

Caracterización ecológica de nemátodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* aislados de *Tecia solanivora*

Eduardo E. Argotti V.¹, Patricio Gallegos², Jesús Alcazar³ & Harry Kaya⁴

¹Carrera 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

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

³Laboratorio de Entomología del Centro Internacional de la Papa. Lima-Perú.

⁴Laboratorio de Entomología Universidad de California Davis, Berkeley. USA

RESUMEN

Para caracterizar nemátodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* se evaluó el potencial reproductivo, capacidad de desplazamiento, humedad relativa y rango de hospederos sobre larvas del cuarto instar de *Tecia solanivora*. Los resultados determinaron que una larva de *T. solanivora* con un peso de 45 y 53 mg inoculados con 20 IJs de H01T y CC01 producen 57 667 y 53 200 IJs/larva, respectivamente. La mayor producción de IJs de CC01 y H01T se presentó a los 4,3 y 7 días después del inicio de la emergencia con 28 200 y 30 800 IJs/larva. El desplazamiento de los IJs de los aislamientos CC01 y H01T en sustrato suelo y arena al 10 y 11 % de humedad relativa fueron más eficientes a 5 cm de profundidad. El promedio de inoculación óptimo para la infección de *T. solanivora* con CC01 y H01T es de $22,33 \pm 0,65$ y $24,80 \pm 0,63$ IJs/larva. Rangos de humedad superiores al 15 % en sustrato arena y 5 cm de profundidad fueron los más óptimos para H01T y CC01. Los aislamientos CC01 y H01T mostraron ser altamente patogénicos para otras plagas como *Symmestrichema tangolias* y *Premnotrypes vorax* con mortalidades superiores al 67 y 85 % y 41 y 39 %, respectivamente a la misma dosis letal media (DL₅₀) utilizada para *T. solanivora*.

Palabras Claves.- Patogenicidad, *Steinernema*, *Galleria mellonella*, *Premnotrypes vorax*, *Symmestrichema tangolias*.

ABSTRACT

To characterize entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis*, reproductive potential, move ability, relative humidity and host range was evaluated in the fourth larvae instar of *Tecia solanivora*. The results determine that a larva of *T. solanivora* with a weight between 45 and 53 mg inoculated

with 20 IJs of H01T and CC01 produced 57 667 and 53 200 IJs / larva, respectively. The major production of IJs of CC01 and H01T started 4.3 and 7 days after the onset of the emergency with 28 200 and 30 800 IJs/larva respectively. The movement of the IJs of CC01 and H01T isolates was most efficient at 5 cm of depth in soil and sand substrate with 10 to 11 % of humidity. The inoculation rates to infect a larva of *T. solanivora* with CC01 y H01T were 22.33 ± 0.65 and 24.80 ± 0.63 IJs/larva respectively. The best substrate for H01T and CC01 was sand at 15 % of moisture and 5 cm depth. CC01 and H01T isolates showed to be highly pathogenic to other pathogens such as *Symmestrichema tangolias* and *Premnotrypes vorax* with mortalities of 67 to 85% and 41 to 39% respectively at the same median lethal dose (LD₅₀) used for *T. solanivora*.

Key words: Pathogenicity, *Steinernema*, *Galleria mellonella*, *Premnotrypes vorax*, *Symmestrichema tangolias*.

ISSN 1390-3004

Recibido: 19-04-2010

Aceptado: 27-06-2010

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la agricultura sostenible se basa en la búsqueda de enemigos naturales como: virus, bacterias, hongos y nemátodos. De este grupo, los nemátodos entomopatógenos (NEPs) del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* son considerados como una de las alternativas con más futuro para el control biológico, debido a que más del 90 % de las plagas de insectos pasan alguna parte de su ciclo biológico en contacto con el suelo (Klein, 1990). Los NEPs poseen características comunes a depredadores, parasitoides y patógenos. Estos organismos son capaces de localizar activamente al hospedero, son muy virulentos, provocando la muerte, tienen un alto potencial reproductivo, pueden criarse masivamente in vitro, son fáciles de aplicar y no presentan riesgos ambientales.

El potencial reproductivo, capacidad de desplazamiento, supervivencia y rango de hospederos son características que dependen de la especie e incluso de la población, las cuales están influenciadas por las condiciones ambientales; por ello, el aislamiento e identificación de poblaciones nativas de NEPs adaptadas a las condiciones locales, es considerado una parte esencial de los estudios encaminados a su utilización como agentes de control biológico, a fin de evitar un desequilibrio ecológico al introducir especies exóticas que podrían afectar a otros organismos o desplazar parcialmente o totalmente.

