



Hongos detectados en la entomofauna asociada a *Espeletia pycnophylla*

Fungi detected in insects associated to *Espeletia pycnophylla*

Eliana Galíndez-Chicaíza¹; Luz Estela Lagos-Mora²; Guillermo Castillo-Belalcázar³; Claudia Salazar-González⁴; Carlos Betancourth-García⁵

¹Bióloga, Universidad de Nariño. Pasto – Nariño, Colombia; e-mail: elianamg3@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-8209-8133>

²Bióloga, M.Sc., Universidad de Nariño. Pasto – Nariño, Colombia; e-mail: luzestela@udenar.edu.co; <https://orcid.org/0000-0002-5152-3413>

³Lic. Biología y Química,, Esp. Universidad de Nariño. Pasto - Nariño, Colombia; e-mail: gacastillo@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5954-1632>

⁴Ing. Agrónomo, M.Sc., Ph.D. Universidad de Nariño, Pasto - Nariño, Colombia; e-mail: claudiasalazarg@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0002-5461-2761>

⁵Ing. Agrónomo, M.Sc., Ph.D. Universidad de Nariño. Pasto - Nariño, Colombia; e-mail: cbet70@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0001-6573-4230>

Cómo citar: Galíndez-Chicaíza, E.; Lagos-Mora, L.E.; Castillo-Belalcázar, G.; Salazar-González, C.; Betancourth-García, C. 2020. Hongos detectados en la entomofauna asociada a *Espeletia pycnophylla*. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 23(2):e1497. <http://doi.org/10.31910/rudca.v23.n2.2020.1497>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: Marzo 10 de 2020 **Aceptado:** Agosto 28 de 2020 **Editado por:** Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

Algunas especies del género *Espeletia* sp. (Asteraceae) son afectados por hongos fitopatógenos e insectos en páramos de los Andes del Norte, amenazando su permanencia y la prestación de servicios que se les atribuye, como la regulación del ciclo hídrico. La escasa información sobre la afectación en el páramo de Paja Blanca (Nariño, Colombia), dificulta la comprensión de la dinámica del fenómeno y la formulación de estrategias de manejo. El objetivo de esta investigación fue identificar cambios en la composición de las comunidades de insectos asociados a *E. pycnophylla* durante el declive de las poblaciones de frailejones y evaluar si reflejan modificaciones en los hongos, asociados a dichos insectos. Para ello, se colectaron insectos en plantas de *E. pycnophylla* sanas y afectadas, a los que se aplicó índices ecológicos, para identificar

posibles modificaciones en la diversidad y la composición; además, se aislaron e identificaron morfológica y molecularmente hongos, a partir de estructuras corporales de los insectos. Como resultado, se identificó una diversidad de insectos considerable y que no hay modificación en su composición de insectos entre los dos estados de frailejón analizados. Se logró aislar hongos, como *Fusarium oxysporum*, *Botrytis* sp., *Epicoccum nigrum*, *Cladosporium* sp., a partir de estructuras de los géneros de insectos *Neomyopites* sp., *Diabrotica* sp., *Bradysia* sp. y *Dyscolus* sp. Este estudio aporta información sobre la entomofauna presente en *E. pycnophylla* del páramo de Paja Blanca y hongos asociados a estructuras corporales, como el canal alimentario y aparato bucal de los insectos.

Palabras clave: Canal alimentario; Aparato bucal; Fitosanidad; Hongos fitopatógenos; Asteraceae; Frailejón.

ABSTRACT

Some species of the genus *Espeletia* sp. (Asteraceae) are affected by phytopathogenic fungi and insects in the paramos of the Northern Andes, threatening their permanence and the provision of services attributed to them such as the regulation of the water cycle. The scarce information about the impact on the Paja Blanca páramo (Nariño, Colombia) makes it difficult to understand the dynamics of the phenomenon and the formulation of management strategies. The goal of this research was to identify changes in the composition of the insect communities associated to *E. pycnophylla* during the decline of the frailejon populations and to evaluate if these reflect modifications in the fungi associated with those insects. For this, insects were collected in healthy and affected *E. pycnophylla* plants to which ecological indices were applied to identify possible changes in diversity and composition. Also fungi were isolated and identified morphologically and molecularly from body structures of insects. As result, a considerable diversity of insects was identified and no modification in their composition of insects between the two states of frailejón were found. It was possible to isolate fungi such as *Fusarium oxysporum*, *Botrytis* sp., *Epicoecum nigrum*, *Cladosporium* sp. from structures of the insect genera *Neomyopites* sp., *Diabrotica* sp., *Bradysia* sp. and *Dyscolus* sp. This study provides information about the entomofauna present in *E. pycnophylla* from the Paja Blanca páramo and fungi associated with body structures such as the alimentary canal and the oral system of insects.

Keywords: Alimentary canal; Oral apparatus; Phytosanitary; Phytopathogenic fungi; Asteraceae; Big monk.

