

Aislamiento de *Conidiobolus coronatus* a partir de una plaga de áfidos del cebollín (*Allium schoenoprasum* L.)

Ricardo Mario Comerio, Andrea Verónica Andorno y Eduardo Norberto Botto

Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, República Argentina.

Resumen *Conidiobolus coronatus*, entomofitoral patógeno para el hombre y algunos insectos, se aisló a partir de especímenes muertos del áfido *Neotoxoptera formosana* sobre hojas de *Allium schoenoprasum*. La presencia de *C. coronatus* supone el riesgo de una potencial infección para quienes trabajan en la producción de cebollín. El control fitosanitario de *N. formosana* podría, además, contribuir a reducir el riesgo de infección humana con *C. coronatus*.

Palabras clave *Allium*, Cebollín, *Conidiobolus*, Entomophthorales, *Neotoxoptera*, Entomofotoromicosis, Control biológico, Pulgón

Conidiobolus coronatus isolation from a pest aphids of chives (*Allium schoenoprasum* L.)

Summary *Conidiobolus coronatus* (Entomophthorales), a pathogen of human and some insects, was isolated from dead specimens of the aphid *Neotoxoptera formosana* present on chives leaves. *C. coronatus* infected aphids could pose a threat to growers health. Pest control strategies of *N. formosana* may also contribute to reduce the human infection risk by *C. coronatus*.

Key words *Allium*, Aphid, Chives, *Conidiobolus*, Entomophthorales, *Neotoxoptera*, Entomophthoromycosis, Biological control

El cebollín, *ciboulette* en idioma francés, es el nombre vulgar de la especie *Allium schoenoprasum* L. (Alliaceae). El cebollín es una cebolla del tipo de verdeo que proviene del norte de Europa. Su follaje consiste en hojas largas, finas, cilíndricas y huecas, de color verde grisáceo y aspecto ceroso. Se cultiva a pequeña escala y sus hojas se utilizan como condimento. Aunque en general es resistente a las plagas, el cebollín es atacado por el áfido *Neotoxoptera formosana* (Takahashi, 1921) (Figura 1a), “pulgón de la cebolla”, que ocasiona graves problemas sanitarios al

cultivo. Este áfido está extendido en casi todo el mundo [1,6,7]. En Argentina, las primeras detecciones y posteriores estudios de su biología fueron realizados por Vasicek et al. [8,9]. El rango de hospedadores se restringe a especies de la familia Alliaceae. Forma colonias con gran número de individuos sobre hojas y bulbos en almacenamiento de diferentes especies pertenecientes al género *Allium* [1].

Conidiobolus coronatus (Constantin) A. Batko es un entomofitoral patógeno de humanos e insectos, y también saprófito. En humanos causa micosis crónicas (entomofotoromicosis) [4]. La infección se presenta generalmente como una sinusitis crónica; se origina en los senos nasales y se extiende luego al tejido subcutáneo adyacente. Produce la desfiguración del rostro (cierto aspecto de hipopótamo o de tapir). Aunque el progreso de la enfermedad es lento, no existe remisión. Aún no se conoce el mecanismo de transmisión del patógeno; probablemente esté vinculado con la inhalación de esporas fúngicas que se implantan en la mucosa nasal. Traumas menores, como los producidos por picaduras de insectos o por el contacto de los dedos con la mucosa nasal, podrían influir en la transmisión de *C. coronatus*. La mayoría de las infecciones en humanos se han descrito en individuos adultos, varones y sanos. Niños y adolescentes rara vez se infectan. Aunque *C. coronatus* es una especie cosmopolita en suelos y material vegetal en descomposición, se aísla con mayor frecuencia en regiones de clima cálido y húmedo [5].

