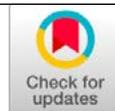


# CONTROL BIOLÓGICO DE COCHINILLAS DE LAS RAÍCES DEL CAFÉ CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Carmenza Esther Góngora Botero \*, Zulma Nancy Gil Palacios \*

Góngora, C. E., & Gil-Palacio, Z. (2020). Control biológico de cochinillas de las raíces del café con hongos entomopatógenos. *Revista Cenicafé*, 71(2), 53-65. <https://doi.org/10.38141/10778/71204>



Las cochinillas de las raíces del café son una plaga limitante en la caficultura colombiana y *Puto barberi* (Cockerell, 1895) (Hemiptera: Putoidae) es la especie que prevalece. Con el objetivo de proponer una estrategia para el control de esta plaga, se evaluaron en el laboratorio las cepas de *Metarhizium anisopliae* Ma 9236 y *M. robertsii* a concentraciones de  $1 \times 10^7$  conidias/mL, con mortalidades entre 80% y 84% sobre *P. barberi*. También se evaluaron en plántulas de café infestadas con la plaga en tres ensayos. En el primero se emplearon plantas de 4 a 6 meses de edad, infestadas con hembras oviplenas de *P. barberi*, tratadas con  $50 \text{ cm}^3$  de: 1. *M. anisopliae*, 2. *M. robertsii*, ambos a  $2 \times 10^{10}$  conidias/L, y 3. agua como control. Con el agua, el porcentaje de infestación fue de 100% y se encontraron 25 cochinillas por planta. La aplicación de *M. anisopliae* disminuyó en 10% la infestación de la cochinilla y redujo la población en 55%. *M. robertsii* disminuyó la infestación en 40% y la población del insecto en 86%. En el ensayo 2 se comparó *M. robertsii* vs. agua con resultados similares al ensayo 1 y con una protección del 50% de las plantas. En el ensayo 3, los tratamientos correspondieron a: 1. *M. robertsii* ( $2 \times 10^{10}$  conidias/L), 2. azadiractina 6% polvo soluble en agua (3 g/L), 3. clorpirifos 75% WG (3 g/L) y 4. Agua. En el tratamiento control agua el porcentaje de infestación fue del 65%, en los demás tratamientos las infestaciones estuvieron entre 11% y 22% difiriendo del control, pero siendo estadísticamente similares entre sí. *M. robertsii* es un candidato para ser evaluado en almacígos comerciales y campo.

**Palabras Claves:** *Puto barberi*, *Metarhizium robertsii*, *Metarhizium anisopliae*, azadiractina.

## BIOLOGICAL CONTROL OF COFFEE ROOT MEALYBUGS WITH ENTOMOPATHOGENIC FUNGI

Coffee root mealybugs are a limiting pest in Colombian coffee farming; *Puto barberi* (Cockerell, 1895) (Hemiptera: Putoidae) is the prevailing species. In order to propose a strategy for the control of this pest, strains of *Metarhizium anisopliae* Ma 9236 and *M. robertsii* were evaluated under laboratory conditions at concentrations of  $1 \times 10^7$  conidia/mL; mortalities between 80% and 84% on *P. barberi* were found. They were also evaluated on coffee seedlings infested with the pest in three different trials. In the first one, 4 to 6-month-old plants infested with oviplen *P. barberi* females treated with  $50 \text{ cm}^3$  of: 1. *M. anisopliae*, 2. *M. robertsii* both at  $2 \times 10^{10}$  conidia/L and 3. Water as control. With the water treatment, the infestation percentage was 100% and 25 mealybugs were found per plant. The application of *M. anisopliae* decreased the mealybugs infestation by 10% and reduced the population by 55%. *M. robertsii* decreased the infestation by 40% and the insect population by 86%. In trial 2, *M. robertsii* vs. Water showed results similar to those obtained in trial 1 and 50% plant protection was achieved. In trial 3, the treatments corresponded to: 1. *M. robertsii* ( $2 \times 10^{10}$  conidia/L). 2. Azadirachtin 6% water soluble powder (3g/L). 3. Chlorpyrifos 75% WG (3g/L) and 4. Water. In the water control treatment the infestation percentage was 65%, in the other treatments the infestations were between 11 and 22%, which differed from the control, but were statistically similar to each other. *M. robertsii* is a good candidate to be evaluated under commercial and field seedling conditions

**Keywords:** *Puto barberi*, *Metarhizium robertsii*, *Metarhizium anisopliae*, azadirachtin.

\* Investigador Científico III (<https://orcid.org/0000-0002-3633-1077>) e Investigador Científico II (<https://orcid.org/0000-0001-7013-1231>), respectivamente. Disciplina de Entomologia, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé.



En Colombia, varias especies de insectos escama o cochinillas (Hemiptera: Coccoomorpha) de las raíces ocasionan pérdida de árboles durante las siembras de nuevos cafetales, limitando la producción en varias regiones de la geografía nacional (Caballero et al., 2019).