INTRODUCCIÓN

Los brotes de enfermedades fúngicas y el ataque de insectos conducen al detrimento en la calidad de los bienes y servicios que las plantas ofrecen, bajo condiciones estables (Nárdiz & De Cal, 2006). Es por ello, que desde el 2010, se presta especial atención al estado fitosanitario de las poblaciones de frailejón *Espeletia* sp. (Asteraceae), presentes en los ecosistemas paramunos andinos, debido a que reportan síntomas, como deformación de lámina foliar, clorosis, pudrición radicular y necrosis que, posiblemente, estén asociados con la presencia de hongos fitopatógenos y a la herbivoría por parte de insectos de los órdenes Lepidoptera y Coleoptera (Salinas *et al.* 2013; Varela, 2014) y que pueden poner en riesgo la prestación de servicios ecosistémicos, como la regulación hídrica.

En 2017 surge el primer reporte de síntomas en frailejones del sur del país, en el páramo de Paja Blanca (Nariño), en la especie *Espeletia pycnophylla*; sin embargo, no se cuenta con información sobre la entomofauna asociada a esta especie de frailejón, previo a la aparición de los síntomas, hecho que dificulta determinar si ha ocurrido o no una modificación en la composición de insectos, que pueda estar relacionada con la actual condición de *E. pycnophylla*; además, se desconoce si las especies de hongos presentes en el cuerpo de los insectos se han reportado previamente en frailejones con síntomas de diferentes páramos, información necesaria para

establecer si los insectos pueden facilitar el ingreso y la colonización de fitopatógenos en la planta (Tack & Dicke, 2013).

Dado que resulta indispensable comprender la dinámica del problema fitosanitario en *E. pycnophylla*, la presente investigación hace énfasis en la interacción entre insectos, hongos y frailejones, puesto que, se presume, que tanto la composición de insectos como de sus hongos asociados pueden variar, de acuerdo con el estado de salud de la población de frailejones (Ulyshen, 2016). En este sentido, los objetivos de la presente investigación fueron identificar cambios en las comunidades de insectos asociados a *E. pycnophylla* sin síntomas y con síntomas evidentes y evaluar si estos cambios en las comunidades de insectos se reflejan en los hongos asociados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El área de estudio corresponde a zonas del páramo de Paja Blanca con presencia de poblaciones sintomáticas, ubicadas en el municipio de Gualmatán (Nariño, Colombia) (Figura 1). Los límites altitudinales del páramo van desde los 3.200 a 3.650m. s.n.m., en los que domina vegetación achaparrada, asociaciones Pajonal-matorral, frailejona y pajonal y las temperaturas medias anuales oscilan entre los 10,2 y 11,6°C (Muñoz-Guerrero, 2017).

Colecta e identificación de insectos. El muestreo, se realizó en época seca del 2018, en cuatro zonas del páramo; en cada una, se seleccionaron seis frailejones sanos y seis con síntomas de clorosis, deformación y necrosis foliar. Los frailejones seleccionados presentaron alturas entre 70-90cm. En cada frailejón, se colectaron, de forma manual, insectos en estado adulto, tanto en la roseta como en la necromasa, los cuales, fueron dispuestos en viales plásticos estériles.

Los insectos, se identificaron hasta el nivel taxonómico más detallado posible, en los laboratorios de la Universidad de Nariño, mediante guías y claves taxonómicas (Triplehorn & Johnson, 2004; Fernández & Mason, 2006), comparación con material de referencia, que reposa en la Colección Entomológica de la Universidad de Nariño CEUN y la colaboración de especialistas.

Análisis ecológico. La diversidad alfa de los insectos colectados en frailejones sanos y con síntomas, se calculó con base en los números de Hill, donde la diversidad se expresa como qD , que se basa en el número efectivo de especies, donde q determina la influencia de la abundancia de las morfoespecies sobre los valores de diversidad. La diversidad de orden $q=0$ representa la riqueza, la diversidad de orden $q=1$, le da peso a las especies típicas y se calcula como el exponencial del índice de entropía de Shannon y la diversidad de orden $q=2$, que le da mayor peso a las especies dominantes y se calcula con el inverso del índice de Simpson (Jost, 2006).

Para identificar el recambio de taxones entre los dos estados de frailejón evaluados, se aplicó el índice de similitud de Jaccard, mediante el cual, es posible expresar el grado de semejanza de los individuos contenidos en dos muestras diferentes. Este coeficiente

