

Registro más austral del hongo *Leptolegnia chapmanii* (Oomycetes: Saprolegniales) como patógeno de larvas de mosquitos (Diptera: Culicidae)

Claudia C. López Lastra¹, Mónica M. Steciow² y Juan J. García¹

¹Cepave (Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores) y ²Instituto de Botánica Carlos Spegazzini, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

Resumen

En el presente trabajo comunicamos el registro más austral y primero para la región neotropical del hongo *Leptolegnia chapmanii* (Oomycetes: Saprolegniales), como patógeno de larvas de *Aedes albifasciatus* (Macquart) (Diptera: Culicidae), en la provincia de Buenos Aires, República Argentina. Se amplía la descripción de la especie *L. chapmanii* el rango hospedador y la distribución geográfica.

Palabras clave

Leptolegnia chapmanii, Oomycetes, Patógeno, Mosquitos, Argentina

Southernmost record of the fungus *Leptolegnia chapmanii* (Oomycetes: Saprolegniales) as a mosquito larvae pathogen (Diptera: Culicidae)

Summary

In the present paper we communicate the southernmost record and the first for the neotropical region of the fungus *Leptolegnia chapmanii* (Oomycetes: Saprolegniales) as a mosquito larvae pathogen, in Buenos Aires, Argentina. The fungal description is extended as the host range and geographic distribution.

Key words

Leptolegnia chapmanii, Oomycetes, Pathogen, Mosquitoes, Argentina

Entre un importante número de hongos acuáticos que son parásitos de plantas y animales, sólo *Lagenidium giganteum* fue registrado como un agente potencial de control de mosquitos [1,2]. En el grupo de hongos acuáticos zoospóricos, se destaca además *Leptolegnia chapmanii*, especie que fue descrita como patógena de larvas de mosquitos [3]. Esta especie fue estudiada también por otros investigadores principalmente en Estados Unidos [4-7].

Leptolegnia chapmanii Seymour, es un hongo acuático patógeno facultativo, cuyo rango hospedador está restringido a dípteros culícidos [8]. En América del Sur y principalmente en Argentina se conocen escasas referencias sobre hongos patógenos de mosquitos [9-13].

El objetivo del presente trabajo es contribuir al conocimiento de los hongos patógenos de mosquitos, ampliando la distribución y el rango de hospedadores del hongo *L. chapmanii*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Larvas de *Aedes albifasciatus* (Macquart), (Diptera: Culicidae), fueron recolectadas a partir de un cuerpo de agua temporario, ubicado en la localidad de Melchor Romero, partido de La Plata, provincia de Buenos Aires.

Para la obtención de muestras se utilizó un cucharón de 300 ml de capacidad, recolectándose con una frecuencia semanal, a partir de Mayo de 1996 hasta Octubre de 1997. Las larvas fueron examinadas bajo microscopio binocular estereoscópico y microscopio óptico con contraste de fases, detectándose las infectadas por la presencia de esporangios y oogonios, externamente y por hifas y quistes de zoosporas, internamente. Se realizaron preparaciones microscópicas individuales con las larvas infectadas, y se montaron en agua destilada estéril.

Leptolegnia chapmanii fue aislado a partir de larvas de IV estadio de *A. albifasciatus*, las cuales fueron esterilizadas superficialmente mediante un lavado en hipoclorito de sodio al 5 % durante 1 min, luego fueron

Dirección para correspondencia:

Dra. Claudia Lopez-Lastra,
Entomology Dpmt., Comstock Hall, University of Cornell,
Ithaca, New York, NY 14853 USA
Fax: +1 607 255 0939; E-mail: ccl22@cornell.edu

Aceptado para publicación el 23 de noviembre de 1998

lavadas en agua destilada estéril y un segundo baño en solución de antibiótico (80000 unidades de estreptomicina y 40000 unidades de penicilina), durante 1 min. Finalmente las larvas fueron inoculadas en cajas de Petri conteniendo medio agar-harina de maíz y en medio agar harina de maíz más 1% de dextrosa y 0,5 % de peptona (HMDP agar). Los cultivos fueron incubados en estufa de cultivo a 25°C, durante 7 días.

