

Informe Técnico

Actividad: Identificación de agentes de control biológico del chinche de la viruela *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae).

Barba, A¹., Hernández, R²., y González, A³

Resumen

El estudio se llevó a cabo en dos localidades de la provincia de Herrera, con alta infestación del Chinche subterráneo, en cultivo de yuca, durante años 2007 – 2008, ámbito agroecológico bosque seco tropical. Se recolectaron 1678 muestras de insecto, que estuvieran micosados o con síntomas de infección por hongos. Las muestras trasladadas al laboratorio de protección Vegetal del CIAD, del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá., para su aislamiento e identificación morfológica. Se identifican hongos entomopatógenos en muestras de insectos recolectadas en Llanos de Ocu. El 12.87 % de los aislados, corresponden a hongos registrados como entomopatógenos (1.98 %), perteneciente al género *Metarhizium* sp y el resto *Fusarium* sp (10.89 %). Adicional a esto se cuenta con aislados de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium* sp, para posterior análisis molecular PCR. La identificación de agentes entomopatógenos nativos constituye un hallazgo importante para la incorporación del control biológico en plan de Manejo Integrado de la plaga.

Palabras claves: Control biológico; *Cyrtomenus bergi*

Abstract

The study was carried out in two localities of the province of Herrera, with high infestation of the subterranean Chinche, in cassava cultivation, for years 2007 - 2008, agroecological environment tropical dry forest. A total of 1678 insect samples were collected, which were infected or with symptoms of fungal infection. Samples transferred to the Plant Protection Laboratory of the CIAD, of the Agricultural Research Institute of Panama, for their isolation and morphological identification. Entomopathogenic fungi are identified in insect samples collected in Llanos de Ocu. 12.87% of the isolates correspond to fungi registered as entomopathogens (1.98%), belonging to the genus *Metarhizium* sp and the rest *Fusarium* sp (10.89%). In addition, there are isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium* sp, for subsequent molecular analysis PCR. The identification of native entomopathogenic agents constitutes an

¹ Entomólogo. Centro de Investigación Agropecuaria Central – Divisa. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. anovelbarba@idiap.gob.pa

² Ingeniero Agronomo Fitotecnista. Sub Centro de Ocu. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá.

³ Técnico Agropecuario. Centro de Investigación Agropecuaria Central – Divisa. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá.

important finding for the incorporation of biological control in the Integrated Management Plan of the pest.

Keywords⁴: Biologic control, *Cyrtomenus bergi*

Introducción

El chinche de la viruela *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) es una especie polífaga, que afecta cultivos de importancia económica (García y Bellotti.1980; Riis y Bellotti 2005). En Panamá, fue encontrando afectando cultivo de yuca de la variedad brasileña en 1983, en Ocú, causando pérdida en yuca de más del 70%. Después se reportó en los cultivos de maní, rábano y cebollina, en el Valle de Antón, provincia de Coclé (Aguilar, 2003).

Estudios realizados de dinámica de población muestran que el período de mayor precipitación favorece al aumento de la población de *C. bergi*, registrándose niveles máximos de 2 a 3 chinches por planta (Aguilar, 2003). El crecimiento poblacional óptimo de la especie resulta ser de 26 °C (temperatura constante), alrededor del 31 ° C, no hay eclosión de huevos, ni paso a adulto desde el quinto estado ninfal (Riis, 1997).

El daño lo causan las ninfas y adultos al introducir su estilete en la epidermis y corteza de la raíz, permitiendo la entrada de microorganismos del suelo, los cuales deterioran y afectan la calidad de la yuca. La degradación del tejido aparece 12 a 24 horas después de iniciada la alimentación y sólo se detecta cuando las raíces son cosechadas y peladas (Riis, 1994).

En yuca dulce el daño ha alcanzado el 70 – 80 % de raíces infestadas reduciendo el contenido de almidón hasta el 55 % (Riis, 1994, Riis, 1997). Los chinches tienen mayor preferencia por las variedades dulces (bajo contenido de cianuro en las raíces), que las yucas amargas, se considera el cianuro un factor de resistencia (Riis, 1994, Riis et al. 1994).

