Figura 4. Producción de machos y hembras de *B. kirkpatricki* según la cámara de parasitación.

sea 479,69 por día, lo cual representa 1,6 veces más que la pequeña, sin embargo, no es un valor alto, ya que se esperaba que la producción en esta cámara fuera dos veces superior a de la pequeña, debido al mayor número de larvas y al mayor volumen, lo cual favorece la interacción parasitoide-huésped, minimizando el hacinamiento que es causa de la reducción de los parasitoides y alteración de la relación de sexos. El número de machos estuvo alrededor de $4.228,30 \pm 353,40$, y el de las hembras fue de $2.967,00 \pm 385,70$ (Fig. 4), con un relación de sexos de $1\text{:}1,42\text{♂}$.

En el caso de la cámara grande se obtuvieron, en promedio, $33.338,00 \pm 4.989,04$ avispas, es decir $2.222,53$ parasitoides por día, con un promedio de $18.705 \pm 2.753,95$ machos y $14.633,00 \pm 2.235,65$ hembras (Fig. 4), para una relación de sexos de $1\text{:}1,28\text{♂}$. Esta cámara es 9 veces más grande que la pequeña y 4 veces más con respecto a la mediana, lo cual muestra que el volumen y por ende la cámara, se constituyen en variables determinantes en la producción de avispas y más aun, en una condición vital que reduce el hacinamiento y por tanto la relación de sexos.

Según los datos de producción de parasitoides por cámara, el número de avispas de *B. kirkpatricki* por la larva fue de 4,5 para la cámara pequeña, 5,9 para la mediana y de 5,01 para la grande. Lo cual indica que se pueden obtener alrededor de 5,1 parasitoides a partir de una larva de *G. mellonella*.

Para conocer qué tan diferentes eran las cámaras según el número de machos y hembras producidos, se estudiaron inicialmente los machos, bajo el efecto de los tres tratamientos o cámaras de parasitación, con una probabilidad $P > 0,0001$ se hallaron diferencias significativas entre los tres tratamientos.

Análisis posteriores determinaron que la variable "larvas parasitadas", con

una probabilidad $P > 0,0001$, determinaba las diferencias significativas entre las tres cámaras, puesto que marcaba a qué nivel una cámara reportaba el mayor porcentaje de parasitismo y como consecuencia el mayor número de machos producidos.

Los valores de producción diaria para machos con datos ajustados, en términos de cuadrados medios y errores estándar, determinaron que la mínima diferencia para producción de machos por parte de las tres cámaras, lo presentaban la mediana y la grande con una $P > 0,0343$, lo cual reflejaba que las dos no se veían afectadas ni por el alimento, entendiéndose como la cantidad de larvas de *G. mellonella* expuestas para el parasitismo, ni tampoco por el volumen de las cámaras.

Por el contrario, se presentaron mayores diferencias entre la pequeña-mediana y pequeña-grande, puesto que el número de avispas macho para la mediana y grande superaba notablemente el valor de la pequeña, la cual se veía afectada por el fuerte hacinamiento al que estaban sometidas las avispas madre.

Para el caso de las hembras producidas, y bajo los tres tratamientos, con una $P > 0,0001$ se observaron diferencias significativas entre las tres cámaras de parasitismo. De la misma forma se encontró como en el caso de los machos, que las larvas parasitadas influían en esas diferencias significativas ($P > 0,0001$).

Los valores de producción diaria para hembras con datos ajustados, en términos de cuadrados medios y errores estándar, determinaron que la mínima diferencia entre los tratamientos, para la cría de hembras de *B. kirkpatricki*, se presentó entre las cámaras pequeña y mediana con una $P > 0,0136$, esto implica que bajo una u otra la producción es muy semejante. Sin embargo, cabe recalcar que para la pequeña, la producción no sólo será inferior sino por debajo del número de machos producidos, no favoreciendo la cría

masiva que para efectos de producción en laboratorio y eficiencia en control biológico, debe guardar la proporcionalidad entre machos y hembras.

La cámara mediana produjo un poco más que la pequeña, pero no lo suficiente como para afirmar que a mayor número de larvas expuestas y mayor volumen de la cámara, la producción sería mejor.

Sin embargo, al comparar las cámaras se encuentra que la producción difiere totalmente entre la cámara pequeña y grande con una $P > 0,7782$, lo cual es reflejo del fuerte hacinamiento al que se ven sometidos 108 parasitoides en la pequeña, favoreciendo la competencia intraespecífica, la mayor producción de machos y la baja proporción de hembras, esto es producto del volumen de la cámara; por el contrario esto se corrige en la grande, al producir no sólo mayor número de avispas, sino también una relación de sexos más estable.

Los resultados de producción de machos y hembras de *B. kirkpatricki* han sido analizados, teniendo en cuenta la relación de sexos como variable de trascendental importancia en la cría masiva de esta especie.

Para la cámara pequeña se presentó un desequilibrio en la relación macho a hembra, lográndose un promedio de 2 machos respecto a 1 hembra. Esta situación es consecuencia del hacinamiento en las crías de parasitoides, lo cual causa superparasitismo, que en especies gregarias como *B. kirkpatricki* y en general para Hymenoptera, ocasionan alteraciones en la proporción de los sexos, por tanto hay mayor producción de avispas machos, y las hembras pueden seguir colocando huevos de machos en los huéspedes parasitados, lo cual tendrá una reacción marcada bajo condiciones de hacinamiento (Waage 1990).

Para el caso de la cámara mediana, la razón fue de 1,5 machos respecto a 1 hembra. Este tratamiento mejoró la relación de sexos, lo que indica que el

volumen constituye una característica de importancia en la interacción parasitoide-larva, la cual se refleja en la descendencia.

Finalmente, en la cámara grande presentó una razón de sexos bastante ajustada a una relación de 1 macho a 1 hembra, lo cual indica que un ambiente propicio favorece tanto una buena producción como una razón sexual estable. En la que no existen presiones de hacinamiento, las cuales traen como consecuencia el superparasitismo y de allí la competencia intraespecífica.

Al estudiar el número de machos y hembras producidos como variables, que explican la existencia de diferencias entre las cámaras de parasitación, se encontró que las larvas parasitadas constituían otra variable que determinaba precisamente las diferencias significativas entre las tres cámaras. Las larvas parasitadas en relación al número de larvas expuestas para parasitación-día, constituyen el denominado Porcentaje de Parasitismo; para la cámara pequeña se presentó un promedio del 94%, para la mediana del 41% y para la grande del 68% de parasitismo.

Se encontró que el porcentaje de parasitismo con una $P > 0.0001$, marcaba diferencias entre los tres tratamientos, juega papel importante cada día de parasitación, pues es a lo largo de estos que el parasitismo incrementa o disminuye, favoreciendo o alterando la eficiencia de las cámaras.

La prueba de Tukey, con un nivel de significancia de 0,05, confirmó la existencia de esas diferencias, lo cual permite distinguir cada cámara y al mismo tiempo determinar por el grado de parasitismo, la más eficiente teniendo en cuenta la relación de sexos.

La cámara pequeña, al presentar un 94% de parasitismo, debería representar la mejor opción de cría en laboratorio, sin embargo, la desproporción en la producción de machos con res-

pecto a las hembras (2:1), no la favorece para efectos de crías masivas.

