

Nota

USO DE NEMÁTODOS ENTOMOPATÓGENOS COMO UNA ALTERNATIVA EN EL CONTROL DE POLILLA (*Tecia solanivora*), IMPORTANTE PLAGA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*). MÉRIDA-VENEZUELA

Xuejuan Fan*, Alfredo Maggiorani** y Samir Gudiño**

*Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Mérida, **Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias-Estación Trujillo-Venezuela

RESUMEN

Se establecieron ensayos en laboratorio para determinar la susceptibilidad de las larvas de polilla (*T. solanivora*), al ser infectadas con *Steinernema feltiae*, procedentes del Departamento de Biología del Imperial College de Ciencia de Inglaterra y con un nemátodo nativo, aislado de suelos del sur del Lago de Maracaibo específicamente en la localidad de Caño Muerto (Venezuela), perteneciente al género *Heterorhabditis* (**Het. 1**). Los resultados preliminares demuestran que la polilla es altamente susceptible a la infección por estos nemátodos, en ensayos con papel filtro y envases con arena. Utilizando 10 larvas de nemátodos pertenecientes al género **Het.1** en el estado juvenil (Ijs) por larva de polilla, dio como resultado la muerte del 70% de dichas larvas, dentro de las 72 horas después de inoculadas. Cuando la dosis se incrementó de 50 a 125 Ijs/larva, se obtuvo una mortalidad entre el 86% y el 100%. En pruebas con *S. feltiae*, 53 Ijs/larva, fue suficiente para producir una mortalidad del 100%, utilizando envases de arena, mientras que para producir 90 % de mortalidad de larvas de polilla, en ensayos de papel filtro fue necesario utilizar concentraciones de 280 Ijs **Het. 1**. Estos nemátodos son capaces de reproducirse dentro de las larvas muertas de polilla y de esta manera pueden finalizar su ciclo de vida. Se requieren estudios complementarios para poder investigar la susceptibilidad de varios estados de la polilla a ser infectados por los nemátodos, especialmente cuando se utilizan especies nativas. Es posible desarrollar un método alternativo de control, combinando los nemátodos entomopatógenos con el ciclo de vida de la polilla.

Palabras clave: Nemátodos, *Heterorhabditis*, Entomopatogenos, Plaga, *Solanum tuberosum*.

ABSTRACT

Several lab assays were established to determine the susceptibility of the larvae of polilla (*T. solanivora*) infected by *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophara* provided by The Department of Biology of Imperial College of Science, and a native nematode isolated from soil of South part of Maracaibo Lake at the locality named "Caño Muerto" (Venezuela), which belongs to the genus *Heterorhabditis* (Het. 1). Preliminary results show that the polilla is highly susceptible to the infection by these nematodes, in filter-paper and sand-barrier assays. Using 10 larvae of nematode belonging to the genus Het 1. in ineffective juvenile stage (Ijs) per a polilla larvae, cause the dead of the 70% of such larvae, within 72 hours after the inoculation. Increasing the doses from 50 to 125 Ijs/larvae was enough to get between 86 % and 100 % of mortality in polilla larvae. In the case of *S. feltiae*, 53 Ijs/larvae was enough to produce 100 % of mortality using sand trays. Meanwhile in the case of Het. 1, to produce 90% of mortality in polilla larvae in filter-paper assays was necessary to use concentration of 280 Ijs/larvae. These nematodes were capable of reproducing within dead polilla larvae and complete their life cycle. Further studies are necessary to see the susceptibility of several stage of polilla insect to the infection by nematodes. We provide evidence that it is possible to develop an alternative control method, combining entomopathogenic nematodes with the life cycle of the insect.

Key words: Nematodes, *Heterorhabditis*, Entomopathogenic, Pest, *Solanum tuberosum*

INTRODUCCIÓN

La polilla (*Tecia solanivora*) es un insecto importante como plaga de la papa en Venezuela y en muchas otras regiones de América Latina. El control de esta plaga ha dependido principalmente de sustancias químicas, tales como ferohormonas e insecticidas químicos. Prácticas culturales como aumento en la frecuencia de riego, a porque alto, entre otros.