Para la realización de las pruebas de patogenicidad se emplearon larvas de segundo estadio de *Aedes aegypti* (L.), *Aedes crinifer* (Theobald) y *A. albifasciatus*. Como inóculo fúngico se usaron bloques cuadrados de 1cm de lado de HMDP agar con micelio del hongo, los cuales se colocaron en Erlenmeyers de 250 ml de capacidad conteniendo 50 ml de agua destilada estéril (los que se dejaron en reposo a 25°C, para inducción de la zoosporulación) durante 48 h. Estos cultivos fueron controlados para verificar la formación de zoosporas que se usaron para la inoculación de las larvas. Para las larvas testigo se usaron bloques de HMDP agar sin inocular. Se usaron 20 larvas por especie de mosquito y 20 como testigos.

Los tratamientos se mantuvieron a 25°C y las larvas muertas fueron extraídas cada 24 h y observadas individualmente al microscopio para comprobar la causa de la mortalidad.

El material estudiado fue depositado en la Colección de Hongos Entomopatogénicos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, Ithaca, New York, EE.UU. ARSEF N°5499.

La identificación taxonómica de los hospedadores fue realizada mediante el uso de claves taxonómicas específicas [14,15].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Leptolegnia chapmanii Seymour, Mycologia 1984: 76: 670-673.

Las características del hongo que fueron observadas en el hospedador y en el cultivo fueron: Micelio difuso, extendido, hifas delgadas, ramificadas, en la base 15,33-25,5 µm. Esporangios filamentosos, fusiformes o naviculados, con paredes sinusoidales, dispuestos en sucesión basípeta, terminales o laterales (1284) 354-840 (1008) µm x (8,4) 10,8-18 (22,8) µm. Zoosporas de comportamiento leptolegnoide en la liberación, en hilera simple o en dos o tres, zoosporas primarias enquistadas (9,48) 10-13 (16,8) µm. Oogonios laterales o intercalares, esféricos, obpiriformes u obovados; (37,9) 47,4-59 (63,9) µm en diámetro, incluidas las papilas y (20,1) 33-45 (54,5) µm excluidas dichas ornamentaciones (Figuras 1, 2 y 3). Pared del oogonio externamente ornamentadas con papilas cortas o proyecciones delgadas, curvas o rectas; interiormente no punteada. Pie del oogonio recto o curvo, a veces ramificado 21,3-52 µm de longitud. Las oosporas raramente alcanzan la madurez, excéntricas en número de 1-3, de 9,5-26,4 µm de diámetro; germinación no observada. Ramas anteridiales, cuando presentes andróginas o declinas, delicadas, tubulares o clavadas, a veces curvadas, fijadas al oogonio. Yemas simples, escasas, observadas luego de un prolongado período de tiempo (aproximadamente 4 semanas) generalmente papiladas o con protuberancias cilíndricas laterales, terminales o intercalares (Figura 4). Hábitat: en larvas de *Aedes albifasciatus* (Diptera: Culicidae). Localización: tubo digestivo, hemocele y tejido adiposo de las larvas. Distribución geográfica: Estados Unidos (Florida, Luisiana, Ohio, Carolina del Sur) y Argentina. Material estudiado: Argentina, provincia de Buenos Aires, La Plata, Melchor Romero 25-IX-96. Leg JJ García y det. López Lastra, CC y Steciow, M. El

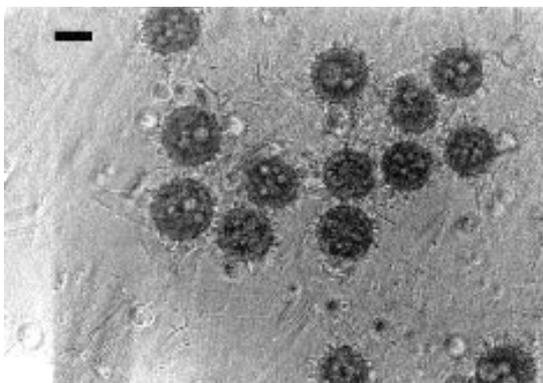


Figura 1. Oogonios con oosferas. La escala equivale a 30 µm.