En cuanto a la mediana, el 41% de parasitismo haría pensar en la poca eficiencia de la cámara; sin embargo, es a través de esta que se observó la estabilización de la relación de sexos, dándole paso a la grande donde el 68% de parasitismo no sólo refleja una muy buena producción sino, además, una relación de sexos ajustada a la proporción de sexos 1 macho: 1 hembra.

La producción en laboratorio de *B. kirkpatricki* sobre larvas de *G. mellonella* ha sido posible por los diferentes estudios básicos que han permitido conocer la biología y desarrollo del parasitoide sobre este huésped. Esto ha garantizado que se presenten bajo condiciones de cautiverio, cópula, fecundidad, fertilidad, en otras palabras el parasitismo, lo cual permite que la especie se reproduzca de generación en generación. Sin embargo, todos los resultados observados en el laboratorio están sujetos a modificaciones al momento de llegar al campo, ya que las condiciones ambientales controladas y más o menos estables no serían siempre las mismas, el huésped cambia de un alterno en laboratorio a otras especies en condiciones naturales, y el espacio de acción es otro. De allí que se puedan obtener porcentajes de parasitismo diferentes a los observados en los ensayos. A parte de las razones mencionadas debe incluirse el hecho que el huésped que no es el específico, está siendo criado con dieta artificial.

Cross et al. (1969) reportan que *B. kirkpatricki* es muy agresivo en el laboratorio sobre *A. grandis*, pero que los porcentajes de parasitismo en campo varían considerablemente por varias razones, entre ellas el hecho que *A. grandis* no sea el huésped natural.

De otra parte, los sustitutos del huésped verdadero, llamados ficticios, originan parasitoides que enfrentados con los producidos bajos los huéspedes

des naturales y en el campo, podrían ser de menor vigor, más pequeños y de menor fecundidad (Waage 1990).

Para elaborar un programa de producción de *G. mellonella* y *B. kirkpatricki*, se preparó un cronograma modelo, basado en los recipientes metálicos y en la cámara grande de parasitación (Figura 5).

Para este fin se montó inicialmente un recipiente metálico con aproximadamente 14.000 g de dieta, e infestados con cerca de 3,67 g de huevos de *G. mellonella*, equivalentes a 14.000 huevos.

Los huevos se obtuvieron de una pequeña colonia montada en porrones de vidrio, de la cual se tomaron 50 parejas de polillas que podían colocar el número de huevos requeridos para el recipiente.

Cada recipiente metálico debería ser montado con una diferencia de 13 días para garantizar la permanencia constante de larvas de quinto instar. A partir de los 25 días de montado se empiezan a obtener larvas aptas para ser parasitadas, este período dura alrededor de 14 días o sea 2 semanas, bajo las cuales se estaría parasitando.

Para la cámara se emplearían en total 700 larvas por día, es decir 350 larvas por cámara de parasitación con 1.750 avispas madres, en relación 1 a 1. Por tanto para los 14 días de parasitación se requieren 9.800 larvas, las cuales producirían cerca de 49.000 avispas.

CONCLUSIONES

- Para la producción masiva de *G. mellonella*, los recipientes metálicos representaron la mejor alternativa de cría, debido al menor espacio ocupado en comparación con los porrones de vidrio, la mejor producción de larvas por gramo de dieta y el menor tiempo de manipulación.

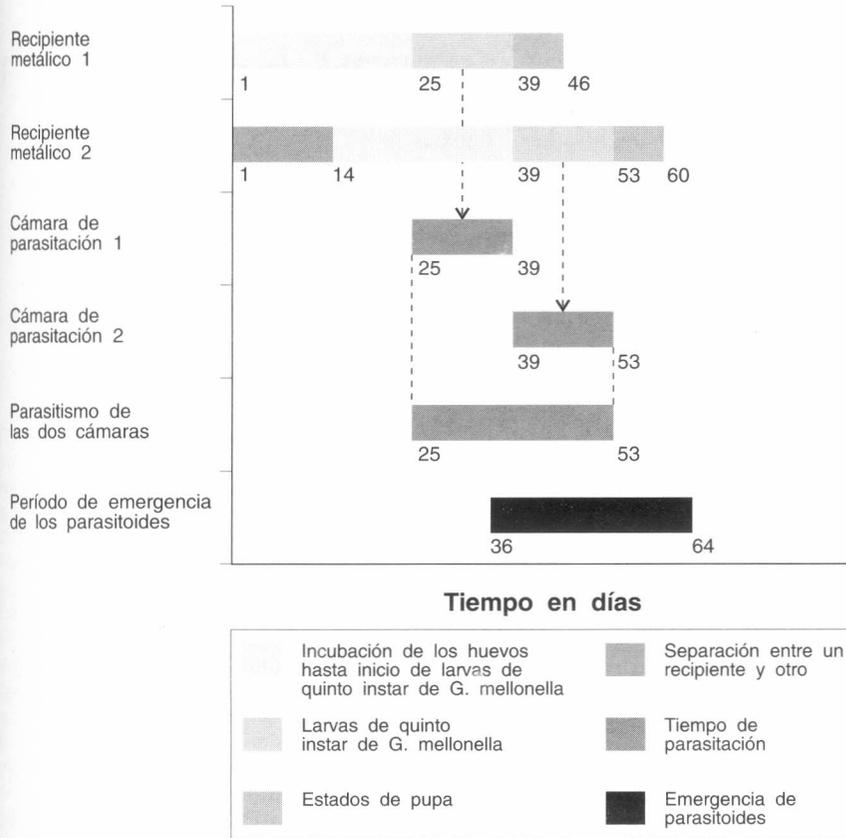


Figura 5. Diagrama de un modelo para la cría continua de *G. mellonella* y *B. kirkpatricky*.

- Un factor que puede diezmar notablemente la producción de larvas de *G. mellonella* es la contaminación con patógenos, entre ellos bacterias muy seguramente del género *Bacillus*.
- Se presentaron diferencias significativas en la producción de *B. kirkpatricki* bajo el efecto de las tres cámaras de parasitación, siendo mejor la cámara grande (62 x 32 x 9 cm) con un promedio de 33.338 avispas en 15 días de parasitación.
- La mejor eficiencia de producción está influenciada, entre otros factores, por la temperatura, la cual debe ser constante alrededor de

los 27°C; por el tiempo de exposición de las larvas al parasitoide, el cual no debe exceder de 4 horas. Igualmente se observó que a mayor tamaño en la cámara de parasitación la tendencia a la estabilización en la relación de sexos hacia 1:1 era mayor.

- Para las condiciones del experimento por cada larva parasitada se obtienen 5 avispas de *B. kirkpatricki*.
- La cámara pequeña (12 x 18 x 9 cm), aunque aportó el mayor porcentaje de larvas parasitadas, presentó una relación de sexos desfavorable (1,95♂ : 1♀).

