

SELECCIÓN DE CEPAS DE Hirsutella thompsonii FISHER PARA COMBATIR AL ACARO DEL COCOTERO Eriophyes querreronis KEIFER. I. BIOENSAYOS DE PATOGENICIDAD\*

por Laura Sampedro\*\* y  
José Luis Rosas\*\*

SELECTION OF Hirsutella thompsonii FISHER STRAINS TO FIGHT THE COCONUT MITE Eriophyes querreronis KEIFER. I. PATHOGENICITY BIOEXPERIMENTS\*

#### SUMMARY

Pathogenicity tests were performed with seven strains of the fungus Hirsutella thompsonii with the coconut mite Eriophyes querreronis. Different conidia concentrations ( $7,000 \pm 500$ ,  $14,000 \pm 500$  and  $26,000 \pm 500$  c/ml) were used to infect the mites. The seven strains of H. thompsonii were pathogenic for E. querreronis with different levels of aggressiveness among them.

#### RESUMEN

Se realizaron pruebas de patogenicidad de siete cepas del hongo Hirsutella thompsonii frente al ácaro del cocotero Eriophyes querreronis. Para infectar los eriófidos se utilizaron conidios de las diferentes cepas a concentraciones de  $7,000 \pm 500$ ,  $14,000 \pm 500$  y  $26,000 \pm 500$  conidios/ml. Las siete cepas de H. thompsonii resultaron ser patógenas a E. querreronis, y además se comprobó en ellas que existen diferentes niveles de agresividad hacia los ácaros.

#### INTRODUCCIÓN

El deuteromiceto Hirsutella thompsonii Fisher ha sido reportado como patógeno de diferentes especies de ácaros de las familias Eriophyidae y Tetranychidae (Mc Coy, 1980). Entre las especies fitófagas más importantes de estas familias destacan Phyllocoptruta oleivora Ashmead conocido como arador de la naranja (Mc Coy y Kanavel, 1969) y Eriophyes querreronis Keifer

\*Investigación financiada por la SEP.

\*\*Unidad de Estudios de Posgrado e Investigación de la Universidad Autónoma de Guerrero, Apartado Postal 441, Acapulco, Gro., México, C.P. 39300.

comúnmente llamado ácaro del cocotero (Hall *et al.*, 1980).

El uso de *H. thompsonii* en el control biológico del arador de la naranja en países como E.U.A. (Mc Coy *et al.*, 1971; Mc Coy y Selhime, 1977), Cuba (Cabrera, 1977), Israel (Gerson *et al.*, 1979) y Surinam (Brussel, 1975) ha tenido grandes éxitos. Hasta la fecha pocos estudios se han llevado a cabo para determinar la efectividad del hongo en el combate del ácaro del cocotero. Los resultados preliminares de Hall *et al.* (1980) y Espinoza-Becerril y Carrillo-Sánchez (1986) indican que *H. thompsonii* es patógeno a *E. querreronis* y podría ser utilizado en el control biológico de esta plaga, que tan sólo en México causa pérdidas de más del 30% en la producción nacional de copra.

El éxito de un programa de control biológico depende de muchos factores, entre ellos, la agresividad y viabilidad del patógeno, así como la dosis y condiciones de aplicación del mismo. Por lo tanto las posibilidades de usar a *H. thompsonii* en el control del ácaro del cocotero quedarán sujetas a los resultados que se obtengan de los diferentes estudios que serán realizados en esta serie de trabajos. El primero de ellos es la selección de cepas del hongo con base en su agresividad frente al eriófido.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

**Material estudiado.** Siete cepas de *Hirsutella thompsonii*, Htm44-81, Htm2, Htm3, Htm5, Htc59, Htc77 y HtmOR fueron utilizadas en este estudio. El hospedero de origen, así como los datos de colecta se precisan en la tabla 1. Estas cepas se encuentran depositadas en la micoteca del Laboratorio de Control Biológico de la Universidad Autónoma de Guerrero, y se mantienen en el medio sólido "H" (dextrosa-sacarosa-peptona-extracto de levadura-agar-agua destilada:5:10:0.5:5:15 g/l) (Cabrera, 1980) a una temperatura de 6-8 °C.