En Panamá, se han evaluado diferentes alternativas para el control del chinche: variedades tolerantes, plantas repelentes, químicas y biológicas (Aguilar, 2003), sin resultados concluyentes hasta el momento. El propósito de la investigación es identificar agentes biocontroladores para el control biológico de *C. bergi*, para el desarrollo futuro de un producto comercial disponible

para los productores, que puedan ser incorporados en plan de manejo integrado de la plaga en cultivo de yuca orgánica.

Materiales y Métodos

Se realizó una bioprospección en parcelas de productores, las cuales estuvieron localizadas en la localidad de Los Llano y Llano Grande, en la provincia de Herrera. El esfuerzo de búsqueda se concentró en cultivos comerciales yuca con altas infestaciones del chinche, localizados en la provincia de Herrera.

La obtención de muestra, consistió en la toma de insectos en cualquiera de sus estadios (ninfas. adulto), que estuvieran micosados o con síntomas de infección por hongos. Se anotó los datos generales de la muestra: el tipo de cultivo, lugar de procedencia, la fecha de muestreo. Se obtuvieron las coordenadas geográficas de los lugares de muestreo utilizando un navegador GPS Garmin Etrex Legend, para complementar los resultados obtenidos. Todo el material biológico recolectado en campo, fue trasladado al laboratorio de Protección Vegetal del CIAC, Divisa.

En el laboratorio las muestras colocadas en cámaras húmedas y puestas a incubar a 26°C durante 7 días, hasta observar el desarrollo y esporulación del hongo sobre el insecto. También se recolectaron insectos con abundante crecimiento fúngico. En estos casos se omitió la incubación en cámara húmeda. Los aislados se cultivaron en papa dextrosa agar (PDA) (Sigma) modificado con 5 g de peptona, 5 g de extracto de levadura, 1 % de cloranfenicol, y 1 ml/100 ml de ácido láctico y mantenido en una incubadora a 25 ° C con un fotoperiodo de 12:12 h. Los insectos micosados fueron extraídos de la cámara húmeda y con la ayuda de un estereoscopio Motic SMZ-168 y un asa bacteriológica, se extrajo de forma cuidadosa una porción del hongo que crecía sobre el insecto. Se dejó incubar a 26°C durante 7 días. Cada plato petri fue revisado diariamente para descartar, a tiempo, posibles contaminantes, garantizando así el crecimiento y obtención del hongo puro. Cuando se encontró contaminación bacteriana, se repicó el borde de la colonia y se sembró en otro plato petri con PDA. Así se obtuvieron cepas masales de los hongos. Por último, se hizo diluciones seriadas (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) de los aislados. De la dilución más baja, se inocularon 100 μ l en platos con PDA, posteriormente, se esparció el inóculo de forma homogénea por el plato petri, con una espátula Digralsky. Se dejó incubar por 1 día, con el fin de que germinaran las esporas. Con el estereoscopio se observó si había diferencias en la forma de las colonias en crecimiento. Las de aspecto diferente se sembraron en platos diferentes y se les consideró cepas diferentes del mismo hongo. Una vez que se obtuvo cepas,

con un patrón uniforme de crecimiento en ambas caras, se procedió a realizar la caracterización macroscópica y microscópica, para su identificación a nivel de género.

Caracterización macroscópica

Para la caracterización macroscópica de cepas, se observó el crecimiento de las colonias 7 y 14 días después de la siembra. Se anotó las características como: el tamaño de la colonia, la forma, el margen, altura, pigmentación en el haz y en el envés de la colonia. Para la descripción de las características de la colonia, se tomó como referencia la descripción hecha por (Crous et al., 2009). Para la caracterización microscópica se utilizó la técnica de microcultivo en un portaobjetos (Deacon, 1993). Se dejó incubar a 26°C por 7 días. Una vez pasado el período de incubación, se abrió la cámara húmeda y se retiró con suavidad el cubreobjetos, en el cual ya había crecido el hongo. Posterior a la caracterización microscópica, se identificó las cepas aisladas a nivel de género, utilizando la clave de identificación de Barnett y Hunter (1998).