- En cuanto a la cría masiva de *B. kirkpatricki*, para mantener dos cámaras de parasitación continua en un mes se necesitarían dos recipientes metálicos en producción de larvas de *G. mellonella*, cada uno de los cuales debería estar montado con 14 días de intervalo. Para un total de 700 larvas por día en las condiciones del trabajo se producirían diariamente 3.500 avispas con proyección a 24.500 semanales.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDREWS, K.L.; QUEZADA, J.R. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: estado actual y futuro. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras. 623p.
- BRYAN, D.E.; JACKSON, C.G.; PATANA, R.; NEEMANN, E.G. 1971. Field cage and laboratory studies with *Bracon kirkpatricki*, a parasite of the pink bollworm. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 64 no. 5, p. 1236-1241.
- CLAUSEN, C.P. (Ed.). 1978. Introduced parasites and predators of arthropod pest and weeds: A World Review. Agricultural Research Service, U.S.D.A., Washington. Agriculture Handbook no. 480. 260p.
- CROSS, W.H.; MCGOVERN, W.L.; MITCHELL, H.C. 1969. Biology of *Bracon kirkpatricki* and field release of the parasite for control of the boll weevil. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 62 no. 2, p. 448-454.
- LEÓN, G.A. 1988. Estudios básicos para la cría masiva del *Bracon kirkpatricki* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae). En: Seminario. Control biológico de insectos-plagas: Bases y Aplicaciones. Buga, Colombia. Mayo 20 de 1988. Miscelánea Sociedad Colombiana de Entomología (Colombia) no. 13, p. 14-25.
- WAAGE, J. 1990. Manual de capacitación en control biológico. CENICAFE, Chinchiná, Caldas. 174p.

CICLO DE VIDA DE *Lincus tumidifrons* Rolston (Hemiptera: Pentatomidae), VECTOR DE LA MARCHITEZ SORPRESIVA DE LA PALMA DE ACEITE

LIFE CYCLE OF *Lincus Tumidifrons* Rolston (Hemiptera: Pentatomidae), VECTOR OF THE MARCHITEZ SORPRESIVA IN OIL PALM.

Fanny Alvañil Alvarez *

RESUMEN

Una chinche del género *Lincus* ha sido registrada en Latinoamérica como el principal vector del protozoario *Phytomona* sp., agente causal de la marchitez sorpresiva de la palma de aceite, la cual, debido a su carácter letal e irreversible, ha provocado grandes pérdidas económicas en varias plantaciones. En Colombia, *L. tumidifrons* Rolston está asociado en el 90% de los casos de marchitez, y se ha encontrado en los Llanos Orientales (Meta y Casanare), Norte de Santander y Magdalena, en palmas con marchitez sorpresiva. El insecto, en los estados de huevo, ninfa y adulto, se localiza generalmente en las bases peciolares de las hojas 12 a 33 de palmas con edades entre los 6 meses y los 20 años, aunque el mayor índice se presenta a los 4 - 5 años. Después de experimentar en campo y en laboratorio con diferentes cámaras de cría, dietas alimenticias y microhabitats, se logró establecer una colonia bajo condiciones controladas de laboratorio (T=24-26°C; H.R.= 65-80%), utilizando como dieta alimenticia tallos de *Costus amazonensis*, tallos y frutos de *Renealmia* sp. y tusa desgranada de maíz (*Zea mays* L.). El color negro tuvo un efecto positivo sobre el desarrollo del ciclo de vida, ya que con este se obtuvo el mayor número de adultos, seguido por los colores azul y verde oscuro; en las cámaras con colores claros transparentes las ninfas llegaron al V instar y murieron. Se determinó un período de incubación promedio de 7,8 días. La duración promedio de los instares ninfales fue: I= 7,4 días; II=22,5; III=33,0; IV=33,7 y V=71,6, para una duración total del estado de ninfa de 170,2 días.

Palabras claves: *Lincus tumidifrons*, Palma de aceite, Insectos vectores, Marchitez sorpresiva, Enfermedades, Ciclo de vida

SUMMARY

In Latin America a bug of the genus *Lincus* has been reported as the main vector of the protozoan *Phytomona* sp. causal agent of the "Marchitez Sorpresiva". As a result of its lethal and irreversible nature, this disease has caused enormous economic losses in several oil palm plantations. In Colombia *L. tumidifrons* Rolston is associated with 90% of the cases of Marchitez. This species has been found on palm trees with Marchitez Sorpresiva in the Llanos Orientales (Meta and Casanare), Norte de Santander and Magdalena. The stages of egg, nymph and adult are generally found at the leaf bases of fronds 12-33 of trees ranging from 6 months to 20 years of age but the highest incidence is between 4 and 5 years of age. After field and laboratory experiments using different rearing chambers, diets (mainly natural) and microhabitats a colony was established under controlled laboratory conditions (T=24-26°C; R.H.=65-80%). The diet based on *Costus amazonensis* stems, *Renealmia* sp. stems and fruits, and *Zea mays* stripped cobs were used. An average incubation period of 7.81 days was determined. The duration of the nymphal instars was: I=1.35 days; II=22.5; III=33.0; IV=33.7 and V=71.6. The total duration of the nymphal stage was on the average 170.2 days. In the chambers, the black color had a positive effect on the development of the life cycle. The highest number of adults was obtained with black, followed by dark green and blue. In light color and transparent chambers, nymphs reached the fifth instar and died.

Key words: *Lincus tumidifrons*, Oil palm, Vector insects, Diseases, Life cycle.

INTRODUCCIÓN

En Colombia, el cultivo de la palma de aceite cubre aproximadamente 120.000 ha que generan 45.000 empleos directos y utiliza, con gran intensidad, la mano de obra, la cual representa el 70% de la totalidad de los costos. Además, el aceite de palma,

cuya producción anual es de 284.000 t, constituye el 70% de los aceites comestibles consumidos en el país (De Hart 1992).

Debido a la extensión del área de cultivo se producen grandes cambios en el medio ambiente que crean condiciones propicias para el desarrollo de patógenos, los cuales en un momento dado pueden ocasionar pérdidas económicas. Este es el caso de las enfermedades pestaloptiosis, pudrición de cogollo (PC) y marchitez sorpresiva.

La marchitez sorpresiva es una enfermedad de carácter letal e irreversible, endémica de Latinoamérica, que ataca al cocotero y a la palma de aceite desde los seis meses hasta los 18-20 años de edad, aunque su mayor incidencia se presenta en palmas de 4-5 años. Los síntomas externos se caracterizan por la pudrición del sistema radicular, pudrición de los racimos, aborto de las inflorescencias, y como primer síntoma visible, el secamiento de los folíolos, del ápice hacia la base de las hojas de la corona bajera (Fig. 1), dando una apariencia de quemazón que se desplaza en forma ascendente hacia el cogollo. En casos avanzados hay pudrición de flechas (Parthasarathy y Van Slobbe 1978; Genty 1981; Dollet 1982).

Internamente, en el estipe no se ven cambios aparentes, excepto en casos avanzados; se presenta una coloración rojiza que se extiende desde la base del cogollo hacia el meristemo. Una característica principal en el diagnós-

* Bióloga. Área de Entomología, CENIPALMA. Cra 9 No.71 - 42, Piso 4o. Santafé de Bogotá, Colombia



Figura 1. Secamiento de folíolos, del ápice hacia la base foliar.

tico de la enfermedad es la rapidez en la manifestación de los síntomas y la muerte de la palma, en 2-3 meses.

