

UNA NUEVA ESPECIE DE NEMATODO ASOCIADO AL CHINCHE SUBTERRÁNEO DE LA VIRUELA *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera : Cydnidae) EN COLOMBIA



A.M. CAICEDO^a, P. A. CALATAYUD^{ab}, A.C. BELLOTTI^b & S.P. STOCK^c

^aCentro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), A.A. 6713, Cali, Colombia

^bInstitut de Recherche pour le Développement (IRD)/International Center for Insect Physiology and Ecology (ICIPE), PO Box 30772, Nairobi, Kenya

^cUniversity of Arizona, 1140 E. South Campus Dr., Tucson, AZ 85721-0036, USA



INTRODUCCIÓN

Cyrtomenus bergi Froeschner (Fig. 1A) es considerado una de las principales plagas del suelo de numerosos cultivos en Colombia y varios países tropicales. El aislamiento de enemigos naturales con potencial para su control ha sido una de las metas durante los últimos años como una alternativa para reducir el uso excesivo de plaguicidas químicos (Bellotti, 2002).

C. bergi se alimenta de raíces, tubérculos y frutos subterráneos (Ej. mani) de las plantas hospederas. Sólo en yuca el daño ha sido caracterizado, tanto adultos como las ninfas insertan su estilite en la epidermis y corteza de la raíz de la yuca dejando lesiones en el parénquima que facilita la entrada de patógenos del suelo tales como *Fusarium*, *Aspergillus*, *Genicaria* y *Pythium* (Bellotti, 2002).



Fig. 1A: Adultos y ninfas de *C. bergi*



Fig. 1B: Raíces de yuca con daño

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento y reproducción de nematodos

Durante el año de 1992 se realizó el primer reconocimiento de nematodos nativos asociados a *C. bergi* en ocho localidades de Colombia (Caicedo y Bellotti, 1996). En el año 2000, se realizó un reasamiento de nematodos de las muestras de suelo de Santander de Quilichao, (Cauca, Colombia) usando *Galleria mellonella* L. como insecto trampa (Kaya & Stock, 1997). Los nematodos recuperados fueron reproducidos in vivo y en medio sólido y evaluados sobre todos los estados de *C. bergi* bajo condiciones de laboratorio (Barberena y Bellotti, 1998).

Caracterización morfológica

Se realizaron observaciones de especímenes de cada estado, adultos y juveniles infectivos, IJ, vivos y muertos con un microscopio de contraste de fases. Las medidas fueron tomadas usando Scion software de imágenes (Frederick, Maryland, USA) calibrado con un micrómetro.

Caracterización molecular y análisis filogenético

El análisis molecular se realizó mediante la secuenciación de pequeñas unidades de ADN ribosomal (18S rDNA). Muestras de 10-50 especímenes fueron usados para la extracción de ADN, el cual fue cuantificado por espectrofotometría y 100-200 ng fueron usados para PCR. Secuencias de otros tres Rhabditidae: *R. myriophila* Poinar, *R. blumi* y *C. elegans* fueron recuperados de GenBank usando la opción BLAST.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfológica

Una nueva especie de nematodo fue aislada e identificada de muestras de suelo y de especímenes adultos y ninfas de *C. bergi* de Santander de Quilichao, Cauca. Este nematodo, perteneciente al género *Rhabditis*, grupo *Insectivora*, presenta una asociación necroménica con este insecto. La misma especie había sido identificada anteriormente como una raza de la especie *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar.