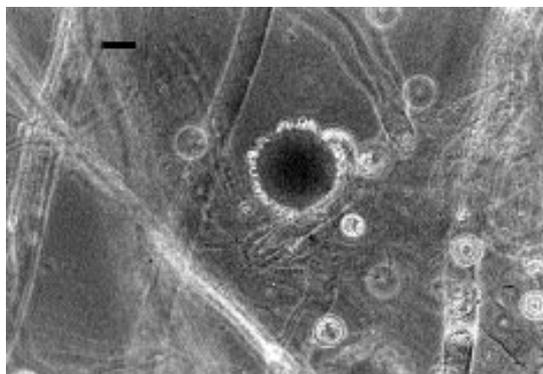


Figura 2. Oogonio inmaduro con detalle de rama anteridial declina. La escala equivale a 20 µm.

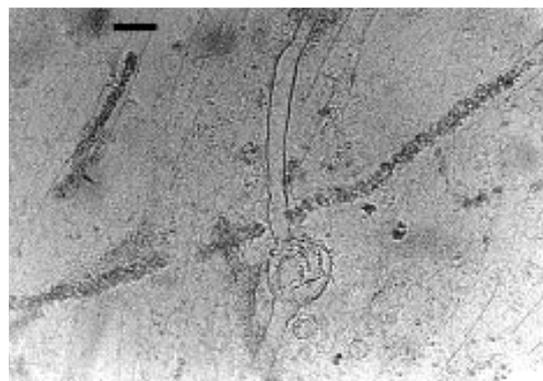


Figura 3. Detalle de oogonio ornamentado con papilas, con oosporas en proceso de diferenciación. La escala equivale a 30 µm.

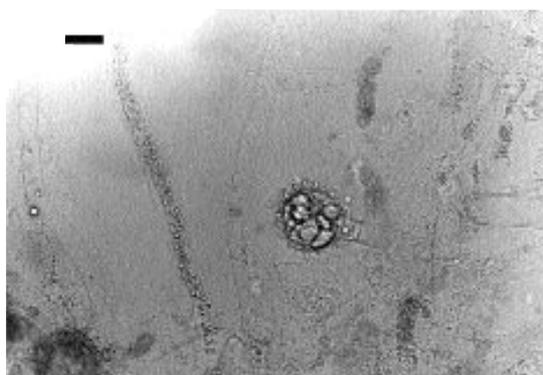


Figura 4. Yema papilada terminal, funcional, que da origen a un esporangio. La escala equivale a 30 µm.

material estudiado fue comparado con los aislamientos de *L. chapmanii* ARSEF N° 2681 y 2682, procedentes de la Colección de Hongos Entomopatogénicos de Ithaca, New York, EE.UU. La prevalencia de *L. chapmanii* fue de 10% (n: 160) en larvas de cuarto estadio de *A. albifasciatus*.

En las larvas infectadas por *L. chapmanii* se observó la presencia de zonas melanizadas a nivel del tercio medio del intestino, debido a la presencia de zoosporas enquistadas, dichas larvas murieron por acción del hongo. Los resultados obtenidos a partir de las pruebas de patogenicidad en larvas de mosquitos, fueron de un 100 % de mortalidad en individuos tratados con *L. chapmanii*, dentro de las 24 h posteriores al tratamiento; en todas ellas fue comprobado por observación microscópica que la acción del hongo fue la causa de su muerte y además fueron utilizadas en aislamientos en medio de cultivo HMDP para comprobar la viabilidad del hongo. No se registró mortalidad en las larvas testigo.

La especie *L. chapmanii*, descrita originalmente por Seymour (*op. cit*) a partir de larvas de *Aedes triseriatus* Say, fue aislada en Luisiana, Estados Unidos, no existiendo citas previas de esta especie en América Central y

del Sur.

