

TRASMISIÓN DE *Erwinia* sp. POR *Loxa* sp. Y *Hypothenemus* sp. Y POSIBILIDAD DE CONTROLAR EL HETEROPTERO CON *Beauveria bassiana*

O. Alonso, A. Delgado y N. Martínez ¹

Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"
Matanzas, Cuba

¹ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Matanzas, Cuba

Se desarrolló un experimento para determinar si *Loxa* sp. (Heteroptera: *Pentatomidae*) y *Hypothenemus* sp. (Coleoptera: *Seolytidae*) constituían vectores de la bacteria *Erwinia* sp. y además si el heteróptero podía ser parasitado por *Beauveria bassiana*. Se colectaron 30 pentatómidos y 10 escolítidos, los cuales se sometieron a pruebas de laboratorio. En la primera parte de estas, a un grupo de los adultos de *Loxa* sp. y a los escolítidos se les probó su carácter de vectores de *Erwinia* sp., en la segunda parte se utilizó el resto de los heterópteros, donde un grupo de estos insectos fueron inoculados con el entomopatógeno *B. bassiana* Cepa F-32 reproducido en medio líquido y el resto con el mismo hongo, pero reproducido en medio sólido. Del contenido interno de *Loxa* sp. y del macerado de los escolítidos se aislaron las colonias típicas de *Erwinia* sp. y en la prueba de parasitismo se produjo la emisión del micelio característico de *B. bassiana* sobre las ninfas y adultos de *Loxa* sp. Se obtuvo un 87,5 y 100% de efectividad con el hongo reproducido en medio líquido y sólido respectivamente, a los 3 días de inoculados los insectos. *Loxa* sp. y *Hypothenemus* sp. constituyen potenciales vectores de *Erwinia* sp.; además, el heteróptero es un hospedante de *B. bassiana* y el entomopatógeno reproducido en medio sólido logró la más pronta mortalidad sobre *Loxa* sp.

Palabras claves: *Leucaena leucocephala*, *Erwinia* sp., *Loxa* sp., *Hypothenemus* sp., control biológico

An experiment was conducted in order to determine if *Loxa* sp. (Heteroptera: *Pentatomidae*) and *Hypothenemus* sp. (Coleoptera: *Seolytidae*) were the principal agents for the spread of the *Erwinia* sp. and to confirm if *Loxa* sp. could be parasited by *Beauveria bassiana*. Thirty green bugs and ten beetles were collected and laboratory tests were conducted. A group of *Loxa* sp. adults and the beetles were proved to be *Erwinia* sp. vectors during a first analysis. The resting insects were used in a second analysis and a group of them were inoculated with the entomopathogenic strain F-32 (*B. bassiana*) reproduced in a liquid medium, the other were also inoculated with that strain but under a solid medium. Typical *Erwinia* sp. colonies were found in the bacteriological sowing of the internal content of *Loxa* sp. and beetles maceration. The emission of the characteristic mycelium of *B. bassiana* upon nymphs and adults of *Loxa* sp. was produced in the parasitism test, 87,5% (liquid medium) and 100% (solid medium) of effectiveness from the fungus were obtained 3 days after insect inoculation. *Loxa* sp. was a *B. bassiana* host. Either *Loxa* sp. or *Hypothenemus* sp. were *Erwinia* sp. vectors potentially considered. A sooner mortality of the entomopathogen produced in a solid medium upon *Loxa* sp. has been recorded.

Additional index words: *Leucaena leucocephala*, *Erwinia* sp., *Loxa* sp., *Hypothenemus* sp., biological control

Las plagas y enfermedades, a través de los años, han sido una preocupante de primer orden en la agricultura mundial y más en los momentos actuales en que todos los países poseen una sola alternativa: salvar la ecología y la economía o perecer en la contaminación y la miseria.

Para ello, el hombre se ha dado a la tarea de buscar nuevos métodos más económicos y de fácil utilización en la agricultura, entre los cuales el control biológico y específicamente el uso de entomopatógenos, es uno de los elementos más usados para causar una mortalidad significativa sobre los insectos plagas.

