

**NEMÁTODOS ENTOMOPATÓGENOS: UNA ALTERNATIVA
PROMISORIA PARA EL CONTROL BIOLÒGICO DE CHINCHES
PENTATOMORPHAS PLAGAS DE LA SOYA.**

**MSc. YANDYLEXIS SUAREZ CARDENAS¹, Dr.C LEONEL MARRERO
ARTABE², Dr.C JOSÉ ORRELLY RODRIGUEZ³**

1. *1. Empresa Azucarera Matanzas. Canimar Km 5 ½
Matanzas Cuba*
2. *2. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”, Vía
Blanca Km.3, Matanzas, Cuba.*
3. *3. Estación Experimental de la Caña Azúcar “Antonio
Mesa”, Carretera central Km 65, Jovellanos, Matanzas,
Cuba.*

Resumen.

Durante el período Octubre del 2009 a Mayo del 2011, se realizaron monitoreos a plantaciones de soya (*Glicine max (L.)*) cultivadas en la Empresa Provincial de Semillas Jovellanos, Matanzas, para evaluar el complejo de chinches pentatomorfas asociadas a las variedades Conquista e IS-27. Se realizaron muestreos mediante el método del paño horizontal (EMBRAPA, 2003) y se procedió a la identificación taxonómica, evaluación etológica de las especies detectadas según Marrero (2007). Se demuestra por vez primera que el nematodo entomopatògeno *Heterorhabditis bacteriophora* (cepa CH- 1, a dosis de 40 nematodos/insecto), ejerció un control eficaz tanto en ninfas como en adultos con una mortalidad del 80-90 % del complejo plaga. Los resultados alcanzados aportan elementos para el Programa de Manejo Integrado del Cultivo de la Soya y la biodiversificación de áreas cañeras del MINAZ en la provincia.

Palabras claves: *Nematodo, Heterorhabditis bacteriophora; chinches; soya; etológica.*

CHINCHES PENTATOMORPHAS PLAGAS DE LA SOYA

Los hemípteros fitófagos constituyen el complejo de insectos que mayor daño pueden causar al cultivo de soya (*Glycine max. L.*). Las tecnologías de manejo aplicadas en la última década al cultivo de soya, han modificado el hábito de colonización, incremento la abundancia y la composición específica del complejo de chinches (Gamundi et al., 2003, Sosa y Mazza, 2006). En determinadas plantaciones a nivel mundial, la abundancia relativa de la chinche de la alfalfa, *Piezodorus guildinii* W. aumenta notablemente (Gamundi et al., 2003; Frana et al., 2006; Gamundi et al., 2007). La estructura del cuerpo de la monografía es opcional, se puede declarar explícitamente las partes de la misma, introducción, desarrollo y conclusiones o desarrollarla de forma continua.

El empleo de plaguicidas crece a nivel mundial pero también la demanda de productos más selectivos y con menor impacto sobre el ambiente (Thomson y Hoffmann, 2007). En Argentina, en la última década (2000-2009) el mercado de insecticidas se triplicó, siendo los lepidópteros y las chinches del cultivo de soya los destinatarios de la mayor parte de los mismos. Los insecticidas más aplicados en el cultivo de la soya son endosulfán, clorpirifós, cipermetrina, metamidofós y lambdacialotrina, caracterizados por su escasa selectividad (CASAFE, 2009).

CONTROL BIOLÓGICO

El uso extensivo de los plaguicidas ha conllevado a la aparición de la insecto-resistencia y al desequilibrio en poblaciones de insectos beneficiosos, así como a un deterioro del ambiente. Todo ello ha inducido a un incremento de la demanda de alternativas de control selectivo de plagas, principalmente en el uso de medios biológicos (Sánchez, 2003).

Existen tres técnicas generales de Control biológico; importación o control biológico clásico, incremento y conservación. Cada una de estas técnicas se puede usar bien sea sola o en combinación en un programa de control biológico. En el control biológico clásico, los

enemigos naturales son deliberadamente importados de una región a otra con el propósito de suprimir una plaga de origen exótico. En el control biológico aumentativo, la eficacia de aquellos enemigos naturales que se encuentran en el lugar es realizada por liberaciones de individuos criados en insectario (Ehler, 1998).

La técnica de incremento involucra la producción masiva y colonización periódica de enemigos naturales por lo que este tipo de control biológico se ha prestado para el desarrollo comercial. Hay cientos de productos de control biológico disponibles comercialmente para el control de plagas de invertebrados, malezas y fitopatógenos.

En cualquier esfuerzo de control biológico, la conservación de enemigos naturales es un componente crítico. Esto implica identificar el (los) factor (es) que pueden limitar la efectividad de los enemigos naturales y modificarlos para incrementar la efectividad de las especies benéficas. En general la conservación involucra bien sea, reducir los factores que interfieren con los enemigos naturales o suministrar los recursos que necesitan los enemigos naturales en su medio ambiente, y estos requerimientos pueden ser acceso a hospederos alternativos, recursos alimentarios para los adultos, refugios o microclimas adecuados (Monzón ,2001).