Los nemátodos entomopatógenos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae son utilizados como insecticidas biológicos contra insectos perjudiciales de plantas y, particularmente, contra plagas que habitan en el suelo, Kaya y Gaugler (1993).

La polilla entra en la categoría de insectos plagas perjudiciales de plantas que habitan en el suelo, al menos en algunas etapas de sus ciclos de vida. El objetivo del presente estudio fué evaluar el uso potencial de los nemátodos *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora* y un aislamiento autóctono de *Heterorhabditis* (**Het. 1**), para el control de *T. solanivora*.

Revisión de literatura

Las asociaciones existentes entre nemátodos e insectos datan desde épocas geológicas muy antiguas, los cuales se remontan al período Cámbrico de la era Paleozoica. Taylor (1935). En el siglo XVII, Androvandu halló y citó en su obra **De Animalibus Insectis** (1623) la presencia de vermes que emergían de langostas muertas. Simser y Sherri (1994). No obstante lo anterior, se considera como fecha inicial del registro de nemátodos invertebrados el año 1742, con el descubrimiento de Reamur, entomólogo francés, quien describe e ilustra el nemátodo conocido más tarde como *Sphaerularia bombi* Dufour. Simser y Sherri (1994).

En el transcurso de los siglos XVIII Y XIX comienzan a aparecer una gran cantidad de trabajos referentes a citas y descripciones de nemátodos entomofílicos, destacándose entre ellos las contribuciones de Dujardin, Filipjev, von Linstow, von Siebold, Rudolphi y Yatsenkowsky, entre otros. Simser y Sherri (1994).

Glaser (1888-1947), fue el primero en vislumbrar la potencialidad de los Steinernematidae, especialmente el género Neoplectana Steiner, en la lucha biológica, y centró sus esfuerzos en el mejoramiento de técnicas de cría masiva in vitro. Kaya y Gaugler (1993).

Durante los primeros treinta años de nuestra centuria, se incrementaron las listas no sólo referentes a los entomonemátodos, sino también se dan a conocer los grupos de insectos hospedadores intermediarios y/o definitivos, destacándose en los años 30 los trabajos de Cobb, Goodey y Oldham. Xuejuan F. y Hominick (1991).

En Sudamérica, el brasileño L. Travassos fué pionero en el campo de la nematología. Sus numerosas publicaciones que datan desde 1925 contribuyeron al conocimiento de los Oxyuridae y Thelastomatidae parásitos de miriápodos e insectos. Georgis y Poinar (1991).

En Argentina, M.A. de Doucet y N.B. Camino, abordaron por primera vez este tema en la década del 80 y realizaron estudios referentes a nemátodos mermitidos parásitos de insectos acuáticos y terrestres. Georgis y Poinar (1983).

En la actualidad, existe un gran número de especialistas como G.O.Poinar, H.Kaya y R. Gaugler en Norteamérica; H. Wester y R. Gordon en Canadá; J. Lieutier, C. Laumond en Francia; J. Kaiser en Alemania; R. Akhurst, R. Bedding y J. Curran en Australia y otros renombrados nematólogos y entomólogos, que con sus invalorable trabajos científicos, han iniciado un nuevo capítulo en la historia de la patología de insectos, el de la Entomonematología.

MATERIALES Y MÉTODOS

Nemátodos y cultivos de insectos: Los estados juveniles infecciosos (I'js) de diferentes especies de nemátodos entomopatógenos fueron cultivados en el último instar de *Galeria mellonella*. Este insecto (Galeria) es de fácil reproducción en laboratorio y es uno de los tantos mecanismos que existen a nivel mundial para reproducir los estados infecciosos de los nemátodos entomopatógenos. Todos los experimentos fueron conducidos con los nuevos juveniles infecciosos (I'js). Las larvas de *T. solanivora* fueron recolectadas en siembras de papa del estado Trujillo.