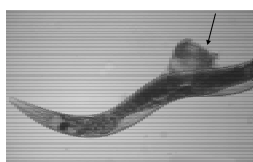


Fig. 1. Hembra, mostrando tampón incubatriz mucoso (flecha)



Fig. 2. Extremo anterior de la hembra mostrando típico estoma Rhabditidae

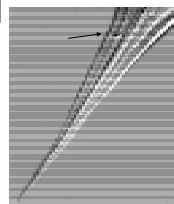


Fig. 3. Cola de la hembra mostrando anfidios (flecha)



Fig. 4. Huevos no eclosionados



Fig. 5. Agrupación de juveniles infectivos (IJ)

Descripción

Adultos: Los adultos presentan cutícula lisa, con un grosor de 1µm, con puntos finos que forman estrías longitudinales y transversales. Seis labios conectados por una sensillia terminal. Región labial 7-9 µm. Anfídios conspicuos con abertura elíptica (Fig. 1). Estoma largo y estrecho, 5-6 veces más largo que ancho (Fig. 2). Corpus cilíndrico, 48-55% de la faringe. Bulbo medio no bien definido. Istmus a 20-24% de la faringe. Bulbo basal piriforme, con válvula bien desarrollada, a 15-17% de la faringe. Poro excretor localizado posterior al anillo nervioso y al nivel del bulbo basal. Anillo nervioso localizado en la mitad del istmus. Fasmidos conspicuos (Fig. 3).

Hembras hermafroditas: Vulva con apertura transversa, en las hermafroditas jóvenes ligeramente protuberante y labios simétricos (Fig. 1). Número de huevos presentes por útero menor que en otras especies de *Rhabditis* (Fig. 4). Longitud del rectum, cerca de 1.5 veces del ancho del cuerpo anal. Los labios anales no protuberantes. Cola cónica y terminando simétricamente en una punta fina (Fig. 3)

Juveniles infectivos (Fig. 5): Tercer estado con la cutícula del estado anterior, no fuertemente adherida. Cuerpo delgado, gradualmente estrecho de la faringe a la parte final y del anus hasta la punta. Región labial lisa, boca cerrada, estoma 5 veces más largo que ancho. Istmus largo y estrecho. Bulbo basal con válvulas. Anillo nervioso en el mismo nivel del istmus. Poro excretor cerca de la mitad de la faringe. Cola conoide con punta terminal.

Machos: Con gónadas monórquicas, situadas a la izquierda del intestino. Bursa abierta del tipo peloderan con una parte pequeña de la cola que sobresale de la bursa, el velo en la parte terminal en forma de V (Figs. 6-7). Nueve pares de rayas bursales, tres pares precloacales, tres adcloacales y tres post cloacales. Espículas delgadas con puntas en forma de aguja de crochet, con la punta proximal curvada hacia afuera (Fig. 8).



Fig. 6. Cola del macho. Vista lateral

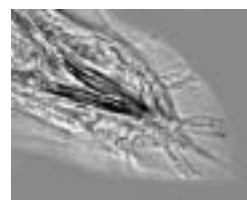


Fig. 7. Cola del macho. Vista ventral



Fig. 8. Espícula del macho. Vista lateral

Diagnosis diferencial

Rhabditis sp. n. sp. comparte varias características morfológicas con otras especies del grupo *Insectivora* tales como la carencia de un bulbo medio en la faringe bien desarrollado, rectum extremadamente largo, bursa con nueve pares de papilas bursales, espículas con puntas pares 5 y 8 orientadas hacia afuera y las puntas con forma de aguja de crochet. La característica más distintiva de *Rhabditis* sp. n. sp. es la longitud del estoma con respecto a *R. myriophila*, *R. necronema* y *R. caulleryi*.

Adultos de la nueva especie son más pequeños y delgados que *R. caulleryi*. El número de huevos presentes por útero es menor que en *R. caulleryi*. Con respecto a la especie *R. myriophila* difiere en la forma y tamaño de las espículas, siendo mucho más grandes las de la nueva especie (42-68 vs. 39-48µm). El poro excretor en la nueva especie está localizado más anteriormente que en *R. myriophila* y la cola de los juveniles de la nueva especie es también mas larga. Con la especie *R. necronema*, la nueva especie difiere en que en ésta las espículas de los machos son más grandes al igual que el tamaño de los machos y las hermafroditas, pero los juveniles son más pequeños y anchos que los de *R. necronema*.