Sería deseable que el primer paso en el control biológico consistiera en conservar (preservar la actividad de sobre vivencia y reproducción) a los enemigos naturales nativos (o ya presentes en un cultivo) a fin de incrementar su impacto sobre las plagas. En este sentido, la conservación de los entomófagos va dirigida preferentemente contra plagas endémicas, no obstante también incluye el mejoramiento de las posibilidades de establecimiento de especies introducidas para el control biológico de plagas exóticas o incrementar la eficiencia de especies criadas masivamente en laboratorio.

Lamentablemente, la conservación es la estrategia de control biológico que menos atención recibe por parte de los agricultores y en términos económicos la mayor contribución del control biológico no está en los programas de introducción, producción masiva y liberación de enemigos naturales sino en la actividad natural de éstos. (Pérez Consuegra, 2004).

EL CONTROL BIOLÓGICO EN CUBA

La década del 30 del siglo pasado marcó el punto de partida del desarrollo del control biológico aplicado en Cuba, a partir de la inauguración del primer laboratorio de control biológico en el Batey del Central "Mercedes" (hoy "Seis de Agosto) para la reproducción masiva de *Lixophaga diatraeae* Townsend para el control de *Diatraea saccharalis* F., plaga principal del cultivo de la caña de azúcar en nuestro país.

En la etapa actual, el control de plagas se realiza básicamente en el contexto de programas de manejo integrado los cuales tienen un enfoque agroecológico, predominando la tendencia a la integración de alternativas de control no químico en varios cultivos como el cafeto, caña, pastos y otros.

La Ley de Medio Ambiente de 1997 incluye las "Normas Relativas a la Agricultura Sostenible" que entre otros expresa la necesidad del uso racional de medios biológicos y químicos con vistas a la reducción de la contaminación ambiental así como el manejo preventivo e integrado de plagas y enfermedades con atención especial al uso de los recursos de la diversidad biológica. Y en este contexto, un aspecto esencial para el desarrollo de las diferentes estrategias de manejo ecológico de plagas es la existencia de políticas estatales que contribuyan a su éxito. Uno de los objetivos es la sustitución de plaguicidas por medios biológicos y de hecho la disminución de insumos son consideradas como éxitos productivos asociados a la eficiencia con repercusión en la salud humana y calidad ambiental (Pérez Consuegra, 2004).

La aplicación de un programa de Manejo Integrado de Plagas responde sin lugar a dudas a una fase superior en el conocimiento de un cultivo y su entorno, que dará resultados económicamente superiores en la cantidad y calidad de la producción, logrando una mayor preservación del medio ambiente; por ello la armonización de los métodos a utilizar (químicos, biológicos, agrotécnicos), no pueden prefijarse, sino que se emplearán en el momento más adecuado (Castiglioni, 2007).

LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS

Los nemátodos son organismos translúcidos, generalmente alargados y más o menos cilíndricos en toda la longitud del cuerpo. Poseen sistema excretor, nervioso, digestivo, reproductivo y muscular, pero carecen de los sistemas respiratorio y circulatorio. El canal alimentario consta de una boca, situada en el extremo anterior del cuerpo, seguida del estoma o cavidad bucal, un esófago, intestino y recto, con la abertura anal situada ventralmente (Hominick, 1997).

El uso de nematodos para controlar insectos del follaje es problemático debido a la desecación rápida y el efecto letal de la luz ultravioleta. La aplicación muy de mañana o en la tarde aumenta la efectividad del nematodo. Cuando las plagas objetivo son de hábitos escondidos como enrolladotes de hoja o minadores, se incrementa el desempeño de los nematodos comparado con superficies muy expuestas. Aun cuando la adición de antidisecantes o protectores de luz ultravioleta, en las suspensiones de nematodos, ha mejorado el nivel de control, en muchos casos no se ha logrado un control económico.

TAXONOMÍA

La clasificación de los nematodos entomopatógenos se ha caracterizado por las imprecisiones y confusiones, con continuos cambios en las denominaciones de géneros y especies. Kaya y Stock (1997) señalan la siguiente clasificación taxonómica modificada:

Phylum: Nematoda

Clase: Adenophorea (Aphasmida)

Orden: Rhabditida

Familia: Heterorhabdidae

Especie: Heterorhabditis bacteriophora

Debe tenerse en cuenta, además, que en estos organismos es muy común la presencia de cepas. Actualmente, en los trabajos taxonómicos se incluyen no sólo los necesarios estudios morfológicos y de hibridación, sino que se recurre también a estudios genéticos, como los exámenes de DNA (Poinar, 1990).

CARACTERÍSTICAS DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS

Son patógenos obligados que matan a su hospedante. Desarrollan dos generaciones en el insecto. Son hermafroditas en la primera generación y amphimicticas en la segunda generación (Participación de machos y hembras). En los infectivos juveniles, el poro excretor está localizado posterior al anillo nervioso. Los machos presentan bursa, tienen espículas apareadas y separadas, tienen 9 pares de papilas genitales y gubernáculos presentes. Tienen 6 labios que pueden estar parcialmente fusionados en la base y cada labio con una única papila labial.