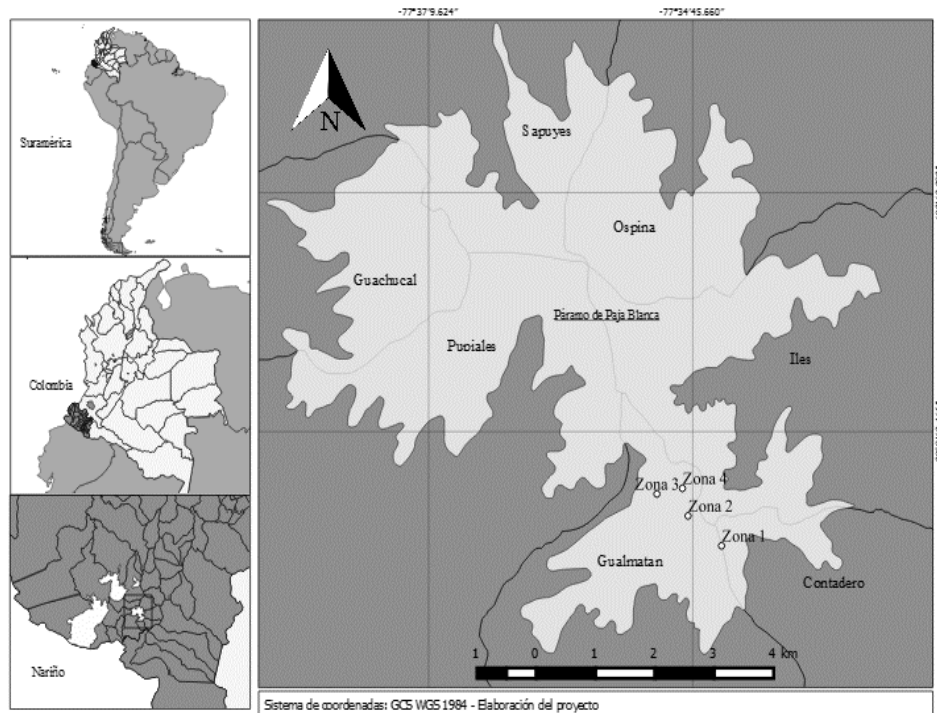


Figura 1. Localización del área de estudio y de las zonas de colecta, ubicadas en el páramo de Paja Blanca, Nariño (Colombia).

toma valores entre 0, cuando las muestras no comparten taxones y 1, cuando tienen la misma composición de especies (Moreno *et al.* 2011). Estos análisis, se realizaron con el paquete “iNEXT” del programa estadístico R 3.3.0 (Chao *et al.* 2014).

Cultivo de hongos a partir de estructuras de insectos. De cada taxón de insecto, se extrajeron piezas bucales y el canal alimentario. Se maceraron con agua estéril y se sembró 0,1mL, en medio de cultivo PDA (agar dextrosa papa), con rifampicina. Los exoesqueletos de cada taxón de insecto, se lavaron con agua estéril en tubos Eppendorf y se llevaron a vortex, por un minuto. Del agua resultante del lavado, se sembró 0,1mL, en medio PDA. Todos los cultivos, se incubaron a 15°C y humedad relativa de 80% durante, aproximadamente, cinco días (Jaber *et al.* 2016).

Identificación morfológica y molecular de hongos. Las colonias emergentes se purificaron y tras su crecimiento, se identificaron hasta el nivel de género, mediante el uso de claves taxonómicas (Barnett & Hunter, 1998; Cepero de García *et al.* 2012). A partir de cultivos monospóricos, se extrajo y se purificó ADN, siguiendo el protocolo propuesto por Griffith & Shaw (1998).

Para la amplificación de la región ITS del ADNr, se usaron los cebadores universales ITS1 e ITS4, descritos por White *et al.* (1990) y Álvarez-López *et al.* (2013). El volumen de la solución final para amplificación por PCR fue de 25µL (12,5µL, de OneTaq Quick Load 2X Máster Mix/Standard Buffer – Promega; 1µL de cada cebador; 1µL de BSA y 2µL de la muestra de ADN (100ng/µL)). El producto, se visualizó por electroforesis en gel de agarosa 1,2% con 1µL de

Hydragreen®. El gel, se corrió a 70V, durante 40 minutos. Los tamaños de las bandas, se compararon con un marcador de 100pb (Checa *et al.* 2015). Los productos de PCR, se secuenciaron por el método de Sanger, enviando las muestras al centro de investigación Corpogen (Bogotá, Colombia).

La búsqueda de identidad con otras secuencias reportadas en la base de datos de GenBank, se realizó mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), del NCBI. Los hongos identificados fueron ingresados al cepario de la Universidad de Nariño.

Mediante revisión de literatura de los taxones de insectos identificados, las estructuras corporales y los hongos identificados, se relacionaron los resultados con el estado de *E. pycnophylla* del páramo de Paja Blanca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis ecológico insectos. De los 276 individuos colectados, el 75% corresponde a los órdenes Diptera y Coleoptera y, la gran mayoría, estuvieron presentes, tanto en frailejones sanos como afectados (Tabla 1). Alzate (2010) afirma que la riqueza y abundancia de Coleoptera y Diptera, se debe a la alta disponibilidad de materia orgánica en descomposición aprovechable; asimismo, Amat-García & Ríos-Vargas (1991) proponen que la dominancia de estos órdenes, se atribuye a las condiciones de humedad que presenta, tanto la roseta como la necromasa y que resultan adecuadas para los diferentes estados de desarrollo.

Tabla 1. Identificación de insectos asociados a plantas de *Espeletia pycnophylla* sanas y afectadas, del páramo de Paja Blanca (Nariño, Colombia).

