

## Patogenicidad de nemátodos entomopatógenos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* sobre larvas de *Tecia solanivora* en Ecuador

Eduardo E. Argotti V.<sup>1</sup>, Patricio Gallegos<sup>2</sup>, Jesús Alcazar<sup>3</sup> & Harry Kaya<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias Sede Santo Domingo, Departamento de Ciencias de la Vida, ESPE, PO Box: 171-5-231-B. Sangolquí-Ecuador. E-mail: eduardoargotti27@gmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina, INIAP. Quito - Ecuador.

<sup>3</sup>Laboratorio de Entomología del Centro Internacional de la Papa. Lima-Perú.

<sup>4</sup>Laboratorio de Entomología Universidad de California Davis, Berkeley. USA

---

### RESUMEN

*Tecia solanivora* se ha constituido en uno de los insectos plaga de mayor importancia en la producción de papa en las provincias del Carchi, Cotopaxi, Chimborazo y Tungurahua. Las once poblaciones de nemátodos entomopatógenos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* que mostraron porcentajes de mortalidad superiores al 90 % de larvas de *Galleria mellonella* fueron evaluados sobre larvas del cuarto instar de *T. solanivora*, utilizando los métodos "Five on One" (*Heterorhabditis*) y "One on One" (*Steinernema*). *Five on One* mostró porcentajes de mortalidad del  $77,77 \pm 4,00$  y  $62,20 \pm 1,10$  % y *One on One* el  $33,90 \pm 1,47$  y  $32,77 \pm 3,65$  % a las 72 horas de aplicación del inóculo. Los aislamientos que presentaron mayor virulencia fueron evaluados a concentraciones de 0, 1, 2, 4, 8 y 16 IJs sobre larvas de *T. solanivora*. Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis Probit, en la que se determinó una dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de 2,4 y 1,8 IJs/larva para el aislamiento H01T y CC01, respectivamente.

**Palabras Claves.-** *Five on One*, *One on One*, *Galleria mellonella*, *Premnotrypes vorax*, dosis letal media, análisis probit.

### ABSTRACT

*Tecia solanivora* has become one of the most important pathogen in potato production in the provinces of Carchi, Cotopaxi, Chimborazo and Tungurahua. The pathogenicity of the eleven populations of entomopathogenic nematodes of the genus *Steinernema* and *Heterorhabditis* with mortality rates above 90 % in larvae of *Galleria mellonella* were evaluated on the fourth instar larva of *T. solanivora*, using methods five on one (*Heterorhabditis*) and one on one (*Steinernema*). The five on one method

showed mortality rates of  $77.77 \pm 4.00$  and  $62.20 \pm 1.10$  % and the one on one method rates of  $33.90 \pm 1.47$  and  $32.77 \pm 3.65$  %, after 72 hours of inoculums. The isolates with higher virulence were evaluated to concentrations of 0, 1, 2, 4, 8 and 16 IJs on larvae of *T. solanivora*. To determine the median lethal dose (LD<sub>50</sub>) of isolation H01T and CC01 a probit analysis was used, showing 2.4 and 1.8 IJs / larva respectively.

**Key words:** Five on One, One on One, *Galleria mellonella*, *Premnotrypes vorax*, median lethal dose, analysis probit.

ISSN 1390-3004

Recibido: 19-04-2010

Aceptado: 19-06-2010

## INTRODUCCIÓN

La polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) es considerada como una de las plagas más perjudiciales del cultivo de papa tanto en campo como en almacén; ingresa al tubérculo haciendo galerías profundas y superficiales, causando su pudrición y afectando la calidad del producto a medida que se alimenta y se desarrolla; en la galería se encuentran excrementos, residuos de alimento, exuvias larvales, pudiendo ocasionar pérdidas de hasta el 100 % de la producción si las condiciones ambientales y el manejo del cultivo son favorables (Hilje, citado por Niño, 2004).

Debido a la importancia económica, por los daños causados por *T. solanivora* en estado larval y sus dificultades para el control, el método más utilizado, es el uso de plaguicidas químicos, en la mayoría de los casos aplicados sin justificación técnica y sólo con el criterio de proteger la cosecha contra el eventual ataque de plagas. Esta actitud afecta la salud del hombre, destrucción de la fauna y microfauna nativa, contaminación de aguas, suelo, resistencia de las plagas a los insecticidas. Debido a los daños ocasionados por los plaguicidas e insecticidas existe el interés para el uso de métodos alternativos de control, entre los que se encuentran los nemátodos entomopatógenos (NEPs), los que a futuro pueden constituirse en una perspectiva promisoriosa como agentes de control biológico para el control de plagas en cultivos agrícolas.