Las cochinillas de las raíces del café son habitantes naturales del suelo, siempre han estado en poblaciones constantes, alimentándose en varias especies de plantas y actualmente son consideradas como una plaga endémica; sin embargo, cuando son dispersadas y se presentan condiciones favorables de clima en el suelo, pueden convertirse en plagas del café, afectando su producción. Se localizan en las raíces de las plantas de café, tanto en almácigos como en plantaciones establecidas. En las raíces, se alimentan de la savia de las plantas y causan necrosamiento y pérdida del sistema radicular. Las lesiones pueden permitir la entrada de fitopatógenos habitantes naturales del suelo, como es el caso de *Ceratocystis fimbriata* Hell & Halst. Los síntomas a nivel foliar, tanto en plantas de almácigo como en plantaciones establecidas, se caracterizan por el amarillamiento de las hojas, acompañado por necrosamiento y pérdida de estas. Estos síntomas pueden confundirse con daños ocasionados por llagas radicales, llaga macana, nematodos, deficiencias nutricionales o deformación en el sistema de raíces (Villegas et al., 2008; Villegas et al., 2009).

En los últimos años, en el país se ha incrementado la ocurrencia de las poblaciones de cochinillas de las raíces del café de diferentes especies, siendo *Puto barberi* Cockerell (Hemiptera: Putoidae), la especie más abundante y que prevalece. Esta especie tiene una distribución aleatoria en los lotes infestados (Gil Palacio et al., 2015). Se han registrado otras especies de Coccoomorpha como *Dysmicoccus texensis* (Tinsley, 1900),

*Neochavesia caldasiae* (Balachowsky, 1957), *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller, 1996 y *Pseudococcus elisae* Borchsenius, 1947; estas se distribuyen en focos y los síntomas más característicos son clorosis y marchitamiento (Benavides et al., 2013).

Las recomendaciones de manejo de las cochinillas están orientadas a evitar la infestación en la etapa de almácigo y controlarlas en el primer año de establecimiento en el campo, de tal manera que se reduzca la fuente de dispersión de la plaga y se proteja y fortalezca el sistema de raíces de la nueva plantación durante la fase de formación (Gil Palacio et al., 2015). El material vegetal usado para las resiembras y durante las renovaciones de los cafetales, puede ocasionar la dispersión de la plaga si no se toman medidas preventivas (Benavides et al., 2013).

No existen en el mercado alternativas de tipo biológico para el control de esta plaga. Por lo que la base del control del insecto son los insecticidas químicos, acarreado riesgos para la salud y la sostenibilidad del ambiente; sin embargo, la literatura reporta que existen en la naturaleza hongos entomopatógenos controladores de plagas de las raíces. *Metarhizium robertsii* J.F. Bisch., Rehner & Humber (Clavicipitaceae) (Sasan & Bidochka, 2012) (Bischoff et al., 2009) también conocida como *Metarhizium robertsii* (Bischoff et al., 2009) (ATCC® MYA-3093™) (<https://www.atcc.org/en/Products/All/MYA-3093.aspx>) se reporta como un patógeno de insectos que muestra un amplio rango de acción afectando y controlando una gran diversidad de insectos. Este hongo ha sido producido y aplicado para el control de diferentes plagas como coleópteros: *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae) (Espinel et al., 2018), *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae)

(Moorhouse et al., 1993) y el escarabajo de la papa *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Coleoptera: Chrysomelidae) (Tyurin et al., 2016) al igual que dípteros como es el caso de mosquitos *Aedes* transmisores de enfermedades (Belevich et al., 2018).

El hongo infecta insectos produciendo apresorios que penetran su cutícula y luego colonizan el hemocele. Adicionalmente, se ha evidenciado que también puede colonizar las raíces de la planta (Hu & St Leger, 2002) (Liao et al., 2014) y actúa al mismo tiempo como biofertilizante estimulando el crecimiento de la planta, por lo que se considera que tiene múltiples roles. Además, el hongo es también un prolífico productor de diversos metabolitos secundarios con actividad contra insectos, hongos, bacterias por lo que se considera en general un bioplaguicida.

Una gran variedad de microorganismos habitan en la rizosfera usando los diversos productos de la fotosíntesis de las plantas, y en devolución, algunos microorganismos aceleran el crecimiento y la salud de las plantas a través de varios mecanismos, incluyendo fitoestimulación, biofertilización, biorremediación y control biológico (Sasan & Bidochka, 2012). Sasan y Bidochka (2012), encontraron que *M. robertsii* no se distribuye al azar en los suelos, sino que, al ser inoculado en este, preferentemente se asocia con la rizosfera de las plantas. Las raíces de las plantas tratadas crecen más rápido y la densidad del vello de la raíz aumentó en comparación con las plantas control incrementando la proliferación de los pelos radiculares. Adicionalmente, se ha observado colonización endofítica de las células corticales dentro de las raíces. Estos resultados sugieren que *M. robertsii* no sólo es rizosfera competente sino también muestra una beneficiosa asociación endofítica con las raíces de la planta asociadas (Ahmad et al., 2020).

