

ARTÍCULO ORIGINAL

Saltahojas (Typhlocybinae) y su relación con los síntomas de enfermedades en un campo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Adayakni Sánchez-Castro, Ileana Miranda Cabrera, Madelaine L. Quiñones Pantoja, Berta E. Piñol, Basilia Miriam Fernández Argudín*

Dirección de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas. Provincia Mayabeque. Cuba.

RESUMEN: Los objetivos del presente trabajo fueron identificar las especies de saltahojas presentes en un campo de producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L), variedad Cuba Cueto 25-11, en Güines, Mayabeque, Cuba y determinar su relación con los síntomas de enfermedades en las plantas. Para ello se muestrearon, cada siete días, 30 plantas en cada una de las tres parcelas en que fue dividido el campo, en el periodo de enero a marzo de 2015. Se identificaron los insectos recolectados, luego de su aclarado y montaje en portaobjetos, utilizando claves taxonómicas. A partir de la confección de un cladograma se analizó la incidencia de los síntomas en las plantas con los insectos presentes. Los saltahojas registrados fueron *Empoasca kraemeri* Ross y Moore, *Empoasca fabae* Harris y *Empoasca papayae* Oman. Las plantas presentaron síntomas representativos de la alimentación directa de los saltahojas (quemado), así como de la presencia de virus y fitoplasma, los cuales se relacionaron con los vectores.

Palabras clave: *Empoasca fabae*, *Empoasca kraemeri*, *Empoasca papayae*, fitoplasmas, frijol común, virus.

Leafhoppers (Typhlocybinae) and its relationship with disease symptoms in a common bean field (*Phaseolus vulgaris* L.)

ABSTRACT: The objectives of this study were the identification of the species of leafhoppers present in a production field of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) (Cuba Cueto range 25-11) in Güines, Mayabeque, Cuba, and the observation of their relationships with disease symptoms on the plants. For this, 30 plants from three plots were sampled every seven days from January to March 2015. The collected insects were cleared and mounted on slides to be identified using taxonomic keys. A cladogram was constructed to analyze the relationships between disease symptoms on the plants and the insects. The leafhoppers identified were *Empoasca kraemeri* Ross and Moore, *Empoasca fabae* Harris, and *Empoasca papayae* Oman. The plants showed symptoms representative of hopperburn, phytoplasma and virus diseases, which were related to vectors.

Key words: *Empoasca fabae*, *Empoasca kraemeri*, *Empoasca papayae*, phytoplasma, common bean, virus.

INTRODUCCIÓN

Los saltahojas son hemípteros fitófagos, con un distinguible aparato bucal picador-succionador; son capaces de producir daños considerables a cultivos de importancia económica, a través de su alimentación directa (1, 2) y como vectores de enfermedades ocasionadas por fitoplasmas y virus, entre otros patógenos (3, 4, 5, 6, 7). En Hemiptera, los typhlocybinos se destacan por tener pequeño tamaño, no son distinguibles externamente y es compleja su

identificación, especialmente los representantes de la tribu Empoascini. Están ampliamente distribuidos en la mayoría de los paisajes terrestres, tanto naturales como antrópicos, exceptuando los desérticos y polares (8).

Desde el pasado siglo y hasta nuestros días, se puso énfasis en su taxonomía y se consideraron solamente los aspectos morfológicos (3, 9, 10), pero a partir de los años 90, Hemiptera se analizó por métodos moleculares y se emplearon esas técnicas

*Autor para correspondencia: Basilia Miriam Fernández Argudín.
Correo electrónico: miriam@censa.edu.cu.

para una revisión filogenética del orden, familias, subfamilias, tribus y especies (11).

Resultan escasos los estudios (5, 6) que relacionen a estos insectos con las enfermedades que transmiten. Internacionalmente hay mayor avance en esta línea de trabajo, pero poco se conoce sobre los mecanismos que están involucrados (12). Recientemente se produjeron incrementos de las poblaciones de saltahojas y su asociación con síntomas de enfermedades, probablemente, a consecuencia del calentamiento global en el planeta (13, 14), por lo que debe prestarse atención a este importante grupo.