Los NEPs parásitos de insectos han sido conocidos desde el siglo 17, pero solamente a comienzos de 1930, se inicia su investigación como posibles agentes controladores de insectos, convirtiéndose en la última década en el área de la entomología con mayor dinámica e innovación en el control biológico (Gaugler & Cambell, citado por Caicedo, 2003). En la actualidad la investigación se ha centrado en los nemátodos entomopatógenos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis*, que a diferencia de otros géneros, han desarrollado la habilidad de presentar una asociación mutualista con bacterias del género *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, las cuales son transportadas en el intestino del nematodo y posteriormente liberadas en el hemocele del hospedero (Woodring & Kaya, 1988; Gaugler & Cambell, 1988 citado por Caicedo, 2003), multiplicándose rápidamente y matándole por septicemia;

aunque la bacteria es la responsable de la muerte de la mayoría de los insectos plaga, el nematodo también produce una toxina letal para el insecto (Smart, 1995).

Entre los atributos de los nemátodos entomopatógenos como agentes de control biológico, se destacan un amplio rango de insectos hospedantes; habilidad para buscar insectos plagas, rápida mortalidad del hospedante, facilidad para su reproducción masiva y para la aplicación, compatibilidad con la mayoría de los químicos utilizados en la agricultura, seguridad para el medio ambiente y los organismos que no son su objetivo (Gaugler & Kaya, 1990; Georgis, 1992; Gaugler & Kaya citado por Georgis & Manweiler, 1994).

Por lo expuesto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la patogenicidad y virulencia de nemátodos entomopatógenos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* sobre larvas de *Tecia solanivora* (polilla de la papa) en Ecuador.

## MÉTODOS

**Ensayos de patogenicidad sobre *T. solanivora*.**- Se seleccionaron siete aislamientos del género *Steinernema* y cuatro del género *Heterorhabditis* que mostraron porcentajes de mortalidad superiores al 90 % sobre larvas de *G. mellonella*. Se utilizó la metodología propuesta por Kaya & Stock (1997), para aislamientos del género *Steinernema* se utilizó ensayos *One on One* y para *Heterorhabditis* ensayos *Five on One*

Se utilizaron seis placas *multiwell* de veinte pocillos (n= 120 larvas), en cada pocillo se colocó papel filtro humedecido con 50 µl de agua destilada estéril (ADE), sobre el papel filtro se inoculó un infectivo juvenil (IJ) perteneciente al género *Steinernema* y una larva de *Tecia solanivora*. En los ensayos *Five on One* para nemátodos el género *Heterorhabditis* se utilizó 120 tubos *Eppendorf* (n= 120 larvas) de 1,5 ml con arena estéril humedecida con 100 µl de ADE, sobre la cual se depósito una larva de *T. solanivora* (Kaya & Sotck, 1997). Los testigos fueron inoculados con ADE.

Para cada aislamiento se utilizó 120 larvas de *T. solanivora* con tres repeticiones de 40 larvas c/u. Las placas y los tubos fueron incubadas a  $20 \pm 1$  °C por 5 días en una funda plástica para evitar la pérdida de humedad. La mortalidad se registró a las 24, 48, 96 y 72 horas de la inoculación. Las larvas fueron disectadas en suero fisiológico bajo un estéreo microscopio para verificar la presencia de los IJs que penetraron al hemocele del hospedero. Las placas *multiwell*, tubos *Eppendorf*, arena y agua destilada fueron esterilizaron por 20' a 121 °C y 15 PSI.

**Dosis letal media (DL<sub>50</sub>).**- Se seleccionaron las poblaciones de NEPs que mostraron mayor porcentaje de mortalidad sobre larvas de *T. solanivora*. Se evaluaron las concentraciones de 0 (control), 1, 2, 4, 8 y 16 infectivos juveniles (IJs)/larva. Sesenta tubos *Eppendorf* (n= 60 larvas) de 1,5 ml por concentración,

con tres repeticiones de 20 tubos. Las muestras fueron incubadas a  $20 \pm 1$  °C en una funda plástica para evitar la pérdida de humedad. La mortalidad se registro a las 24, 48, 96 y 120 horas después de la inoculación. Para confirmar la mortalidad las larvas se disectaron en suero fisiológico, bajo un estereomicroscopio. Los tubos, arena y agua destilada se esterilizaron por 20' a 121 °C y 15 PSI. (Woodring & Kaya (1988).