FAMILIA HETERORHABDITIDAE : GÉNERO HETERORHABDITIS

La familia Heterorhabditidae presenta un solo género: Heterorhabditis, representado por cinco especies. La especie *H. heliothidis*, se ha considerado como un sinónimo de *H. bacteriophora* (Tabla 1).

Tabla 1. LISTADO DE ESPECIES DE LA FAMILIA HETERORHABDITIDAE

ESPECIE	BACTERIA ASOCIADA	ORIGEN
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	<i>Photorhabdus</i>	Australia, Norte y
Poinar, 1976 (<i>H. heliothidis</i>)	<i>luminescens</i>	Sur América, Europa,

<i>megidis</i> Poinar, Jackson and <i>Ph. luminescens</i> Klein, 1987		
<i>zealandica</i> Poinar	<i>Ph. luminescens</i>	Australia, Ex-URSS
<i>argentinensis</i> (Stock, 1993)	<i>Ph. luminescens</i>	Argentina
<i>hawaiiensis</i> (Gardner et al., 1994)	<i>Ph. luminescens</i>	Hawaii
<i>Heterorhabditis</i> sp A	<i>Ph. luminescens</i>	China, Australia
<i>Heterorhabditis</i> sp B	<i>Ph. luminescens</i>	Cuba, U.S.A., Holanda

Fuente: (Chen et al., 1996).

Estas especies de *Heterorhabditis* se asocian con bacterias, las que se desarrollan bien en medios de cultivo, y mantienen su viabilidad por largos períodos de tiempo (□ 2 años) a 23 °C, si se les conserva en una solución al 1% de NaCl. Por otro lado, presentan una marcada actividad antifúngica, habiéndose demostrado que la fase 1 es capaz de inhibir el desarrollo de varias especies de hongos, entre ellos *Botrytis cinerea*, *Ceratocystis ulmi* y *Pythium* spp (Chen et al., 1996).

La relación entre el nematodo y la bacteria es mutualista. El nematodo se beneficia ya que la bacteria mata al hospedante y crea un ambiente apropiado para su desarrollo, inhibiendo, con sus antibióticos, la posible competencia de otros organismos; descompone los tejidos del hospedantes a nutrientes utilizables, y sirve ella misma de alimento. La bacteria necesita al nematodo para su protección del ambiente externo y posibles respuestas inmunológicas del hospedante, así como para penetrar en el hemocele de éste último. En la naturaleza, los infectivos juveniles contienen invariablemente la fase uno de la bacteria simbiote.

CICLO DE VIDA DE NEMATODOS HETERORHABDITIDAE

Los nematodos de la Familia *Heterorhabditidae* tienen un ciclo de vida similar a los *Steinernematidae*. Los adultos resultantes de los infectivos juveniles son hermafroditas en lugar de provenir de hembras y machos como los *Steinernematidae*. Por lo tanto, solo un infectivo juvenil es necesario para entrar al hospedante y para producir la progenie. Solamente las hembras hermafroditas entran al insecto hospedante. Los huevos puestos por

los hermafroditas producen juveniles que producen machos y hembras o infectivos juveniles de la segunda generación. Los machos y hembras copulan y producen huevos que emergen y producen infectivos juveniles. Presentan 4 estadios juveniles separados entre si por mudas. Si las condiciones de humedad son adecuadas, los infectivos juveniles pueden dejar el hospedante e infectar otros insectos hospedantes. Los nematodos pueden estar dentro del insecto por dos generaciones y luego emerger como juveniles infectivos. A temperatura ambiental, esto puede ocurrir entre 12 – 15 días, (Flexner y Belnavis, 2000).

NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS: HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA POINAR UNA ALTERNATIVA PROMISORIA PARA EL CONTROL BIOLÒGICO DE INSECTOS PLAGAS

MECANISMOS DE ACCION SOBRE LAS PLAGAS: MODO DE ENTRADA

Los juveniles infectivos de Heterorhabditis bacteriophora Poinar entran al hospedante a través de las aberturas naturales (Boca, ano, espiráculos) llegando hasta el hemocele a través de la pared intestinal. A diferencia de los Steinernematidae, los Heterorhabditidae poseen un diente con el cual ellos pueden penetrar directamente a través de las zonas membranosas intersegmentales de la cutícula de los insectos.

SINTOMATOLOGÍA.

Los cadáveres son de color rojo, rojo ladrillo, púrpura, naranja o algunas veces verde y presentan luminiscencia en la oscuridad.

MODO DE APLICACIÓN AL SUELO

Alrededor del 90 % de los insectos pasan al menos parte de su vida en el suelo. Aquí es donde los nematodos benéficos son activos. Los insectos en el suelo son inaccesibles a las aspersiones de plaguicidas, y las aplicaciones denominadas en “Soil drench” requieren excesivas cantidades de plaguicidas. Los nematodos activos buscan sus presas por lo que son ideales para el control de insectos en el suelo.