Se utilizaron nueces de coco (*Cocos nucifera*) de la variedad criollo de 1 a 3 meses de edad, de 15 a 20 cm de largo, infestadas de manera natural con *Eriophyes querreronis*, ya que hasta la fecha no ha sido posible desarrollar una metodología para el cultivo *in vitro* del eriófido.

**Bioensayos de patogenicidad.** Los ácaros fueron inoculados con conidios de las diferentes cepas de *H. thompsonii* procedentes de cultivos de 10 a 12 días de crecimiento en el medio "H". Al cultivo en tubo se le agregaron 3 ml de agua destilada, enseguida el tubo fue colocado en el vórtex durante 1 min con el objeto de separar los conidios del conidióforo. Se tomó una gota de esta suspensión y se puso en el hemocitómetro de Neubauer para conocer la concentración inicial de conidios, que fue ajustada a  $14,000 \pm 500$  conidios/ml. También se hicieron

pruebas a una concentración menor de  $7,000 \pm 500$ , y otra mayor de  $26,000 \pm 500$  c/ml.

Con un aspersor manual se aplicaron 5 ml/coco de la suspensión de conidios alrededor de las brácteas intactas. Al testigo se le aplicó agua destilada. Una vez asperjado el hongo, los cocos se colocaron en bolsas de polietileno con un pedazo de algodón hidratado para conservar la humedad ambiente durante tres días; posteriormente los cocos fueron sacados de las bolsas y se mantuvieron en el laboratorio a temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ). En cada experiencia se utilizaron 7 cocos por cepa y 10 para el testigo; se realizaron 4 repeticiones en diferentes fechas. Doce días después de la inoculación se revisaron los cocos y se determinó el por ciento de mortalidad contando todos los ácaros vivos, muertos y micosados presentes en el coco, tanto de la nuez como de las brácteas, utilizando el objetivo de 4x del estereoscopio.

Para diferenciar los ácaros muertos por *H. thompsonii* de aquellos muertos por otra causa se tomaron en cuenta las características mencionadas por Mc Coy (1980) y Sosa Gómez y Nasca (1983). Cuando existieron dudas al respecto, se tomó al ácaro con una aguja entomológica del número 00, se puso en un portaobjetos con una gotita de azul de algodón y se observó al microscopio compuesto.

#### RESULTADOS

Las siete cepas estudiadas de *H. thompsonii* resultaron ser patógenas para el ácaro del cocotero *E. querreronis* como se muestra en la tabla 2. La cepa más agresiva fue la HtmOR, con un 88.36% de mortandad del ácaro; le siguen las cepas Htm44-81, Htm5, Htc77, Htm3 y Htm2, que tuvieron respectivamente 65, 61, 61, 55 y 54% de mortandad del eriófido. Solo la cepa Htc59 dio porcentajes relativamente bajos (32%). A concentraciones de  $7,000 \pm 500$  y  $26,000 \pm 500$  conidios/ml la respuesta de agresividad de las cepas fue la misma que a la concentración de  $14,000 \pm 500$  c/ml.

Una vez que los conidios de *H. thompsonii* penetraron por debajo de las brácteas del coco y se pusieron en contacto con los ácaros, atravesaron la cutícula e invadieron el hemocele para desarrollarse a expensas del huésped. Al cuarto día a partir de la infección se comenzaron a apreciar las primeras modificaciones morfológicas en los eriófidos, como el cambio de color y aspecto de la cutícula, que originalmente era cristalina brillante y se tornó a beige opaca; en sus movimientos los ácaros parasitados fueron más lentos. A los 6-8 días los eriófidos se observaron hinchados y el micelio del hongo comenzó a emerger por las aberturas bucal y anal. Entre los 10 y 12 días los ácaros se mostraron completamente deformes

por el crecimiento micelial y se pudieron observar las fiálides y conidios típicos de *H. thompsonii*. No se observaron clamidosporas. En este trabajo sólo se tomaron en cuenta los eriófididos adultos ya que no se observaron ninfas ni huevecillos atacados por el hongo.

#### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Con este trabajo se confirma una vez más la patogenicidad de *H. thompsonii* frente a *E. querreronis*, como ya lo habían hecho Hall *et al.* (1980) y Espinoza-Becerril y Carrillo-Sánchez (1986). A diferencia del trabajo del primero, donde la evaluación del por ciento de mortalidad de los ácaros fue aproximada y se utilizó micelio para infectar a los eriófididos; en esta investigación se contaron todos los ácaros presentes en el coco para obtener el por ciento de mortalidad y para la infección se aplicaron conidios a concentraciones conocidas. Otra diferencia es que Hall *et al.* (1980) levantaron las brácteas de todos los cocos para aplicar el hongo, con lo cual aseguraron el contacto entre el patógeno y el ácaro; de ahí que en sus resultados obtuvieron hasta un 100% de mortalidad en un lapso de seis días; además trabajaron en condiciones ideales de 100% de humedad relativa. En la naturaleza las condiciones ambientales no siempre son las ideales y no se pueden levantar las brácteas de todos los cocos en la aplicación del hongo. En el presente trabajo se obtuvieron porcentajes del 88% de patogenicidad, sin levantar las brácteas de los cocos, en condiciones de temperatura ambiente y humedades relativas menores del 100%.

En el trabajo de Espinoza-Becerril y Carrillo-Sánchez (1986), se utilizó como fuente de inóculo el biopreparado comercial Mycar/Abbott, con el desconocimiento de la concentración de conidios y del origen de las cepas; además la experiencia se llevó a cabo en el campo y se obtuvo de un 25 a 75% de mortalidad.

De acuerdo con nuestros resultados pudimos clasificar las cepas en muy agresivas, agresivas y poco agresivas como lo hiciera Sampedro (1982) con *Conidiobolus obscurus*, basándose en las definiciones hechas por Van Der Planck (1975); así las siete cepas estudiadas se agruparon de la siguiente manera: HtMOR y HtM44-81 muy agresivas, HtM5, HtC77, HtM2 y HtM3 agresivas y HtC59 poco agresiva. De acuerdo con estos resultados las dos primeras cepas de *H. thompsonii* son las más adecuadas para los trabajos de campo.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica, SEP, que financió el presente trabajo. Se agradece también el apoyo brindado por la Universidad Autónoma de Guerrero.

TABLA 1. INVERTEBRADO HOSPEDERO, PLANTA HOSPEDERA DEL INVERTEBRADO, LUGAR DE COLECTA Y AÑO DE AISLAMIENTO DE LAS 7 CEPAS DE *Hirsutella thompsonii* ESTUDIADAS

CEPA (No)	INVERTEBRADO HOSPEDERO	PLANTA HOSPEDERA DEL INVERTEBRADO	LUGAR Y AÑO DE COLECTA	AISLADO POR
HtM 44-81	<i>Eriophyes querreronis</i>	<i>Cocos nucifera</i>	Veracruz, Méx., 1981	Hall
HtM2	<i>Oligonychus</i> sp.	<i>Psidium quajava</i>	Guerrero, Méx., 1986	Cabrera-Rosas
HtM3	<i>Eotetranychus</i> sp.	<i>Impomoea mutabilis</i>	Guerrero, Méx., 1986	Cabrera-Rosas
HtM5	<i>Oligonychus</i> sp.	<i>Heptapleurum arboricola</i>	Guerrero, Méx., 1986	Cabrera-Rosas
HtC59	<i>Phyllocoptruta oleivora</i>	<i>Citrus</i> sp.	Cuba, 1979	Cabrera
HtC77	<i>P. oleivora</i>	<i>Citrus</i> sp.	Cuba, 1975	Cabrera
HtMOR*	<i>Eriophyes querreronis</i>	<i>Cocos nucifera</i>	Guerrero, Méx., 1986	Rosas-Sampedro

\*Reactivada en el laboratorio con la HtCO.