**Análisis estadísticos.**- Para determinar la patogenicidad sobre larvas de *T. solanivora*, se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres observaciones. El número de tratamientos evaluados fueron once, correspondientes a las poblaciones de NEPs en combinación con los niveles del factor inóculo. La unidad experimental fue una placa *multiwells* de 20 celdas con una larva del cuarto instar de *T. solanivora* por celda para nemátodos del género *Steirnernema*, y tubos *Eppendorf* con una larva de cuarto instar de *T. solanivora* por tubo (20 larvas en total) para *Heterorhabditis*. Las diferencias significativas se discriminaron mediante Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Los datos de mortalidad que no cumplieron con los supuestos del análisis de varianza fueron transformados mediante logaritmo de base diez.

El cálculo de regresión entre los niveles de población y el porcentaje de mortalidad para determinar la concentración letal media (DL<sub>50</sub>) y los límites fiduciales (intervalos de confianza), se realizó mediante el análisis PROBIT (STATCIP, 2005). Se evaluaron las concentraciones de 0 (control), 1, 2, 4, 8 y 16 IJs/larva de *T. solanivora*. La unidad experimental estuvo representada por tubos *Eppendorf* con una larva del cuarto instar de *T. solanivora* (20 larvas).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Pruebas de patogenicidad sobre larvas de *Tecia solanivora*.**- El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas entre los géneros *Heterorhabditis* y *Steirnernema* ( $F_{10, 22} = 121,52$ ;  $p < 0,001$ ). La discriminación de medias Tukey ( $p \leq 0,05$ ), mostró que los aislamientos H01T y CC01 presentaron los porcentajes de mortalidad más altos, con el  $77,77 \pm 4,00$  y  $62,20 \pm 1,10$  %, respectivamente a las 72 horas de la inoculación con 20 IJs. Los aislamientos más virulentos fueron H01T y CC01 para el grupo de *Heterorhabditis* y H03R y H04D para el grupo de los *Steirnernemátidos*. Los aislamientos H05 y CT13 presentaron los porcentajes de mortalidad más bajos en cada uno de los grupos con el 5 y 22,7 %, respectivamente (tabla 1).

Los porcentajes de mortalidad mostrados en esta investigación son inferiores a los reportados por Xuejuan *et al.* (1999) con mortalidades del 70 % de larvas de *T. solanivora* a las 72 horas de inoculación con 10 IJs de *H. bacteriophora*; al incrementar la dosis de 50 a 125 IJs/larva la mortalidad se incrementó del 86 al 100 % en sustrato arena; ensayos sobre papel filtro la mortalidad fue del 90 % inoculados con 280 IJs de *H. bacteriophora*. Igualmente Molina (1996) reportó que 40 IJs de *S. carpocapsae* y *S. riobravo* sobre larvas de *S. frugiperda* a las 120 horas, mostraron mortalidad del 93,6 y 89,2 %. Stock *et al.* (1998) obtuvieron

una mortalidad del 73,6 %; 72,1 % y 71,4 % al inocularse larvas de *S. frugiperda* con 100 IJs de *H. megidis*, *S. feltidae*, *S. glaseri*. Rosales *et al.*, (1998) reportó porcentajes de mortalidad del 80,76 y 64 % para especies del género *Steinernema* inoculadas sobre larvas de *Cosmopolitus sordidus* con una concentración de 1000 IJs/ml a 26 °C.

**Tabla 1.** Porcentaje de Mortalidad ( $\pm$ Se) de larvas de *T. solanivora* inoculados con IJS del género *Heterorhabditis* y *Steinernema*.