Clasificación			Número de individuos	
Orden	Familia	Taxón	Frailejones sin síntomas	Frailejones afectados
Coleoptera	Carabidae	<i>Dyscolus</i> sp.	4	9
		<i>Lebia</i> sp.	0	3
	Scarabeidae	<i>Uroxys</i> sp.	3	2
	Curculionidae	Entiminae	5	3
	Anthribidae	Anthribidae	0	5
	Chrysomelidae	<i>Diabrotica</i> sp. 1	12	15
		<i>Diabrotica</i> sp. 2	8	9
	Lampyridae	Lampyridae	5	8
	Nitidulidae	c. f. <i>Colopterus</i> sp.	5	8
		c. f. <i>Carpophilus</i> sp.	6	9
Diptera	Tipulidae	<i>Tipula</i> sp.	0	6
	Syrphidae	<i>Copestylum</i> sp.	3	2
	Tephritidae	<i>Neomyopites</i> sp.	9	15
	Muscidae	Muscidae	5	8
	Tachinidae	Tachinidae 1	3	6
		Tachinidae 2	5	2
	Sarcophagidae	Sarcophagidae	4	4
	Sciaridae	<i>Bradysia</i> sp.	6	9
	Phoridae	Phoridae	2	0
Agromizyidae	<i>Ophiomyia</i> sp.	0	6	
Hymenoptera	Ichneumonidae	Ichneumoninae	2	0
	Apidae	<i>Bombus</i> sp. 1	2	3
		<i>Bombus</i> sp. 2	1	0
	Pteromalidae	Pteromalidae	11	9
Hemiptera	Enicocephalidae	Enicocephalidae	9	6
Blattodea	Blattellidae	Blattellidae 1	0	3
		Blattellidae 2	6	9
Total			116	160

Los valores de diversidad en términos de los números de Hill (q_0 , q_1 y q_2), para insectos colectados en frailejones sanos, fueron de 22, 18,85 y 16,6, respectivamente y de 25, 21,2 18,8, para frailejones afectados y de acuerdo con los intervalos de confianza, no se detectaron diferencias significativas (Figura 2). En consecuencia, la riqueza, la diversidad y la dominancia de taxones fue similar en los dos estados de frailejones muestreados, por lo que se infiere que los frailejones sintomáticos no se encuentran en un estado de daño en sus estructuras, que de paso a la colonización y la dominancia de insectos, propios de un estado de descomposición avanzado y que, por el contrario, aún mantienen condiciones adecuadas, que le permiten ser hábitat de diferentes taxones de insectos. La diversidad de la entomofauna puede ser un reflejo del estado de conservación en que se encuentran los frailejones, puesto que, en

condiciones de baja intervención antrópica, donde la vegetación de páramo se ha desarrollado durante largos periodos de tiempo, la diversidad de la artropofauna encuentra una mayor homogeneidad ambiental y diversidad de recursos (Eraso-Puentes & Amarillo-Suárez, 2016).

El recambio de especies arrojó un valor de similitud de 0,7, de manera que no se identificó mayor variación en la composición de insectos, que se pueda atribuir al estado de afectación de los frailejones evaluados. Los resultados obtenidos contrastan con los de Camacho & Marroquin (2016), en *Espeletia lopezii*, del Parque Nacional Natural el Cocuy, en donde se evaluó la composición de coleópteros, en tres estados fitosanitarios: muertos, enfermos y sanos, concluyendo que, en estado sano, existe una mayor diversidad

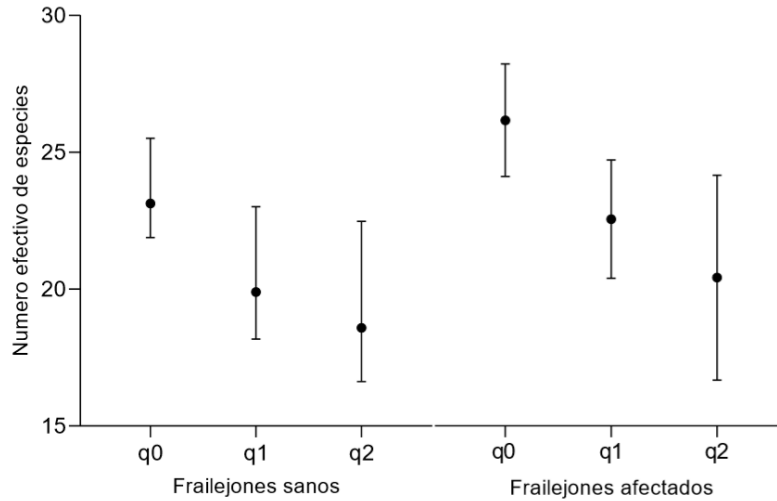


Figura 2. Perfiles de diversidad para frailejones sanos y afectados. Los puntos indican las medias y las líneas horizontales en cada intervalo representan los valores máximos y mínimos, con una significancia del 95%.

de coleópteros, mientras que en el estado de descomposición más avanzado, hay dominancia de coleópteros Entiminae (Curculionidae) y Barinidae.

Hongos identificados. La identificación morfológica y molecular permitió reconocer 10 taxones hasta el nivel de especie y 11, a nivel de género (Tabla 2).