Los insectos plagas, en ocasiones, son más dañinos por las consecuencias secundarias que originan que por su propio daño primario sobre la planta: ejemplo de esto lo constituye la transmisión de enfermedades por insectos, entre los que se pueden citar *Nephotettix nigropictus*, que transmite el virus amarillento transitorio del arroz (Takahashi, Omura, Hayashi, Shohara y Tsuchizaki, 1988) y *Laodelphax striatellus*, que es trasmisor del virus rayado del arroz (Omura, Hibino y Usugi, 1984).

Leucaena leucocephala, planta ampliamente distribuida en la ganadería de Cuba, es afectada por una enfermedad bacteriana caracterizada por Delgado, Martínez y Rodríguez (1989) cuyo agente causal resultó *Erwinia* sp., a la que encontraron asociados ninfas y adultos de la familia *Pentatomidae* (orden Heteroptera) que succionaban savia de las legumbres jóvenes, así como insectos del orden Coleoptera (familia *Scolytidae*) que se alimentaban de las semillas.

De acuerdo con dichos antecedentes, esta experiencia tuvo como objetivo determinar si el heteróptero y el coleóptero constituían vectores de *Erwinia* sp. y comprobar además si el

primero es un posible hospedante de *Beauveria bassiana* para su control.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la determinación de la chinche hedionda como vector de *Erwinia* sp. se tomaron 16 insectos adultos, a los cuales, después de muertos y desinfestados con hipoclorito de sodio al 1% durante 3 minutos y posteriormente enjuagados con agua destilada estéril, se les realizó un corte longitudinal desde el aparato bucal hasta el tórax por la parte ventral de donde se extrajo el contenido interno; todo esto se realizó bajo un microscopio-estereoscopio, con la ayuda de una pinza y un escarpelo.

Este contenido fue macerado en agua destilada estéril y sembrado por estrías sobre agar nutriente en placas Petri, las que se incubaron a 27°C (+1°C). Las colonias obtenidas a las 72 horas fueron pasadas a tubos con cuñas de agar nutriente e incubadas a igual temperatura. De los aislamientos con 24 horas de crecimiento, se hizo una suspensión de esporas con agua estéril a una concentración de 10^8 ufc/ml, la cual fue inoculada en plántulas y legumbres de leucaena y en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) var. Corajo como planta indicadora.

Las plántulas de leucaena antes de ser inoculadas se mantuvieron en cámara húmeda durante 24 horas, utilizando para ello sobres de nylon. Pasado este tiempo, las posturas fueron asperjadas con la suspensión bacteriana, empleando un atomizador manual; a la plántula testigo solo se le aplicó el diluyente empleado (agua). En las legumbres la suspensión fue inoculada por punción sobre las semillas y en las hojas de tabaco fue infiltrada internervialmente con jeringuilla hipodérmica, con el fin de estudiar la reacción de hipersensibilidad. Este material inoculado fue incubado en

cámara húmeda (Klement y Goodman, 1967), excepto la planta de tabaco.

A las cepas que resultaron patógenas se les realizó pruebas morfológicas, culturales, fisiológicas y bioquímicas, según se describe a continuación:

- a) Tinción de Gram, modificación de Hucker (Harrigan y McCance, 1976?).
- b) Metabolismo oxidativo-fermentativo de la glucosa (OF) (Haymard, 1964).
- c) Reacción de oxidasa (Steel, 1961).
- d) Producción de pigmentos en medio B de King (King, Ward y Rancy, 1954).
- e) Presencia de nitrato reductasa, degradación de pectato, utilización de malanato, tartrato de sodio y producción de catalasa (Dye, 1969).

Con los escolítidos que se alimentaban de las semillas de leucaena, se procedió de igual forma que con el pentatómido para su determinación como vector de la nombrada enfermedad, con la única diferencia de que se maceraron íntegramente los adultos, debido a su pequeño tamaño.