Aislamiento	Género	Número Larvas	% Mortalidad
H01T	<i>Heterorhabditis</i>	180	77,77 $\pm$ 4,00 a
CC01	<i>Heterorhabditis</i>	180	62,20 $\pm$ 1,10 b
CC03	<i>Heterorhabditis</i>	180	55,00 $\pm$ 1,91 b
H03R	<i>Steinernema</i>	180	33,90 $\pm$ 1,47 c
H04D	<i>Steinernema</i>	180	32,77 $\pm$ 3,65 cd
CB13	<i>Steinernema</i>	180	25,57 $\pm$ 1,99 cde
CT13	<i>Heterorhabditis</i>	180	22,77 $\pm$ 2,44 de
CH06	<i>Steinernema</i>	180	19,43 $\pm$ 6,57 ef
H01G	<i>Steinernema</i>	180	10,57 $\pm$ 4,00 fg
CH07	<i>Steinernema</i>	180	9,47 $\pm$ 1,47 fg
H005	<i>Steinernema</i>	180	5,00 $\pm$ 0,98 g

Las diferencias de mortalidad entre los métodos posiblemente se deba a varios factores como: la concentración de IJs, humedad, tipo de sustrato, temperatura y la estrategia utilizada por los NEPs para atacar al hospedero (Smart, 1995). Según Molyneux (1984), Molyneux (1985), Molyneux (1986) y Griffin & Downes (citado por Hay *et al.*, 1995) el rango de temperatura en la cual los IJs matan a los insectos hospederos varía de una especie a otra, la cual incluye el origen de los IJs, dispersión, penetración y desarrollo de la bacteria simbiote. La muerte del insecto ocurre lentamente a bajas temperaturas (Griffin & Downes, 1994) debido a que las temperaturas altas incrementa la respiración de los nemátodos y el rango en el cual las reservas de energía se agotan, de este modo se reduce la supervivencia y la actividad de los NEPs (Molyneux, 1984). Según Georgis & Gaugler (citado por Kaya & Gaugler, 1993) muchas especies son activas a temperaturas más bajas, y se requiere que los NEPs y sus correspondientes bacterias estén adaptadas al frío, para matar dichas plagas.

En condiciones de laboratorio es posible realizar infecciones a temperaturas tan bajas como 5 y 7 °C, pero su infectividad en el campo no ha sido estudiada (Georgis & Manweiler, 1994). Según Kaya *et al.* (1997) la localización de los NEPs esta correlacionado con los rangos de temperatura; así, *Steinernema feltidae* sobrevive a temperaturas de -10 a 35 °C; en general los *Steinernematidos* permanecen activos a temperaturas más bajas que los *Heterorhabditis*. En temperaturas más bajas los nemátodos necesitan periodos más largos para encontrar el hospedero. La temperatura también puede afectar al hospedero, haciendo más o menos vulnerable a NEPs. Shapiro *et al.* (1999) reportaron que

especies de *Heterorhabditis* y *Steinernema* presentaron mayor virulencia contra larvas de *D. abbreviatus* a 24 y 27 °C.

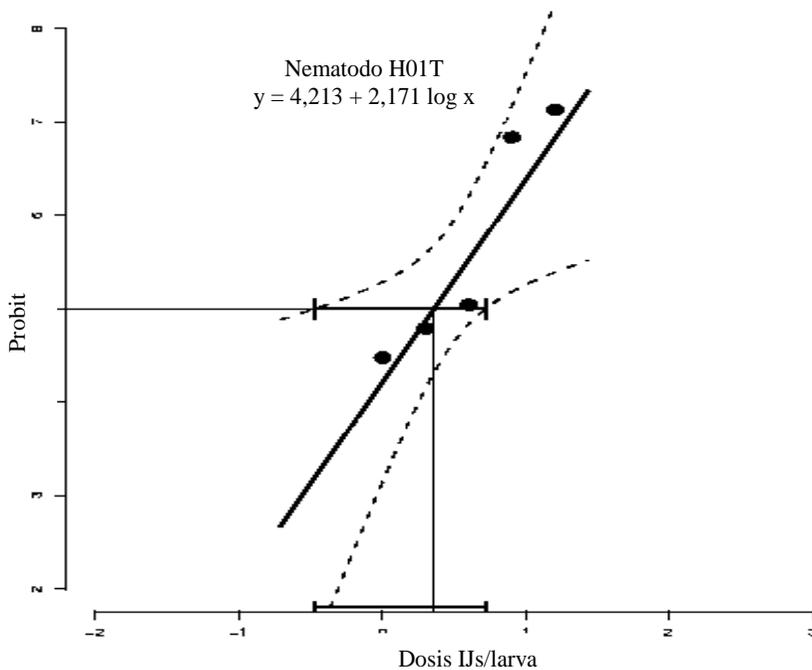
El número de IJs es una de las ventajas del método *Five on One*, debido a que todos los IJs del género *Heterorhabditis* son hermafroditas y solamente es necesario un IJs para producir una nueva progenie, lo opuesto al método *One on One* para *Steinernema*, que tienen sexos diferenciados y necesariamente se necesita de los dos sexos para producir una nueva progenie (Smart, 1995). Además el método *Five on One* al utilizarse como sustrato arena, la humedad y la porosidad se mantiene por periodos más prolongados de tiempo y permite la movilidad de los nemátodos, sin perder reservas energéticas, lo cual prolonga su periodo de vida (Kaya & Gaugler, 1993).