Tabla 2. Identidad, porcentaje de similitud, código de accesoión (GenBank) y código de colección de los hongos aislados de diferentes estructuras de insectos asociados a frailejones sin síntomas y afectados, del páramo de Paja Blanca (Nariño, Colombia).

Identidad GenBank	(%) identidad	Accesión	Código de colección
<i>Clonostachys</i> sp.	99	KY413696	I8LC02
<i>Epicoccum nigrum</i>	98	KR912314	I2LC03
<i>Gibberella thapsina</i>	99	GU257900	I6TG19
<i>Epicoccum nigrum</i>	98	KR912314	I2AB03
<i>Rhizoctonia</i> sp.	99	KJ395592	I3AB14
<i>Cladosporium oryzae</i>	99	KY400092	I5LC20
<i>Lecanicillium</i> sp.	99	MH509414	I6TG04
<i>Phoma</i> sp.	99	KT989564	I5TG05
<i>Metapochonia bulbilosa</i>	99	MH483834	I3AB21
<i>Cadophora fastigiata</i>	99	KP411560	I5LC01
<i>Sarocladium strictum</i>	99	KY465763	I8LC06
<i>Talaromyces variabilis</i>	96	KT310940	I4LC07
<i>Fusarium oxysporum</i>	99	MF435919	I1LC08
<i>Microdochium</i> sp.	98	KU901555	I4TG09
<i>Botrytis</i> sp.	99	KF015582	I4TG13
<i>Acremonium murorum</i>	99	HQ637278	I3LC18
<i>Microdochium</i> sp.	98	MK163888	I1LC09
<i>Epicoccum nigrum</i>	98	KR912314	I3AB03
<i>Trichoderma</i> sp.	99	MH284582	I2TG10

Tabla 4. Hongos aislados de estructuras de insectos presentes en plantas de *E. pycnophylla* sin afectación, del páramo de Paja Blanca (Nariño). A.B= aparato bucal; C.A=canal alimentario y L.C=lavado del cuerpo.

	<i>Neomyopites</i>			<i>Dyscolus</i>			<i>Diabrotica</i> sp. 1			<i>Diabrotica</i> sp. 2			c.f <i>Carpophilus</i>			<i>Colopterus</i>			<i>Bombus</i> sp. 1		
	L.C	A.B	C.A	L.C	A.B	C.A	L.C	A.B	C.A	L.C	A.B	C.A	L.C	A.B	C.A	L.C	A.B	C.A	L.C	A.B	C.A
<i>E. nigrum</i>	x				x																
<i>Lecanicillium</i> sp.							x							x	x						
<i>F. oxysporum</i>	x																				
<i>Trichoderma</i> sp.						x		x													
<i>Penicillium</i> sp.1			x			x	x											x		x	
<i>Botrytis</i> sp.	x											x									
<i>Paecilomyces</i> sp.			x	x																	
<i>G. thapsina</i>										x								x			
<i>Cladosporium</i> sp.								x					x								
<i>M. bulbilosa</i>								x													
<i>C. fastigiata</i>											x		x								

El aparato bucal chupador del género *Neomyopites* le permite absorber líquidos de las frutas, los carbohidratos y los nutrientes, que son liberados por las hojas de las plantas. La alimentación, a través de una probóscide, implica el contacto de esta estructura con el sustrato que, en el caso de encontrarse contaminado, puede facilitar la dispersión de hongos (Coronado-Gonzalez *et al.* 2009).

Especies del género *Dyscolus* sp., se reportan en *Espeletia argentea*, del Parque Nacional Natural Páramo de Chingaza, ingresando a la planta por cavidades que construyen en la base de la roseta, produciendo daño a hojas maduras. Posiblemente, la presencia de fitopatógenos en su aparato bucal, se deba al consumo de otros invertebrados, como Collembola, larvas de Lepidoptera y Psocoptera, que se pudieron alimentar de tejidos de plantas afectadas y cuyas esporas presentes en el cuerpo pudieron entrar en contacto con las mandíbulas del depredador (Matta *et al.* 2017).

Los géneros de insectos con aislamientos de fitopatógenos, a partir de lavados de cuerpo, fueron *Neomyopites*, *Dyscolus* y *Bradysia*. *Neomyopites* sp. no presenta reportes como trasmisor mecánico; sin embargo, cabe mencionar el caso de *Anastrepha fraterculus*, que pertenece a la misma tribu Myopitini, cuyas hembras ovopositan en frutos de uva, facilitando el ingreso de fitopatógenos, que causan la caída del fruto, como *Cladosporium* spp., *Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp. y *Rhizopus* spp., que se aislaron a partir de patas, alas, cabeza y ovopositor (Machota *et al.* 2013). Posiblemente, las setas en el cuerpo de *Neomyopites* sp., igualmente, faciliten la adhesión de esporas de hongos y su posterior dispersión.

La capacidad de transportar patógenos de *Bradysia* sp., se ha documentado en *Encalyptus* spp., donde las plántulas son afectadas, tanto por herbivoría de larvas como por la dispersión de hongos

patógenos. El tipo de microorganismo que es transmitido, depende del estado de desarrollo de *Bradysia* sp., de manera que los adultos pueden transportar, en su cuerpo, conidias de hongos patógenos, que producen estadios de dispersión aérea, como *B. cinerea*, *F. oxysporum* que, luego, se pueden transmitir a plantas sanas (Gillespie & Menzies, 1993; Santos *et al.* 2012).