Dirección para correspondencia:

Dr. Ricardo Mario Comerio
Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola INTA
Las Cabañas y de los Reseros, s/n
C.C. 25 B1712WAA Castelar
Buenos Aires, Argentina
Tel.: + 54 11 4481-4320/4420 int. 227
Fax: + 54 11 44621-1701
E-mail: rcomerio@cnia.inta.gov.ar

Aceptado para publicación el 21 de febrero de 2008

En abril de 2005, se recibió en nuestro laboratorio una muestra de hojas de cebollín infestadas por varios ejemplares de *Neotoxoptera formosana*. Algunos áfidos muertos presentaban eflorescencias de color blanco a crema que permitieron inferir la presencia de hongos (Figura 1b). El remitente, productor orgánico de cebollín, planteó su interés en conocer si el organismo que había afectado a los pulgones podría ser utilizado como agente de control biológico. Se seleccionaron 3-4 hojas de cebollín que presentaban, cada una, 5-10 áfidos muertos adheridos superficialmente. Se realizaron aislamientos en agar papa-glucosa (APG, Britania, Argentina) y agar extracto de malta (Oxoid, Reino Unido). Se utilizaron cajas de Petri de vidrio de 9 cm de diámetro. Los cultivos primarios se hicieron bajo campana de flujo laminar. Los pulgones muertos se fragmentaron asépticamente en trocitos de 4-6 mm² y se inocularon en cinco placas de agar papa-glucosa y

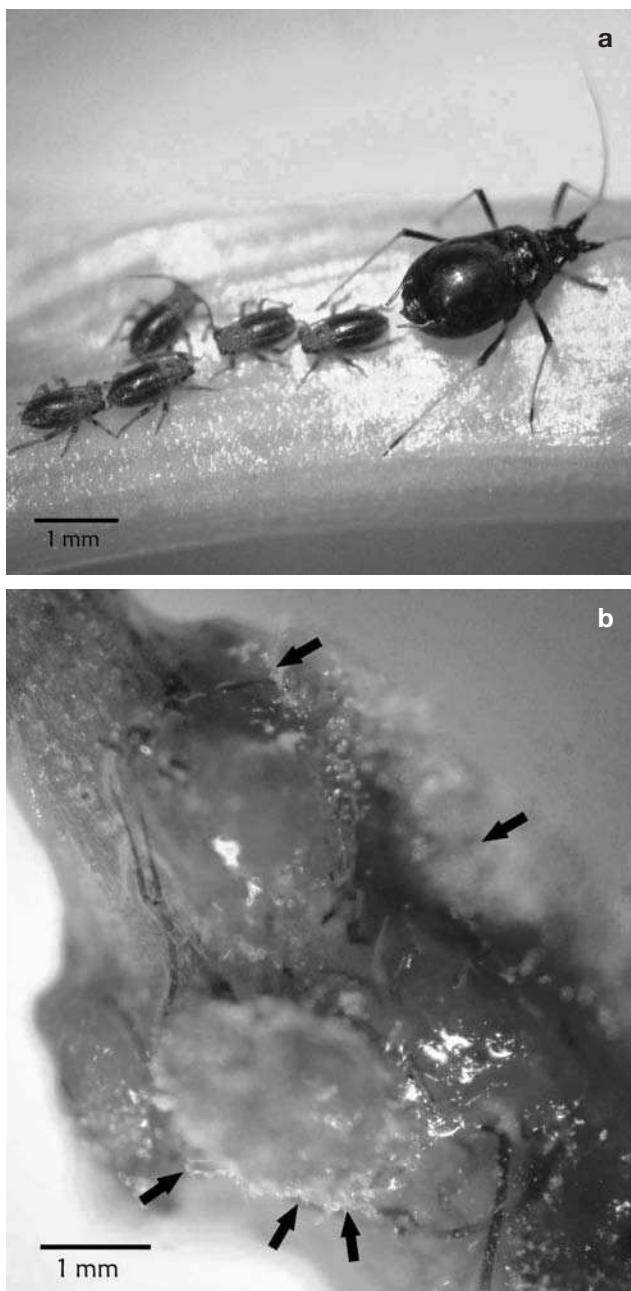


Figura 1. *Neotoxoptera formosana* sobre hoja de cebollín (a) y eflorescencias blanquecinas (flechas) sobre *N. formosana* (b).