El comportamiento para la búsqueda del hospedero es otro de los factores que posiblemente influenció en la mortalidad en los ensayos *One on One*, debido a que la mayoría de NEPs conservan su energía y permanecen largos periodos de tiempo esperando que pase la presa y son más efectivos contra insectos móviles cerca de la superficie del suelo; mientras que sólo una pequeña proporción son buscadores de la presa y son más efectivos para encontrar y atacar al hospedero que se encuentran dentro del suelo (Kaya & Gaugler, 1993). Los Heterorhabditidos no se mueven tan rápidamente en el suelo como lo hace *S. glaseri* (Kaya *et al.*, 1990). Además el tamaño del insecto hospedero (Glazer *et al.*, 1991) y el porcentaje de nemátodos que invaden el hemocele del hospedero, son factores importantes para la actividad de Steinernematidos y Heterorhabditidos, así como también el tiempo que tardan para liberar sus bacterias (Glazer *et al.*, 1991).

Otro de los factores que pudo influir en la patogenicidad entre los géneros de NEPs, es la asociación con bacterias *Xenorhabdus* sp. (*Steinernema*) y *Photorhabdus* sp. (*Heterorhabditis*), con características y atributos diferentes; probablemente el mecanismo de infección y producción de toxinas elaboradas por las bacterias sean diferentes (Koppenhöfer & Kaya, 1995). Esto depende de los procesos inmunológicos que han desarrollado los hospederos en contra de los patógenos, pudiendo ser estos: morfológicos, fisiológicos y conductuales (Gaugler, 1988). Los resultados encontrados sugieren que hay una correlación entre el incremento de concentración de IJs y el porcentaje de mortalidad de larvas del cuarto instar de *T. solanivora*, debido a que existe mayor posibilidad de producir infección con un mayor número de IJs (Finney & Walter, 1997). Según Bedding *et al.*, (1983) una prueba inicial de 100 IJs/larva, es suficiente para seleccionar NEPs como agentes de control biológico, para una plaga en particular, bajo condiciones de laboratorio.

**Dosis letal media (DL<sub>50</sub>).**- La dosis letal media (DL<sub>50</sub>) para el aislamiento H01T fue de 2,43 IJs/larva (Fig. 1 y Tabla 2) y para CC01 fue de 1,80 IJs/larva (Fig. 2 y Tabla 2) al ser inoculados con 1, 2, 4, 8 y 16 IJs/larva. Ambos aislamientos presentaron mortalidad con una dosis mínima de 1 IJs/larva. El aislamiento CC01 fue significativamente más virulento a las 72 horas de la

inoculación en todos los tratamientos. El tratamiento (T2) del aislamiento CC01 presentó una mortalidad del 50 % de la población al ser inoculados con 2 IJs/larva y el tratamiento (T3) de H01T presentó una mortalidad del 50 % de la población al ser inoculados con 4 IJs/larva (Tabla 2). Es interesante destacar que al aplicar una dosis de 16 IJs/larva no hubo mayores incrementos de la mortalidad, sino que por el contrario esta se mantuvo igual o con un incremento significativo, lo cual nos demuestra que al pasar de cierto umbral, el incremento de la concentración, no indica mayor mortalidad (Rosales & Suárez, 1988).