La aspersión de los juveniles infectivos directamente sobre el suelo es el método más común de aplicar nematodos. Es rápido, sencillo y permite una buena cobertura. Un volumen de 750-1900 L/ha es usualmente suficiente para que alcancen los insectos objetivo en el suelo. Pueden aplicarse con equipo convencional terrestre o aéreo. También, se pueden aplicar en riego por goteo o por aspersión. Para evitar bloqueos en los sistemas, todos los filtros deben ser removidos. Se recomienda usar una presión máxima de 5 bares. La boquilla debería tener al menos una abertura de 500 micrones.

APLICACIÓN FOLIAR

El uso de nematodos para controlar insectos del follaje es problemático debido a la desecación rápida y el efecto letal de la luz ultravioleta. La aplicación muy de mañana o en la tarde aumenta la efectividad del nematodo. Cuando las plagas objetivo son de hábitos escondidos como los enrolladores de hoja o minadores, se incrementa el desempeño de los nematodos comparado con superficies muy expuestas. Aún cuando la adición de antidesecantes o protectores de luz ultravioleta, en las suspensiones de nematodos, ha mejorado el nivel de control en muchos casos no se ha logrado un control económico.

APLICACIÓN EN MATERIAL DE PROPAGACIÓN

Los nematodos se pueden usar exitosamente para desinfectar el material de propagación como en plántulas de vivero que luego podrían llevarse al campo y reducir la infestación de algunas plagas del suelo.

PREMISAS PARA UNA BUENA APLICACIÓN DEL NEMATODO HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA POINAR.

- Buena humedad del suelo y el follaje, de acuerdo al lugar donde va dirigida la aplicación.
- Mover o agitar solución mientras se aplica.
- Aplicar en horas de decadencia del sol para evitar la muerte de los nematodos por desecación.
- Poner en contacto el nematodo con la plaga.
- Usar envases limpios en todo el proceso.
- Los nematodos, como seres vivos, necesitan oxígeno, por lo que hay que colocarlos en superficies lo más grande posible para facilitar el intercambio de oxígeno con el agua. Airear las vasijas, etc.

-Debe extremarse las medidas en la transportación para evitar que mueran los nematodos.

-Evitar el calor y el sol directo, no almacenar grandes volúmenes, comprobar la calidad antes de la aplicación. Etc.

EXPERIENCIAS CON EL USO DE HETERORHABDITIS PARA EL CONTROL DE INSECTOS PLAGAS

Los nematodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* resultan una opción ambientalmente segura y eficientes controles biológicos de insectos plagas, fundamentalmente de aquellos que habitan o pasan parte de su ciclo biológico en el suelo o en ambientes protegidos como túneles y galerías (Begley, 1990). Pueden ser empleados en organopónicos y campos de mediano tamaño. Su método de aplicación permite que se puedan utilizar mochilas de aspersión, las cuales pueden ser utilizadas por los pequeños agricultores. No contaminan el ambiente y no dañan la salud humana, logrando evitar que las plantas sean dañadas por las plagas durante un amplio período al poder ejercer control sobre más de 100 especies.

Ehler (1998) refiere que los nematodos entomopatógenos son capaces de provocar la muerte de los insectos antes de las 72 horas.

EXPERIMENTOS BIOLÓGICOS CON HETERORHABDITIS. CONDUCTOS EN CUBA: INSECTOS PLAGAS BIOREGULADOS, ANÁLISIS DE CASOS

MANEJO DE LEPIDÓPTEROS PLAGAS

En Cuba se realizaron evaluaciones sobre diferentes plagas, la cepa empleada en experimentos fue la P2M perteneciente al género *Heterorhabditis*. Los insectos fueron colocados en placas de Petri de 18 cm de diámetro sobre un papel de filtro y posteriormente fueron inoculados con 1000 nematodos por mL ; aplicándose 1 mL por cada placa. Cada placa presentó un insecto para un total de 12 placas por réplica, realizándose 3 réplicas por plaga. El testigo constituyó una réplica de 12 insectos sumando un total de 48 insectos por plaga. Las evaluaciones se realizaron a los 3, 5 y 10 días luego de la aplicación. Posteriormente, los cadáveres se disertaron en solución salina estéril bajo el Microscopio estereoscopio, realizándose la verificación de la penetración en los insectos y la comprobación de la muerte de los mismos debido a la acción de los nematodos. Se realizaron experimentos para determinar en el mismo cuales son los instares larvales más susceptibles a diferentes dosis de nematodos por insecto.

Se recomienda que en la realización de los experimentos las soluciones de nematodos sean preparadas por dilución horas antes del montaje del ensayo según lo orientado por Kaya y Stock (1997). A partir de la solución madre se toma 1ml de nematodos y se diluye en 99 mL de agua. Los conteos se realizan bajo el microscopio-estereoscopio "Olympus", estimándose la concentración de nematodos de la solución madre original mediante las fórmulas deducidas por Woodring y Kaya (1988).

Al evaluar el empleo de nematodos entomopatógenos contra *S. frugiperda* fueron escogidas larvas del II, III y IV instar; las del I instar fueron rechazadas por ser muy pequeñas y no provocar grandes daños al cultivo. Las dosis de inoculación fueron 20, 40, 60, 80, 100, 120 nematodos/ larva (n/l); aplicándose 1 mL de dilución por placa. Se contó con cinco repeticiones por dosis, dejando un tratamiento como testigo sin aplicación de nematodos, de esta forma se determinó el estado de los insectos.