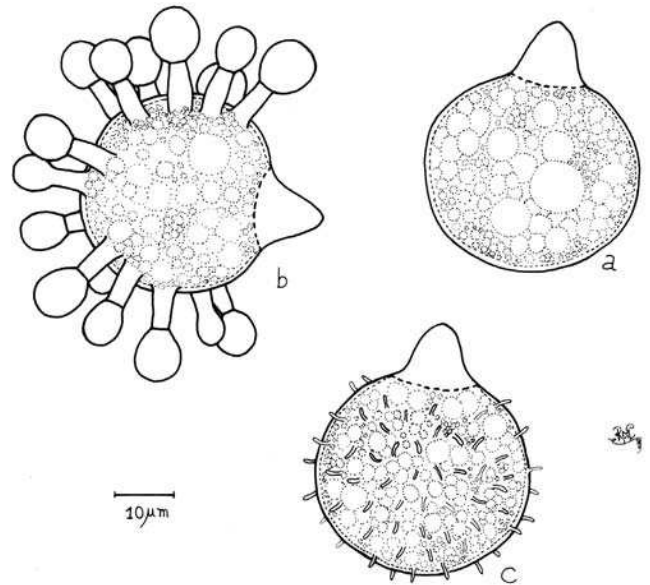


Figura 2. *Conidiobolus coronatus*: conidio primario (a), conidio primario con microconidios (b) y conidio vellosos (c).

cinco placas de agar extracto de malta. Se sembraron cuatro fragmentos por cada placa. Como estrategia para reducir la contaminación bacteriana de los cultivos primarios se utilizó la técnica denominada *pie technique* (Barreto D, comunicación personal). Ésta consiste en inocular el material por debajo de la superficie del medio con agar. Cada lámina circular de medio de cultivo se dividió asépticamente en cuartos usando un bisturí. Debajo de cada cuarto, y aproximadamente en el centro, se depositó en condiciones asépticas un fragmento de pulgón. Cada cuarto de lámina se levantó delicadamente desde su vértice con una espátula estéril y se sembró un trocito de material con una pequeña pinza histológica. Los fragmentos de pulgones sembrados quedaron contenidos en sendas burbujas formadas entre cada cuarto de lámina agarizada y el fondo de la caja de Petri correspondiente. La incubación se realizó a 25 °C, durante siete días, con un fotoperíodo de 12 h de luz UV (345-400 nm) y 12 h de oscuridad. A partir de los cultivos primarios se obtuvieron cultivos axénicos tomando, bajo microscopio estereoscópico, material fúngico desarrollado en la superficie superior del medio de cultivo. Para el estudio de las características microscópicas se utilizó, como líquido de montaje, azul de anilina (Gurr's, Reino Unido) al 0,1% en ácido láctico (Cicarelli, Argentina). Las fotografías de los pulgones se tomaron con una cámara digital (Canon Power Shot S45). Las microfotografías se obtuvieron con un microscopio (Olympus BX 51) equipado con una cámara digital (Proper Scientific). Los dibujos se realizaron a mano alzada y se entintaron utilizando plumas rotring rapidograph®.

Conidiobolus coronatus (Constantin) A. Batko, *Entomophaga*, Mémoires hors série 2: 129. 1964.

Boudierella coronata Constantin, Bull. Soc. Mycol. Fr. 13: 40. 1897 = *Delacroixia coronata* (Constantin) Saccardo & P. Sydow, Syll. Fung. 14: 457. 1899 = *Entomophthora coronata* (Constantin) Kevorkian, J. Agric. Univ. P. Rico 21: 191. 1937. = *Conidiobolus villosus* Martin, Bot. Gaz. 80: 311. 1925. (Fide De Hoog et al., 2000).

Material estudiado: República Argentina. Provincia de Buenos Aires. Los Cardales: Establecimiento Roco S.H, 9 de mayo de 2005, RM Comerio, en pulgones muertos (*Neotoxoptera formosana*) sobre hojas de cebollín (cultivo orgánico). Figura 2.