Ensayos de papel filtro

Para el parasitismo de la polilla por especímenes de **Het. 1** se utilizaron Cinco cápsulas de Petri (9,0 cm. de diámetro) con papel filtro. Los nemátodos en dosis de 280 juveniles infecciosos/ml se distribuyeron homogéneamente sobre el papel filtro. Cuatro grupos de 10 polillas se colocaron en 4 cápsulas y 5 polillas en una 5ta. cápsula. Se utilizaron 280 nemátodos (I'js) por insecto. Después de 48 horas, a temperatura ambiente, los insectos fueron lavados con agua y colocados en las 5 cápsulas con un papel filtro húmedo. Posteriormente fueron desinfectados con solución Ringer's, y 4 días más tarde los adultos fueron contavilizados.

Para preparar la solución Ringer's se utilizaron los siguientes elementos:

NaCl	9,0g
KCl	0,4g

CaCl ₂ :	0,4g
NaHCO ₂ :	0,2g
Agua Destilada:	1,0L

Ensayos con arena

La arena fue lavada y secada al horno. Luego se le aplicó un ml de agua para cada 25 ml de arena, y se colocó en envases plásticos. Posteriormente se le agregó 1 ml. de la solución con nemátodos. El contenido de la humedad del suelo fué de 8% en total (v/v). La dosis de nemátodos (más de 10 I'js/larva) fueron preparadas usando la técnica de dilusión.

El promedio se calculó en base a tres muestras de 1 ml, y se consideró como la dosis. Las polillas se introdujeron individualmente en el fondo del envase. Después el envase se lleno con arena y la suspensión de nemátodos se aplicó individualmente sobre la superficie de arena.

Prueba 1: Parasitismo de polilla por **Het 1**. en dosificaciones (10, 50 y 125). Después que las larvas de polilla fueron expuestas a las larvas I'js por 3 días a 25°C, fueron recuperadas de la arena, lavadas con agua destilada y colocadas sobre papel filtro humedecido en cápsulas de Petri. La disección de las larvas se hizo en solución Ringers después de permanecer por 2 días en las cápsulas de Petri.

Prueba 2: El parasitismo de polilla por **S. feltiae** a dos dosis (53 y 114). Se utilizó la misma metodología aplicada en la prueba 1 pero con **S. feltiae**.

RESULTADOS

Estudio en papel filtro

El Cuadro 1 muestra los resultados de la disección realizada en las larvas de **T. solanivora** como en las pruebas efectuadas en papel filtro, utilizando el aislamiento **Het.1**, en dosis de 280 I'js/larva. El 86% de las larvas fueron muertas después de haber sido expuestas a los I'js por 48 horas. La disección demuestra o revela que aproximadamente 3 nemátodos se establecieron en cada larva muerta.

La conclusión de la preferencia no puede ser hecha en este momento. Los experimentos deben ser repetidos con más replicaciones. Fue también notorio que la larva de polilla infectada, pasa a estado de pupa con los nemátodos en el interior de su cuerpo. (Ver Cuadro 1)

Estudios en arena

El Cuadro 2 contiene los resultados de las pruebas 1 y 2, en las cuales las larvas de **Het 1**. fueron usadas para infectar las larvas de la polilla. Con un incremento en la dosis, la muerte de polilla y los números de nemátodos dentro de la larva muerta, se hicieron mayores a medida que se incrementó la dosis. Sin embargo, las intensidades de infección (promedio establecidos con respuestas a las dosis aplicadas) tienden a ser similares.

La polilla fue altamente susceptible a la infección por larvas de **S. feltiae** (Cuadro 2) 53 Ijs/larva produjeron 100% de mortalidad, siendo igual al obtenido con 114 I'js/larva.

DISCUSIÓN Y RECOMENDACIONES

Estos resultados preliminares demuestran la susceptibilidad de polilla a infección por nemátodos entomopatógenos.

La mayoría de los experimentos fueron realizados usando especies de **Het.1**, ya que este nemátodo entomopatógeno es autóctono de nuestros suelos. El uso futuro de este nemátodo no sería limitado por ningún tipo de regulación existente. En general, el aumento en la mortalidad del insecto puede ser obtenida con el aumento en la dosis del nemátodo.