Para la conservación de las cepas, se utilizó tres métodos: 1) conservación en tubos de PDA inclinado con glicerina, 2) conservación en tiras de papel filtro estéril y 3) conservación en sílica gel.

Resultado y Discusión

Se recolectaron 1678 muestras de insectos, micosados o con síntomas de infección por hongos. Se identifican hongos entomopatógenos en muestras de insectos recolectadas en Llanos de Ocú. El 12.87 % de los aislados corresponden a hongos registrados como entomopatógenos, fueron identificados morfológicamente como *Metarhizium* sp (1.98 %) y el resto *Fusarium* sp (10.89 %). Este hallazgo constituye los primeros registros, sobre *Cyrtomenus bergi* en Panamá., los insectos fueron depositados en la colección de aislados del CIAD – Divisa. El hongo *Metarhizium* sp, es un importante agente biocontrolador de *C. bergi* (Jaramillo et al, 2006, Jaramillo & Borgemeister,2006). La descripción macroscópica y microscópica de los aislados se presenta en Tabla 1 y Figura 1 y 2.

Tabla 1. Características macroscópicas y microscópicas de las cepas de *Fusarium* sp., aisladas de insectos *Cyrtomenus bergi*.

Código de Aislado	Género	Características Macro y Microscópica
CbOc071002	<i>Fusarium</i> sp	Colonia de crecimiento rápido, después de 7 días, de forma redonda, con margen regular, sin elevación o plana, de color blanco con un anillo

		concéntrico en el haz y color crema en el envés, diámetro de colonia de 78 mm (Figura 1 a y 1b).
CbOc071003	<i>Metarhizium</i> sp	Colonia de crecimiento lento, después de 7 días, de forma redonda, margen regular, sin elevación o plana, de color amarillo con margen blanco en el haz y color amarillo en envés, diámetro de colonia de 19 mm. Pasados 14 días, mantiene forma redonda, micelio blanco con anillo concéntrico verde y centro amarillo en el haz y color amarillo en el envés, diámetro de colonia de 36 mm. (Figura 2 a y 2 b, anexos).

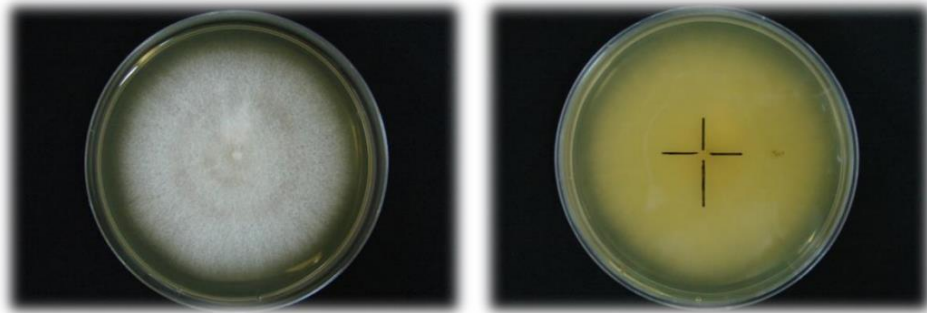


Figura 1. Fotografía de una colonia de la cepa CbOc071002 de *Fusarium* sp., en PDA, después de 7 días de incubación. (a) Haz de la colonia. (b) Envés de la colonia.