Los NEPs del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* presentan una asociación simbiótica con bacterias entéricas del género *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, que les confiere una gran virulencia frente a insectos. Los juveniles infectivos del tercer estadio se encuentran en forma natural en el suelo. Cuando localizan a un insecto hospedador, penetran por los orificios naturales (boca, ano y espiráculos) hasta localizar el hemocele donde liberan la bacteria simbiote

que portan en la parte anterior del tubo digestivo. La bacteria digiere los tejidos del insecto, se multiplica y provoca la muerte por septicemia. Los nematodos se alimentan de los tejidos degradados, completan su desarrollo y se reproduce durante dos ó tres generaciones dentro del hospedador en función del alimento disponible. Los juveniles infectivos (IJs) de la última generación vuelven a incorporar las bacterias en su tubo digestivo y salen al exterior en busca de un nuevo hospedador.

Por los aspectos mencionados con este trabajo se pretende realizar las investigaciones necesarias para la caracterización ecológica de los nemátodos entomopatógenos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis*, como base para el desarrollo, producción y formulación de nuevas herramientas de control biológico.

MÉTODOS

Potencial de reproducción de NEPs.- Para evaluar el potencial de reproducción y la curva de emergencia de los aislamientos H01T y CC01 se seleccionaron 60 larvas del IV instar de *Tecia solanivora* para cada población de nemátodos. El peso promedio de las larvas para H01T y CC01 fue de 45 y 53 mg. Cada larva de *T. solanivora* fue colocada en un tubo *Eppendorf* con arena estéril humedecida con 100 μ l de agua destilada estéril (ADE) y un inóculo de 20 IJs e incubados a 20 ± 1 °C por 5 días en funda plástica para mantener la humedad.

Las larvas infectadas por NEPs fueron lavadas con ADE y transferidas a trampas White (White, 1927 citado por Stock, 1997) en forma individual. Los infectivos juveniles (IJs) que se desplazaron hacia el agua se colectaron por 16 días. Para comprobar la presencia o ausencia de IJs, las larvas fueron disectadas en suero fisiológico bajo un estéreo microscopio. La cuantificación de los IJs se realizó por dilución volumétrica, en la cual se contabilizaron IJs vivos y muertos.

Capacidad de desplazamiento de los NEPs.- La capacidad de desplazamiento de los IJs de H01T y CC01 fue comprobada mediante la metodología propuesta por Kaya & Stock, (1997); en tubos de PVC de 5, 10 y 15 cm de alto y 50 mm de diámetro con arena y suelo franco arenoso al 10 y 11 % de humedad relativa, fueron inoculados en la parte superior con 50 IJs y en la parte inferior se colocó una larva de cuarto instar *T. solanivora*. Los extremos de los tubos fueron cubiertos con una tapa de plato petri de 50 mm e incubada a 20 ± 1 °C por 5 días. Las larvas infectadas fueron disectadas en suero fisiológico bajo un estéreo microscopio para determinar el número de IJs que se establecieron en cada larva. Se realizaron tres ensayos en el tiempo con cinco repeticiones para cada profundidad y sustrato. Los tubos PVC, arena y agua destilada fueron previamente esterilizados por 20' a 121 °C y 15 PSI.

Rangos de humedad de los NEPs.- Los rangos de humedad fueron evaluados con un higrómetro en tubos de PVC de 5, 10 y 15 cm de alto y 5 cm de diámetro con arena estéril al 5, 10 y 15 % de humedad. Cada tubo de PVC fue inoculado con 50 IJs y en la parte inferior se depositó una larva del último instar de *T. solanivora*. Los extremos de los tubos se cubrió con una tapa de placa petri de 50 mm e incubado a 20 ± 1 °C. Las larvas infectadas fueron disectadas en suero fisiológico bajo un estéreo microscopio, con el fin de determinar el número de IJs que se establecieron en cada larva de *T. solanivora*. Se realizaron tres ensayos en el tiempo con cinco repeticiones para cada profundidad y sustrato. Los tubos PVC, arena y agua

Rango de hospederos de los NEPs.- La evaluación de la susceptibilidad de *P. vorax* y *S. tangolias* a la dosis letal media (DL_{50}) de los aislamientos H01T y CC01 sobre larvas de *T. solanivora*, se utilizó 60 tubos Eppendorf de 1,5 ml por ensayo y 20 por repetición con 1 ml de arena estéril humedecida con 100 μ l de agua destilada estéril. Cada tubo se inoculó la DL_{50} de CC01 (1,8 IJs) y H01T (2,4 IJs), se depositó 1 larva de cada una de las especies a evaluar (Woodring & Kaya, 1988). Posteriormente los tubos se colocaron dentro de una funda plástica y se incubaron a 20 ± 1 °C. La mortalidad se registró a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas de la inoculación. Para verificar la mortalidad por acción de los NEPs, se disectaron en suero fisiológico, bajo un estéreo microscopio (Koppenhofer & Kaya, 1999).