Considerando el problema causado por las cochinillas de la raíz en café y la interacción que *M. robertsii* puede desarrollar con las raíces de la planta, defendiéndolas contra esta plaga, en este trabajo se propuso determinar la condición patogénica del hongo contra las cochinillas, y evaluar el efecto de la aplicación de dos cepas de *Metarhizium*: *M. anisopliae* y *M. robertsii* de forma curativa; pos establecimiento de las cochinillas en las raíces de la planta del café, como estrategias de control de la plaga. Adicionalmente, se comparó la eficacia de las aplicaciones de los hongos con las aplicaciones de un insecticida de síntesis química y un producto botánico a base de azadiractina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Mantenimiento de las cochinillas en el laboratorio

Se estandarizó una metodología para el mantenimiento de *Puto barberi* en raíces de *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn. (Talinaceae) en condiciones de laboratorio. Se tomaron raíces de *T. paniculatum*, se cortaron en trozos y se evaluaron dos métodos de desinfección de estas:

Lavado con agua y jabón, inmersión por 5 min en hipoclorito de sodio comercial diluido al 50% y lavado con agua.

**Lavado con agua y jabón.** Para cada método de desinfección, se usaron cochinillas oviplenas. Previamente se había confirmado género y especie del insecto usando los caracteres descriptivos según Williams & Granara (1992). Se tomaron 12 adultos y se depositaron en una caja de Petri conteniendo seis piezas de raíces, sometidas a alguno de los dos métodos de desinfección, con cuatro repeticiones (cajas) por tratamiento. Las cajas se incubaron en oscuridad a 25°C. La Figura 1, muestra la

disposición de los trozos de raíces y el montaje de los insectos sobre las raíces. Diariamente se revisaron las cajas registrando mortalidad y nuevos individuos.

## 2. Evaluación de patogenicidad y virulencia de *Metarhizium* sp. sobre las cochinillas en el laboratorio

Se evaluaron dos especies de *Metarhizium*. La cepa de *M. robertsii* cepa ARSEF 2575 fue donada por el doctor Donald Roberts de la Universidad de Utah y el aislamiento del hongo fue originalmente obtenido del *Agriculture Research Service Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures* (ARSEF) (USDA-US Plant, Soil and Nutrition Laboratory, Ithaca, NY, USA) (Section 3.1, M-NRPS20) y la cepa de *Metarhizium anisopliae* Ma 9236 obtenida del cepario de hongos de Cenicafé.

Los dos hongos fueron cultivados en cajas de Petri en medio PDA a 26°C y condición de luz constante. Al cabo de 15 días y tras determinar que las conidias del hongo tenían una germinación > 90%, se realizaron soluciones

de 100 mL de conidias de las cepas a una concentración de  $1 \times 10^7$  conidias/mL. Con las soluciones se realizaron pruebas de virulencia sobre los insectos. Para esto, fueron sumergidas 50 hembras ovíparas de cochinillas, usando una pieza de tul, en 100 mL de los siguientes tratamientos: 1. Agua, 2. *M. anisopliae* y 3. *M. robertsii*. Luego, los insectos fueron individualizados y colocados en cajas de Petri que contenían seis piezas de las raíces de *T. paniculatum* previamente lavadas, con 12 insectos por caja de Petri, como se observa en la Figura 2. Por cada tratamiento se dispusieron cuatro cajas de Petri. Estas fueron incubadas a 25°C con fotoperíodo de 12 h luz.

Diariamente y durante 12 días, se realizaron observaciones de los insectos, bajo estereoscopio y se determinó el número de insectos muertos e insectos con presencia de hongo.

**Variables de interés.** La variable de interés fue el porcentaje de mortalidad en cada uno de los tratamientos. Con los datos de mortalidad se realizó un análisis de varianza y una prueba de Duncan.



**Figura 1.** Trozo de raíz de *T. paniculatum* desinfectado por lavado con agua y jabón y usado para el mantenimiento, alimentación y crecimiento de *P. barberi*.



**Figura 2.** Montajes de pruebas de mortalidad de cochinillas con *Metarhizium* bajo condiciones de laboratorio.

### 3. Evaluación de mortalidad de cochinillas causada por cepas de *Metarhizium* en el almácigo

#### Producción de cepas de *Metarhizium* spp.

Todos los hongos usados en el experimento fueron producidos en Cenicafé. Para su obtención, se tomaron conidias de *M. anisopliae* Ma.9236 y *M. robertsii* cultivados en medio PDA por 15 días a 25°C. Con estas conidias se realizó una solución de  $1 \times 10^7$  conidias/mL y, usando 5 mL de esta solución, se inocularon 60 g de arroz previamente esterilizado, contenido en bolsas de polipropileno y humedecido con 20 mL de agua estéril. Estas bolsas se dejaron en incubación a 25°C y fotoperíodo regulado de 10 horas luz por día, durante 15 días. Al cabo de este tiempo, se realizó un recuento de conidias y se obtuvieron entre  $1 \times 10^9$  y  $1 \times 10^{10}$  conidias/g de arroz y un porcentaje de germinación de conidias de alrededor de 90%. A partir de estas conidias se realizaron soluciones a una concentración de  $2 \times 10^{10}$  conidias/L.