Shamshad *et al.* (2009) explican que *Bradysia ocellaris* tiene mayor capacidad de carga de esporas que *Lycoriella ingenua* (Sciaridae), ya que, la primera, presenta una hilera de cerdas a manera de peine en las tibias delanteras, que facilitan la adhesión de esporas.

Como se ha mencionado, *Dyscolus* sp. se puede encontrar en *Espeletia* sp. depredando otros artrópodos; la explicación de la presencia de fitopatógenos se puede argumentar, teniendo en cuenta que la capacidad de carga de inóculo está relacionada, además, con el tamaño del individuo, el área de superficie y la anatomía del insecto. Teniendo en cuenta que entre los insectos colectados *Dyscolus* sp. es el de mayor tamaño, se puede esperar que tenga esporas asociadas a su cuerpo (Schweigkofler *et al.* 2005).

El aislamiento de hongos a partir del canal alimentario es una aproximación a la capacidad de los hongos de mantenerse viables en el interior de los insectos y a que, posiblemente, se puedan mantener infectivas en sus deposiciones que, de llevarse a cabo sobre plantas sanas, contribuiría a la dispersión de hongos fitopatógenos, tal como ocurre en larvas del género *Bradysia*, en las que se ha documentado la capacidad de consumo de tejidos de raíz afectados con fitopatógenos, como el Oomycete *Pythium* sp., cuyas oosporas pueden sobrevivir en el canal alimentario y mantenerse viables después del proceso de excreción (Hyder *et al.* 2009).

El estudio de la diversidad de insectos en ecosistemas de páramo aporta al conocimiento de este grupo en regiones poco exploradas, permitiendo reconocer que hay una gran diversidad taxonómica y que existe la necesidad de profundizar en los inventarios, abordando diferentes variables, que permitan tener un mayor entendimiento sobre posibles patrones en la distribución de insectos que aporten información, que pueda ser utilizada en la formulación y en la ejecución de estrategias encaminadas a la conservación de ecosistemas de gran importancia, como son los páramos.

Se recomienda plantear, a futuro, investigaciones que profundicen en el papel de los insectos en la dispersión de fitopatógenos, partiendo de las reglas para determinar si un insecto es vector de un patógeno vegetal, propuestas por Leach (1940), que plantean, en primer lugar, una asociación estrecha entre el insecto con la planta enferma; segundo, registrar si el insecto debe realizar visitas periódicas a plantas sanas; tercero, el insecto debe estar asociado con el patógeno que causa la enfermedad en cuestión y, cuarto, confirmar que la visita de plantas sanas por insectos infestados de patógenos resulta en el desarrollo de la enfermedad.