Los objetivos del presente trabajo fueron identificar los saltahojas presentes en el cultivo de frijol en una localidad de Cuba y determinar su relación con los síntomas de enfermedades que se observaron en esa área de producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos cada siete días, en un campo de 26 ha sembradas con frijol (*Phaseolus vulgaris* L) cv. Cuba Cueto 25-11, con un marco de plantación de 7 cm x 0,90 cm. El área estaba ubicada en el municipio Güines, en la occidental provincia Mayabeque, Cuba, y el estudio se desarrolló entre enero y marzo de 2015. El área de 360 hileras de plantas se dividió en tres parcelas, y de cada una se evaluaron 30 plantas, para un total de 90 plantas.

Los síntomas de las enfermedades se registraron durante los muestreos; los insectos, recolectados en las plantas, se trasladaron al laboratorio de Entomología del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), donde se aclararon y montaron en portaobjetos (7) para la identificación.

Las preparaciones se observaron con un microscopio AxioLab® A1, con monitor y cámara fotográfica acoplada; se emplearon lentes con aumento 10X, 20X y 40X. Se tuvieron en cuenta la coloración, las manchas de la cabeza y el tórax, el tamaño promedio de los adultos y la genitalia de los machos. Las características de los especímenes se compararon con las recogidas en las claves (15, 16).

Se confeccionó un dendrograma relacionando los síntomas típicos de las enfermedades cuantificadas en las 90 plantas y la densidad poblacional de los saltahojas presentes, con el uso del programa InfoStat, versión 2.0 (17).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de los saltahojas

Se identificaron las especies *Empoasca kraemeri* Ross y Moore, *Empoasca fabae* (Harris) y *Empoasca papayae* Oman.

E. kraemeri y *E. fabae* (Figuras 1a y 2a) tienen una tonalidad verde claro con seis manchas blancas circulares en el pronoto y bandas irregulares a nivel del vértex y mesonoto, sin diferenciación externa a simple vista, con un tamaño promedio entre 2,5 y 3 mm, respectivamente.

E. kraemeri presentó la espina media dorsal o gancho del décimo segmento anal relativamente ancha, con una proyección puntiaguda dirigida ventralmente y hacia atrás; los apodemas tergaes, que forman una X abierta (1S), y los apodemas esternales (2S) (Figura 1b) sobrepasan el primer segmento abdominal.

Los estilos son sinuosos con dientes en el ápice y setas cortas seguidas del mismo; los procesos laterales (paráfisis) son más largos que los estilos, sinuosos con el ápice ensanchado y el aedeago es largo sin procesos, unido al conectivo triangular (Fig. 1c, d); el preatrio es largo y corto el atrio.

E. fabae se diferencia de *E. kraemeri* por presentar los apodemas tergaes prácticamente lineales (1S), los apodemas esternales (2S) sin sobrepasar el primer segmento abdominal, en forma de U, separados en la base (Fig. 2b); los estilos son menos sinuosos que en *E. kraemeri* pero con similar apariencia, con dientes en el ápice y setas cortas a continuación. La espina media dorsal o gancho del décimo segmento anal es relativamente corta.

Los adultos de *E. papayae* presentan un color verde amarillento (Fig. 3), con tamaño promedio de 2,9 - 3 mm. En la figura 3 se muestran el adulto y las estructuras de la genitalia del macho, tal como fue descrita (7).

La población de *E. kraemeri* fue más abundante que la de *E. fabae*; *E. papayae* se observó esporádicamente. *E. papayae* se informa por primera vez en Cuba en el cultivo del frijol.

Una revisión taxonómica de *E. kraemeri* (16), *E. fabae* (16) y *E. papayae* (3), identificadas desde el siglo pasado, debería llevarse a cabo con métodos moleculares y otros, como las comparaciones biológicas, ecológicas y etológicas en los diferentes