Caracterización molecular y análisis filogenético

El análisis de parsimonia máximo de las secuencias de las unidades más pequeñas (SSU) produjo 326 caracteres parsimoniosos informativos y produjo un sólo árbol parsimonioso con una longitud de árbol de 400 pasos (CI=0.97). En este análisis *Rhabditis* sp. n. sp. es considerada una hermana de *Rhabditis myriophila*, una especie asociada con milpiés en California (Fig. 9). Relaciones evolucionarias entre estas dos especies, está soportado por un muestreo compilado del 100%. La distancia matrix entre *Rhabditis* sp. n. sp. y *R. myriophila* difieren en 22 caracteres.

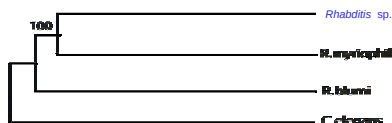


Fig. 9. Relaciones filogenéticas de la nueva especie de *Rhabditis* con otros miembros *Rhabditidae*

Ecología: Varias especies pertenecientes al grupo *Rhabditis-Insectivora*, han sido encontradas en asociación con invertebrados muertos del suelo (Poinar, 1986; Sudhaus & Shulte, 1989). En ésta asociación, el infectivo penetra los hospederos por sus aperturas naturales, pero nunca se desarrollan los adultos hasta que el hospedero muere y el cadáver es invadido con bacterias (Sudhaus & Shulte, 1989). Los nematodos se alimentan, se aparean y reproducen dependiendo de la multiplicación bacteriana en el cadáver del hospedero.

Sin embargo, *Rhabditis* sp. n. sp. fue aislada tanto de chinches como de muestras de suelo usando larvas de *G. mellonella*, multiplicada tanto in vivo como in vitro y evaluada sobre todos los estados de *C. bergi*. Los resultados mostraron al quinto instar como el estado más susceptible con un 90% de mortalidad después de 10 días de inoculados (Barberena & Bellotti, 1998). Además una bacteria del género *Bacillus* fue aislada de los infectivos de esta especie (CIAT, 2002), pero hasta el momento no se ha confirmado si la presencia de esta bacteria es la responsable de la muerte de los hospederos.

CONCLUSIONES

Rhabditis sp. n. sp. es la especie de nematodo que se encontró asociada a especímenes de *C. bergi* y de muestras de suelo de Santander de Quilichao, Cauca y no la especie identificada anteriormente como *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar.

Es importante continuar con los estudios básicos sobre esta nueva especie y comprobar su relación con *C. bergi* tanto en laboratorio como en campo.

REFERENCIAS

- Bellotti, A.C. 2002. Arthropod pests. In „Cassava: Biology, Production and Utilization“. Eds: R.J. Hillocks; J.M. Thresh and A.C. Bellotti. CAB International. 209-235.
- Barberena, M.F. & Bellotti, A.C. 1998. Parasitismo de dos razas del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* sobre la chinche *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae) en laboratorio. Rev. Colomb. Entomol. 24:7-11.
- Caicedo, A. M. & Bellotti, A.C. 1996. Reconocimiento de nematodos entomopatógenos nativos asociados a *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) en ocho localidades de Colombia. Rev. Colomb. Entomol. 22(1):19-24.
- CIAT 2002. Annual Report. Integrated Pest and Disease Management-Cassava Entomology. International Center of Tropical Agriculture (CIAT) Cali, Colombia.
- Kaya, H. & Stock, S.P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L.A.(Ed.) Techniques in insect pathology. London: Academic Press. 281-324.
- Poinar, G.O., Jr. 1986. *Rhabditis myriophila* sp. n. (Rhabditidae: Rhabditida), associated with the milipede *Oxidix gracilis* (Polydesmida: Diplopoda). Proceedings of the Helminthological Society of Washington 53:232-236.
- Sudhaus, W. & Shulte, F. 1989. *Rhabditis (Rhabditis) necronema* sp.n. (Nematoda: Rhabditidae) from South Australian diplopoda with notes on its siblings *R. myriophila* Poinar, 1986 and *R. caulleryi* Maupas, 1919. Nematologica 35:15-24.