**Figura 1.** Estimación de la Dosis Letal Media ( $DL_{50}$ ), para el aislamiento H01T, sobre larvas del cuarto instar de *T. solanivora*

Los datos mostrados en este estudio fueron superiores a los reportes realizados por Chyzik *et al.*, (1996) sobre larvas de trips (*Frankliniella occidentales*) de 143,3 IJs/larva para *H. bacteriophora*, 182 IJs/larva para *S. feltidae*, 262,2 IJs/larva para *S. riobravensis*. Szalanski *et al.*, (2004) reportó una  $DL_{50}$  para especies de *Steinernema* sobre larvas de *Alphitobius diaperinus* de 5,8 a 14,6 IJs/larva, utilizando como sustrato papel filtro. Cagnolo *et al.*, (2004) reportó la  $DL_{50}$  para *Steinernema ranarum* de  $3 \pm 1$  IJs tanto para la primera como para la segunda generación de IJs sobre larvas del último instar de *G. mellonella*, utilizando 1,2 g de arena esterilizada en tubos de Eppendorf. Cagnolo *et al.*, (2004) en investigaciones realizadas en la Argentina, reportó una  $DL_{50}$  para *S. feltidae* de 8, 6, 7 y 6 IJs por hospedero respectivamente. Doucet *et al.*, (1999) citado por Koppenhofer & Kaya (1999) reportaron una

DL<sub>50</sub> para *S. ranarum* de 50 IJs/larva de *G. mellonella*. Molina (1996) en México, reportó la DL<sub>50</sub> para las siguientes especies: *Steinernema carpocapsae* 1,56 IJs/larva; *S. riobravo* 3,16 IJs/larva; *S. glaseri* 8,33 IJs/larva; *S. feltidae* 11,73 IJs/larva; *H. megidis* 9,10 IJs/larva y *H. bacteriophora* de 20,62 IJs/larva sobre larvas del último instar de *Spodoptera frugiperda*, utilizando como sustrato arena y papel filtro. Molta & Hominick (1989) reportaron una DL<sub>50</sub> para *S. feltidae* y *H. heliothidis* en 141 y 126 IJs sobre larvas de *Aedes aegypti*. Investigaciones realizadas por Cabanillas, (2003) la DL<sub>50</sub>, para *S. riobrave* y otros nemátodos entomopatógenos fue de 3,8 a 4,9 IJs por larva de *Anthonomus grandis*.

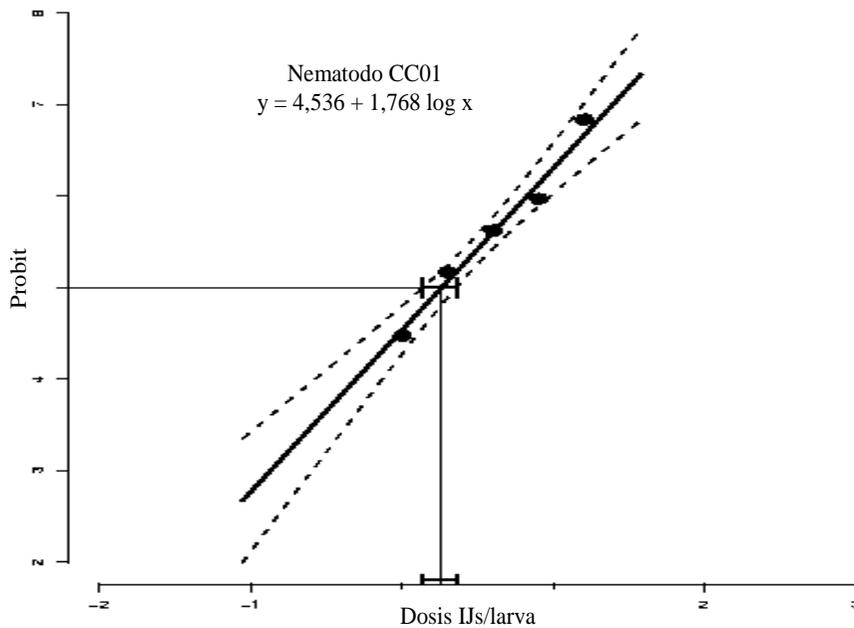
**Tabla 2.** Análisis *Probit* para los aislamientos H01T y CC01 sobre larvas de *T. solanivora*.