Análisis de la información.- Para establecer la relación entre el peso y la producción total de IJs de larvas de *Tecia solanivora*, se aplicó un análisis de regresión lineal cuadrática, mediante el cual se estableció el peso en el cual se obtiene la mayor producción de IJs. La determinación del tiempo óptimo en el cual se presentó la mayor producción de IJs se realizó un análisis de regresión lineal cúbica

Para las pruebas de capacidad de desplazamiento de los IJs, se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial A x B x C con tres observaciones. Dos sustratos (arena y suelo) y tres niveles de profundidad (5, 10 y 15 cm), y humedad relativa al 10 % y 11 %. La discriminación de medias entre profundidad y las interacciones se realizó mediante la prueba Tukey ($p \leq 0,05$). En las pruebas de rangos de humedad de los IJs, se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial A x B x C con tres observaciones. Las diferencias significativas entre profundidad y las interacciones se discriminaron con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Para evaluar el rango de hospederos de los IJs, se efectuó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial A (nematodo) x B (insecto) x C (tiempo) con tres observaciones. Las diferencias significativas entre hospederos y las interacciones se discriminaron con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Potencial de reproducción.- El análisis de regresión lineal cuadrática determinó que larvas de *T. solanivora* de 45 y 53 mg inoculados con 20 IJs de los aislamientos H01T y CC01 producen 57 667 y 53 200 IJs/larva, respectivamente. El promedio de IJs por larva de *T. solanivora* para H01T y CC01 fue de 39 661 y 41 387 IJs/larva.

Los resultados mostraron que por cada miligramo de larva de *T. solanivora* se obtuvo 1 353 IJs. Dutky *et al.*, (1964) obtuvieron 1 110 IJs por mg de larva de *G. mellonella*. Sandrier & Atanuszek (citado por Wang *et al.*, 1995) reportaron una producción de 3 091 IJs de *S. carpocapsae* por mg de larva de *G. mellonella* inoculados con 50 IJs. Según Stiling (citado por Unlu *et al.*, 2003) las diferencias en el potencial de reproducción de NEPs, están relacionado con la especie de nematodo, humedad del ambiente y tamaño del hospedero, susceptibilidad del hospedero, número de bacterias por infectivo juvenil, rango de invasión, temperatura. Posiblemente las diferencias en la virulencia entre especies y aislamientos podrían ser mayores para un hospedero menos susceptible. Woodring & Kaya (1988) reportaron que una larva del último instar de *G. mellonella* produce 350000 IJs. A propósito Boff *et al.* (2000) estableció que la producción de IJs depende de la especie de hospedero, tamaño del hospedero, y dosis del inóculo de nemátodos entomopatógenos.

La emergencia de los primeros IJs de los cadáveres de *T. solanivora* inicio a los 12 días y continuó hasta los dieciséis días. El peso promedio de las larvas de *T. solanivora* fue de 45 y 33 mg para H01T y CC01, respectivamente; sin embargo la producción promedio fue mayor con CC01 a pesar que el peso promedio de las larvas fue menor que las utilizadas con H01T, esto permite deducir que no existe una fuerte correlación entre el peso y la producción, y que la producción depende del número de IJs que penetran e infectan al hospedero.

Curva de emergencia de los IJs en el tiempo.- El análisis de regresión lineal cúbica mostró la mayor producción de IJs para CC01 a los 4,3 días de inicio de la emergencia con 28 200 IJs/larva y una mínima de 12 600 IJs/larva; para el aislamiento H01T a los 7 días fue de 30 800 IJs/larva y una mínima de 15 000 IJs/larva. La producción promedio de CC01 y H01T a los 4,3 y 7 días fue de 19 233 y 21 233 IJs/larva, respectivamente (Fig. 1).