Para cumplimentar la segunda parte del experimento se tomaron otros 14 insectos del orden Heteroptera (8 adultos y 6 ninfas); la mitad de cada estado fue inoculada con *B. bassiana* Cepa F-32 reproducido en medio líquido y los restantes con el mismo hongo reproducido en medio sólido. En ambos casos los insectos prueba se hicieron caminar sobre los productos para ponerlos en contacto con las esporas del hongo. Posteriormente se pasaron a campanas de cristal con respiraderos y alimento fresco que se cambió diariamente (legumbres). Su comportamiento se observó cada 24 horas hasta que murieron todos los individuos. Cuando se producía la muerte de estas chinches hediondas, se colocaban en cámara húmeda con el propósito de

verificar si se desarrollaba sobre su cuerpo el micelio característico del entomopatógeno probado.

RESULTADOS

De acuerdo con las pruebas realizadas, fue posible determinar que los vectores de la enfermedad bacteriana producida por *Erwinia* sp. son individuos de los géneros *Loxa* y *Hypothenemus*.

En la siembra bacteriológica sobre agar nutriente, a las 72 horas se observaron colonias pequeñas de color crema amarillento, brillantes, translúcidas, elevadas y de bordes enteros, las cuales después de suspendidas y al ser inoculadas sobre las plántulas de leucaena, produjeron manchas oscuras irregulares en las hojas cotiledonales, así como pequeñas úlceras pardo-oscuras sobre las semillas y tejidos adyacentes en las legumbres. En la planta de tabaco provocaron tejidos acuosos entre las 6 y 8 horas en las zonas de la infiltración y necrosis a las 24 horas de haberse realizado esta.

Después de realizar la prueba de hipersensibilidad y caracterizar cultural, morfológica, fisiológica y bioquímicamente los aislamientos (tabla 1), se obtuvo como resultado que la bacteria presente en el contenido interno de *Loxa* sp. y en el macerado de *Hypothenemus* sp. es del género *Erwinia*.

De los escolítidos se aisló la bacteria antes mencionada, con idénticas características según las pruebas de caracterización.

En la prueba de parasitismo se produjo la emisión del micelio típico de la muscardina blanca (*B. bassiana*) sobre ninfas y los adultos de *Loxa* sp. (figs. 1 y 2) y se observaron al microscopio los conidios hialinos, redondeados y globosos del hongo.

De esta prueba se obtuvo que el hongo reproducido en medio sólido fue el que provocó la más pronta mortalidad

sobre los insectos en general (ninfas y adultos) y se notó una ligera diferencia con el reproducido en medio líquido (fig. 3).

Tabla 1. Resultados de las pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas.

Test utilizado	Reacción
<i>Prueba morfológica</i>	
a) Reacción al Gram	-
<i>Pruebas fisiológicas</i>	
b) Utilización de:	
Tartrato de sodio	+
Malanato de sodio	+
<i>Pruebas bioquímicas</i>	
c) Metabolismo oxidativo-	
fermentativo de la glucosa	F*
d) Reacción de oxidasa	-
e) Producción de pigmentos en medio B de King	-
f) Producción de:	
Nitrato reductasa	+
Protopectinasa	-
Catalasa	+

* Fermentativo

DISCUSIÓN

Según la descripción del género *Loxa* realizada por Zayas (1988), sus individuos poseen un cuerpo ancho, de color verde, con escutelo en forma de triángulo; presentan escápulas, fémures en el ápice por arriba con una pequeña espina, y además expelen un olor nauseabundo cuando son molestados, elementos distintivos que se corresponden con los del insecto del orden Heteroptera que se encontró en este experimento. En el caso del coleóptero que se halló también asociado a la enfer-

