

## ARTÍCULO ORIGINAL

### *Paecilomyces* sp. COMO ALTERNATIVA DE CONTROL DE LA COCHINILLA ACANALADA (*Crypticerya multicitricata* Cockerell) EN SAN ANDRÉS, COLOMBIA

Ivonne Angélica Quiroga Ramos<sup>1</sup>, María Fernanda Maya<sup>2</sup>, Adriana Santos Martínez<sup>3</sup>, Lilliana María Hoyos Carvajal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá, <sup>2</sup>Jardín Botánico de San Andrés, Universidad Nacional de Colombia, <sup>3</sup>Universidad Nacional de Colombia - Sede Caribe.

#### Introducción

La cochinilla acanalada (*Crypticerya multicitricata*) fue descrita recientemente como nueva especie para Colombia por Kondo y Unruh (2009), esta especie es polífaga y ataca especies cultivables como mango y guanábana, las cuales están presentes en la isla, también se han observado como hospederos las especies de Palma de coco, cayena, guayaba, jobo, etc. Para el control de la cochinilla acanalada aun no existen reportes verídicos en la literatura, por lo tanto se tienen como base el control realizado a otros tipos de cochinillas, tanto en el país como en otros países del Caribe. Concretamente el reporte del uso de microorganismos patogénicos para el control de cochinillas es escaso, citando hongos como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Entomophthora virulenta*, para el manejo biológico de las cochinillas *Dysmicoccus brevipes* en piña orgánica (Vásquez 2000; Gratereaux 2009).

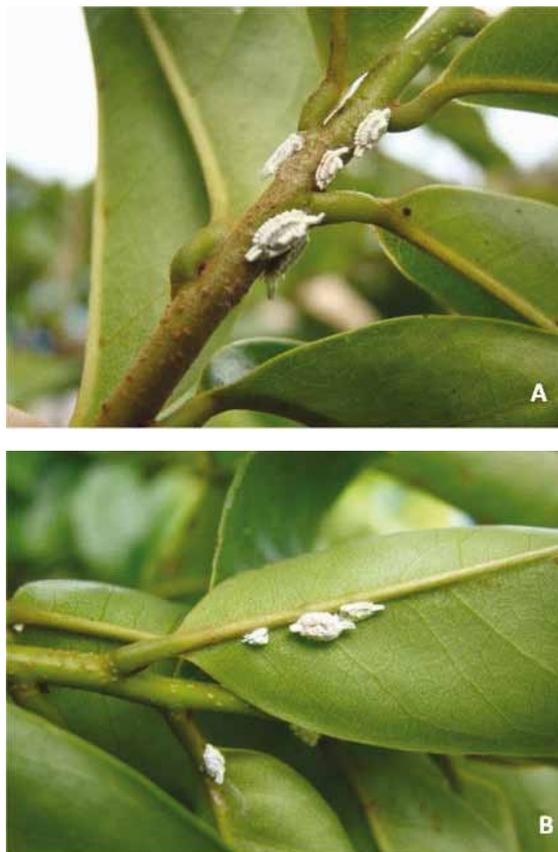
En el contexto de San Andrés se presenta una amplia distribución de la cochinilla acanalada con una alta severidad, con más de 20 hospederos de plantas presentes en la Isla, entre los cuales están cultivos empleados para el sostenimiento alimenticio de los isleños. En el último año, la población de este insecto ha aumentado su dispersión en un 967% en San Andrés (The Archipelago Press 2011), así mismo, el ICA reporta para el año

2010 un total de 180 hectáreas afectadas por estos insectos, las cuales se incrementaron de forma exponencial en el 2011 alcanzando 1740 hectáreas con plantas atacadas por dos de las especies más conocidas (*Maconellicoccus hirsutus* y *Cyrtocerya multicastrices*). Los sectores más afectados de la Isla son El Cove y Bighth, lugares donde se concentra la producción de frutales de consumo local.

Por tanto las acciones que se deben realizar para ejercer un adecuado control del problema fitosanitario de la cochinilla, deben estar enfocadas y ligadas a las condiciones locales, teniendo en cuenta que según la UNESCO San Andrés es declarado como Reserva de Biosfera y por la tanto debe conciliarse la conservación de la diversidad biológica.

En el sector de Lions Hill en San Andrés isla se identificaron especímenes de *Mangifera indica* con presencia de cochinillas acanaladas en un estado de momificación (Figura 1), se tomaron muestras de ramas infestadas por cochinillas con esta característica y fueron llevadas al laboratorio de microscopia del Jardín Botánico de San Andrés, allí se analizaron y se determinó el agente causal como un hongo, debido a sus características morfológicas. Su identificación se realizó en la Clínica de Plantas de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, indicando que el agente que coloniza las cochinillas es un hongo del género *Paecilomyces* sp.