TABLA 2. AGRESIVIDAD DE 7 CEPAS DE *Hirsutella thompsonii* FRENTE AL ACARO DEL COCOTERO *Eriophyes guerreronis*

CEPA (No)	ERIOFIDOS SANOS*	ERIOFIDOS MICOSADOS*	ERIOFIDOS MUERTOS**	TOTAL DE ERIOFIDOS	% DE MOR-TALIDAD
Testigo	5,679	0	59	5,738	0.0
HtMOR	712	6,097	91	6,900	88.36
HtM44-81	1,755	3,591	185	5,531	64.92
HtM5	1,172	2,448	373	3,993	61.30
HtC77	1,926	3,130	67	5,123	61.09
HtM3	1,046	1,342	53	2,441	54.97
HtM2	1,008	1,209	30	2,247	53.80
HtC59	1,558	773	75	2,406	32.12

\*Este número corresponde al promedio de eriófidos sanos, micosados y totales de 4 repeticiones.

\*\*Este número corresponde a los eriófidos muertos por causa desconocida.

## LITERATURA CITADA

- Brussel, E.W. Van, 1975. Interrelations between citrus rust mite, *Hirsutella thompsonii* and greasy spot on citrus in Surinam. (Landbouwproefstation Surinam) Bull. Agric. Exp. Sta. Surinam 98:1-43.
- Cabrera, R.I., 1977. Estudio en Cuba de *Hirsutella Thompsonii* Fisher. Control biológico del ácaro del moho (*Phyllocoptruta oleivora*, Ashm.) Agrotecnia de Cuba 9 (1):3-11.
- Cabrera, R.I., 1980. Estudio de la distribución geográfica del hongo *Hirsutella thompsonii* en las diferentes zonas citricolas del país. Cienc. Tc. Agric. Cítricos y otros frutales 3 (3):19-32.
- Espinoza-Becerril, A. y J.L. Carrillo-Sánchez, 1986. El hongo *Hirsutella thompsonii* (Fisher) en el control del eriófido del cocotero, *Eriophyes guerreronis* (Keifer). Agric. Tc. Bol. 12 (2):319-323.
- Gerson, U., R. Kenneth y T.L. Muttath, 1979. *Hirsutella thompsonii*, a fungal pathogen of mites. II. Host pathogen interactions. Ann. Apl. Biol. 91:29-40.
- Hall, R.A., N.W. Hussey y D. Mariau, 1980. Results of survey of biological control agents of the coconut mite *Eriophyes guerreronis*. Oléagineux, 35 (8-9):395-400.
- McCoy, C.W., 1980. Microbial Control of Pests and Plant Diseases. Academic Press, Londres.
- Mc Coy, C.W. y R.F. Kanavel, 1969. Isolation of *Hirsutella thompsonii* from the citrus rust mite, *Phyllocoptruta oleivora*, and its cultivation on various synthetic media. J. Invertebr. Path. 14:386-390.
- Mc Coy, C.W. y A.G. Selhime, 1977. The fungus pathogen *Hirsutella thompsonii* and its potential use for control of the citrus rust mite in Florida. Proceedings of the 1973 International Citrus Congress, Muncia, España, 2: 521-529.
- Mc Coy, C.W., A.G. Selhime, R.F. Kanavel y A.J. Hill, 1971. Suppression of citrus rust mite populations with application of fragmented mycelia of *Hirsutella thompsonii*. J. Invertebr. Path. 17:270-276.
- Sampedro, L., 1982. Agressivité de Conidiobolus obscurus vis-a-vis du puceron du pois Acyrthosiphon pisum. Tesis Doctoral, Universidad de París XI, Orsay, Francia.
- Sosa Gómez, D.F. y A.J. Nasca, 1983. Primera cita del hongo patógeno de ácaros, *Hirsutella thompsonii* (Fisher, 1950) para la República Argentina. CIRPON-Rev. Invest. 1 (3):137-141.
- Van Der Planck, J.E., 1975. Principles of plant infection. Academic Press, Nueva York.