Siguiendo la metodología anterior se evaluó la acción de los nematodos sobre *P. xillostella* se utilizaron larvas del II y III instar. El experimento constó con un total de 7 tratamientos con 5 réplicas cada uno más un testigo, el cual fue tratado con agua destilada estéril.

Los tratamientos empleados fueron: 20, 30, 40, 50, 60, 80 y 100 nematodos /larva.

Al realizar los experimentos contra *H. virescens* se escogieron larvas del III, IV y V instar ya que estos son los más importantes en el cultivo, por el daño que causan. Posteriormente fueron repetidos los ensayos empleando todos los instares larvales del insecto, producto de la resistencia mostrada por este insecto frente a las dosis empleadas. En el experimento se emplearon las cepas de nematodos P2M, CIAP-DEY-6, CIAP-DEY-7 y CUX1. La concentración de nematodos utilizada en el laboratorio fue de 250 nematodos/mL. Las observaciones se realizaron cada 24 horas y se anotó el número de muertes y el porcentaje de las mismas por cepas.

Para conocer la capacidad de los nemátodos entomopatógenos de provocar la muerte, se seleccionó al instar IV de *D. hyalinata* por ser la más voraz y la segunda de mayor tamaño, pues L5 no presenta diferencias significativas en cuanto al tamaño con L4. Se realizaron un total de 10 tratamientos con 5 réplicas cada uno. Estos tratamientos fueron: 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 y 70 nemátodos/larva.

Forschler y Gardner (1991) y Quintero (2003) confirmaron la atracción de los IJs hacia los cuerpos de los insectos y su vialidad a los días post-inoculación. Al realizar la prueba de necrosis, se comprobó que los nematodos se encontraban en los cadáveres de los insectos, observándose hembras gigantes en el mismo, característica que presentan estos organismos cuando existe abundancia de alimento. En este caso esto reviste gran importancia ya que es un resultado beneficioso para implementar los sistemas de control basados en NEPs sobre

algunas plagas agrícolas debido a que pueden infestarse y morir en lugares diferentes, lo que facilita la diseminación de estos nemátodos en los campos.

Concentraciones de 100 y 120 nematodos/larvas (n/l) ocasionan a las 48 horas 100% de mortalidad en las larvas de *Spodoptera frugiperda*. Muy pocas concentraciones causan la muerte al 100% de las larvas evidenciando cierta resistencia de estos instares larvales a pequeñas dosis de inoculación. El instar más susceptible resultó ser el II, no obstante la resistencia de los instares III y IV puede estar condicionado por el no empleo en el experimento de una cepa de nematodos nativa de la región.

Las larvas de *P. xylostella* muestran mortalidad frente a diferentes dosis de nemátodos entomopatógenos. El 100% de mortalidad se puede alcanzar en las dosis de 50, 80 y 100 nematodos por larvas antes de las 48 horas, dejando evidente la efectividad de los nematodos en el control de esta plaga. Con la dosis mínima solo se alcanzó el 20 % de mortalidad, lo que deja evidente que se necesitan dosis superiores a los 50 nematodos / mL si se quiere realizar un buen control de la plaga *P. xylostella* en el campo.

Shapiro et al., (1997) y Yoshida et al., (1998), refieren en estudios detallados que los nematodos entomopatógenos presentan una alta variabilidad intraespecífica.

MANEJO DE CHINCHES PENTATOMORPHAS CON EL USO DE NEMATODOS HETERORHABDITIDAE

EFICACIA DE HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE LAS PLAGAS DE LA SOYA *PIEZODORUS GUILDINII* W Y *NEZARA VIRIDULA* L: UNA EXPERIENCIA EN MATANZAS

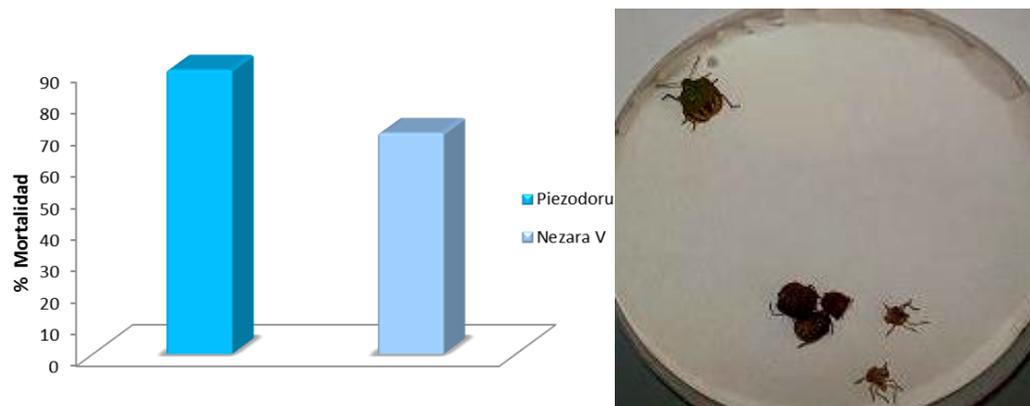
En la provincia de Matanzas se colectaron ninfas y adultos de *P.guildinii* y *N.viridula*, (Hemiptera:Pentatomidae), chinches presentes en plantaciones de soya de la Empresa Provincial de semillas, Finca Madam, Municipio de Jovellanos. Los individuos se depositaron en micro jaulas entomológicas. Posteriormente se trasladaron al laboratorio de Entomología de la Estación Experimental de la Caña de Azúcar (EPICA Antonio Mesa). En la realización de los experimentos las soluciones de nematodos fueron preparadas por dilución horas antes del montaje del ensayo según lo orientado por Kaya y Stock (1997).