En términos generales, esta es la sintomatología característica de la marchitez sorpresiva que se presenta en el país en las cuatro zonas palmeras: Norte (Magdalena y Norte del Cesar), Central (Sur del Cesar, Santander y Norte de Santander), Oriental (Meta y Casanare) y Occidental (Tumaco-Nar). Sin embargo, en la Zona Oriental, la expresión de síntomas y la muerte de la palma es mucho más rápida que en las Zonas Norte y Central, en donde, aproximadamente, la palma puede quedar en pie unos seis meses (Mena et al. 1976).

En Colombia, la marchitez sorpresiva se registró por primera vez en 1963, en la Plantación Oleaginosas Risaralda, en la zona de El Zulia (N. Sant.), afectando 2.000 ha, aproximadamente. A partir de este momento se realizaron varios estudios para determinar su etiología, planteándose hipótesis de naturaleza fisiológica, climática y nutricional, las cuales se descartaron a medida que se observaba que al mejorar las condiciones o en las zonas donde no se presentaban las

posibles causas, la marchitez se seguía presentando (Reyes 1985).

El término marchitez sorpresiva fue utilizado por primera vez por Elliot (Reyes 1985), dada la forma de dispersión de la enfermedad, sin descartar la presencia de un insecto, lo cual dió origen a diferentes hipótesis entomológicas. En 1963, Figueroa, citado por Reyes (1985), propuso al insecto *Scaptocoris divergens* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae), como un posible vector. Sin embargo se descartó, ya que la chinche era más abundante en suelos sueltos que no coincidían con los de los focos.

Genty (1973), al observar en el sistema radicular de palmas un 50 a 80% de las raíces afectadas por el barrenador de las raíces, *Sagalassa valida* Walker (Lepidoptera: Glyphipterigidae), lo consideró como el insecto que podría estar relacionado con la enfermedad, al facilitar la entrada de un posible patógeno.

Martínez-López et al. (1976), con el *Myndus crudus* Van Duzze (Homoptera: Cixiidae), vector de un posible virus, logró obtener en palma de aceite síntomas similares a los de la mar-

chitez sorpresiva. Dicho insecto realiza parcialmente su ciclo de vida en las raíces de diferentes especies de gramíneas, principalmente pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.), pasto granadilla (*P. fasciculatum* Sw.) y paja brava (*Paspalum paniculatum* L.); como adulto, este insecto se encontró en la palma de aceite (Zenner de Polanía y López 1976; Martínez-López et al. 1976). Estos resultados fueron ampliamente discutidos, ya que se planteaban dos tipos de marchitez sorpresiva: uno causado por el protozooario *Phytomona* sp. y transmitido por una chinche del género *Lincus*, y el otro causado por un virus transmitido por el insecto *M. crudus*. Esto último correspondía al caso de Oleaginosas Risaralda, ya que en esa época nunca se llegó a observar *Phytomona*. Recientemente, Alvañil (Datos sin publicar) encontró *Phytomona* y adultos y posturas de *Lincus* en los casos de marchitez sorpresiva recientemente registrados en esta plantación.

Dollet y Martínez-López (1978) reportaron la presencia de protozoarios flagelados en el floema de inflorescencias de una palma de aceite con síntomas de marchitez, en el Perú. En cocotero, estos microorganismos se conocían en Surinam desde 1909.

Griffith (1980), en Trinidad, formuló la posibilidad que la fuente de contaminación para el insecto sea una maleza; en cocotero, encontró la *Phytomona* asociada con la bacteria *Micrococcus roseus*. Este complejo, flagelado - bacteria, estaba en la especie *Asclepias curassavica* L. estrechamente relacionada con el insecto *Oncopeltus cingulifer* Stal (Hemiptera: Lygaeidae). Sin embargo, él considera que el vector entre las palmas de coco es el *Mecistorrhynchus piceus* Palisot-Beauvois (Hemiptera: Pentatomidae). Al inocular por inyección el extracto de *A. curassavica* en el haustorio de palmas de coco, reprodujo la enfermedad.

Genty (1981) encontró que *Macropygium reticulare* (Fabricius) (Hemiptera:

Pentatomidae) tenía protozoarios, pero la experimentación para reproducir la enfermedad dió resultados negativos.

El género *Lincus* (Hemiptera: Pentatomidae) ha sido sospechoso de ser el vector de protozoarios desde 1934, cuando Stahel lo consideró vector de la *Phytomona leptovasarum*, causante de la necrosis del floema en café, pero sus ensayos de transmisión fueron negativos. Según Urueta (1985), esta hipótesis fue tomada nuevamente por McGhee (1979) y Desmier de Chenon (1984) en el Ecuador. Este último reprodujo la enfermedad en palma de aceite con *L. lethifer* que presentaba flagelados.

En Colombia, Urueta (1987) registró la presencia de insectos del género *Lincus* en lotes "foco" de marchitez, en los Llanos Orientales. Dollet (1989), mediante la disección de palmas afectadas por marchitez, encontró huevos, ninfas y adultos de *Lincus* sp. Alvañil (datos sin publicar) reprodujo por primera vez en Colombia la marchitez sorpresiva en palma de aceite, con la chinche *L. tumidifrons* Rolston.

En los Andes peruanos, varias especies de palmas nativas del género *Astrocaryum* constituyen los principales huéspedes de *Lincus* sp., en los cuales se encuentran poblaciones muy altas, aproximadamente 300 especímenes/palma. En Colombia, aunque existen varias especies representativas de este género, en *A. vulgare*, Mart., comúnmente conocida como cumare, no se ha encontrado esta chinche (Couturier y Kahn 1989).

Dado que el género *Lincus* está estrechamente relacionado con la marchitez sorpresiva en Colombia y otros países latinoamericanos, donde ha causado grandes pérdidas económicas, se consideró importante conocer los aspectos de la relación insecto -palma-flagelado, como fundamento para el establecimiento de un sistema integrado de control. El paso inicial, correspondiente al presente estudio,

correspondió a la definición de sistemas de cría para el mantenimiento de colonias del insecto y paralelamente conocer su ciclo de vida.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en las plantaciones Hacienda La Cabaña, en Cumaral (Meta), y Palmar del Llano, en Acacias (Meta), en los lotes con mayor incidencia de la enfermedad, mediante la disección de palmas que presentaban síntomas iniciales, ligeramente avanzados y en algunas ocasiones con síntomas muy avanzados.

Para determinar la distribución geográfica y la asociación de *Lincus* sp. con la marchitez sorpresiva, se estudiaron otros focos en diferentes regiones del país.

La búsqueda del insecto, como punto inicial del estudio, se realizó en la parte interna de las bases peciolares, tanto a lo largo del estipe como en la corona, en los pedúnculos del racimo, dentro de los frutos del racimo y en las raíces.

Cría del vector

Para este fin se trabajó experimentando, tanto en campo como en el laboratorio, con poblaciones de adultos, ninfas y posturas de *L. tumidifrons* colectados en el campo, en palmas con marchitez sorpresiva.

Experimentación en campo

- Una palma de vivero, de 12 meses de edad, se expuso a una población de 22 especímenes, entre adultos y ninfas de *L. tumidifrons*. Esta palma se colocó dentro de una jaula de muselina.
- En dos palmas, de aproximadamente siete años de edad, localizadas en una de las franjas de vegetación de la plantación y protegidas con jaulas de anjeo, se colocaron 40 y 141 especímenes entre adultos y ninfas, respectivamente. Previamente, a estas palmas se les examinaron las raíces

para tener plena seguridad con respecto a la ausencia de *Phytomonas*.