En el material que hemos estudiado observamos que los esporangios presentan paredes sinusoidales y están dispuestos en sucesión basípeta (no referido en la descripción original) y su tamaño es mayor al presentado por Seymour (70-420 x 15-40 mm). También observamos escasas yemas y con baja frecuencia, formadas en un lapso prolongado de tiempo. Los oogonios fueron de 37,9-63,9 contra 38-42 mm de la descripción original. Las oosporas de 9,5-26,4 mm contra (18)-(52) 36-40 mm. Sólo se encontraron oosporas excéntricas. Los anteridios que observamos fueron de tipo andróginos.

Se amplía el rango hospedador y la distribución geográfica de la especie *L. chapmanii*, siendo esta una nueva cita para la región neotropical.

Al Dr. Thomas Mc Innis Jr., de la Universidad de Clemson, Carolina del Sur, USA, y al Dr. Michael Dick de la Universidad de Reading, Reino Unido, por confirmar la identificación taxonómica de la especie.

Bibliografía

- WHO. Data sheet on the Biological Control Agent *Lagenidium giganteum* Couch, (1935) World Health Organization. Division of Vector Biology and Control. Geneva, Switzerland, 1979.
- Fuxa J, Tanada B. Microbial Control. En: Fuxa J, Tanada Y (Eds). Insect Pathology. San Diego, California, Academic Press, 1993: 544-594.
- Seymour R. *Leptolegnia chapmanii*, an oomycete pathogen of mosquito larvae. Mycologia 1984; 76: 670-674.
- Muelheisen D. The effectiveness of *Lagenidium giganteum* as a biological control agent of *Culex pipiens quinquefasciatus*. M.S. Thesis Clemson University, Clemson, Carolina del Sur, USA, 1977.
- Mc Innis T Jr, Zattau W. Experimental infection of mosquito larvae by a species of the aquatic fungus *Leptolegnia*. J Invert Pathol 1982 ; 39: 98-104.
- Zattau W, Mc Innis T Jr. Life cycle and mode of infection of *Leptolegnia chapmanii* (Oomycetes) parasitizing *Aedes aegypti*. J Invert Pathol 1987; 50: 134-145.
- Lord J, Fukuda T. An ultrastructural study of the invasion of *Culex quinquefasciatus* larvae by *Leptolegnia chapmanii* (Oomycetes: Saprolegniales). Mycopathologia 1988; 104: 67-73.
- Mc Innis T Jr, Schimmel L, Noblet R. Host range studies with the fungus *Leptolegnia* a parasite of mosquito larvae (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 1985 ; 22: 226-227.
- García J, López Lastra C. Infecciones por microsporidios y hongos en *Culex dolosus* (Lynch Arribáizaga, 1891) (Diptera: Culicidae) en Argentina y Uruguay. Neotropica 1989; 35: 9-14.
- López Lastra C, García J, Reboledo G. Efecto de la temperatura y la salinidad sobre la viabilidad y producción de conidios en los hongos entomopatogénos *Tolypocladium cylindrosporium* y *Aphanocladium album* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Bol Micol 1991; 6: 43-47.
- López Lastra C, García J, Reboledo G. Efecto comparativo de la virulencia de los Hongos *Aphanocladium album* (Preuss) Gams y *Tolypocladium cylindrosporium* Gams (Deuteromycotina: Hyphomycetes) contra larvas de mosquitos (Diptera: Culicidae). Bol Micol 1992; 7: 13-16.
- Orduz S, Zuluaga J, Diaz T, Rojas W. Five new isolates of the mosquito pathogenic fungus *Lagenidium giganteum* (Oomycetes : Lagenidiales) from Colombia. Mem Inst Os Cruz 1992; 87: 597-599.
- López Lastra C, García J. Presencia del hongo *Coelomomyces iliensis* var. *indus* (Chytridiomycetes: Blastocladales) como patógeno de larvas de mosquitos (Diptera: Culicidae) en la República Argentina. Rev Iberoam Micol 1997: 14: 69-71.
- Darsie R, Mitchell C. The mosquitoes of Argentina (Part I). Mosquito Systematics 1985; 17: 153-253.
- Darsie R, Mitchell C. The mosquitoes of Argentina (Part II). Mosquito Systematics 1985; 17: 279-363.