**Infestación plantas de almácigo.** Las plantas de almácigo de 4 a 6 meses de edad fueron infestadas con cinco hembras ovíparas de *Puto barberi*.

Durante el estudio, las plantas permanecieron en Cenicafé-La Granja: altitud 1.310 m, temperatura promedio de 21,2°C y humedad relativa promedio de 82% (Cenicafé, 2018). Las plantas recibieron labores agronómicas de manejo manual de arvenses y riego.

Luego de 60 días, mediante muestreo destructivo en diez plantas, se determinó la presencia de cochinillas en ellas. En el caso de que no todas las plantas estuvieran infestadas se procedió a realizar una segunda infestación con el insecto. A los 60 días se repitió el muestreo hasta observar que todo el material evaluado mostrara la presencia y multiplicación de la población original de insectos, con 100% de infestación. Una vez se identificó infestación de las plantas, se

separaron en grupos de 50 plantas y a cada grupo se le asignó un tratamiento.

### Tratamientos

Los montajes experimentales fueron realizados en tres momentos diferentes entre 2016 y 2017.

**Ensayo 1. Abril 2016:** Los tratamientos consistieron en la aplicación de: 1. Agua. 2. *M. anisopliae* Ma9236 y 3. *M. robertsii*.

**Ensayo 2. Abril 2017:** Los tratamientos consistieron en la aplicación 1. Agua y 2. *M. robertsii*. Este último fue con el que se obtuvieron los mejores resultados de control en el año 2016.

**Ensayo 3. Agosto 2017:** Los tratamientos consistieron en la aplicación de 1. Agua. 2. *M. robertsii* 3. Insecticida químico *Clorpirifos* 75% WG (3g L<sup>-1</sup>) y 4. Insecticida botánico *Azadiractina* 6% polvo soluble (3g L<sup>-1</sup>) (<https://pestweb.com/assets/files/productdocuments/arborjet-azasol-insect-brochure-en-1286726.pdf>).

### Aplicación de tratamientos

Tanto *M. robertsii* (Figura 3a) como *M. anisopliae* se evaluaron a una concentración de (2x10<sup>10</sup> conidias/L). Asperjando 50 cm<sup>3</sup>/planta de cada tratamiento. Se requirieron 2,5 L por tratamiento, por aplicación y se prepararon 5 L. Para las aplicaciones se usó una aspersora Royal Cóndor® de palanca modificada (Arcila, 2015), la aspersión se realizó en el cuello de la raíz.

Luego de 20 días tras las aplicaciones, se abrió la bolsa que contenía cada planta, se observó la raíz (Figura 3b) y se determinó la presencia o no de la plaga. Adicionalmente se cuantificó la población de cochinillas por planta.

### Variables de interés

1. Porcentaje de infestación de cochinillas para cada uno de los tratamientos.
2. Población de cochinillas por planta, para cada uno de los tratamientos.

### Diseño experimental

Pruebas preliminares permitieron determinar que se requerían 50 unidades experimentales (plantas de almácigo) por tratamiento, para determinar el efecto de la aplicación de un hongo sobre las poblaciones de cochinillas. De acuerdo con los siguientes criterios estadísticos: varianza estimada en 453,67, asociada al promedio de número de cochinillas vivas; diferencia mínima aceptable de 15 cochinillas vivas; nivel de significación del 5%; y una confiabilidad mayor del 90%.

En cada ensayo, para cada variable se determinó la media por tratamiento, se comparó con el testigo a través de un análisis de varianza. Test de Duncan o prueba T al 5% y Pruebas de límite superior e inferior.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Mantenimiento de las cochinillas en el laboratorio

Se observó crecimiento y reproducción de las cochinillas en las raíces de *T. paniculatum* sometidas al lavado con agua y jabón, mientras que la desinfección con hipoclorito resultó ser tóxica para el insecto, con alta mortalidad y ausencia de reproducción.

### 2. Evaluación de patogenicidad y virulencia de *Metarhizium* sp. sobre las cochinillas en el laboratorio

Los resultados de las pruebas de inmersión se muestran en la Tabla 1. Los dos hongos



**Figura 3. a.** *M. robertsii* aplicado en el año 2017. Concentración de la solución  $2 \times 10^{10}$  conidias/L. **b.** Raíces con presencia de cochinillas y evidencias de signos de la infección con *M. robertsii*.

causaron una mortalidad cercana al 80% sobre los insectos. El test de Duncan al 5% mostró que los tratamientos difieren del testigo.

Estos resultados mostraron que fue posible mantener los insectos sin estar en su sustrato habitual con suelo, esto facilita la observación de los signos y síntomas de la infección causada por entomopatógenos en las cochinillas. Por lo tanto, la metodología parece adecuada para la identificación temprana de entomopatógenos del insecto.