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Unlu *et al.* (2003) con IJs de *Heterorhabditis bacteriophora* sobre larvas de *G. mellonella* a los 4 y 5 días después del inicio de la emergencia y con *Steinernema feltidae* en *G. mellonella* a los 2 y 3 días. De acuerdo a investigaciones realizadas por Hara *et al.* (1991), el tiempo de emergencia de los IJs depende del tamaño del hospedero; en hospederos pequeños los IJs podrían emerger a los 6 y 7 días después de la inoculación, mientras que en *G. mellonella* puede durar de 2 a 3 semanas.

El tiempo de emergencia de los IJs de larvas *T. solanivora*, a partir de la inoculación con 20 IJs/larva, hasta la emergencia del último IJs fue dieciséis días a una temperatura ambiente de 20 °C. Según Koppenhofer & Kaya (1997) la temperatura influye en el inicio de la emergencia de los IJs; generalmente temperaturas altas aceleran la emergencia; además el tiempo de duración de la misma es más mayor a 20 °C y 25 °C que a 15 °C y 30 °C. Los resultados obtenidos en esta investigación son similares a los reportados en *G. mellonella* a pesar de la diferencia del tamaño entre una larva de *G. mellonella* (200 mg) y *T. solanivora* (45 mg).

Los ensayos con larvas de *T. solanivora* se realizaron a 20 °C, factor que determinó para que el tiempo de emergencia de los infectivos juveniles sea superior. Este hecho permite predecir que si utilizamos una temperatura de 25 °C, el tiempo de emergencia de IJs con CC01 y H01T disminuirá. Las diferencias en el tiempo de emergencia de los IJs quizá tengan relación con el origen de la muestra, debido a que H01T fue aislado en vegetación natural, a una altitud de 3 573 m y CC01 fue aislado de un cultivar de papa una altitud de 2700 m, con diferentes temperaturas en ambos casos.

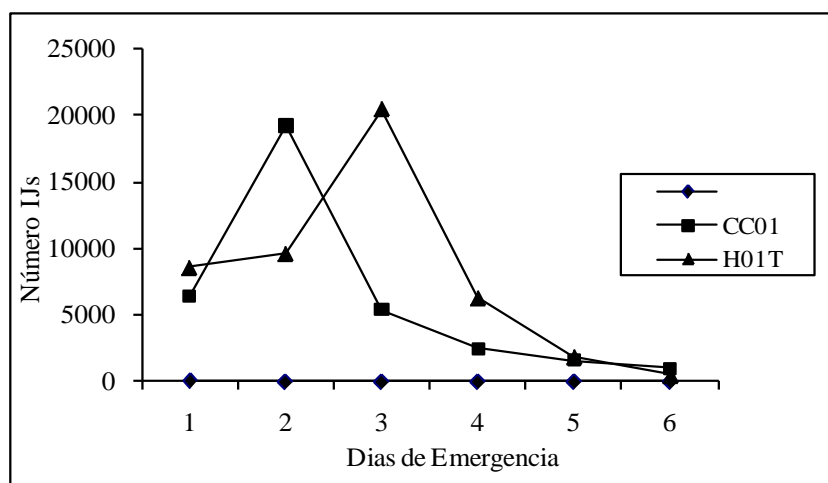


Figura 1.- Curva de emergencia de IJS de los aislamientos H01T y CC01

Capacidad de desplazamiento de los IJs.- El análisis de varianza, mostró diferencias estadísticas entre los NEPs, en la interacción nemátodo–sustrato–profundidad ($F_{2, 168} = 5, 98; P = 0,0031$). La discriminación de medias Tukey ($p \leq 0,05$), mostró que las interacciones H01T-S1-P1 y H01T-S1-P1 fue la más óptima para el aislamiento H01T, con un promedio de infección de $24,80 \pm 0,63$ y $18,27 \pm 0,54$ IJs por larva de *T. solanivora* (Tabla 1). Las interacciones CC01-S2-P1 y CC01-S1-P1 fueron las más óptimas para el aislamiento CC01 con un promedio de $22,33 \pm 0,65$ y $21,40 \pm 0,54$ de IJs por larva de *T. solanivora* (Tabla 1). Las interacciones CC01-S1-P3 y H01T-S1-P3 mostraron el promedio más bajo de infección de larvas de *T. solanivora* con IJs de CC01 y H01T con $5,67 \pm 0,36$ y $5,33 \pm 0,60$ respectivamente (Tabla 1).