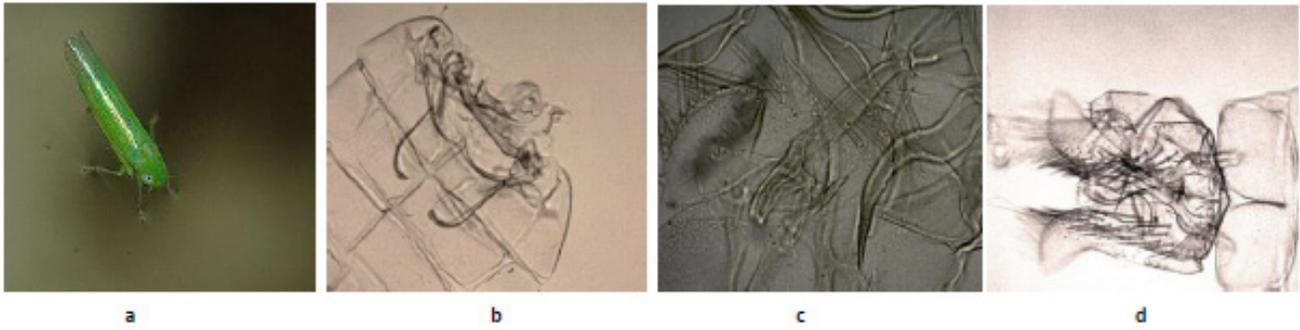


FIGURA 1. a) Adulto de *E. kraemeri*. b) Genitalia de macho: apodema tergal S1 y esternal 2S, c) conectivo, aedeago y estilo, d) Genitalia completa, posición ventral./ *a) Adult of E. kraemeri b) Genitalia of the male: apodemes tergal S1 and sternal 2S, c) connective, aedeagus and style, d) Complete genitalia, ventral position.*

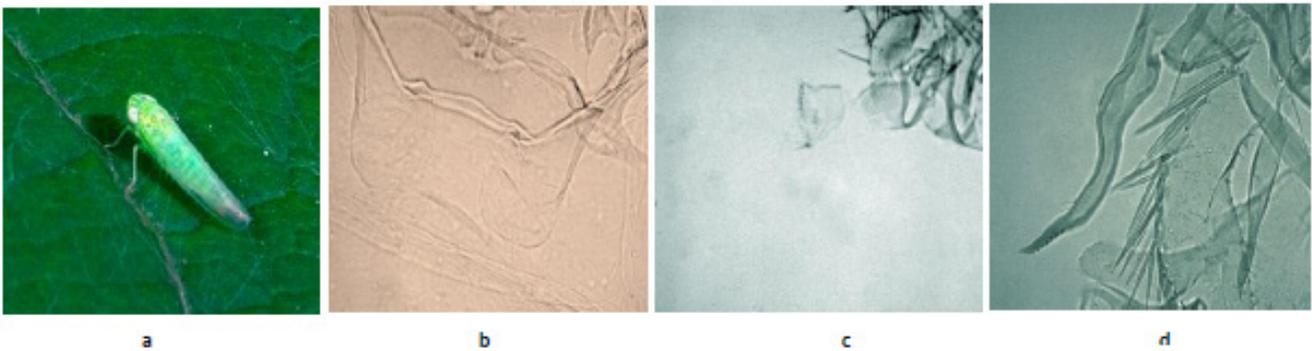


FIGURA 2. a) Adulto de *E. fabae*, b) Genitalia de macho: apodema tergal S1 y esternal 2S, c) espina media dorsal, d) estilo, placa subgenital, proceso lateral, conectivo e inicio del aedeago./ *a) Adult of E. fabae b) Genitalia of the male of E. fabae S1, apodemes 2S, ano, c) style, subgenital plate, lateral process, connective and beginning of the aedeagus.*