Este trabajo se realizó con el fin de evaluar la efectividad de este hongo como posible agente de biocontrol sobre *C. multicastrices* en la isla de San Andrés (Colombia).



**Figura 1. A, individuos de *C. multicastrices* en condiciones sanas; B, *C. multicastrices* infectadas con *Paecilomyces* sp. evidenciando un estado de momificación.**

## Materiales y métodos

**Aislamientos de *Paecilomyces* sp.** Se retiraron los insectos infectados con el hongo de las hojas de *M. indica* y se realizó un proceso de desinfección superficial con una serie de lavados con etanol al 80% por 1 minuto, tres lavados con agua destilada estéril, lavado con hipoclorito de sodio al 2% por 1 minuto, y finalmente tres lavados con agua destilada estéril, se dejaron secar las cochinillas, y se sembraron en cajas Petri con PDA (Papa Dextrosa Agar) adicionando Cloranfenicol a 5 ppm para

evitar la contaminación del medio con bacterias. Aproximadamente a los 3 días después de la siembra se registró crecimiento del micelio y a los 8 días se registró crecimiento de estructuras reproductivas (esporulación)

**Preparación del aislamiento para inoculación:** Para la preparación del hongo para su posterior aplicación en las pruebas de patogenicidad se emplearon por dos métodos, I) *aspersión del hongo*, para estos se tomaron secciones de agar con micelio o estructuras del hongo de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> y se disolvieron en 250 ml de agua destilada estéril ajustando una concentración de 1 x 10<sup>8</sup> conidias/ml y II) *Maceración*, se colectaron cochinillas infectadas con el hongo y con un mortero previamente esterilizado se prensaron hasta conseguir una consistencia harinosa, para posteriormente ser aplicadas con un pincel sobre las cochinillas sanas.

**Pruebas de patogenicidad:** Para confirmar la patogenicidad de *Paecilomyces* sp. sobre la cochinilla acanalada, se emplearon plantas de *Codiaeum variegatum* y *Cassia fistula* con presencia del insecto, y en vivero se inocularon 4 plantas con dos réplicas para cada especie. Se asperjaron las ramas infestadas con un atomizador de jardinería y luego se cubrieron con una bolsa plástica para evitar el contacto con el viento o la lluvia (Figura 2). Para el caso de maceración, se tomaron ramas infestadas de cochinillas y con un pincel se tomó un poco del macerado y se aplicó sobre la cochinilla, igualmente se cubrieron con bolsas plásticas transparentes (Figura 3). Diariamente se suministró riego a las ramas embolsadas para evitar su desecación y posterior abscisión.

**Análisis en microscopía electrónica de barrido (MEB) de *Paecilomyces* sobre *C. multicastrices*:** Adicionalmente para corroborar la patogenicidad de *Paecilomyces* sp. sobre *C. multicastrices*, se tomaron muestras de cochinillas infectadas con el hongo y se procesaron las muestras en el CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) de Palmira, sumergiendo las cochinillas afectadas por el hongo en glutaraldehído al 2,5 % Merck® por un periodo de 2 horas y posteriormente se hizo post-fijación con Tetraóxido de Osmio Merck® durante 1 hora. Luego se realizó la deshidratación de la muestra por medio de diluciones seriadas de 15 minutos cada una en alcohol etílico al 25, 50, 70, 90 y 100%, en este último se hicieron tres pases. Una vez deshidratados se llevaron a secado a punto crítico por 2 horas y finalmente se cubrieron con aleación oro/paladio por 30 minutos, luego se analizaron mediante MEB en la Universidad de los Andes, Bogotá.

## RESULTADOS

Utilizando el método de aspersión se encontró que *Paecilomyces* sp. tiene la capacidad para infectar las cochinillas hasta el punto de causar su muerte. Se encontró que el hongo infecta el 80% de los individuos en las dos especies evaluadas causando su muerte. Se observaron los primeros síntomas a partir de los 3 días posteriores a la inoculación (dpi), sobre el cuerpo de la cochinilla se resalta la colonización del hongo con crecimiento del micelio (Figura 4). A partir de los 7 dpi el crecimiento micelial es más notorio, pudiéndose notar hifas que emergen de la cochinilla, posteriormente a los 14 dpi el micelio se torna de color lila pálido lo que indica



**Figura 2.** A, Aislamiento de *Paecilomyces* sp crecido en PDA; B, Aspersión del inóculo a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidias/ml; C, Aspersión del hongo en plantas de *Codiaeum variegatum*.