Experimentación en laboratorio

Como cámaras de cría se utilizaron: pedazos de guadua de 10 cm de largo, frascos de vidrio de 40 cm de alto x 15 cm de diámetro, frascos confiteiros de vidrio con capacidad 3.000 cm³ y recipientes plásticos blanco - transparentes de 20 cm de largo x 20 cm de ancho x 15 cm de profundidad y de 15 cm de alto x 20 cm de diámetro. Inicialmente, las cámaras de cría se mantuvieron en condiciones naturales, en la casa de malla o dentro de la franja de vegetación; posteriormente bajo condiciones controladas de temperatura y humedad, con diferentes dietas alimenticias, principalmente naturales (Tabla 1).

Tabla 1. Dietas utilizadas para la cría del *L. tumidifrons* bajo condiciones de laboratorio

Caña de Azúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L.)
Trigo germinado (<i>Triticum</i> sp.)
Partes de palma de aciete (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.)
- Raíces sanas
- Frutos
- Pedazos de raquis
- Parte de hoja
Soluciones de Glucosa al 2%
Soluciones de Multivitamínico
Soluciones de miel con polen
Tusa de maíz (<i>Zea mays</i> L.) desgranada
Remolacha (<i>Beta vulgaris</i> L.)
<i>Renealmia</i> sp. - tallos y frutos
<i>Costus amazonensis</i> - tallos y frutos

Dentro de la cámara de cría se conservó la humedad utilizando motas de algodón humedecidas, cubiertas con gasa o con toallas de papel.

Como complemento a la determinación de las condiciones básicas para la cría, se diseñaron dos ensayos:

A. Influencia de la dieta en la oviposición.

Poblaciones de adultos de *L. tumidifrons* colectados en campo se alimentaron con 4 dietas diferentes: 1- *Renealmia* sp. y *B. vulgaris*; 2- *B. vulgaris*, 3- *Renealmia* sp. y tusa de *Z. mays* y 4- tusa de *Z. mays*. Se consideró el número de insectos a la iniciación y durante el experimento, el período de oviposición y la capacidad de oviposición.

B. Influencia del color de la cámara de cría sobre el desarrollo del ciclo. Las cámaras de vidrio se pintaron externamente con negro, azul oscuro, verde oscuro, rojo y transparente. Los insectos de estas cámaras se alimentaron con *Renealmia* sp. y se les brindó la oportunidad para desarrollar todo su ciclo, desde la iniciación del primer instar ninfal. Se tuvo en cuenta el número inicial y final de especímenes en cada instar, la duración de cada uno de ellos, la emergencia de adultos y la duración del ciclo en cada tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Asociación de *L. tumidifrons* con la marchitez sorpresiva.

En la mayoría de las plantaciones estudiadas en las diferentes regiones palmícolas del país, los focos de la enfermedad se encontraron en lotes

delimitados por caños y franjas de vegetación, generalmente intervenidas por el hombre, aunque en casos excepcionales se encontraron una o dos palmas enfermas en lotes muy alejados de estas condiciones ecológicas.

La disección de 179 palmas de aceite, con síntomas externos de marchitez sorpresiva y con presencia de *P. staheli* en sus raíces y en otras partes como inflorescencias y flechas, y con edades entre 5 y 18 años, mostraron una estrecha relación entre la enfermedad y el insecto *L. tumidifrons*. En el 61,45% de las palmas disectadas (110 palmas) se encontraron 1.699 adultos, 2.822 ninfas de diferentes instares y 226 posturas, entre eclosionadas y sin eclosionar; en el 38,54% (69 palmas) no se observaron especímenes de esta chinche (Tabla 2).

Cría del vector

Experimentación en campo

En la palma, la chinche *L. tumidifrons* se localiza principalmente en la parte interna de las bases peciolares de las hojas 12 a la 33; no obstante lo anterior, se encontró en las bases peciolares viejas a lo largo del estipe; y en palmas menores de 5 años, en las bases peciolares próximas a las raíces y entre las raíces ligeramente enterradas. Posiblemente, esta ubica-

ción en las palmas pequeñas se deba a que la parte aérea de la palma no reúne las condiciones óptimas de temperatura y humedad requeridas por la chinche. Es probable que por esta misma razón no se haya logrado establecer la colonia de *L. tumidifrons* en la palma de vivero, ya que al disectarla a los dos meses y medio de iniciado el ensayo, todos los insectos, tanto adultos como ninfas, habían muerto.

Teniendo en cuenta lo anterior se realizó el ensayo con palmas de siete años de edad. La palma que se expuso a 141 insectos, entre adultos y ninfas, presentó, a los dos meses, síntomas externos avanzados de marchitez sorpresiva: quemazón de los folíolos de las coronas bajas y pudrición de racimos, flechas y raíces. En algunas de las raíces sanas se observaron especímenes de *Phytophthora*. En la palma con 40 insectos, dos años después no ha tenido ninguno.

Respecto al establecimiento de una colonia de *L. tumidifrons* en palma adulta se llegó a la conclusión que esto no es muy práctico, si se tiene en cuenta que para la búsqueda y colección de los insectos es necesario disectar la palma. Por otra parte, los insectos inicialmente establecidos en ella, se alejan y se pierden cuando detectan el avance de la enfermedad. Por esta razón, todos los esfuerzos

Tabla 2. Número de *L. tumidifrons* colectados en palma de aceite con marchitez sorpresiva en algunas zonas palmeras del país, desde agosto de 1989 a abril de 1992.

Palmas disectadas			% palma Con Insectos	Adultos		Ninfas		Posturas		Lugar	
Con Lincus	Sin Lincus	Total Palmas		Total	̄/palma	Total	̄/palma	Total	̄/palma	Plantación	Departamento
95	35	130	73,1	1.564	16,5	2.687	28,3	209	2,2	P. del Llano	Meta
3	3	6	50,0	25	8,3	29	9,7	3	1,0	Montelíbano	Meta
1	2	3	33,3	2	2,0	1	1,0	0	0,0	Palmita	Meta
5	2	7	71,4	87	17,4	88	17,6	0	0,0	Mejorana	Meta
2	1	3	66,7	8	4,0	15	7,5	3	1,5	Oleag. Santana	Meta
1	2	3	33,3	9	9,0	0	0,0	0	0,0	Hda. La cabaña	Meta
1	2	3	33,3	1	1,0	0	0,0	0	0,0	Manuelita	Meta
1	2	3	33,3	2	2,0	0	0,0	1	1,0	Risaralda	Norte de Santander
0	20	20	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	Monterrey	Santander
1	0	1		1		2		0		El Roble	Magdalena
110	69	179		1.699		2.822		226			

para obtener una colonia del insecto se centralizaron en el laboratorio.

Experimentación en el laboratorio

La colonia de *L. tumidifrons* se pudo establecer utilizando como cámaras de cría, frascos confiteros de vidrio con capacidad de 3.000 cm³, recipientes plásticos blancos transparentes de 20 cm de largo x 20 cm de ancho x 15 cm de profundidad y de 15 cm de alto x 20 cm de diámetro, bajo condiciones controladas de laboratorio de T=24 - 26°C durante el día y H.R.=65 - 80%.