Aislamiento	Ensayo	No. Larvas	CL <sub>50</sub>	Limites de confianza	Ecuación de regresión	X <sup>2</sup>
H01T	1	300	2,71	2,170 – 3,331	y = 4,154 + 1,948 log x	0,7057
H01T	2	300	2,26	1,741 – 2,835	y = 4,320 + 1,921 log x	0,6124
H01T	3	300	2,30	4,564 – 0,393	y = 4,213 + 2,171 log x	0,0128
PROMEDIO			2,43			
CC01	1	300	1,78	1,258 – 2,393	y = 4,538 + 1,830 log x	0,4308
CC01	2	300	1,82	1,375 – 2,286	y = 4,536 + 1,768 log x	0,9193
CC01	3	300	1,79	1,242 – 2,349	y = 4,638 + 1,426 log x	0,8072
PROMEDIO			1,80			

X<sup>2</sup> = Chi cuadrado, CL<sub>50</sub> = Concentración letal media

El aislamiento H01T a pesar de la pérdida de humedad del sustrato, mostró un comportamiento de supervivencia superior al presentado por el aislamiento CC01, después de las 120 horas de inoculación sobre larvas de *T. solanivora*; un comportamiento diferente mostró el aislamiento CC01 que perdió virulencia pasadas las 120 horas de inoculación y no infectó larvas de *T. solanivora*.

Estos resultados reafirman que especies de NEPs del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* pierden patogenicidad a medida que disminuye la humedad y/o muerte por agotamiento de las reservas energéticas. Según Kaya *et al.*, (1990) la supervivencia del nematodo es severamente restringida, cuando los niveles de humedad son insuficientes para la supervivencia y persistencia del nematodo. Por otra parte los altos niveles de humedad pueden inhibir la infectividad del nematodo, inmovilizándolo, y así disminuir la supervivencia, haciendo insuficiente la presencia de oxígeno disponible (Molyneux & Bedding, 1984). Para comprobar la supervivencia de los IJs de los aislamientos CC01 y H01T los tubos *Eppendorf* se mantuvieron a 20 °C, pasadas las 120 horas de inoculación, y se evaluó diariamente y se comprobó que el aislamiento H01T a los 9 y 10 días infectó larvas de *T. solanivora*.



**Figura 2.** Estimación de la Dosis Letal Media (DL<sub>50</sub>), para el aislamiento CC01, sobre larvas del cuarto instar de *T. solanivora*.

### CONCLUSIONES

Los resultados de las pruebas de patogenicidad sobre larvas del cuarto instar de *T. solanivora*, sugieren que hay una correlación entre el incremento de la concentración de IJs y el porcentaje de mortalidad de larvas de *T. solanivora*, debido a que existe mayor virulencia al ser inoculadas las larvas con una mayor concentración de IJS de los aislamientos H01T y CC01.

Es interesante destacar que al aplicar dosis superiores a 16 IJs/larva no hay incremento en la mortalidad, esto demuestra que al pasar de cierto umbral, el incremento de la concentración de IJs no garantiza una mayor mortalidad.

### AGRADECIMIENTOS

A las personas e instituciones que hicieron posible la realización de esta investigación. Al Centro Internacional de la Papa (CIP) por su apoyo económico. A todos los funcionarios del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP por su apoyo profesional y logístico durante el trabajo de campo para la colección de muestras. A Patricia Hernández por su apoyo en la instalación de los ensayos a nivel de laboratorio, a los Vinicio Uday por la revisión del artículo y a Marcelo Ibarra por la elaboración del *abstract*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bedding, R.A., A.S. Molyneux & R.J. Akhurst. 1983.** *Heterorhabditis* spp., *Neoplectana* spp., y *Steinernema kraussei*: Interspecific and intraspecific differences in infectivity for insects. *Experimental Parasitology* 55 (2):249-257.
- Cabanillas, H.E. 2003.** Susceptibility of the boll weevil to *Steinernema riobrave* and other entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 82:188-197.
- Cagnolo, S.R., Y.M Donari & J. A. Di Rienzo. 2004.** Existence of infective juveniles in the offspring of first and second generation adults of *Steinernema rarun* (OLI strain): evaluation of their virulence. *Journal of invertebrate Pathology*, 85: 33-39.
- Caicedo, A. M. 2003.** Avances y perspectivas del uso de nemátodos entomopatógenos en Colombia. *Centro Internacional de Agricultura Tropical*. 1-17p.
- Chyzik, R., I. Glazer & M. Klein. 1996.** Virulence efficacy of difference Entomopathogenic Nematode species against Western Thrips (*Franklinella occidentalis*). *Phytoparasitica* 4(2): 103-110.
- Finney, J.R. & C. Walker. 1997.** Assessment of a field trial using the DD-136 strain of *Neoplectana* sp. for the control of *Scolytus scolytus*. *Journal Invertebrate Pathology* 33:239-241.
- Gaugler, R. 1988.** Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects pests with entomopathogenic nematodes. *Agricultural Ecosystem Environmental* 24 (1-3): 351-360.
- Georgis, R. & S.A. Manweiler. 1994.** Entomopathogenic nematodes: A developing biological control technology. *Agricultural Zoology Review*. Pp 63-94. In: K. Evans (Ed.) Department Entomology and Nematology. (AFRC Institute of Arable Crops Research, Rothamsted Experimental Station, Harpenden Herts, UK. Vol. 6.
- Glazer, I., N. Liran & Y. Steinberger. 1991.** A survey of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) in the Negev desert. *Phytoparasitica* 19:291-300.
- Griffin, C.T. & M. J. Downes. 1994.** Selection of *Heterorhabditis* sp. for improved infectivity at low temperatures. Pp. 8143-8149. In: A.M. Burnell, Ehlers R.U. & Masson J.P. (Eds.). Genetics of entomopathogenic nematode and bacterium complexes. Luxembourg: European Commission.
- Hay, D.B. & J.S. Fenlon. 1995.** A modified binomial model that describes the infection dynamics of the Entomopathogenic Nematode *Steinernema feltidae* (Steinernematidae: Nematode). *Parasitology* 111:627-250.
- Kaya, H. y Stock, P. 1997.** Techniques in insect's nematology. Pp. 281-324. In: Manual of techniques in insect's pathology. Academic Press, San Diego. USA. 409p.
- Kaya, H. K. & R. Gaugler. 1990.** Soil ecology. Pp. 93-115. In: Gaugler R. & Kaya H. K. (eds.) *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press, Boca Raton.