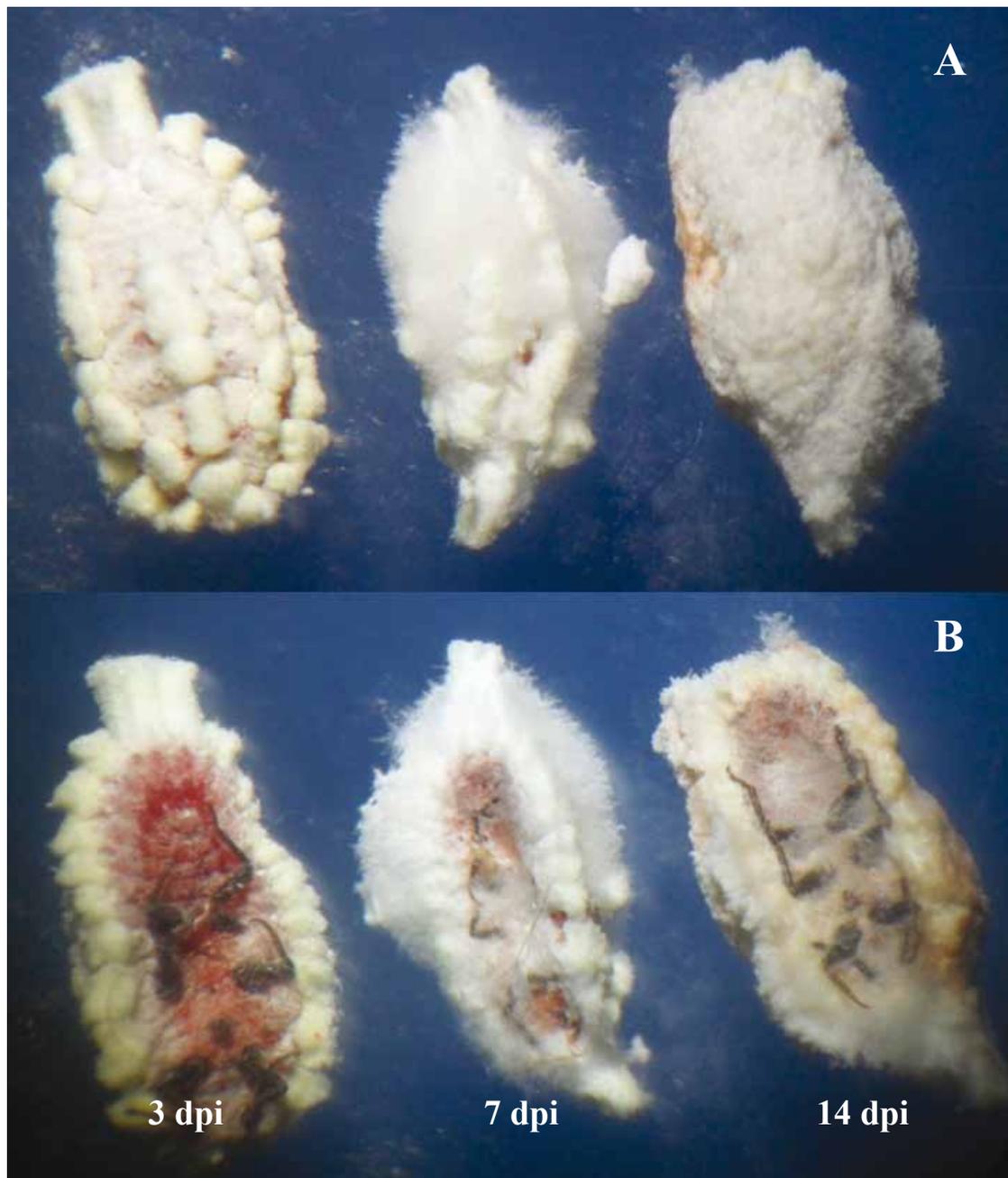
**Figura 3.** A, Recolecta de cochinillas infectadas y maceración lista para aplicar; B, Aplicación con pincel en campo en plantas de *Cassia fistula*; C, embolsado de la rama inoculada.

que el hongo está en etapa reproductiva, es decir, se están produciendo conidias. En la figura 4B, se muestra la vista inferior de las cochinillas infectadas por el hongo a los 14 dpi, los insectos están completamente secos, semejante a la momificación observada por primera vez en campo en especies de *M. indica*.