Los resultados mostraron que la capacidad de penetración de H01T y CC01, decrece a medida que se aumenta la profundidad (Figs. 2 y 3); posiblemente debido a la disminución del oxígeno (Molyenux & Bedding, 1984) independientemente del tipo de sustrato; a pesar que el número de IJs que invadieron el hemocele del hospedero fue bajo a profundidades mayores, fueron suficientes para provocar la muerte de *T. solanivora*; lo que se puede aseverar que el ambiente fue propicio para que las bacterias simbioses se reproduzcan en el hemocele del insecto y provoquen la muerte por septicemia.

Tabla 1. Promedio (\pm Se) de IJs de los aislamientos H01T y CC01 que infectaron larvas de *T. solanivora*

Tratamiento	Sustrato	Profundidad	Numero de IJs
H-01T	Arena	5 cm	24,80 \pm 0,63 a
CC-01	Arena	5 cm	22,33 \pm 0,65 ab
CC-01	Suelo	5 cm	21,40 \pm 0,54 b
H-01T	Arena	5 cm	18,27 \pm 0,54 c
CC-01	Arena	10 cm	17,27 \pm 0,71 c
CC-01	Suelo	10 cm	15,60 \pm 0,56 cd
H-01T	Arena	10 cm	15,60 \pm 0,56 cd
CC-01	Suelo	10 cm	14,20 \pm 0,55 d
CC-01	Arena	15 cm	9,60 \pm 0,30 e
H-01T	Arena	15 cm	6,93 \pm 0,42 ef
CC-01	Suelo	15 cm	5,67 \pm 0,36 f
H-01T	Suelo	15 cm	5,33 \pm 0,60 f

Según Bedding (1990) los heterorhabdítidos son hermafroditas, solamente con que penetre un IJs al hemocele del hospedero, es suficiente para producir una nueva progenie, característica que los convierte en promisorios como agentes de control biológico. Los heterorhabdítidos son cazadores y tiene la capacidad de dispersión para buscar al hospedero hasta de 90 cm en suelo arenoso y cuando están muy cerca de un hospedero, responden positivamente a pistas físicas y químicas producidas por los insectos para encontrarlos (Kaya & Stock, 1997).

Solo una pequeña proporción de NEPs de *Steinernema* son buscadores, la mayoría conservan su energía y esperan al hospedero, o llegan a ser agresivos sólo en las cercanías de éste, lo cual limita sus posibilidades de encontrar al hospedero. Por su parte *S. riobravis*, permanece en un 99 % en el primer centímetro de la superficie del suelo y presenta un geotropismo negativo (Duncan *et al.*, 1996).

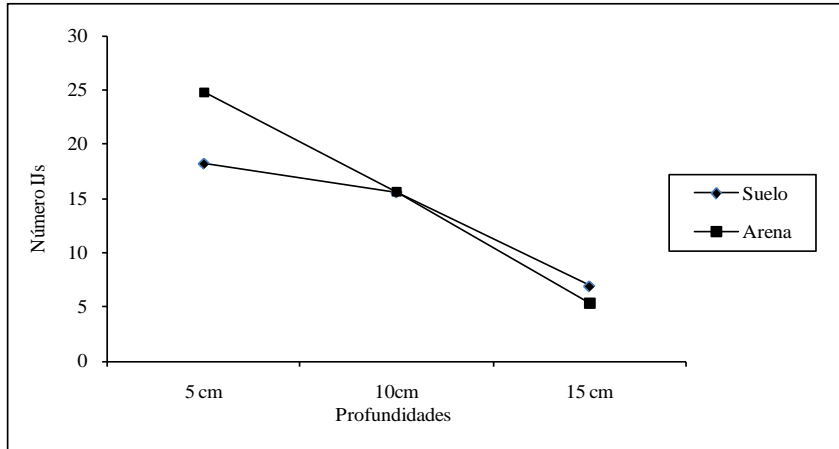


Figura 2. Desplazamiento de IJs H01T a 5, 10 y 15 cm en sustrato suelo y arena

Las diferencias en las propiedades del suelo pueden influir en la sobrevivencia e infectividad de los nemátodos (Gaugler, 1988) y por consiguiente, pueden explicar algunas de las inconsistencias observadas en los porcentajes de mortalidad, por lo que es necesario investigar, cuáles son las propiedades del suelo más apropiadas para cada especie de nemátodo.