Se realizaron evaluaciones sobre las dos especies de chinches, la cepa empleada en el experimento fue la HC-1 perteneciente al género *Heterorhabditis*. Bajo un diseño totalmente aleatorizado se colocaron 10 ninfas (de IV y V instar pues según Aragón (2002) estos son los más importantes en el cultivo) y 10 adultos /placa de Petri de 18 cm de diámetro sobre un papel de filtro y posteriormente fueron inoculados con 40 nematodos/

insecto. El testigo constituyó una réplica de 10 insectos (*Galleria mellonella*); se evaluaron 3 réplicas por tratamiento para un total de 60 insectos.

El nematodo entomopatògeno *Heterorhabditis bacteriophora* cepa CH-1, causó elevada mortalidad sobre las dos especies de chinches pentatomorfas evaluadas (*Piezodorus guildinii* y *Nezara viridula*) y ejerció un control efectivo tanto en ninfas como en adultos, se encontró por primera vez que son susceptibles bajo la concentración de 40 nematodos/insecto.

Transcurridas las primeras 24 horas de la aspersión sobre las ninfas, *Piezodorus guildinii* manifestó un 90 % de mortalidad y mientras que para *N. viridula* se encontró un 70 % de muerte, estos resultados que evidencian la eficacia biológica del nematodo sobre esta plaga de la soja (Figura 1).



Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para $p < 0,05$

Figura 1. Eficacia patogénica de *Heterorhabditis bacteriophora* (cepa CH-1) sobre ninfas de *Piezodorus guildinii* (Westw.) y *Nezara viridula* (L.)

Según Georgis (1992) plantea que el alto por ciento de mortalidad de *Heterorhabditis bacteriophora* pudo estar ocasionado por la penetración de los Juveniles al hemocele de los insectos por la penetración de los juveniles al hemocele de los insectos por la presencia de un diente dorsal mediante el cual puede raspar la cutícula y entrar directamente. Gazit et al., (2000), plantean que las especies de *Heterorhabditis* han mostrado patogenicidad contra insectos plagas, incluyendo los hemípteros, debido a su capacidad de atravesar la pared del cuerpo de los insectos en diferentes estados por las regiones o aperturas naturales.

Se obtuvieron resultados similares a los de Melo et al., (2007) donde los nematodos entomopatògenos ocasionaron la muerte entre las 24 hasta las 72 horas a los hospedantes insectiles.

Al evaluar los adultos es de significar que el nematodo evidenció inferior patogenicidad sobre los adultos de *Piezodorus guildinii* y *Nezara viridula*, aunque con mejores resultados en *N. viridula* al lograr el 80 % de mortalidad en un período de solo 24 horas, encontrándose diferencias estadísticas significativas entre las especies. En el testigo (*Galleria*) se halló 100 % de muertes (Figura 2).

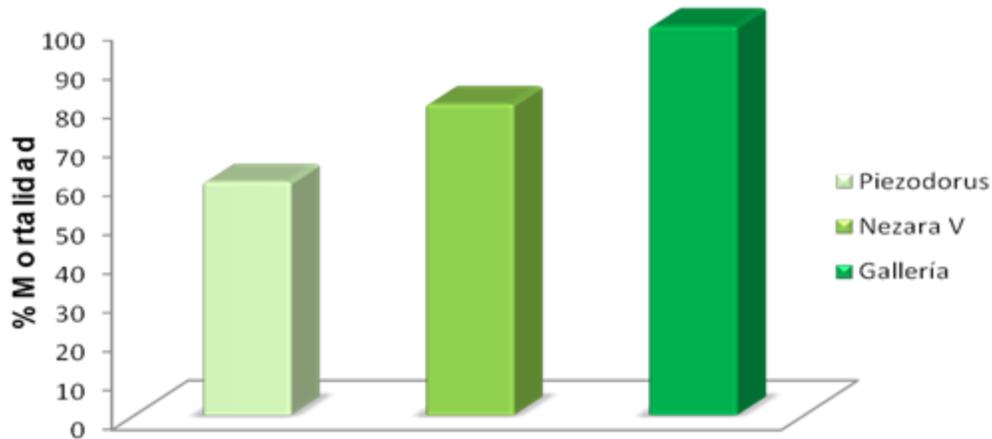


Figura 2. Eficacia patogénica de *Heterorhabditis bacteriophora* (cepa CH-1) sobre adultos de *Piezodorus guildinii* (Westw.) y *Nezara viridula* (L.). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para $p < 0,05$.