Por otro lado, utilizando el método de aplicación del macerado de cochinilla infectada con pincel, se obtuvo que el

hongo es capaz de colonizar al insecto hasta causar el 30% de mortalidad de individuos, en las dos especies evaluadas. Se observó que a partir de los 12 dpi se presentan síntomas visibles (aparición de micelio), a los 19 dpi se encuentra en estado de momificación (figura 5B), tardando 5 días adicionales comparado con aspersión. Esto principalmente se debe a que al ser aplicado con agua en la aspersión, permite que las esporas del hongo puedan imbibir con mayor

facilidad sin esperar una fuente de agua externa para posteriormente germinar y colonizar al insecto.



**Figura 4.** A, Evolución del proceso de infección de *Paecilomyces* sp. sobre *C. multicastrices*, vista superior. B, Proceso de evolución de la infección con *Paecilomyces* sp. en vista inferior de las cochinillas.



**Figura 5.** A, Cochinilla en vista abdominal infectada con *Paecilomyces* sp. a los 12 dpi; B, estado de momificación de la cochinilla a los 19 dpi.

En otra fase de campo se realizaron aplicaciones en seis especies vegetales, para reproducir síntomas en los insectos, aplicando por aspersión una concentración de  $10^6$  conidias/ml. Se encontró que en todas las especies vegetales se presenta el proceso de infección de las cochinillas, caracterizado por el desarrollo de micelio sobre la superficie del insecto; se encontró un porcentaje de infección de *Paecilomyces* sp del 88.1% (Tabla 1). La especie con mayor porcentaje de infección fue el tamarindo *Tamarindus indica* (100%) y la de menor porcentaje fue *Cassia fistula* con un 82.6%.

**Tabla 1.** Porcentaje de infección de *Paecilomyces* sp. en cochinillas presentes en varias especies vegetales

Especie	Número de cochinillas*	Número de cochinillas infectadas**	Porcentaje de infección (%)
<i>Cassia fistula</i>	23	18	82.6
<i>Citrus sinensis</i>	46	27	69.6
<i>Pisidium guajaba</i>	32	29	93.8
<i>Tamarindus indica</i>	28	28	100
<i>Anona muricata</i>	19	17	89.5
<i>Coccus nucifera</i>	30	27	93.3
		Promedio	88.1

\*Número de cochinillas presentes en una rama evaluada (aplicación de *Paecilomyces* sp.)

\*\*Tomadas como cochinillas que presente a la vista crecimiento micelial de *Paecilomyces* sp.

Mediante MEB se encontró que insectos sanos presentan una cutícula cerosa normal con evidencia de setas curvadas (figuras 6A y 6C) que le dan la apariencia de una capa algodonosa blanquecina (figura 6D). Cuando los insectos se encuentran infectados por el hongo se observa esta capa algodonosa, siendo evidente el crecimiento de micelio y aparición de estructuras reproductivas del hongo sobre la cutícula, identificando por este medio que dichas estructuras corresponden a *Paecilomyces* sp. (figuras 6E y 6F). En estados avanzados de infección, el hongo coloniza completamente la cochinilla, y sobre ella se observan estructuras características de *Paecilomyces* sp. (Figura 6G), en esta fase al hacer presión sobre el insecto este se desintegra, lo que se debe a que el hongo tiene la capacidad de realizar aperturas en la cutícula del insecto, formando grietas y penetrando con el micelio y las esporas el interior del mismo (figura 6H). Cada cochinilla afectada por *Paecilomyces* sp. representa una fuente alta de esporas para la diseminación y colonización de otros insectos, lo que significa que después de una primera aplicación de *Paecilomyces* sp. para el manejo de esta plaga, el hongo puede ser dispersado de manera natural por fuentes como viento o agua.

### CONCLUSIONES

Se identificó a *Paecilomyces* sp. como agente de control natural de *C. multicastrices* a partir de las pruebas de patogenicidad en diferentes especies, registrando en promedio que a los 3 dpi la aparición de los primeros síntomas en los insectos y los 14 dpi como la etapa de esporulación del hongo y se obtuvo en promedio un porcentaje de infección

del 88.1% de *Paecilomyces* sp. sobre la cochinilla acanalada constituyéndose este en el primer reporte de uso de microorganismos para el control de cochinillas en la Isla de San Andrés.