### 3. Evaluación de mortalidad de cochinillas causada por las cepas de *Metarhizium* en el almácigo

#### ENSAYO 1

En la Figura 3b se evidencia la presencia de las cochinillas en las raíces de la planta y, adicionalmente, 20 días después se observa la presencia del hongo de color verde cubriendo la superficie de las cochinillas en algunas de las plantas, lo que demuestra que el proceso

**Tabla 1.** Mortalidad de cochinillas causada por *Metarhizium* en condiciones de laboratorio.

Tratamientos	N	Porcentaje de mortalidad	*E.E
Agua	50	24,4 A	3,4
<i>M. anisopliae</i>	48	75,9 B	4,8
<i>M. robertsii</i>	48	85,4 B	5,2

\*E.E= Error de estimación.

Letras distintas indican diferencia entre promedios según prueba de Duncan al 5%.

de infección fue exitoso ya que se observan los signos de la infección.

La Tabla 2 muestra los porcentajes de infestación y los promedios de las poblaciones de cochinillas en las plantas tratadas con los hongos entomopatógenos vs las tratadas con agua.

La prueba T al 5% mostró que con respecto a la infestación uno de los tratamientos *M. robertsii* difieren del testigo (Figura 4), mientras que *M. anisopliae* es similar a la aplicación con agua. Con respecto a la población de cochinillas, mientras que en el tratamiento con *M. anisopliae* se observó una reducción en la población promedio de 55%, la reducción en las poblaciones de cochinillas en el tratamiento con *M. robertsii* fue de 78% difiriendo las tres estadísticamente entre sí (Figura 5).

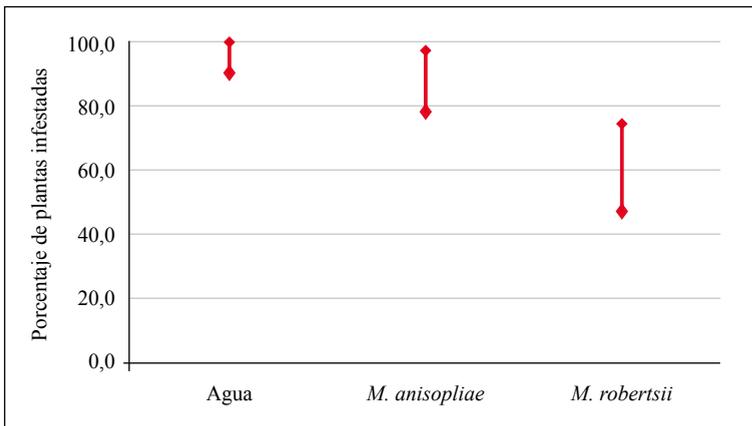
## ENSAYO 2

La Tabla 3 muestra los porcentajes de infestación y los promedios de las poblaciones de cochinillas en las plantas tratadas con el hongo entomopatógeno vs. agua.

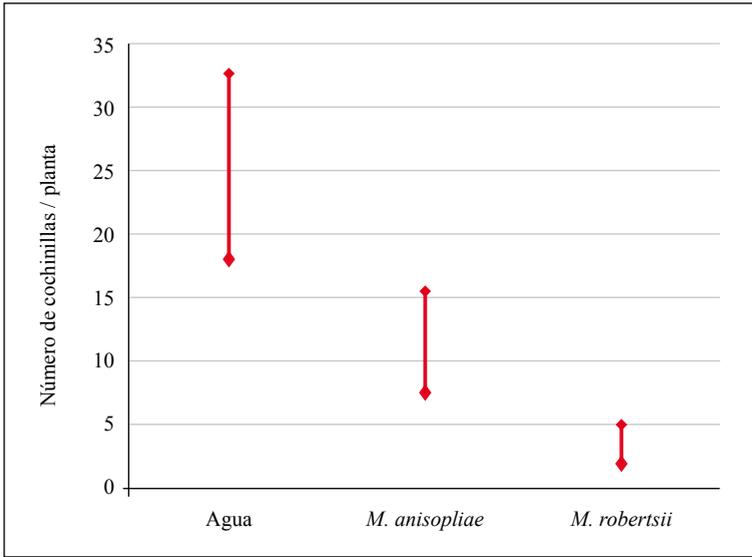
La prueba T al 5% mostró que el hongo difiere del testigo con respecto a la infestación (Figura 6) mas no con respecto al número final de población encontrado en las plantas infestadas, ya que aunque esta disminuyó en un 33%, la alta variabilidad no permitió ver diferencias estadísticas (Figura 7). Sin embargo, es importante anotar que la reducción de plantas infestadas en este ensayo fue de casi 50%, lo que equivale a un 50% de protección por efecto del hongo.

**Tabla 2.** Plantas de almácigo infestadas con cochinillas. Porcentaje de infestación y población de cochinillas en las plantas tratadas con los hongos entomopatógenos.