Entre las dietas utilizadas, las de mayor aceptación fueron: pedazos de tallos y/o frutos de dos malezas de la familia Zingiberaceae: *Renealmia* sp. y *Costus amazonensis*, y la tusa desgranada de maíz en estado de choclo verde.

En la Tabla 3 se puede observar como en los tratamientos 3 (*Renealmia* sp. y *Z. mays*) y 4 (*Z. mays*) se obtuvo el mayor número de posturas 49 y 25, respectivamente, mientras que en los tratamientos 1 y 2 el número de posturas fue de 11 y 4, respectivamente. Si se considera que el número de posturas fue proporcional al número de insectos utilizados en cada tratamiento, parece que las dietas combinadas presentan un mayor efecto, principalmente en aquellas en que se utilizó *Renealmia* sp. y la tusa de *Z. mays*. Este ensayo se llevó a cabo hasta cuando las poblaciones de insectos murieron.

Respecto a la influencia del color de la cámara en el desarrollo del insecto se pudo determinar que los colores oscuros favorecen positivamente el ciclo de vida. En la cámara de color negro se obtuvieron 8 adultos con una duración total del ciclo de 170,2 días, mientras que en la cámara transparente no fue posible obtener adultos (Tabla 4).

Los datos se corroboran en la Tabla 5, donde se puede apreciar que en las cámaras de recipientes plásticos blan-

Tabla 3. Influencia de la dietas alimenticias naturales en la oviposición de *L. tumidifrons*

Tratamiento	Dieta	No. inicial de adultos	DDIE		Posturas Total	Duración Ensayo
			1a post.	Ult. post		
1	<i>Renealmia</i> + <i>Beta vulgaris</i>	40	67	176	11	245
2	<i>Beta vulgaris</i>	16	7	105	4	153
3	<i>Renealmia</i> +Tusa <i>Zea mays</i>	133	1-5	214	49	300
4	Tusa <i>Zea mays</i>	137	37	183	25	300

DDIE= Días después de haberse iniciado el ensayo

Tabla 4. Influencia del color de la cámara de vidrio en el ciclo de vida de *L. tumidifrons*

Dieta	Color cámara	Población inicial ninfas	Adultos	Duración promedio del ciclo (días)
<i>Renealmia</i>	Transparente	35	0*	
<i>Renealmia</i>	Negro	21	8	170,2
<i>Renealmia</i>	Verde oscuro	35	1	203,0
<i>Renealmia</i>	Azul oscuro	21	2	185,5
<i>Renealmia</i>	Rojo	11	1	189,0
Tusa <i>Zea mays</i>	Verde oscuro	21	1	161,0

* Murieron en el quinto instar

Tabla 5. Duración en días del ciclo de vida de *L. tumidifrons* en recipientes plásticos transparentes

I instar		II instar		III instar		IV instar		V instar
N° ninfas	N° días	N° ninfas	N° días	N° ninfas	N° días	N° ninfas	N° días	N° ninfas
30	7	3	27	1	0	1	32	0
31	8	1	33	1	22	1	34	0
5	9	1	36	1	29	1	36	0
6	10	2	37	3	30	3	44	0
2	17	2	38	1	31	1	47	0
		5	39	4	35	3	48	0
		7	41	1	36	1	50	
		1	43	2	37	1	54	
		1	44	2	38	1	80	
		4	45	1	39	1	83	
		1	46	2	40	1	88	
		3	47	4	41	2	90	
		6	49	1	42	1	99	
		1	51	4	44			
		1	52	1	46			
		11	54	1	47			
		1	58	1	48			
		2	60	1	55			
			62	1	57			
			63					
Máximo	17,00		63,00		57,00		99,00	
Mínimo	7,00		17,00		20,00		32,00	
Promedio	8,06		47,53		38,58		58,83	

co - transparentes ocurre lo mismo que en el testigo del ensayo (cámara de vidrio transparente), en los cuales el tipo de luz presenta un carácter letal para las ninfas que llegan al quinto instar.

Ciclo de Vida

Huevo

Bajo condiciones controladas de laboratorio, el número de huevos por postura osciló entre 3 y 9, con un prome-

dio de 5,7 huevos. Este resultado es similar al observado en campo, donde el número de huevos por postura varió de 5 a 8. El período de incubación tiene un promedio de 7,8 días (Tabla 6).

El huevo tiene la forma de cilindro o de barrilito; están unidos lateralmente entre sí, hasta formar una hilera de 8 a 9 huevos. Las posturas son de color verde claro brillante, verde claro opaco o café verdoso claro; estos colores se hacen ligeramente más oscuros a medida que avanza el desarrollo embrionario (Fig. 2). En la parte superior, el huevo presenta una corona de setas muy finas, dando la apariencia de tapa, la cual se levanta al momento de la eclosión. En los huevos viables, cerca a esta corona, se pueden apreciar dos puntos rojos correspondientes a las manchas oculares del insecto.

Ninfa

El estado ninfal de *L. tumidifrons* tiene cinco instares. Durante el primer instar las ninfas mantienen el color de la postura y después de la eclosión permanecen alrededor de los huevos aproximadamente un día. No necesitan de ningún tipo de alimento para pasar al segundo instar.

Después de cada muda, del segundo al quinto instar, inicialmente la ninfa es aplanada y blanca, y progresivamente cambia a café oscuro; a medida que avanza cada instar toma una forma redondeada, de color café rojizo, resaltando el festoneado café que bordea la parte posterior del abdomen y las tres barras en el dorso del abdomen (Fig. 3). Al analizar la Tabla 7, los ocho insectos obtenidos en condiciones iguales, presentaron una duración promedia por instar de: primero 7,41 días; segundo 22,5 días; tercero 33,0 días; cuarto 33,7 días y el quinto 71,6 días, con un promedio total de 170,2 días.

Adulto

El adulto tiene, en promedio, una longitud de 10 mm y un ancho de 6

Tabla 6. Número de huevos por postura de *L. tumidifrons* bajo condiciones de laboratorio (T=26°C; H.R.=70%)

Número posturas	Número huevos por postura	Período de No. huevos	Incubación No. días
1	9	12	5
2	8	18	6
14	7	64	7
31	6	49	8
21	5	1	9
7	4	6	10
3	3	9	11
		7	12
		6	14
Máximo	9,0		14,0
Mínimo	3,0		5,0
Promedio	5,7		7,81