### AGRADECIMIENTOS

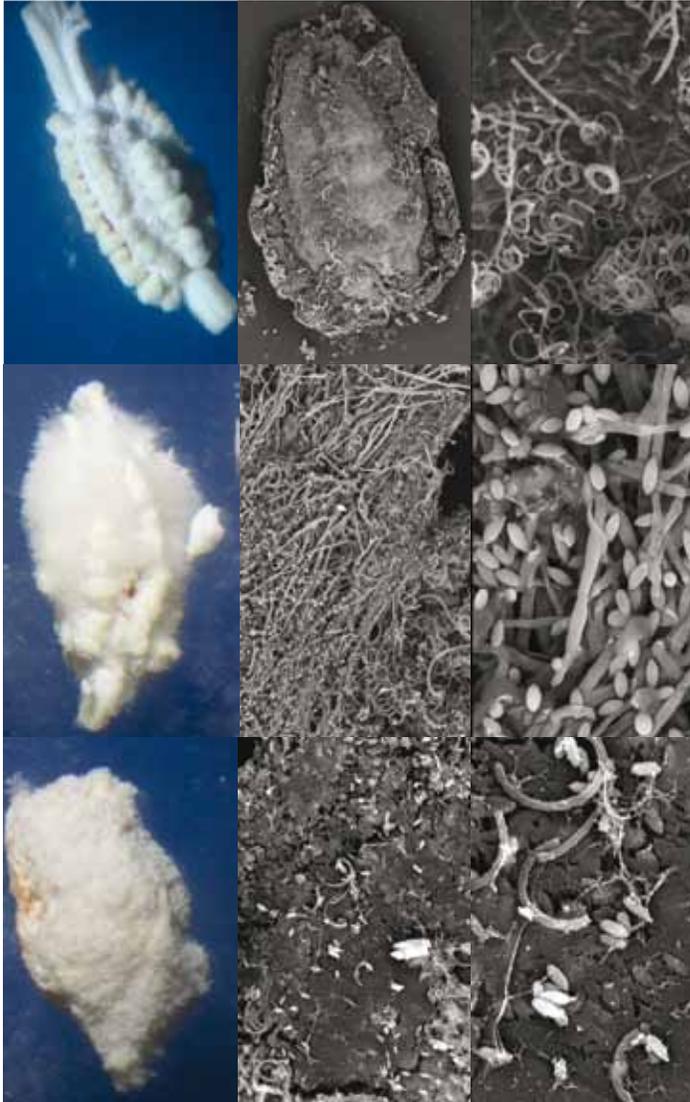
Al Jardín Botánico de San Andrés por facilitar las instalaciones del laboratorio de microscopía y del campus para realizar la pasantía, a la clínica de plantas por la financiación de análisis, y a los agricultores en San Andrés por abrir las puertas de sus fincas y permitir el montaje de los ensayos, y Cristian Olaya en el CIAT por su colaboración en el procesamiento de las muestras.

### BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Gratereaux W. 2009. Potencial del uso de hongos entomopatógenos para el control de cochinilla (*Dysmicoccus brevipes*) en producción orgánica de piña (*Ananas comosus*). Tesis de posgrados. CIAT. Costa Rica. 81 p.

ICA. 2010. Boletín epidemiológico: Situación actual de la cochinilla rosada del hibisco Pink Mealybug (*Maconellicoccus hirsutus*) (Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae) en Colombia. 10 p.

Kondo T, Unruh C. 2009. A new species of *Crypticerya* Cockerell (Hemiptera: Monophlebidae) from Colombia, with a key to species of the Tribe Iceryini found in South America. Neotropical Entomology 38 (1): 92-100.



**Figura 6.** A, *C. multicatrices* en condiciones normales; B, cutícula de *C. multicatrices* sin infección a 35X; C, detalle de las setas de la cutícula a 1000X; D, *C. multicatrices* a los 7 dpi; E, crecimiento de micelio de *Paecilomyces* sobre la cutícula del insecto a 500X; F, micelio y esporas de *Paecilomyces sp* sobre la cutícula a 3000X; G, *C. multicatrices* a los 14 dpi; H, cutícula del insecto con grietas causadas por la colonización de *Paecilomyces* a 1000X; I, detalle de la colonización sobre la cutícula del insecto a 3000X.

The Archipiélago Press. 2011. Disponible en: [http://thearchipelagopress.com.co/index.php?option=com\\_content&view=article&id=478:la-cochinilla-un-chinche-que-invade-al-archipelago&catid=6:medio-ambiente&Itemid=7](http://thearchipelagopress.com.co/index.php?option=com_content&view=article&id=478:la-cochinilla-un-chinche-que-invade-al-archipelago&catid=6:medio-ambiente&Itemid=7).

Vásquez O. 2000. Manejo de cochinilla (*Dysmicoccus brevipes*) en el cultivo de piña orgánica en la zona del lago de Yojoa, Honduras. Tesis Ingeniero Agrónomo. Zamorano,