Tratamiento	Porcentaje de plantas infestadas con cochinillas	Población promedio de cochinillas/ planta infestada	Reducción de la población con respecto al testigo
Agua	96%	26	
<i>M. anisopliae</i>	88%	13	55%
<i>M. robertsii</i>	60%	5,8	78%



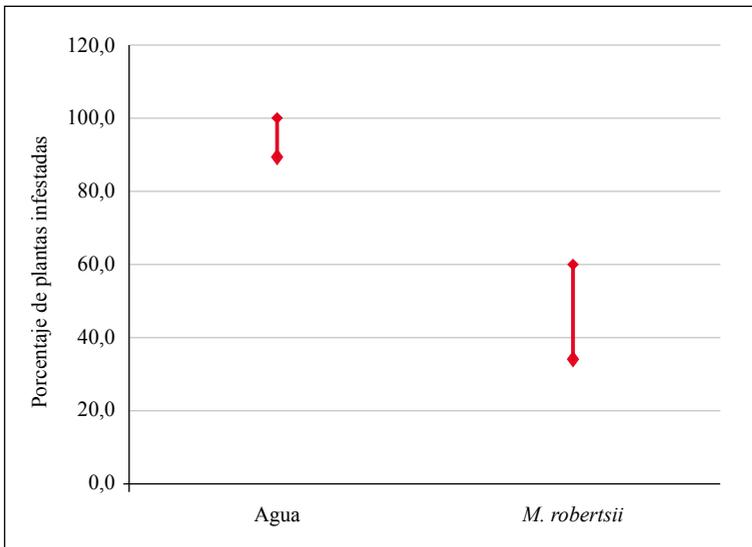
**Figura 4.** Porcentaje de plantas infestadas con cochinillas (2016). Límite superior e inferior.



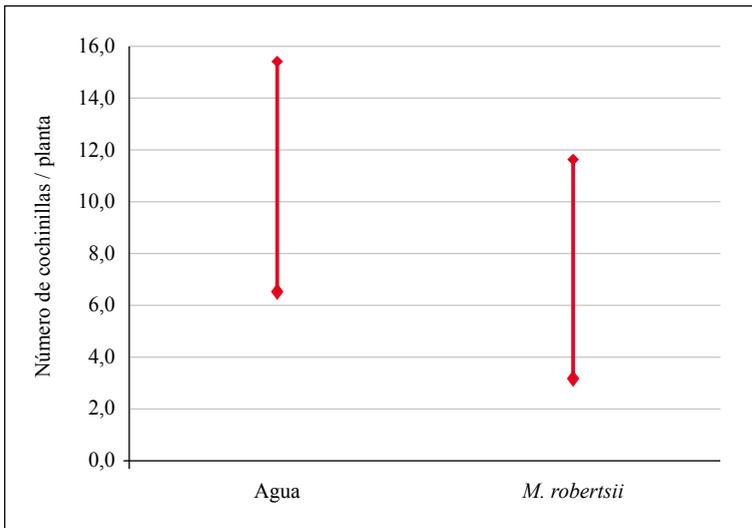
**Figura 5.** Comportamiento de las poblaciones de cochinillas al ser tratadas con agua o *Metarhizium* en raíces de plantas de almácigo (2016). Límite superior e inferior.

**Tabla 3.** Plantas de almácigo infestadas con cochinillas. Porcentajes de infestación y población de cochinillas en las plantas tratadas con *M. robertsii*.

Tratamiento	Porcentaje de infestación con cochinillas	Población promedio de cochinillas/planta infestada
Agua	95%	11
<i>M. robertsii</i>	47%	7,4



**Figura 6.** Porcentaje de plantas infestadas con cochinillas (2017). Límite superior e inferior.



**Figura 7.** Comportamiento de las poblaciones de cochinillas al ser tratadas con agua o *M. robertsii* en raíces de plantas de almácigo (2017). Límite superior e inferior.

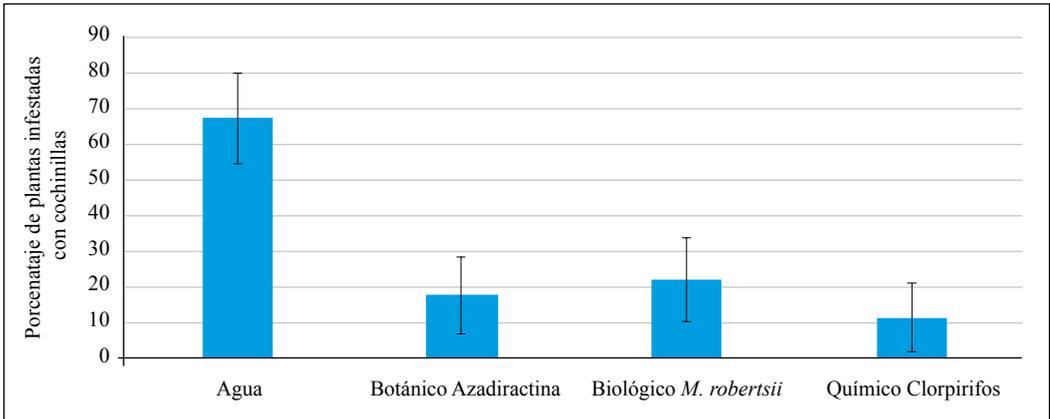
### ENSAYO 3

En este ensayo todos los tratamientos difirieron del testigo y en todos los casos se produjo control del insecto con porcentajes de infestación que no superaron el 20% comparado con la aplicación de agua, en la cual el porcentaje de infestación es cercana al 70% (Figura 8).