- Kaya, H.K. & R. Gaugler. 1993.** Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology* 38:181-206.
- Koppenhofer, A. M. & H. K., Kaya. 1999.** Ecological characterization of *Steinernema rarun*. In: *Journal of Invertebrate Pathology* 73:120-128.
- Koppenhofer, A.M. & H.K. Kaya. 1995.** Density-dependent effects on *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) within an insect host. *Journal Parasitology*, 81(5) 797-799.
- Molina G., J.M. 1996.** Virulence of six entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Vedali*, 3: 1-34.
- Molta, N.B. & W.M. Hominik. 1989.** Dose and time response assessments of *Heterorhabditis* and *Steinernema feltidae* (Nematode: Rhabditidae) against *Aedes aegypti* larvae. *Entomophaga*, 34(4): 484-493.
- Molyneux, A.S. & R.A. Bedding. 1984.** Influence of soil texture and moisture on the infectivity of *Heterorhabditis* sp. D1 and *Steinernema glaseri* for larvae of the sheep blowfly, *Lucina cuprina*. *Nematology* 30:358-365.
- Niño, L. 2004.** Revisión sobre la polilla de la papa *Tecia solanivora* en Centro y Suramérica. *Revista Latinoamericana de la Papa (Suppl.)*. 1-18.
- Rosales, L.C. & Z. Suárez. 1988.** Nemátodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo del plátano *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Cucurilionidae). *Bol. Entomol. Venez.* 13(2): 123-140.
- Shapiro, D.I., J.R. Cate, J.R. Peña, J. Hunsberger & C.W. Mccoy, 1999.** Effects of temperature and host age on suppression of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) by entomopathogenic nematodes. *Journal Econ. Entomol.* 92: 1088-1092.
- Smart, G.C.Jr. 1995.** Viewpoint: Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. *Journal of Nematology* 27 (4S): 529-534.
- Stock, S.P., V. Somsook & A.P. Reid. 1998.** *Steinernema siamkayai* (Rhabditida: Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from thailly. *Systematic Parasitology* 41: 105-113.
- Szalanski, A.L., T.W. Palmer, T. Mckay, C.D. Steelman. 2004.** Infectivity of *Steinernema* spp. (Nematoda Steinernematidae) to adult Litter Beetles, *Alphibius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in the laboratory. *Biocontrol Science and Technolgy* 14(1): 81-85.
- Woodring, J.L. & H.K Kaya. 1998.** *Steinernematidae and Heterorhabditidae nematodes: a handbook of biology and techniques*. Arkansas. Agricultural Experiment Station.
- Xuejun, F., S. Maggiorani, C. Gudiño. 2000.** Uso de nemátodos entomopatógenos como alternativa en el control de polilla de la papa, importante plaga de la papa. *Forest* 44(1): 115-118.