La mayor mortalidad del nematodo sobre las ninfas de *P. guildinii* en comparación con los adultos, puede estar motivado por la edad del insecto. Melo et al., (2007) expone similares criterios, ya que en estado adulto la cutícula de las chinches adquiere una mayor dureza y rigidez y además se desarrolla el sistema inmune del insecto, por lo que la acción de un medio biológico es menos efectiva al ser adulto.

Por otra parte, Peters y Ehlers (1994), en experiencia de susceptibilidad sobre algunas especies insectiles, obtuvieron que el efecto de los nematodos entomopatógenos decrece a medida que aumentan los instares del insecto. Según Fazul et al, (2000), las especies de *Heterorhabditis* exhiben diferencias con otros nematodos en el potencial infectivo, lo cual se relaciona con su comportamiento, fisiología y morfofisiología, además de las características morfológicas del insecto y a los factores ambientales (Kaya, 1990).

Al examinar bajo el estereoscopio el agua con que se lavaron los insectos, se encontró gran cantidad de infectivos vivos sobre la superficie de los mismos, coincidiendo con lo señalado por Forschler y Gardner, (1991) y Quintero, (2003) al confirmar la atracción de los infectivos juveniles hacia los cuerpos de los insectos y su vialidad a los días post-

inoculación. Al realizar la prueba de necrosis, se comprobó que los nematodos se encontraban en los cadáveres de los insectos, observándose hembras gigantes en el mismo, característica que presentan estos organismos cuando existe abundancia de alimento. En este caso esto reviste gran importancia ya que es un resultado beneficioso para implementar los sistemas de control basados en nematodos entomopatógenos (NEPS) sobre algunas plagas agrícolas debido a que pueden infestarse y morir en lugares diferentes, lo que facilita la diseminación de estos nemátodos en los campos cubanos.

Los resultados alcanzados en la presente investigación son relevantes y evidencian la efectividad de la cepa CH-1 de *Heterorhabditis bacteriophora* y sus potencialidades para el manejo de chinches Pentatomidae y otros insectos plagas en cultivos de importancia agronómica. En base a este fundamento es importante continuar la evaluación de estas especies bajo condiciones de campo a fin de determinar su infectividad, patogenicidad, persistencia e impacto en el ecosistema y así poder determinar su viabilidad de uso como agentes de control biológico dentro de un Programa de Manejo Integrado de chinches pentatomidas.

El nemátodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* cepa CH- 1 a dosis de 40 nematodos/insecto, ejerció un control efectivo tanto en ninfas como en adultos, con una mortalidad del 80-90 %, demostrándose su eficacia como control biológico.

REFERENCIAS

- ARAGÓN, J.R. 2002. Insectos Perjudiciales de la Soja en la Región Pampeana Central, INTA Marcos Juárez, Córdoba. Ediciones INTA. Revista IDIA XXI, N° 3. Pág. 75 a 82.
- BEGLEY, J. W. (1990). Efficacy against insects in habitats other than soil. Entomopathogenic nematodes in biological control. R. Gaugler, H. K. Kaya (Eds.) CRC Press, Boca Raton, FL, USA. Pp 215-231.
- CASAFE. 2009. Mercado Argentino de Productos Fitosanitarios 2006. Disponible en <http://casafe.org>.
- CASTIGLIONI, E. 2007. Mesa Tecnológica de Oleaginosos Grupo De Trabajo: Manejo De Plagas Ensayos de Eemac. Facultad De Agronomía.
- CHEN, G; Zhan, Y; Li, J, Dunphy, GB; Punja, ZK; y Webster, J, M (1996). Chitinase activity of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* species.
- EHLERS, R. U. (1998). Entomopathogenic nematodes. –Save biocontrol agents for sustainable systems. Rev. Phitoprotection 79 (suppl.): 94-103.