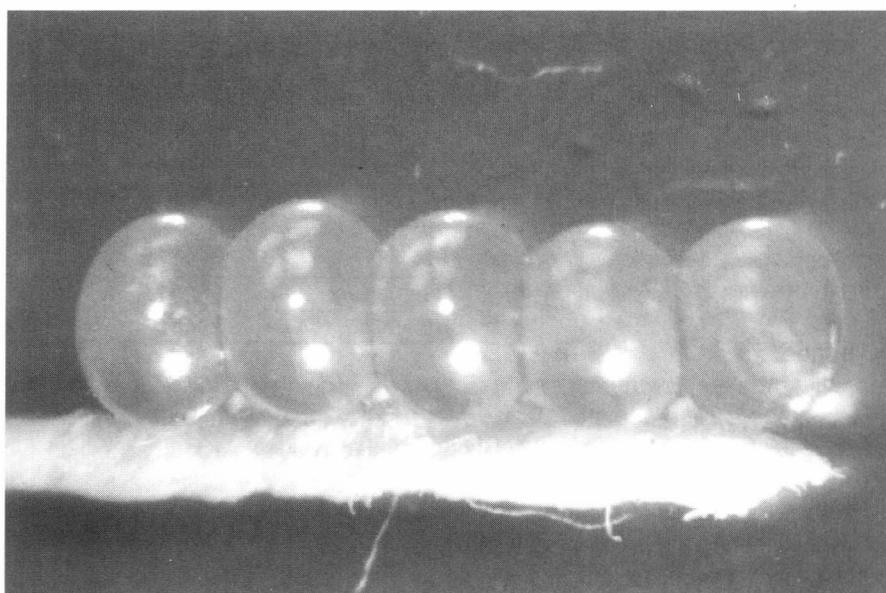


Figura 2. Huevos de *L. tumidifrons*

mm; es de color café oscuro con un festoneado de puntos café claro intercalados con puntos blancos - crema, en el borde posterior del abdomen. Presenta sobre cada hemielitro, en la parte central, un punto amarillo (Fig. 4).

Mortalidad

A nivel de laboratorio, la mortalidad de las ninfas fue del 82,6%, si se considera que el ensayo se inició con 58 ninfas y sólo 8 completaron el ciclo. El paso del primero al segundo instar ocurrió en el 63,7% de las 37 ninfas, del segundo al tercer instar solo en 18

ninfas, el cambio del tercero al cuarto instar fue el más estable ya que sólo se perdió una ninfa, pero del cuarto al quinto instar la población se reduce a 8 ninfas (47,0%).

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio se pueden sacar las siguientes conclusiones:

- El insecto tiene un hábito gregario que le permite convivir en diferentes estados en un mismo habitat, situación que podría considerarse



Figura 3. Ninfa de *L. tumidifrons*

Tabla 7. Duración de los instares ninfales, en días, de ocho especímenes de *L. tumidifrons* obtenidos bajo condiciones de laboratorio

Especimen	1o. instar	2o. instar	3o. instar	4o. instar	5o. instar	Ciclo total
1	7	18	36	28	47	136
2	7	22	30	30	65	154
3	8	22	30	30	67	157
4	7	22	30	33	68	160
5	9	24	39	47	42	161
6	7	24	33	37	91	192
7	7	24	33	39	96	199
8	7	24	33	42	97	203
Máximo	9,00	24,00	39,00	42,00	97,00	203,00
Mínimo	7,00	18,00	30,00	28,00	42,00	136,00
Promedio	7,35	22,5	33,00	35,75	71,6	170,25

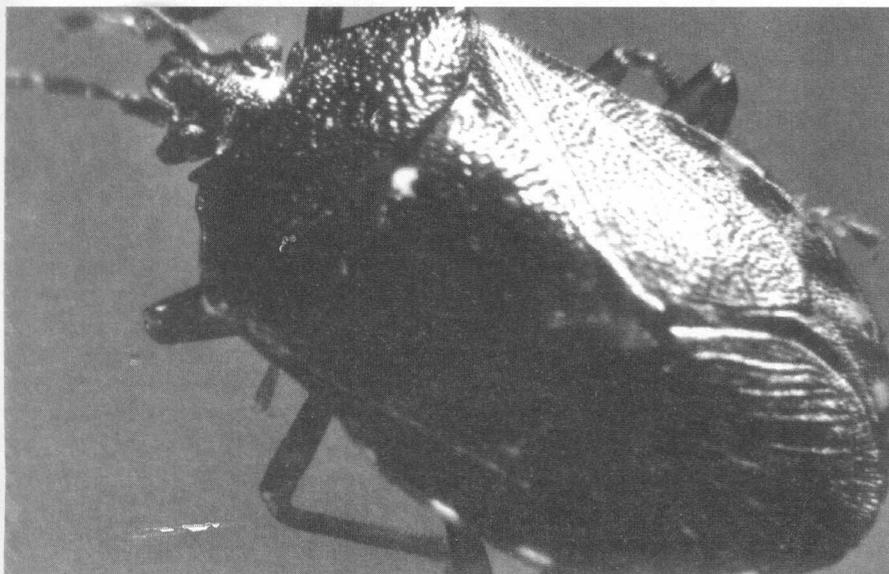


Figura 4. Adulto de *L. tumidifrons*

grave para el caso, como el presente, de insectos vectores que podrían contaminarse más fácilmente.

- Las dietas combinadas de *Renelmia* sp. y *Zea mays* o *Renelmia* y *Beta vulgaris*, ofrecen mejores garantías para la cría del insecto bajo condiciones normales.
- El color oscuro favorece el desarrollo del insecto, como una respuesta natural de sus hábitos, según los cuales prefieren ambientes húmedos protegidos de la luz.

AGRADECIMIENTOS

Mis sinceros agradecimientos:

A los doctores Pedro León Gómez y Michel Dollet por su colaboración y sugerencias para la realización de este trabajo.

Al Doctor Hugo Calvache por su dirección, análisis de la información y corrección del manuscrito.

Al Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux (IRHO) por el apoyo técnico.

A la Comunidad Económica Europea por el apoyo económico para la realización de parte del trabajo.

A las plantaciones: Hacienda La Cabaña y Palmar del Llano por facilitar la infraestructura para el desarrollo de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

COUTURIER, G.; KAHN, F. 1989. Bugs of *Lincusspp.* vectors of marchitez and hartrot (oil palm and coconut disease) on *Astrocaryum spp.*, Amazonian native palms. Principes (Estados Unidos) v. 33 no. 1, p. 19-20.

DE HART, C. 1992. Discurso de Clausura XX Congreso Nacional de cultivadores de palma de aceite. Palmas (Colombia) v. 13 no. 2, p. 11-17.

DESMIER DE CHENON, R. 1984. Recherches sur le queure *Lincus* Stal, Hemiptera: Pentatomidae - Discocephalinae, et son role eventuel dans la transmission de la Marchitez du palmier à huile et du Hart-rot du cocotier. Oleagineux (Francia) v. 39 no. 1, p. 1-6.