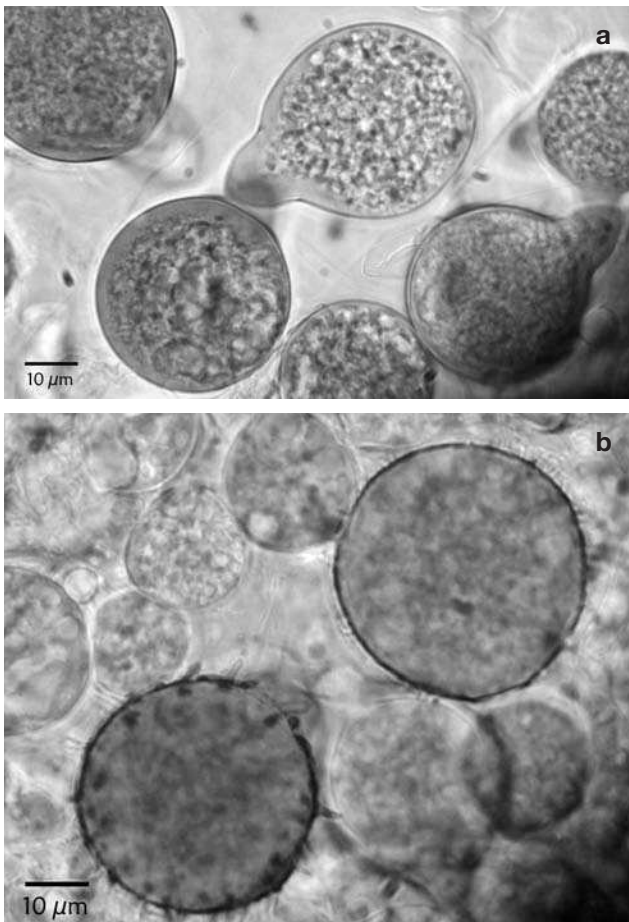


Figura 3. *Conidiobolus coronatus*: conidios primarios (a) y conidios primarios vellosos (b).

Colonias en Agar Papa Glucosa, 25 °C, 4 días, 75 mm diam., blanquecinas, cremosas aunque con cierto aspecto farináceo y granular, con bordes irregulares; reverso blanquecino. Micelio hialino, no tabicado o presentando escasos tabiques; hifas 6-12 µm diam. Conidios primarios muy abundantes, esféricos, gutulados, 30-38 µm diam., con papila prominente (Figura 3a), produciendo conidios secundarios ligeramente más pequeños, tornán-

dose vellosos al envejecer el cultivo (Figura 3b), vellosidades 2-5 µm long. Microconidios muy escasos, subglobosos a ligeramente clavados 7,5-9,3 x 5,8-8,0 µm sustentados por apéndices 7,0 x 3,5 µm que surgen desde los conidios primarios (Figura 3 c).

Observaciones: Esta especie posee balistoconidios. Por esta causa, en el cultivo se observó la impronta de la colonia como una fina película opaca sobre la cara interna de la tapa de la placa de APG. Se presentaron escasos conidios vellosos hallados en la zona central de la colonia. La formación de microconidios se observó sólo en material de la impronta.

Según Domsch et al. [3], *Conidiobolus* es el único género de Entomophthorales que se aísla frecuentemente de suelos, y describen el aislamiento de *C. coronatus* en áfidos. Dichos autores destacan, además, que entre las diversas especies del género, sólo *C. coronatus* presenta esporas vellosas.

Bibliografía adicional: Descripciones de las especies del género *Conidiobolus* Bref. aisladas de lesiones humanas en [2]. Información clínica en [4,5]. Descripción de *C. coronatus* y numerosos datos acerca de su hábitat y fisiología en [3].

De acuerdo con los resultados obtenidos, *C. coronatus* estuvo asociado al cultivo orgánico de *A. schoenoprasum*. *C. coronatus* es un antagonista potencial del pulgón de la cebolla; sin embargo, su utilización debe ser desestimada ya que es un patógeno humano. Aunque no se dispone de datos cuantitativos, la presencia de dicho patógeno podría suponer un riesgo de infección para quienes trabajan en la producción de cebollín. El control de *N. formosana* a través de otros medios contribuiría, además, a la reducción del riesgo de infección humana por *C. coronatus*.

Expresamos nuestra gratitud al doctor en ingeniería agrónoma Rubén La Rossa, quien identificó los ejemplares de Neotoxoptera formosana; a la también doctora en ingeniera agrónoma Dora Barreto por la lectura del manuscrito; a la asistente María Flor Feuermann, por la realización de los cultivos primarios, y al ingeniero agrónomo Roland Mólhe por ceder el material de estudio.