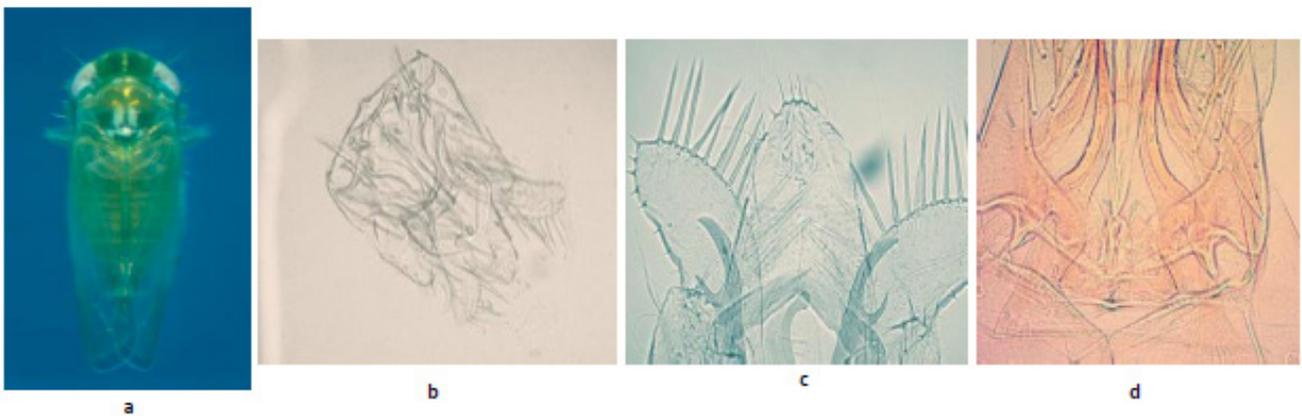


FIGURA 3. a) Adulto de *E. papayae*. b) Genitalia de macho completa, vista ventral, c) Extremo distal del ano, placas subgenitales y ápice de los procesos laterales (bifurcación) y gonoporo del aedeago, d) conectivo y los puntos de inserción del pigofer, estilos y procesos laterales./ *a) Adult of E. papayae, b) Genitalia of the male c) complete genitalia in ventral position. b) final end of the anus, subgenital plaques and lateral processes (bifurcation) and gonopore of the aedeagus. c) position of the connective and the points of insertion of the pigofer, styles and lateral processes.*

cultivos, porque en algunos ejemplares, a pesar de guardar las características definidas para las especies, se evidenció variabilidad en algunas de sus estructuras. Otro aspecto importante a tener en cuenta es la polifagia que presentan estas especies, así como la coexistencia en el mismo cultivo.

Relación de los saltahojas con las plantas sintomáticas

El amarillamiento fue el síntoma más asociado a los vectores (Fig. 4); estos formaron un clado con igual longitud y a mayor distancia que el resto de los síntomas.

Diferentes autores (1, 2, 18) documentaron cómo, a través de la alimentación directa, los saltahojas producen una enfermedad denominada quemado o necrosis de la hoja. Los síntomas iniciales de esta enfermedad son la formación de un amarillamiento en forma de V en el ápice de la hoja que, posteriormente, la cubre y da lugar al amarillamiento seguida de la necrosis; en ocasiones, en el borde de la hoja se desarrolla también un ribete clorótico.

Esta enfermedad en la alfalfa produce pérdidas en la producción de hasta 50% con baja calidad en el follaje, así como en el frijol, la soya, el trébol, el manzano, entre otros (1, 2, 18).

Otros síntomas de esta enfermedad incluyen acortamiento de los entrenudos, achaparramiento y escasez de flores, que son señales similares a las transmitidas por patógenos y la deficiencia de nutrientes (18).

El quemado o necrosis de la hoja no es una enfermedad contagiosa, que se produce particularmente por *Empoasca* spp. El efecto que tiene la introducción de los estiletes bucales en el mesófilo de las células de la planta (19), conjuntamente con la acción tóxica de la saliva, bloquea los vasos y, como consecuencia, se produce la clorosis (19, 20, 21).

Bakcus *et al.* (20) estudiaron con detenimiento este mecanismo y plantearon que no está involucrada solamente la saliva que inyecta, más bien por la interacción compleja que se establece entre el estímulo a la planta durante la alimentación del