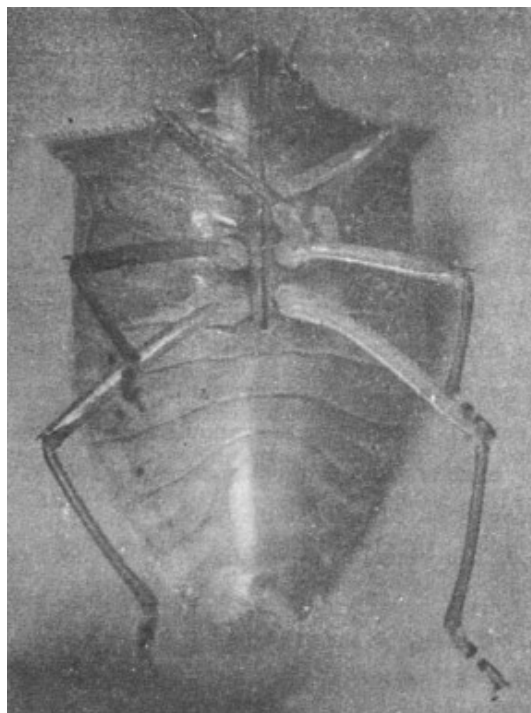


Fig. 1. Adulto de *Loxa* sp. recién colocado en cámara húmeda.



Fig. 2. Adulto de *Loxa* sp. a las 72 h de colocado en cámara húmeda.

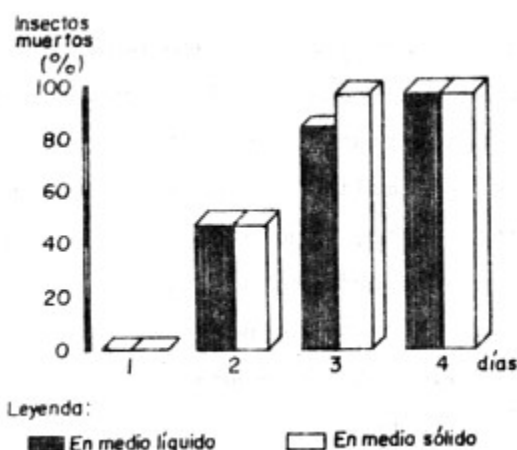


Fig. 3. Efecto de *B. bassiana* reproducido sobre diferentes medios en el control de *Loxa* sp.

medad bacteriana citada por Delgado *et al.* (1989), presentó las siguientes características diferenciales: cuerpo elipsoidal, color pardo-negruzco y antenas geniculadas, las cuales se corresponden con las del género *Hypothenemus* y coinciden con lo informado por Vázquez (1987).

Leucaena leucocephala, planta de alto valor alimenticio, se ha visto en los últimos años afectada en su producción de semillas por la bacteria *Erwinia* sp., aspecto comprobado por Delgado *et al.* (1989), quienes obtuvieron un 75% de infestación del área total muestreada, entre un 36 y 56% de las legumbres cosechadas y del 17 al 49% de las semillas en los frutos enfermos, dichos elementos se tomaron en consideración para realizar esta prueba con los vectores como una consecutividad al trabajo citado anteriormente.

En otra investigación (Lenne, 1980) se supuso que un heteróptero de la familia *Pentatomidae*, con su acción mecánica sobre las legumbres de leucaena, era quien transmitía *Pseudomonas fluorescens* Biotipo II, la cual causa la pudrición en las legumbres de dicha planta. Esto posee cierta similitud

con lo obtenido en el presente trabajo, pero con la bacteria *Erwinia* sp.

El hallazgo de una alta parasitación de *Loxa* sp. con la muscardina blanca constituye un aspecto de relevante connotación en el campo del control biológico, si se tiene en cuenta que dicho entomopatógeno posee un amplio rango de hospedantes, pero fundamentalmente sobre los órdenes Coleoptera y Lepidoptera. En este caso particular se determinó por primera vez la posibilidad de su empleo para el control de un heteróptero en una leguminosa arbustiva, lo que implica una esperanza potencial de abrir un nuevo campo de lucha en la protección de los pastos, sobre todo en los momentos actuales en que existe una gran escasez de plaguicidas.

Con este resultado se reafirma además la acción de *B. bassiana* sobre los heterópteros, como es el caso de *Blissus leucopterus* que, según DeBach (1977), está sujeto a un ataque natural de dicho entomopatógeno, el cual es uno de los más utilizados en la lucha biológica. El uso eficiente de este método contribuye a garantizar una mayor disponibilidad de semillas, así como a la conservación del medio ambiente.