Con respecto al control del insecto, los resultados de laboratorio mostraron que tanto *M. anisopliae* como *M. robertsii* son patógenos y bajo condiciones controladas los dos causan la misma virulencia. Sin embargo, la aplicación de los dos hongos en condiciones de almácigo en plantas de café con un sustrato real, como es el suelo y bajo la influencia de las condiciones medioambientales de Cenicafé, permitió identificar diferencias en la virulencia de las dos cepas, siendo *M. robertsii* más virulento. En el ensayo 1 este hongo causó mortalidad en el 40% de la población de cochinillas ya que la infestación fue del 60%, lo que implica una protección del 40% de las plantas, mientras que con *M. anisopliae* la mortalidad fue de 12%, con el 88% de

las plantas infestadas y protección del 12%. El ensayo 2 mostró que la virulencia de *M. robertsii* puede ser mayor, en este caso la mortalidad fue del 63% con una infestación del 47% y una protección cercana al 50%. Las condiciones del suelo y las interacciones entre el hongo, las raíces y la plaga parecen ser importantes factores para determinar la virulencia. Se ha reportado que *M. robertsii* crea asociaciones beneficiosas con las raíces de las plantas (Liao et al., 2014), y Liao et al., (2017) identificaron efectos positivos en plantas de *Arabidopsis* inoculadas con *M. robertsii*, encontrando que este hongo produce la hormona de crecimiento IAA (ácido indol-3-acético) que además de promover el crecimiento en plantas, incrementa la virulencia en los insectos, esta podría ser una de las razones de la mayor virulencia de este hongo.

Adicionalmente, se observaron los siguientes efectos en las poblaciones de los insectos que sobrevivieron a la aplicación de los hongos: En el ensayo 1: *M. anisopliae*, al ser comparado con el control, redujo la población de cochinillas en un 55% y *M. robertsii* en 78%. Esta misma reducción se esperaba en



**Figura 8.** Porcentaje de plantas de almácigo infestadas con cochinillas. Se muestra el promedio y error estándar para cada tratamiento.

el ensayo 2; sin embargo, la reducción en la población fue menor, esto pudo deberse a las condiciones medioambientales. En todos los casos la protección causada por *M. robertsii* fue cercana al 50%.

El Ensayo 3 tuvo como propósito comparar el control de la plaga debido a *M. robertsii* con otros métodos de control que están reportados en la literatura, como son, el uso del insecticida químico clorpirifos y el producto botánico azadiractina (United States Environmental Protection Agency, 2018; Vittal Mallya Scientific Research Foundation, 2020).

En el caso del insecticida clorpirifos, este es de los pocos ingredientes activos eficaces para el control de esta plaga en Colombia y aprobados por el ICA (Instituto Colombiano Agropecuario ICA, 2018). En el caso de la azadiractina, el producto utilizado es un derivado del neem; sin embargo, su presentación no corresponde a un aceite, sino que es un polvo soluble en agua, por lo que fue posible usarlo disuelto en agua para ser aplicado en las raíces. Este extracto botánico se ha reportado para el control de insectos Hemiptera, en este orden existen tres subordenes: Sternorrhyncha (cochinillas y

escamas), Auchenorrhyncha (cigarras, loritos verdes, membrácidos, miones) y Heteroptera (verdaderas chinches: grajos, etc.) (Portilla & Cardona, 2004). La azadiractina fue evaluada contra las escamas que corresponden al suborden Sternorrhyncha siendo efectiva en el control de estos (Dreyer & Hellpap, 1991) y de áfidos (Lowery et al., 1993) por lo que en este experimento, se evaluó contra la cochinilla *P. barberi* mostrando su eficacia en el control de esta plaga en café.

Los resultados permitieron concluir que el hongo *M. robertsii* causa mortalidades similares a las ocasionadas por los otros dos métodos de control evaluados y puede proteger las raíces de la planta de esta plaga, por lo que se convierte en un buen candidato para posteriores estudios en condiciones de almácigos comerciales y en el campo.

## AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Estación Experimental La Catalina (Risaralda), a los Auxiliares de Investigación de la disciplina de Entomología y al doctor Fernando Ángel.