Agradecimientos. A la Doctora Melba Santamaría Ruano y al Biólogo Mauricio Rodríguez, por la colaboración durante el proceso de identificación de insectos y a los Doctores Tito Bacca y Amanda Varela, por sus aportes. A la Corporación Autónoma Regional de Nariño Corponariño, al Centro de estudios ambientales de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Nariño CEA y la Vicerrectoría de investigaciones, postgrados y relaciones internacionales VIPRI, de la Universidad de Nariño, por la financiación de esta investigación. Conflicto de intereses. Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. ÁLVAREZ-LÓPEZ, C.; OSORIO-VEGA, O.; MARÍN-MONTOYA, M. 2013. Identificación molecular de microorganismos asociados a la rizosfera de plantas de vainilla en Colombia. *Acta Biol. Col.* 18(2):293-305.
2. ALZATE-QUINTERO, N.F. 2010. Insectos asociados a la necromasa de frailejón (*Espeletia hartwegiana* Cuatrec), en un páramo de Villamaría, Caldas. *Agronomía (Manizales)*. 18(1):59-68.
3. AMAT-GARCÍA, G.; RÍOS-VARGAS, O. 1991. Caracterización de Microhábitats de la Artropofauna en páramos del Parque Nacional Natural Chingaza Cundinamarca, Colombia. *Caldasia*. 16(79):539-550.
4. ANACONA, A.; SABOGAL, S.; GARCÉS, E. 2005. Distribución de las especies de hongos asociadas al abrigo de hojas muertas de *Espeletia grandiflora*, en el páramo El Granizo. En: Bonilla M, Editor. Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia. Bogotá: Unibiblos. p.107-122.
5. BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. (4th ed). Amer Phytopathological Society APS Press. 240p.
6. BUITRAGO, S.; VANEGAS, L.; RAMOS, C. 2015. Pérdida de pubescencia foliar y sus efectos fisiológicos en *Espeletia paipana* (Asterales, Asteraceae), en el departamento de Boyacá-Colombia. *Rev. Biol. Trop.* 63(3):845-858. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4748.2723>
7. CABEZAS, L.; CALDERON, C.; MEDINA, L.M.; BAHAMON, I.; CARDENAS, M.; BERNAL, A.J.; GONZALEZ, A.; RESTREPO, S. 2012. Characterization of cellulases of fungal endophytes isolated from *Espeletia* spp. *Res.J. Microbiol.* 50(6):1009-1013. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-2130-5>
8. CAMACHO, M.; MARROQUIN, J. 2016. Análisis de insectos Coleoptera asociados a la afectación del frailejón *Espeletia lopezii* en el páramo de la vertiente occidental del Parque Nacional Natural el Cocuy. *In Situ*. 3:5-15.
9. CEPERO DE GARCÍA, M.C.; RESTREPO, S.; FRANCO, A.E.; CÁRDENAS, M.E.; VARGAS, N. 2012. Hongos anamórficos, conidiales, mitospóricos o 'deuteromycetes. En: Cepero De García, M.C.; Restrepo Restrepo, S.; Franco-Molano, A.E.; Cárdenas Toquica, M.; Vargas Estupiñan, N. (eds) *Biología De Hongos*. 1st ed., Universidad De Los Andes, Colombia, Bogotá, D.C., Colombia. p.119-162.
10. CHAO, A.; GOTELLI, N.J.; HSIEH, T.C.; SANDER, E.L.; MA, K.H.; COLWELL, R.K.; ELLISON, A.M. 2014. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecological Monographs*. 84(1):45-67. <https://doi.org/10.1890/13-0133.1>
11. CHECA, O.E.; DESCANCE, J.A.; TORO, M.X.; ÁLVAREZ, S.L.; SALAZAR, C. 2015. Caracterización molecular de *Trichoderma* spp. en arveja *Pisum sativum* L. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 32(2):03-12. <https://dx.doi.org/10.22267/rcia.153202.8>
12. CORONADO-GONZALEZ, P.A.; VIJAY-SEGARAN, S.; ROBINSON, A.S. 2009. Functional Morphology of the mouthparts of the Adult Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata*. *J. Insect Sci.* 8(73):1-11. <https://doi.org/10.1673/031.008.7301>
13. DUTTA, D.; PUZARI, K.C.; GOGOI, R.; DUTTA, P. 2014. Endophytes: exploitation as a tool in plant protection. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 57:621-629. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-8913201402043>
14. ERASO-PUENTES, L.P.; AMARILLO-SUÁREZ, Á.R. 2016. Arthropods in necromass of two rosette plants species in

- different successional stages of Andean Páramo. Rev. Col. Entomol. 42(1):81-90.
<https://doi.org/10.25100/socolen.v42i1.6674>
15. FERNÁNDEZ, F.; MASON, W. 2006. Introducción a los de Hymenoptera de la región neotropical. En: Fernández, F.; Sharkey, M.J. (eds.) Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical. Universidad Nacional de Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología SOCOLEN. Bogotá, Colombia. 893p.
 16. FLORES-BAZAURI, W.; CHICO-RUÍZ, J.; CERNA-REBAZA, L.C. 2015. Actividad antagonista in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinerea*. Revista Rebiol. 35(1):34-42.
 17. GARCÍA-CASTAÑEDA, A.R.; DÍAZ-ALVARADO, Á.I.; CASTAÑEDA-GARZÓN, S.L.; CELESTINO, J.B. 2015. Diagnóstico preliminar de microorganismos fitopatógenos asociados a plántulas de *Espeletia grandiflora* Humb. & Bonpl. Propagadas para su conservación *Ex situ*. Fitopat. Col. 39(1):1-4.
 18. GILLESPIE, D.R.; MENZIES, J.G. 1993. Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicislycopersici*. Ann. Applied Biology. 123(427):539-544.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04926.x>
 19. GRIFFITH, G.W.; SHAW, D.S. 1998. Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: four mitochondrial haplotypes are detected after PCR amplification of DNA from pure cultures or from host lesions. Appl. Environ. Microbiol. 64(10):4007-4014.
<https://doi.org/10.1128/AEM.64.10.4007-4014.1998>
 20. HYDER, N.; COFFEY, M.D.; STANGHELLINI, M.E. 2009. Viability of Oomycete Propagules Following Ingestion and Excretion by Fungus Gnats, Shore Flies, and Snails. Plant Disease. 93(7):720-726.
<https://doi.org/10.1094/pdis-93-7-0720>
 21. JABER, S.; MERCIER, A.; KNIO, K.; BRUN, S.; KAMBRIS, Z. 2016. Isolation of fungi from dead arthropods and identification of a new mosquito natural pathogen. Parasit Vectors. 9(1):491.
<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1763-3>
 22. JOST, L. 2006. Entropy and diversity. Oikos. 113(2):363-375.
<https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.14714.x>
 23. LAHLALI, R.; HIJRI, M. 2010. Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants. FEMS Microbiology Letters. 311(2):152-159.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02084.x>
 24. LEACH, J.G. 1940. Insect Transmission of Plant Diseases. Journal of the New York Entomological Society. 48:403-404.
 25. MACHOTA, J.R.; BORTOLI, L.C.; BOTTON, M.; GRÜTZMACHER, A.D. 2013. Fungi that cause rot in bunches of grape identified in adult fruit flies (*Anastrepha fraterculus*) (Diptera: Tephritidae). Chil. J. Agric. Res. 73(2):34-35.
<https://doi.org/10.4067/s0718-58392013000200018>
 26. MATTA, D.H.; CIVIDANES, F.J.; SILVA, R.J.; BATISTA, M.N.; OTUKA, A.K.; CORREIA, E.T.; MATOS, S.T. 2017. Feeding habits of Carabidae (Coleoptera) associated with herbaceous plants and the phenology of coloured cotton. Acta Scientiarum. Agronomy. 39(2):135-142.
<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v39i2.32593>
 27. MILES, L.A.; LOPERA, C.A.; GONZÁLEZ, S.; CEPERO DE GARCÍA, M.C.; FRANCO, A.E.; RESTREPO, S. 2012. Exploring the biocontrol potential of fungal endophytes from an Andean Colombian Paramo ecosystem. BioControl. 57(5):697-710.
<https://doi.org/10.1007/s10526-012-9442-6>
 28. MORENO, C.E.; BARRAGÁN, F.; PINEDA, E.; PAVÓN, N. 2011. Reanalyzing alpha diversity: alternatives to understand and compare information about ecological communities. Revista Mexicana de Biodiversidad. 82(1):1249-1261.
 29. MUÑOZ-GUERRERO, D.A. 2017. Transformaciones y prospectiva del paisaje en el páramo de Paja Blanca, Nariño, Colombia. Persp. Geog. 22(2):47-66.
<https://dx.doi.org/10.19053/01233769.7598>
 30. NÁRDIZ, P.M.; DE CAL, A. 2006. Biofungicidas y control biológico de hongos fitopatógenos: aplicación en la filofera. Phytoma España. 182:59-63.
 31. OGÓREK, R.; PLASKOWSK, E. 2011. *Epicoccum nigrum* for biocontrol agents *in vitro* of plant fungal pathogens. Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. 76(4):691-697.
 32. SALINAS, C.; FUENTES, L.S.; HERNÁNDEZ, L. 2013. Caracterización de los lepidópteros fitófagos asociados a la herbivoría de frailejones en la microcuena de la quebrada Calostros del Parque Nacional Natural Chingaza. Revista Mutis. 3(1):1-22.
<https://doi.org/10.21789/22561498.838>
 33. SANTOS, A.; ZANETTI, R.; ALMADO, R.P.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. 2012. First report and population changes of *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae) on *Eucalyptus* nurseries in Brazil. Fla. Entomol. 95(3):569-572.
<https://doi.org/10.1653/024.095.0305>