El número significativo de nemátodos que se establecen dentro de las larvas de polilla aumenta con la dosis aplicada. Sin embargo, los porcentajes entre los promedios y las dosis aplicadas al parecer son similares excepto en dosis más altas (114 I'js/larva). Esto puede implicar que hay algunos factores limitantes que pueden estar implícitos en el hospedero o en el nemátodo entomopatógeno. Puede ser que el hospedero tolere un número máximo de nemátodos o es la cantidad de nemátodos que se pueden establecer dentro del hospedero.

Se deberían realizar otros estudios con un rango de dosis más altas, a los fines de corroborar estos resultados. Esta estrategia es provechosa para los nemátodos entomopatógenos ya que generan altas reproducciones en el hospedero y aseguran generaciones sanas de estados juveniles infecciosos.

En **T. solanivora** esto indica el potencial de usar estos nemátodos nativos como un método económico y seguro de control. Ya estos nemátodos han sido demostrados en ser aplicados como insecticidas biológicos exitosamente contra patógenos de plantas

Cuadro 1. Parasitismo de *T. solanivora* por Het.1.

Cápsula de Petri	Larvas del Insecto	Muerte de larvas producto de la infección	No. promedio de nemátodos establecidos
1	10 <i>T. solanivora</i>	9/10	2.1(0.5)
2	10 <i>T. solanivora</i>	9/10	4.3(1.3)
3	10 <i>T. solanivora</i>	9/10	4.2(2.1)
4	10 <i>T. solanivora</i>	9/10	1.9(0.5)
5	05 <i>T. solanivora</i>	5/5	2.6(1.5)

Las larvas de *T. solanivora* fueron expuestas a 280I'js de Het.1, en papel filtro, a temperatura ambiente por 48 horas.

Cuadro 2. Infección de *T. solanivora* por 2 nemátodos entomopatógenos en suelo a diferentes dosis.

Especies de nemátodos	Dosis	Muerte en % debido a la infección por nemátodos	Número promedio de nemátodos establecidos	Número de nemátodos establecidos /dosis aplicada %
Het.1	10	70,0 (21/30)	1,8 (0,2)	18,0
	50	86,7 (13/15)	7,8 (2,4)	15,6
	125	100 (15/15)	26,6 (4,0)	18,1
<i>S. feltiae</i>	53	100 (13/13)	10,2 (2,4)	19,2
	114	100 (13/13)	23,7 (6,4)	20,8

T. solanivora fue expuesta individualmente a diferentes dosis de I'js de Het.1 y *S. feltiae* a 25°C y temperatura ambiente respectivamente por 72 horas.

habitantes del suelo. Polilla vive la mayor parte de su ciclo en el suelo. Los nemátodos pueden ser rociados sobre la superficie del suelo o inyectados en el suelo cerca de las raíces de la papa.

La polilla podría ser infectada cuando las larvas emergen de los huevos en busca de los tubérculos de papa para completar su ciclo y poder alimentarse.

Los aislamientos de **Het. 1**, indica la disponibilidad de los nemátodos entomopatógenos nativos para el control de estas plagas. En tal sentido se deberían efectuar nuevos aislamientos de especies nuevas potencialmente efectivas para el control de estas y otras plagas de insectos habitantes del suelo. De esta manera sería posible escoger los mejores para el control biológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GEORGIS, R. y R. GAUGLER. 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. *Journal of Economic Entomology*. 84(3):713-720.
- GEORGIS, R. y G.O. POINAR. 1983. Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda:Steinernematidae). *Journal of Nematology* 15(2):308-311.
- KAYA, H. K. y R. GAUGLER. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology* 38:181-206
- SIMSER, D. y R. SHERRI. 1994. Suppression of strawberry root weevil, *Otiorhynchus ovatus*, in cranberries by entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Nematologica* 40: 456-462.
- TAYLOR, A.L. 1935. A review of the fossil nematodes. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 2:47-49.
- XUEJUAN, F. y W.M., HOMINICK. 1991. Efficiency of the Galleria (wax moth) baiting technique for recovering infective stages of entomopathogenic Rhabditids (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from sand and soil. *Revue Nématol.* 14(3):381-387.