## LITERATURA CITADA

- Ahmad, I., Jiménez-Gasco, M., Luthe, D. S., Shakeel, S. N., & Barbercheck, M. E. (2020). Endophytic *Metarhizium robertsii* promotes maize growth, suppresses insect growth, and alters plant defense gene expression. *Biological Control*, *144*, 104167. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104167>
- Arcila, A. (2015). *Instructivo: Cómo modificar una aspersora de palanca para controlar las cochinillas de las raíces*. Cenicafé. <https://www.cenicafe.org/es/publications/InstructivoCochillas.pdf>
- Benavides, P., Gil, Z. N., Constantino, L. M., Villegas, C., & Giraldo, M. (2013). Plagas del café broca, minador, cochinillas harinosas, arañita roja y monalonia. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Ed.), *Manual del cafetero colombiano: investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura* (Vol. 2, pp. 215–260). Cenicafé.
- Belevich, O., Yurchenko, Y., Krivopalov, A., Kryukov, V., & Glupov, V. (2018). Effects of *Metarhizium robertsii* on the bloodsucking mosquito *Aedes flavescens* and non-target predatory insects (Odonata). *Journal of Applied Entomology*, *142*(6), 632–635. <https://doi.org/10.1111/jen.12509>
- Bischoff, J. F., Rehner, S. A., & Humber, R. A. (2009). A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*, *101*, 512–530. <https://doi.org/10.3852/07-202>
- Caballero, A., Ramos-Portilla, A. A., Suárez-González, D., Serna, F., Gil, Z. N., & Benavides, P. (2019). Los insectos escama (Hemiptera: Coccoomorpha) de raíces de café (*Coffea arabica* L.) en Colombia, con registros de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) en asociación. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, *20*(1), 69–92. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol20\\_num1\\_art:1250](https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num1_art:1250)
- Centro Nacional de Investigaciones de Café. (2018). Anuario meteorológico cafetero 2017. <http://hdl.handle.net/10778/660>
- Dreyer, M., & Hellpap, C. (1991). *Neem-a promising natural insecticide for small scale vegetable production in tropical and subtropical countries*. Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz (Germany, FR).
- Espinel, C., Torres, L. A., Villamizar, L. F., Bustillo, A. E., Zuluaga, M. V., & Cotes, A. M. (2018). Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga. En A. M. Cotes (Ed.). *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros* (Vol. 1, pp. 334–367). Agrosavia. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/34071>
- Gil, Z. N., Benavides Machado, P., & Villegas-García, C. (2015). Manejo integrado de las cochinillas de las raíces del café. *Avances Técnicos Cenicafé*, *459*, 1–8. <http://hdl.handle.net/10778/637>
- Hu, G., & St. Leger, R. J. (2002). Field Studies Using a Recombinant Mycoinsecticide (*Metarhizium anisopliae*) Reveal that It Is Rhizosphere Competent. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*(12), 6383–6387. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6383-6387.2002>
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2018). *Plaguicidas Químicos*. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/Areas/Agrícola/Servicios/Regulación y Control de-PlaguicidasQuímicos.aspx>
- Liao, X., Lovett, B., Fang, W., & St Leger, R. J. (2017). *Metarhizium robertsii* produces indole-3-acetic acid, which promotes root growth in *Arabidopsis* and enhances virulence to insects. *Microbiology*, *163*(7), 980–991. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000494>
- Liao, X., O'Brien, T. R., Fang, W., & St. Leger, R. J. (2014). The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *98*(16), 7089–7096. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5788-2>
- Lowery, D. T., Isman, M. B., & Brard, N. L. (1993). Laboratory and Field Evaluation of Neem for the Control of Aphids (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, *86*(3), 864–870. <https://doi.org/10.1093/jee/86.3.864>
- Moorhouse, E. R., Easterbrook, M. A., Gillespie, A. T., & Charnley, A. K. (1993). Control of *Otiorynchus sulcatus* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae) Larvae on a Range of Hardy Ornamental Nursery Stock Species Using the Entomogenous Fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, *3*(1), 63–72. <https://doi.org/10.1080/09583159309355260>
- Ramos Portilla, A. A., & Serna Cardona, F. J. (2004). Coccoidea de Colombia, con énfasis en las cochinillas harinosas (Hemiptera: pseudococcidae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, *57*(2), 2383–

2411. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24191>
- Sasan, R. K., & Bidochka, M. J. (2012). The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. *American Journal of Botany*, 99(1), 101–107. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22174335/>
- Tyurin, M. V., Kryukov, V. Yu., Yaroslavtseva, O. N., Elisafenko, E. A., Dubovskiy, I. M., & Glupov, V. V. (2016). Comparative analysis of immune responses in Colorado potato beetle larvae during development of mycoses caused by *Metarhizium robertsii*, *M. brunneum*, and *M. pempighi*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 52(3), 252–260. <https://doi.org/10.1134/S002209301603008X>
- United States Environmental Protection Agency. (2018, diciembre 19). *Pesticide registration improvement act-SoluNeem*. [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/ppls/081899-00004-20181219.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/ppls/081899-00004-20181219.pdf)
- Villegas, C., Bustillo Pardey, A. E., Zabala Echavarría, G., Benavides Machado, P., & Ramos Portilla, A. A. (2008). Cochinillas harinosas en cafetales colombianos. En A. E. Bustillo Pardey (Ed.), *Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana* (pp. 342–354). Cenicafé.
- Villegas, C., Zabala Echavarría, G., Ramos, A. A., & Benavides Machado, P. (2009). Identificación y hábitos de cochinillas harinosas asociadas a raíces del café en Quindío. *Revista Cenicafé*, 60(4), 362–373. <http://hdl.handle.net/10778/153>
- Vittal Mallya Scientific Research Foundation. (2020, March 3). *Solu neem, water soluble bio insecticide, botanical plant protectant, bio pesticides*. Pesticides. <http://www.vmsrf.org/html/solu-neem.html>.
- Williams, D. J., & Willink, M. C. G. (1992). *Mealybugs of Central and South America*. CAB International Wallingford UK. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19921165001>