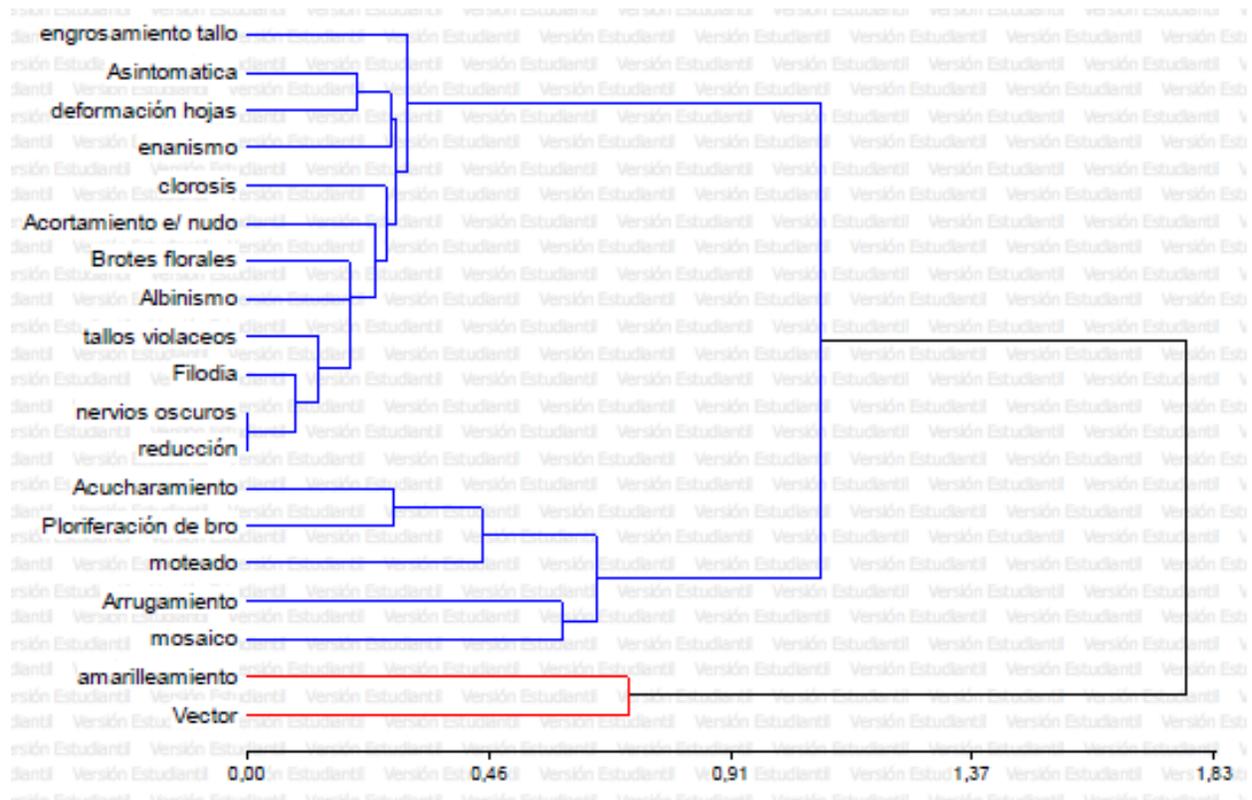


FIGURA 4. Cladograma que representa la relación de los síntomas de las enfermedades registrados en las plantas con los saltahojas presentes. / *Cladogram representing the relationships of the registered symptoms on plants and leafhoppers.*

insecto, que se denomina iniciación, y la respuesta que aquella ofrece, identificado como cascada. El movimiento de penetración del único estilete bucal, graficado eléctricamente (21), provoca el deterioro de la planta (iniciación), exacerbado por la saliva tóxica que se introduce. A partir de ese proceso, en la planta se desencadena una serie de eventos metabólicos (cascada) que da lugar a la enfermedad. La táctica que emplee el insecto en el proceso de alimentación, y a través de la medición gráfica eléctrica, puede inferir el grado de severidad de la enfermedad y los mecanismos de transmisión (21).

En virtud de este hecho, se podría explicar la relación estrecha del amarillamiento y los insectos presentes, más alejado del resto de los síntomas (filodia, deformación de las hojas, engrosamiento del tallo, proliferación de los brotes), y con menor distancia (Fig. 4). Estos síntomas fueron más frecuentes a partir del quinto muestreo, donde son menores otros síntomas generados por el quemado y por los patógenos.

Es interesante destacar que se ha descartado la posibilidad de que *E. kraemeri* transmita algún tipo de virus u organismo similar (22). Sin embargo, dentro del complejo de especies se identificó *E. papayae*, confirmada como vector de Bunchy Top (4), lo cual sugiere que muchos de esos síntomas pudieran estar vinculados a fitoplasma.

Estos resultados ponen en evidencia la necesidad de continuar con los estudios de transmisión para definir la función que, como vectores, pudiera tener el complejo de *Empoasca* en el frijol.