Es importante destacar que en esta prueba, según se observa en la figura 3, se obtuvo un efecto de *B. bassiana* en un rango comprendido entre 87,5 y 100%, con la cepa F-32 a los 3 días, comparado con el 93% de efectividad detectado por Jiménez y Fernández (1980) cuando utilizaron ese mismo hongo, pero con la cepa 24, contra el picudo verde azul de los cítricos (*Pachnaeus litus*) al cabo del mismo período de tiempo.

También resulta de gran significación e importancia el hecho de obtener altos valores de parasitismo sobre las ninfas, que sobrepasaron el 50% al cabo de las 48 horas, fenómeno que puede ser causado por las bajas concentraciones de quitina en este orden, menores en las ninfas, lo que de hecho las hace más

susceptibles; en los adultos hubo una respuesta satisfactoria a las 72 horas, elementos a tener presentes para el futuro control de este insecto en pruebas de campo.

Aunque con *Hypothenemus* sp. no se realizó la prueba de parasitismo con el entomopatógeno utilizado, existe referencia de que otro insecto plaga de ese mismo género, *Hypothenemus hampei* (la broca del café), constituye un hospedante de *B. bassiana* (Monterroso, 1981). Ello indica la posibilidad de que dicho agente microbiano controle también esta plaga en leucaena, aspecto que debe ser estudiado con posterioridad.

De acuerdo con los resultados de esta investigación, se concluye que la bacteria *Erwinia* sp. se encuentra presente en el contenido interno de *Loxa* sp. y en el macerado de *Hypothenemus* sp., lo que indica que dichos insectos son potenciales vectores de la enfermedad conocida como gomosis bacteriana, presente en las legumbres y semillas de *L. leucocephala*. Por otra parte, fue evidente que *Loxa* sp. es un hospedante de *B. bassiana* y que este entomopatógeno reproducido en medio sólido logró la más pronta mortalidad del insecto, comparado con el mismo hongo reproducido en medio líquido. Se sugiere continuar los estudios de efectividad con el empleo de *B. bassiana* reproducido en ambos medios, con énfasis particular en el reproducido en medio sólido, para

corroborar su acción sobre *Loxa* sp. en condiciones de campo.

REFERENCIAS

- DeBACH, P. 1977. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Edición Revolucionaria, La Habana. 949 p.
- DELGADO, A.; MARTÍNEZ, N. & RODRÍGUEZ, BERTA. 1989. **Pastos y Forrajes**. 12:127
- DYE, D.W. 1969. **N.Z.J. Sci.** 12:81
- HARRIGAN, W.F. & McCANCE, M.E. 1976?. Métodos de laboratorio en microbiología de alimentos y productos lácteos. Editorial Academia, León, España. 420 p.
- HAYMARD, A.C. 1964. **J. Appl. Bacteriol.** 27:265
- JIMÉNEZ, R. & FERNANDEZ, ROSA. 1980. **Ciencia y Técnica en la Agricultura. Serie Protección de Plantas**. 3:75
- KING, E.O.; WARD, M.K. & RANCY, D.E. 1954. **Journal Laboratory Clinical Medicine**. 44:301
- KLEMENT, Z. & GOODMAN, R. 1967. **Annual Review of Phytopathology**. 5:17
- LENNE, J.M. 1980. **Plant Diseases**. 64:414
- MONTERROSO, J.L. 1981. **Revista cafetalera mensual (ANACAFE)**. 6:10
- OMURA, T.; HIBINO, H. & USUGI, T. 1984. **Plant Diseases**. 68:374

STEEL, K.J. 1961. **J. Gen. Microb.** 21:297

TAKAHASHI, Y.; OMURA, T.; HAYASHI, T.;
SHOHARA, K. & TSUCHIZAKI, T.
1988. **Annals of the Phyto-
pathological Society of Japan.**
54:217

VÁZQUEZ, L.L. 1987. Breve introducción al
conocimiento de los escolítidos de
Cuba. Inst. de Invest. de Sanidad
Vegetal, MINAGRI. La Habana, Cuba.
14 p. (Mimeo)

ZAYAS, F. de. 1988. Entomofauna cubana.
Editorial Científico-Técnica. La
Habana. Tomo VII. 261 p.

Recibido el 27 de octubre de 1992