- EMBRAPA (2003): Recomendaciones técnicas para el cultivo de la soya en la región central de Brasil: manejo de plagas. p 158-221
- FAZUL, R.P., Sharma, S.B. y Wightman, S.A. (2000). A review of insect- parasite nematodes research in India: 1927-1997. *International Journal of pests Management*, 46 (1), 19-28.
- FLEXNER, J.L., Belnavis, D.L. 2000. Microbial insecticides. In. Rechcigl J.E., Rechcigl, N.A. (Eds). *Biological and Biotechnological control of insects pests*. Lewis Publishers. Pp 35-62.
- FORSCHIER, B.T., AH, J.N., y Gardner, W.A. (1991). *Steenernema feltiae* activity and infectivity in response to herbicide exposure in aqueous and soil environments. *Journal of Invertebrate Pathology*, 55, 375-379.
- FRANA, J. E., E. Astegiano, J. Villar, O. M. Hermann y F. Massoni. 2006. Análisis de la densidad del complejo de chinches de la soya en la región central de Santa Fe. Experiencia RIIA. IN Mercosoja 2006. Mesas Científico- Técnicas. Resúmenes Expandidos. T99 Protección Vegetal 374-377.
- GAMUNDI, J. C., E. Perotti y A. Molinari. 2007. Evaluación de insecticidas para el control de chinches en cultivos de soya. Soja. Para mejorar la producción. Estación Experimental Agropecuaria Oliveros INTA. Publicaciones Regionales N° 36:112-114.
- GAMUNDI, J.C. M. Andrián; D. Bacigaluppo; M. Lago; L. Lenzi; P. Randazzo y M. Bodrero. (2003). Incidencia del complejo de chinches en el cultivo de soya con diferentes espaciamientos entre líneas. En: Soja. Para Mejorar la Producción N° 24, pp.79-86.
- GAZIT, Y., Roessler, Y., y Glazer, I. (2000). Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology*, 10,157-164
- GEORGIS, R(1992). Present and future prospects for entomopathogenic nematode products. *Biocontrol Science and Tecnology*, 283-99
- HOMINICK, W.M., Collins, S.A. 1997. Application of ecological information for practical use of insect pathogenic nematodos. In. Evans, H.F., 1997. *Microbial Insecticides: Novelty or necessity?*. BCPC Symposium Proceedings No. 68. University of Warwick, Coventry. Uk. Pp 73-82.
- KAYA, H.H., Stock, S.P. 1997. Techniques in insect nematology. In Lacey, L. (Ed). *Manual of techniques in insect pathology*. Academia Press, London. Pp 281-324.
- KAYA, H.K.(1990). Soil ecology. En R. G augler , y H.K, Kaya, (Eds.), *Entomopathogenic nematodes in biological control* (pp. 93 -115) Boca Raton, Florida, USA. CRC Press.

- MARRERO, L. 2007. Entomofauna associated to soybean varieties :Harmfulness, Population fluctuation y Natural Enemies of the Phytophage Complexes of Greater Agricultura Interest. Resumen de Tesis Doctoral. Universidad Central de la Villas: Rev. Protección Vegetal. Vol. 22, No. 2. P 104.
- MELO-MOLINA, Elsa Liliana, C. A. Ortega-Ojeda Y A. Gaigl: “Efecto de nematodos sobre larvas de *Phyllophaga menetriesi* y *Anomala inconstans* (Coleoptera: Melolonthidae)”’, Revista Colombiana de Entomología 33 (1): 21-26, 2007.
- MONZÓN, Arnulfo (2001) Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo integrado de plagas 63: 95 – 103.
- PÉREZ CONSUEGRA, Nilda, 2004. Manejo Ecológico de Plagas. La Habana. Ediciones Cedar. 50 p.
- ORRELLY, J. R: Comunicación personal: Especialista Laboratorio Control Biológico, EPICA “Antonio Mesa”.
- PETERS, A. And R.U. Ehlers: “Susceptibility of leatherjackets (*Tipula paludosa* and *Tipula oleracea*; Tipulidae; Nematocera) to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltia*.”. Journal of invertebrate pathology. 63(2): 163- 171,USA,1994.
- POINA, G. O. 1990. Taxonomy and biology of sternernematidae and Heterohabditis entomopathogenic nematodes in biological control. Ed: R. Gaugler and H. Kaya. Boca Raton, pp 1-61
- QUINTERO, Maria. (2003). Comparacion En Laboratorio De La Patogenicidad De Tres Especies Nativas De Nematodos Entomopatógenos (Rhabditida) Sobre Larvas De Tercer Instar De *Phyllophaga Menetriesi* (Blanchard) (Coleoptera: Scarabaeidae). Trabajo de diploma para optar al título de Bióloga. Cali. Colombia. 58 p.
- SÁNCHEZ, L. (2003). Heterorhbditis bacteriphora HC1. Estrategia de desarrollo como agente de control biológico de plagas insectiles. Tesis en opcion al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. 122 p.
- SHAPIRO, D. I., I. Glazer, D. Segal. (1997): Genetic improvement of heat tolerance in *Heterorhbditis bacteriphora* through hybridization. Biol. Control 8: 153-159.
- SOSA, M. A. & S. M. Mazza. 2006. Abundancia de *Piezodorus guildinii* Westwood (Hemiptera: Pentatomidae) en cultivares de soja de diferentes grupos de madurez y hábitos de crecimiento. Mercosoja 2006. 3° Congreso de Soja del MERCOSUR. 3° Congresso de Soja do MERCOSUL. Rosario, 27 al 30 de Junio de 2006. Mesas Científico-Técnicas. Resúmenes Expandidos. Protección Vegetal T120. pág. 455-458.
- THOMSON, L. J. & A. A. Hoffman. 2007. Ecologically sustainable chemical recommendations for agricultural pest control? J. Econ. Entomol. 100(6): 1741-1750.

WOODRING, J.L., Kaya, H.K. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodos: A handbook of biology and techniques. Sourther Cooperative Series Bulletin 331. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, Arkansas. 22p.

YOSHIDA, M., A. P. Reid, B. R. Briscoe y W. M. Hominick. (1998): Survey of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Japan. Fundam. Appl. Nematol. 21: 185-189.