Bibliografía

- Blackman RL, Eastop VF. Aphids on the world's crops: An identification guide. Chichester, New York, John Wiley and Sons, 1985.
- De Hoog GS, Guarro J, Gené J & Figueras MJ. Atlas of Clinical Fungi 2nd. ed. Utrecht, The Netherlands, Centraalbureau voor Schimmelcultures & Reus, Spain, Facultat de Medicina, Universitat Rovira i Virgili, 2000.
- Domsch KH, Gams W, Anderson T. Compendium of Soil Fungi. Eching, Germany, IHV Verlag, 1993.
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds.). Manual of Clinical Microbiology, sixth edition. Washington DC, ASM Press, 1995.
- Ribes JA, Vanover-Sans C, Baker DJ. Zygomycetes in human disease. Clin Microbiol Rev 2000;13: 236-301.
- Souza-Silva CR, Ilharco A. Afideos do Brasil e suas plantas hospedeiras (lista preliminar). EDUFSCar, 1995.
- Stary P, Rodríguez F, Remaudière G. Asociación planta-áfidos-parasitoides (Hom., Aphidoidea; Hym., Aphidiidae), en la zona central de Chile. Agricultura técnica 1994; 54: 46-53.
- Vasicek A, La Rossa FR, Moreno KA. Parámetros poblacionales de dos especies de *Neotoxoptera* Theobald (Homoptera: Aphidoidea) sobre ajo (*Allium sativum* L.) en condiciones de laboratorio. Rev Chil Ent 2000; 27: 11-17.
- Vasicek A, La Rossa FR, Paglioni A. Parámetros biológicos y poblacionales de dos especies de *Neotoxoptera* Theobald (Homoptera: Aphidoidea) sobre ciboulette (*Allium schoenoprasum* L.) en condiciones de laboratorio. Rev Fac Agronomía 2001; 21: 99-104.

Fe de erratas

En el artículo titulado “Aislamiento de *Conidiobolus coronatus* a partir de una plaga de áfidos del cebollín (*Allium schoenoprasum* L.)”, de los autores RM Comerio, AV Andorno y EN Botto (Rev Iberoam Micol 2008; 25: 193-195) se produjeron varios errores durante el proceso de publicación. A continuación se muestran los datos corregidos de los errores detectados:

Título/Title:

Aislamiento de *Conidiobolus coronatus* a partir de un áfido plaga del cebollín (*Allium schoenoprasum* L.) / [*Conidiobolus coronatus* isolation from a pest aphid of chives (*Allium schoenoprasum* L.)]

Figura 3c (omitida)

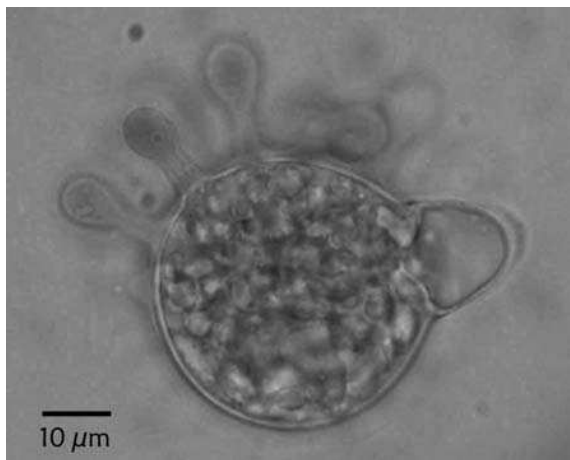


Figura 3c. Microconidios sustentados por apéndices surgiendo de un conidio primario.

Agradecimientos

Expresamos nuestra gratitud al ingeniero agrónomo M.S. Rubén La Rossa, que identificó los ejemplares de *Neotoxoptera formosana*, a la ingeniera agrónoma M.S. Dora Barreto por la lectura del manuscrito, a la asistente María Flor Feuermann por la realización de los cultivos primarios y al ingeniero agrónomo Roland Mölke por ceder el material de estudio.