34. SCHWEIGKOFER, W.; OTROSINA, W.J.; SMITH, S.L.; CLUCK, D.R.; MAEDA, K.; PEAY, K.G.; GARBELOTTO, M. 2005. Detection and quantification of *Leptographium wageneri* the cause of black-stain root disease, from bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) in Northern California using regular and real-time PCR. *Can. J. For. Res.* 35(8):1798-1808.
<https://doi.org/10.1139/x05-077>
35. SHAMSHAD, A.; CLIFT, A.D.; MANSFIELD, S. 2009. The effect of tibia morphology on vector competency of mushroom sciarid flies. *J. Appl. Entomol.* 133(6):484-490.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2008.01362.x>
36. TACK, A.M.; DICKE, M. 2013. Plant pathogens structure arthropod communities across multiple spatial and temporal scales *Funct. Ecol.* 2013:633-645.
<https://doi.org/10.1111/1365-2435.12087>
37. TRIPLEHORN, C.H.; JOHNSON, N. 2004. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. 7th ed. Brooks/Cole, Ed. CA, United States. Cengage Learning, Inc. 888p.
38. ULYSHEN, M.D. 2016. Wood decomposition as influenced by invertebrates. *Biolog. Reviews.* 91(1):70-85.
<https://doi.org/10.1111/brv.12158>
39. VARELA, A. 2014. Limitantes en la restauración ecológica: Estudio de caso de las afectaciones por patógenos en el parque Nacional Natural Chinagaza. En: Cubides, P.J.; Ramírez, W.; Cabrera, M.; Aguilar-Garavito, M.; Fajardo-Gutiérrez, F.; Vargas, W. eds. 1st ed. Restauración ecológica de los páramos de Colombia, Transformación y herramientas para su conservación. 296p.
40. VÁSQUEZ-RAMÍREZ, L.; CASTAÑO-ZAPATA, J. 2017. Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.) W.C. Snyder & H.N. Hansen]: una revisión. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 20(2):363-374.
<https://doi.org/10.31910/rudca.v20.n2.2017.394>
41. VILLA-MARTÍNEZ, A.; PÉREZ-LEAL, R.; MORALES-MORALES, H.A.; BASURTO-SOTELO, M.; SOTO-PARRA, J.M.; MARTÍNEZ-ESCUADERO, E. 2015. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica.* 64(2):194-205.
<https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
42. WHITE, T.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A.; Gelfand, D.H.; Sninsky, J.J.; White, T.J. (eds.). PCR Protocols. A guide to methods and applications. Academic Press. London, England. p.315-322.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>