REFERENCIAS

- Bennett KV, Burkness EC, Hutchison WD. Potato Leafhopper. Vegetable IPM for the Midwest. University of Minnesota: The College of Agricultural Sciences. 2011; <http://www.vegedge.umn.edu/vegpest/plh.htm>. Consultado: 10/06/2016.
- Calvin D. "Potato leafhopper on alfalfa." Entomology. 2003. Retrieved from The Pennsylvania State University Extension on Jul 7, 2011. <http://ento.psu.edu/extension/factsheets/potato-leafhopper-alfalfa>. Consultado: 10/06/2016.
- Nielson MW. The leafhopper vectors of phytopathogenic viruses (Homoptera: Cicadellidae), taxonomy, biology and virus transmission. Agricultural Research Service Technical, USDA Bulletin 1968; No. 1382: 386 pp.
- Acosta K, Piñol B, Arocha Y, Wilson M, Boa E, Lucas J. Transmission of Phytoplasma associated with Bunchy Top symptom of papaya by *Empoasca papayae* Oman. J Phytopathol. 2010;158:194-195.
- Bosco D, Tedeschi R. Insect vector transmission assays. Matt Dickinson and Jennifer Hodgetts (Eds.), Phytoplasma: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. © Springer Science+Business Media, LLC Chapter 7. 2013;938:73-84.
- Ishii Y, Matsuura Y, Kakizawa Sh, Nikoh N, Fukatsua T. Diversity of bacterial endosymbionts associated with Macrosteles Leafhoppers vectoring phytopathogenic Phytoplasmas. Applied and Environmental Microbiology. 2013;79(16):5013-5022.
- Sánchez A, Quiñones M, Piñol BE, Fernández BM. Primer informe de Typhlocybinae como vectores potenciales de fitoplasmas en *Cnidioscolus chayamansa* (Miller) I.M. Johnst. (chaya) en Cuba. Rev Protección Veg. 2015;30(2):148-157.
- Bisby FA, Roskov YR, Orrell TM, Nicolson D, Paglinawan LE, Bailly N, et al. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life: 2011 Annual Checklist." <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2012/> Consultado: 04/01/2016.
- Song Y, Li Z. Four new species of the leafhopper genus *Kapsa* Dworakowska from China (Hemiptera, Cicadellidae, Typhlocybinae), with a key to Chinese species. Zoo Keys. 2012;212:25-23.
- Yu XF, Yang MF. Three new species of the leafhopper genus *Dayus* Mahmood from China (Hemiptera, Cicadellidae, Typhlocybinae, Empoascini). ZooKeys. 2013;355:1-8.
- Sorensen J, Campbell BC, Gill RJ, Steffen-Campbell JD. Non-monophyly of Auchenorrhyncha (Homoptera), based upon 13SrDNA phylogeny: Eco-evolutionary and cladistic implications within pre-heteropteroidea Hemiptera and a proposal for a new monophyletic Suborders. Pan-Pacific Entomology. 1995;71(1):31-60.
- Dakhil HA, Abou-Fakhr HE, El-Mohtar C, Abou-Jawdah Y. Survey of leafhopper species in almond orchards infected with almond witches'-broom phytoplasma in Lebanon. Journal of Insect Science. 2011;11(60):12.

13. Anderson P, Cunningham A, Patel N, Morales F, Epstein P, Daszak P. Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology and Evolution*. 2004;19:535-544.
14. Calanca P. Weather Forecasting Applications in Agriculture. In: Neal Van Alfen, editor-in-chief. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, Vol. 5, San Diego: Elsevier 2014; 437-449.
15. Catalano MI, Paradell SL., Dietrich CH. First report on the leafhopper genus *Balera* Young (Hemiptera, Cicadellidae, Typhlocybinae, Alebrini) from Argentina, and description of a new species. 2011. <http://dx.doi.org/10.3897/zookeys.352.6283>.
16. Ross HH, Moore TE. New species in the *Empoasca fabae* Complex (Hemiptera: Cicadellidae). *Annals Entomological Society of America*. 1957;50:118-122.
17. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat, versión 2.0, 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
18. Bagg J. Potato Leafhopper in Alfalfa. Ministry of Agricultural, food and Rural Affairs Creation Date: 13 August 2012 last reviewed 13 August 2012. Consultado: 10/06/2016.
19. Baje L, Stewart AJA, Novotny V. Mesophyll cell-sucking herbivores (Cicadellidae: Typhlocybinae) on rainforest trees in New Guinea: local and regional diversity of a taxonomically unexplored guild. *Ecological Entomology*. 2014;39(3):325-333. ISSN 0307-6946.
20. Backus EA, Serrano MS, Ranger CM. Mechanisms of hopperburn: an overview of insect taxonomy, behavior, and physiology. *Annu Rev Entomol*. 2005;50:125-151.
21. Trebicki P, Tjallingii WF, Harding RM, Rodoni BC, Powell KS. EPG monitoring of the probing behaviour of the common brown leafhopper *Orosius orientalis* on artificial diet and selected host plants. *Arthropod-Plant Interactions*. 2012.
22. Hallman G, García J. *Empoasca* spp. como Plaga del Frijol. *Ceiba*. 1985;26(1):127-139.

Recibido: 18-7-2016.
Aceptado: 27-11-2016.