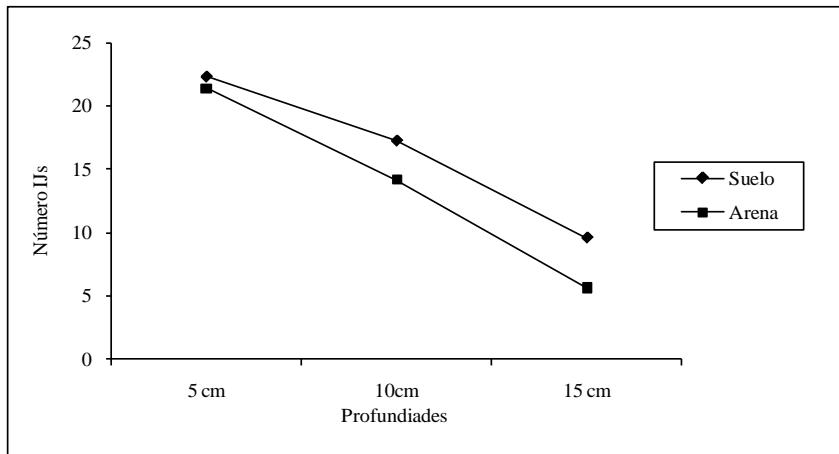


Figura 3. Desplazamiento IJs de CC01 a 5, 10 y 15 cm en sustrato suelo y arena

Rangos de humedad relativa.- El análisis de varianza, para el rango de humedad relativa con los aislamientos H01T y CC01 mostró diferencias significativas en la interacción Nemátodo-Humedad-Profundidad ($F_{4, 252} = 7, 88$; $p < 0,0001$). La discriminación de medias Tukey ($p \leq 0,05$) mostró que rangos de humedad superiores al 15 % facilitan el movimiento de los NEPs y el número de IJs que infectaron al hospedero fue alto; así, para el aislamiento H01T fue de 32,5 IJs (65 %) a 5 cm de profundidad; 18,5 IJs (37 %) a 10 cm; 10,3 IJs (21 %) a 15 cm. Para el aislamiento CC01 fue de 31,6 IJs (62 %) a 5 cm de profundidad; 27,4 IJs (54 %) a 10 cm; 17 IJs (34 %) a 15 cm. Los niveles de

humedad relativa inferiores al 10 % restringen el movimiento y eficacia de los NEPs, por tanto el número de IJs que penetraron e infectaron *G. mellonella* fue bajo; para el aislamiento CC01 fue de: 13 IJs (27 %) a 5 cm de profundidad; 9,7 IJs (19,4 %) a 10 cm.; 6,1 IJs (12,2 %) a 15 cm. Para H01T fue de 16,3 IJs (32 %) a 5 cm; 10,1 IJs (20,2 %) a 10 cm y 3,2 IJs (6,4 %) a 15 cm (Tabla 2).

Los resultados obtenidos en esta investigación reafirman a los reportes realizados por Toledo *et al.* (2004) quienes observaron que niveles de humedad del 6 % presentan bajo parasitismo con *H. bacteriophora* en larvas de *Anastrepha ludens* y un alto parasitismo en niveles de humedad del 12 al 24 %. Kaya (1990) reportó que suelos con humedad del 10 % muestran bajo parasitismo de *S. riobrave* sobre *Anthonomus grandis*; pero mostró un alto parasitismo cuando la humedad relativa fue de 20 %. Sin embargo, la actividad y eficacia de los NEPS son severamente restringidas cuando los niveles de humedad son insuficientes para el movimiento y persistencia. Kung *et al.* (citado por Hara *et al.* 1991) reportaron que la supervivencia y patogenicidad decrece más rápidamente en suelos húmedos que en suelos secos. Kondo & Ishibashi (1986) encontraron que la actividad e infectividad de IJs de *Steinernema feltidae* son más eficaces en suelos con humedades del 25 al 40 %.

Tabla 2. Promedios (\pm Se) del número de IJs de los aislamientos H01T y CC01 que infectaron larvas de *T. solanivora* a 5, 10 y 15 % de humedad relativa.