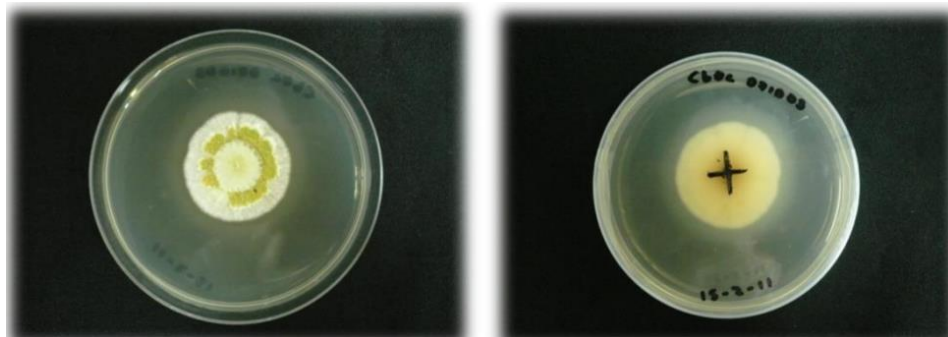


Figura 2. Fotografía de una colonia de la cepa CbOc071003 de *Metarhizium* sp., en PDA, después de 14 días de incubación. (a) Haz de la colonia. (b) Envés de la colonia.

Estos nuevos aislamientos, integra a el resto de los aislados, producto de la actividad de aislamiento en identificación y evaluación de cepas nativas de hongos entomopatógenos para el control de insectos picadores chupadores, donde se cuentan con aislados de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces sp.*, lo cuales han iniciados los trabajos de identificación PCR y secuenciación aislados.

Bibliografía

Aguilar, (2003). Estrategias para el Manejo Integrado del Chinche Subterráneo *Cyrtomenus bergi*, Froeschner. http://webapp.ciat.cgiar.org/ipm/pdfs/plegable_idiap.pdf

Barnett, H., Hunter, B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4 ed. Miniepolis, US. Burgerss Publishing Company. 225 p

Crous. P.; et al. 2009. CBS laboratory manual series 1: Fungal biodiversity. Utrecht, NL, Fungal Biodiversity Centre. 270 p.

Deacon J. 1993. Introducción a la micología moderna. Trad. Jiménez J.; Ed. Cifuentes J. 2 ed. México, MX. Editorial LIMUSA, S.A. de C.V. 350 p.

García, C.A. & Bellotti, A.C. (1980). Estudio preliminar de la biología y morfología de *Cyrtomenus bergi* F. Nueva plaga de la yuca. Revista Colombiana de Entomología. 6(3-4), 55-61.

Jaramillo, J., & Borgemeister, C. (2006). New bioassay method to assess the pathogenicity of Colombian strains of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin and *Paecilomyces sp.* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). Journal of Invertebrate Pathology, 91 (1), 57-60. <http://doi.org>

Jaramillo, J., Borgemeister, C., Ebssa, L., Gaigl, A., Tobón, R., Zimmermann, G. (2005). Effect of combined applications of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain CIAT 224 and diVerent dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). *Biological Control*, 34, 12-20. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964405000745>

Riis L., Bellotti A. C., A. B. (2005). Bionomics and Population Growth Statistics of *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae) on Different Host Plants. *Entomologist*, 88(1):1-10.

Riis, L. 1994. El Chinche de la viruela (*Cyrtomenus bergi* Froeschner), una plaga subterránea en varios cultivos sin método de control definido. CIAT, Colombia. 7 p.

Riis, L. 1997. Behavior and Population Growth of the Burrower Bug, *Cyrtomenus bergi* Froeschner: Effects of Host Plants and Abiotic Factors. Thesis, PhD. Department of Ecology and Molecular Biology, Royal Veterinary and Agricultural University Copenhagen, Denmark. 167 p.

Riis, L., Bellotti, A., Vargas, O. 1994. The response of a polyphagous pest (*Cyrtomenus bergi* Froeschner) to cassava cultivar with variable HCN content in root parenchyma and peel. 501 – 509p. Proceedings of the second international scientific meeting, Bogor, Indonesia, 22 – 26 august 1994. The Cassava Biotechnology Network. Working Document N° 150. 870 p.

Riis, L. 1994. El chinche de la viruela (*Cyrtomenus bergi* Froeschner), una plaga subterránea en varios cultivos sin método de control definido. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali, Colombia. Folleto. 12 p