- DOLLET, M. 1982. Les maladies des palmiers et cocotiers a protozoaires flagellés intro-phloemiques en Amérique Latine (*Phytomonas* sp. Trypanosomatidae). Oleagineux (Francia) v. 32 no. 1, p. 9-12.
- . 1989. Etude des maladies a trypanosomes des cocotiers et palmiers à huile. Informe IRHO. Documento 2193 FEDEPALMA, Bogotá.
- .; MARTÍNEZ-LÓPEZ, G. 1978. Etude sur l'association des protozoaires flagellés á la Marchitez Sorpresiva du palmier á huile en Amérique du Sud. Oleagineux (Francia) v. 33 no. 5, p. 209-215.
- GENTY, P. 1981. Entomological research on the oil palm in Latin America (1). Oleagineux (Francia) v. 36 no. 12, p. 591-594.
- GRIFFITH, R. 1988. Observaciones sobre anillo rojo y marchitez sorpresiva en palma aceitera en Colombia. Palmas (Colombia) v. 9 no. 2, p. 11-17.
- MARTÍNEZ-LEÓN, G.; MENA, E.; CARDONA, C. 1976. Control de la marchitez sorpresiva de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.). En: Congreso ASCOLFI, 2o., Bogotá, sept. 1-3, 1976. ASCOLFI, Bogotá. p. 32.
- MENA, E.; CARDONA, C.; MARTÍNEZ-LOPEZ, G.; JIMÉNEZ, O.D. 1975. Efecto del uso de insecticidas y control de malezas en la incidencia de la marchitez sorpresiva de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.). Revista Colombiana de Entomología (Colombia) v. 1 no. 1, p. 9-14.
- PARTHASARATHY, M.V.; VANSLOBBE, W.G. 1978. Hartrot or fatal wilt palm. I. Coconut (*Cocos nucifera*). Principes (Estados Unidos) v. 22 no. 1, p. 3-14.
- REYES, A. 1985. Antecedentes, estado actual y algunas consideraciones sobre marchitez sorpresiva de la palma africana en Colombia. Palmas (Colombia) v. 6 no. 3, p. 71-79.
- SÁNCHEZ, A. 1976. Nuevas observaciones sobre marchitez progresiva y marchitez sorpresiva de la palma africana en la zona del Meta. División Oleaginosas, IFA, Bogotá. 11p.
- URUETA, E. 1985. La marchitez sorpresiva de la palma africana. Palmas (Colombia) v. 6 no. 3, p. 67-71.
- . 1987. Investigaciones sobre marchitez sorpresiva en los Llanos Orientales. Informe a FEDEPALMA.
- ZENNER DE POLANÍA, I.; LÓPEZ, A. 1977. Apuntes sobre la biología y hábitos del *Haplaxius pallidus* transmisor de la marchitez sorpresiva en palma africana. Revista Colombiana de Entomología (Colombia) v. 3 nos. 1-2, p. 49-62.

RECOMENDACIONES PARA LOS AUTORES

La Revista Colombiana de Entomología es el órgano oficial de divulgación científica de la Sociedad Colombiana de Entomología -SOCOLEN- y como tal publica de preferencia artículos científicos, inéditos, basados en resultados de investigaciones en el campo de la entomología o ciencias afines. Ocasionalmente también publica artículos técnicos de diferente naturaleza que no presenten prueba de hipótesis como por ejemplo descripción de métodos o revisiones de literatura pero que sean relevantes en el campo de la ciencia entomológica.

Los artículos en original y cuatro (4) copias deben ser enviados a la secretaría de SOCOLEN, escritos a máquina o impresora de computador en letra de alta calidad, a doble espacio, en papel tamaño carta y con márgenes de tres (3) cms. El trabajo puede tener una extensión máxima de 25 páginas, incluidas figuras, tablas y bibliografía. El lenguaje utilizado debe ser claro y preciso, y las tablas y figuras seleccionadas deben ser bien elaboradas, de alta calidad y aportar información valiosa e ilustrativa para el artículo y no ser redundantes con la información dada en el texto o entre ellas mismas.

La estructura del artículo debe tener en cuenta los pasos del método científico, así:

Título: Debe ser corto pero ilustrativo, sin exceder de 15 palabras; si ello no es posible se deberá incluir un subtítulo.

Autores: En el crédito de los autores se debe incluir los nombres completos. Los autores deben ir en orden de acuerdo con la importancia de contribución a la investigación o en la preparación del artículo y no en orden alfabético o de rango. En nota de pie de página se indicarán respectivamente los títulos académicos, la institución a la cual pertenecen y la dirección postal completa.

Resumen: Debe ser conciso y contener información sobre: la justificación, objetivos, metodología y resultados concretos de la investigación. Además debe

indicar los límites de la validez e implicaciones de los resultados. No debe exceder de 250 palabras escritas en un solo párrafo.

Summary: Debe ser una traducción fiel del Resumen al idioma inglés

Palabras claves adicionales: Al final del Resumen y del Summary se debe colocar una lista de palabras del artículo, diferentes de las incluidas en el título, que faciliten el uso de los sistemas modernos de catalogación y búsqueda de información por computador.

Estructura: Cada artículo debe constar fundamentalmente de los siguientes capítulos: Introducción, no debe exceder de 350 palabras y puede incluir la Revisión de literatura, Materiales y Métodos; Resultados y Discusión (La Discusión puede ir como capítulo aparte); Conclusiones y Bibliografía.

Tablas: Se deben presentar en páginas separadas e identificadas con números arábigos continuos. El título debe ir en la parte superior de la tabla. Notas de pie de página solo se deben utilizar en las tablas.

Figuras: Fotografías, dibujos, gráficos y mapas deben presentarse en páginas separadas e identificadas con números arábigos con su correspondiente leyenda en la parte inferior. Se aceptan figuras elaboradas en computador cuando estas sean impresas con características de alta calidad, preferiblemente en impresora láser. Las fotografías se aceptarán en cualquier formato y tamaño, preferiblemente en original. Cada ilustración debe venir acompañada de su crédito respectivo. La información que se presenta en las gráficas no debe ser repetición de la presentada en las tablas. Sólo para efectos de impresión de la revista, se recomienda enviar en tablas anexas los datos representados en las figuras.

Citas bibliográficas: Solamente se aceptan referencias publicadas, citando el apellido del autor seguido del año de publicación entre paréntesis. Ej.: Rodríguez (1993). Cuando los autores sean

tres o más se debe usar la expresión latina *et al.* Ej.: López et al. (1993). Si la cita se coloca al final se usa autor y fecha entre paréntesis. Ej.: (Rodríguez 1993; López et al. 1993).

Bibliografía: Se debe presentar en orden alfabético. La referencia de un artículo en una publicación periódica debe contener los siguientes elementos: Autor(es) -en mayúsculas y separados por punto y coma-. Año de publicación. Título del artículo. Nombre completo de la revista y país de origen entre paréntesis siempre y cuando no esté incluido en el título, v (volumen) no. (número), p. (páginas). Ej.: POSADA F., F. J. 1992. Ciclo de vida, consumo foliar y daño en frutos de melón por *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidóptera: Piralidae). Revista Colombiana de Entomología v. 18 no. 1, p. 26-31. La referencia de un libro debe incluir: Autor(es) en mayúsculas y separados por punto y coma. Año de publicación. Título. Editorial o entidad responsable de la publicación, lugar de impresión. Páginas. Ej.: GOMEZ ARISTIZABAL, A.; RIVERA-POSADA, H. 1987. Descripción de malezas en plantaciones de café. CENICAFE, Chinchiná (Colombia). 481p.

Estilo: Se debe escribir en un estilo impersonal, utilizando abreviaturas de uso común y el sistema métrico decimal o el internacional.

Artículos Técnicos: se aceptan para ser publicados en la revista sólo cuando su importancia o relevancia en la ciencia de la Entomología lo ameriten. Deben seguir en términos generales las normas aquí establecidas para los artículos científicos con las modificaciones apropiadas para este tipo de trabajos.

Separatas: Por cada uno de los artículos publicados se entregarán 15 separatas en forma gratuita al autor. Copias adicionales pueden ser ordenadas a los precios vigentes al momento de impresión para lo cual el autor deberá hacerlo saber cuando reciba la confirmación de aceptación de su artículo para la publicación.