Tratamiento	Humedad	Profundidad	Numero de IJs
H-01T	15 %	5 cm	32,47 \pm 1,13 a
CC-01	15 %	5 cm	31,60 \pm 1,12 a
CC-01	15 %	10 cm	27,40 \pm 0,51 b
H-01T	10 %	5 cm	22,20 \pm 0,48 c
CC-01	10 %	5 cm	21,40 \pm 0,54 cd
H-01T	15 %	10 cm	18,53 \pm 0,55 de
CC-01	15 %	15 cm	17,00 \pm 0,83 ef
H-01T	5 %	5 cm	16,33 \pm 0,47 efg
CC-01	10 %	10 cm	14,33 \pm 0,53 fgh
CC-01	5 %	5 cm	13,73 \pm 0,56 gh
H-01T	10 %	10 cm	12,27 \pm 0,56 hi
H-01T	15%	15 cm	10,27 \pm 0,60 i
H-01T	5 %	10 cm	10,07 \pm 0,45 i
CC-01	5 %	10 cm	9,73 \pm 0,28 i
H-01T	10 %	15cm	5,80 \pm 0,46 j
CC-01	10 %	15cm	5,67 \pm 0,36 j
CC-01	5 %	15cm	4,80 \pm 0,33 j
H-01T	5 %	15cm	3,00 \pm 0,45 j

De acuerdo a los resultados mostrados se puede determinar que los NEPs dependiendo del comportamiento, género, especie, humedad, temperatura y tipo de sustrato, son más infectivos sobre un determinado tipo de hospedero (Kaya & Gaugler, 1993).

Rango de hospederos.- El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre aislamientos ($F_{4, 40} = 8,03$; $p < 0,0001$), la discriminación de medias Tukey ($p \leq 0,05$) mostró que *S. tangolias* fue significativamente más susceptible a la DL_{50} de CC01 y H01T con $43,37 \pm 10,41$ y $40,57 \pm 5,87$ a las 96 y 72 horas, respectivamente (Tabla 3). Estos resultados confirman otros reportes, en el sentido de que los NEPs tienen un amplio rango de hospederos, que comprende a casi todas las órdenes y familias de insectos (Boemare *et al.*, 1996).

Estos resultados constituyen una base importante para futuros estudios, sobre el uso de NEPs como agentes de control biológico de plagas de cultivos de *S. tuberosum*, especialmente lepidópteros como: *T. solanivora*, *S. tangolias* y *T. opercullella*, que fueron más susceptibles a las DL_{50} tanto de CC01 y H01T. Para determinar la susceptibilidad de plagas de otros órdenes es necesario realizar estudios previos, para obtener éxito a nivel de campo como agentes de control biológico.

Tabla 3. Porcentaje de mortalidad de larvas de *P. vorax* y *S. tangolias* inoculados con DL_{50} de H01T y CC01 sobre larvas de *T. solanivora*.

Tratamiento	Insecto	Tiempo	% de mortalidad
CC-01	<i>S. tangolias</i>	96 horas	$43,37 \pm 1,41$ a
H-01T	<i>S. tangolias</i>	72 horas	$40,57 \pm 5,87$ a
H-01T	<i>P. vorax</i>	120 horas	$33,90 \pm 3,48$ a
CC-01	<i>P. vorax</i>	120 horas	$30,00 \pm 0,00$ a
CC-01	<i>S. tangolias</i>	72 horas	$29,47 \pm 1,49$ a
H-01T	<i>S. tangolias</i>	96 horas	$24,43 \pm 5,37$ ab
CC-01	<i>S. tangolias</i>	120 horas	$12,23 \pm 4,79$ bc
CC-01	<i>P. vorax</i>	96 horas	$9,47 \pm 6,32$ c
H-01T	<i>P. vorax</i>	96 horas	$7,23 \pm 0,92$ c
H-01T	<i>S. tangolias</i>	48 horas	$0,57 \pm 0,98$ d
H-01T	<i>S. tangolias</i>	120 horas	$0,57 \pm 0,98$ d
CC-01	<i>P. vorax</i>	24 horas	$0,00 \pm 0,00$ d
CC-01	<i>P. vorax</i>	48 horas	$0,00 \pm 0,00$ d
CC-01	<i>P. vorax</i>	72 horas	$0,00 \pm 0,00$ d
CC-01	<i>S. tangolias</i>	24 horas	$0,00 \pm 0,00$ d
CC-01	<i>S. tangolias</i>	48 horas	$0,00 \pm 0,00$ d
H-01T	<i>P. vorax</i>	24 horas	$0,00 \pm 0,00$ d
H-01T	<i>P. vorax</i>	48 horas	$0,00 \pm 0,00$ d
H-01T	<i>P. vorax</i>	72 horas	$0,00 \pm 0,00$ d
H-01T	<i>S. tangolias</i>	24 horas	$0,00 \pm 0,00$ d

CONCLUSIONES

La capacidad de reproducción de IJS de los aislamientos CC01 y H01T en larvas del cuarto instar de *T. solanivora* no está relacionado con el peso y depende del número de IJs que penetran e infectan al hospedero.

La capacidad de penetración de los IJS de los aislamientos CC01 y H01T decrece a medida que se aumenta la profundidad tanto en sustrato arena y suelos de textura franco y franco arenoso.

La virulencia y sobrevivencia de los IJS se restringe cuando la humedad relativa es inferior al 15% y profundidades mayores de 5 cm, cuyo comportamiento depende de la especie, sustrato y tipo de hospedero.

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. A Patricia Hernández por su apoyo en la instalación de los ensayos a nivel de laboratorio, a Vinicio Uday por la revisión del artículo y a Marcelo Ibarra por la elaboración del *abstract*.

BIBLIOGRAFÍA

- Bedding, R.A. 1990.** Logistics and strategies for introducing entomopathogenic nematode technology in developing countries. Pp. 233-248. *In: Gaugler R. & Kaya H.K. (eds.). Entomopathogenic Nematodes for Biological Control.* CRC, Boca Raton, FL.
- Boemare, N., C. Laumond & H. Mauleon. 1996.** The entomopathogenic Nematode-Bacterium complex: Biology, life cycle and vertebrate safety. *Review. Biocontrol Sci. Techn.* 6 (3): 333-345.
- Boff, M.I.C., G.L. Wieggers & P.H. Smits. 2000.** The influence of storage temperature and time on infectivity and reproduction of *Heterorhabditis megidis* (strain NLHE87.3). *IOBC WPRS Bull* 23(2): 53-60.
- Duncan, L.W. & C.W. McCoy. 1996.** Vertical distribution in soil, persistence, and efficacy against citrus root weevil (Coleoptera, Curculionidae) of two species of entomogenous nematodes. *Environmental Entomology* 25: 174-178.
- Dutky, S.R., J.V. Thompson & G.E. Cantwell. 1964.** A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. *Journal Invertebrate Pathology* 6: 417-422.
- 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.
- Hara, A.H., R. Gaugler, H.K. Kaya & L.M. Lebeck. 1991.** Natural populations of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) from the Hawaiian Island. *Environmental Entomology* 20 (1): 211-216.

- Kaya, H.K. & Stock, P. 1997.** Techniques in insect's nematology. Pp. 281-324. *In: Annuals of techniques in insect's pathology.* Academic Press, San Diego. USA.
- Kaya, H.K. & R. Gaugler. 1990.** Soil ecology. Pp. 93-115. *In: R. Gaugler & 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.
- Klein M.G. 1990.** Efficacy against soil-inhabiting insect pests. Pp. 195-210. *In: Gaugler R. & Kaya H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological Control.* CRC Press, Boca Raton.
- Kondo, E. & N. Ishibashi. 1986.** Nictating Behavior and Infectivity of Entomogenous Nematodes *Steinernema* spp., to the Larvae of Common Cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae), on the soil surface. *Appl. Entomology and Zoology* 21: 553-560.
- Koppenhofer, A.M. & H.K. Kaya. 1999.** Ecological characterization of *Steinernema rarun*. *Journal of Invertebrate Pathology* 73: 120-128.
- Koppenhofer, A.M., M.E. Baur, M.E. Stock, P.S. Choo, B. Chinnasri & H.K. Kaya. 1997.** Survival of entomopathogenic nematodes within host cadavers in dry soil. *Applied Soil Ecology* 6: 231-240.
- 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.
- Stock, S.P., H.Y. Choo & H.K. Kaya. 1997.** An entomopathogenic nematode *Steinernema monticolum* sp. n. (Rhabditida: Steinernematidae) from Korea with a key to other species. *Nematology* 43: 15-29.
- Toledo, J., J.E. Ibarra, P. Liedo, A. Gómez, M.A. Rasgado & T. Williams. 2005.** Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis* under laboratory and field conditions. *Biocontrol Science and Technology* 15: 627-634.
- Unlu, I.O. & N. Ozer. 2003.** Evaluation of the reproductive potential and competition between two entomopathogenic Nematodes, *Steinernema feltidae*, (Rhabditidae: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rabditidae: Heterorhabditidae). *Turis. J. Biol.* 27: 149-155.
- Wang, J. & A.R. Bedding. 1995.** Population development of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema capocapsae* in the larvae of *Galleria mellonella*. *Fundam. Appl. Nematol.* 19(4): 363-367.
- Woodring, J.L. & H.K. Kaya. 1998.** *Steinernematidae and Heterorhabditidae nematodes: A Handbook of biology and techniques.* Arkansas. Agricultural Experiment Station.