

## Artículo científico

# Nematodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, para el control biológico de *Premnotrypes vorax*, Hustache en cultivo de *Solanum tuberosum* L, en Ecuador

Eduardo E. Argotti V.<sup>1</sup>, Marlon Núñez C.<sup>2</sup>, Claudia P. Hernández S.<sup>3</sup>, Patricio Gallegos<sup>3</sup>, Mónica P. Cazar C.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura, Universidad de la Fuerzas Armadas, ESPE, Sede Santo Domingo Km 23 vía Santo Domingo-Quevedo. Santo Domingo, Ecuador, E-mail: [eeargotti@espe.edu.ec](mailto:eeargotti@espe.edu.ec)

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias de la Vida, Carrera de Biología, Universidad Estatal Amazónica. Puyo-Ecuador, Email: [mao-manu@hotmail.com](mailto:mao-manu@hotmail.com)

<sup>3</sup>Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina, INIAP. Quito-Ecuador, E-mail: [patherz25@yahoo.com.ar](mailto:patherz25@yahoo.com.ar), [gallegos@papa.org.ec](mailto:gallegos@papa.org.ec)

<sup>4</sup>Facultad de Biología, Universidad Central del Ecuador. Quito-Ecuador, Email: [monicacazar72@gmail.com](mailto:monicacazar72@gmail.com)

---

## RESUMEN

Se evaluaron sistemas de producción papa-pasto, papa-otro cultivo, almacenamiento, vegetación natural y frutales en las provincias de Carchi, Cotopaxi, Chimborazo y Tungurahua, con el objetivo de realizar la prospección de poblaciones nativas de nematodos entomopatógenos (NEPs). Para el control biológico del gusano blanco (*Premnotrypes vorax*, Hustache), plaga de *Solanum tuberosum*. Se estableció una cría de *Galleria mellonella* para el aislamiento de los NEPs de muestras de suelo. En cada punto de muestreo se tomaron tres sub-muestras a una profundidad de 10 a 15 cm en un área aproximada de 4 m<sup>2</sup>. Las muestras de suelo se depositaron en recipientes plásticos de 500 cm<sup>3</sup> con cinco larvas de *G. mellonella*. Las larvas con sintomatología de infección por NEPs se colocaron en trampas White para su posterior recuperación. Para NEPs del género *Steinernema* se utilizó el método "One on One" y para NEPs del género *Heterorhabditis* se utilizó el método "Five on One". Un total de 357 muestras de suelo fueron evaluadas para el aislamiento de NEPs, utilizando larvas de *G. mellonella*. Un total de 28 poblaciones de NEPs, de las cuales seis corresponden a la provincia del Carchi, ocho a la provincia de Chimborazo, diez a la provincia de Cotopaxi y cuatro a

la Provincia de Tungurahua. De acuerdo a la sintomatología de las larvas de *G. mellonella* se identificaron trece poblaciones como nematodos del género *Heterorhabditis* y quince del género *Steinernema*.

**Palabras clave.-** Prospección, *Galleria mellonella*, *Xenorhadus*, *Photorhabdus*, trampa White, bioluminiscencia, insecticidas.

### ABSTRACT

Potato-pasture, potato-other crop, storage, natural vegetation and fruit production systems were evaluated in the provinces of Carchi, Cotopaxi, Chimborazo and Tungurahua, with the objective of prospecting for native populations of entomopathogenic nematodes (NEPs). For the biological control of the white grub (*Premnotrypes vorax*, Hustache), a pest of *Solanum tuberosum*. A rearing of *Galleria mellonella* was established for isolation of NEPs from soil samples. At each sampling point, three sub-samples were taken at a depth of 10 to 15 cm in an area of approximately 4 m<sup>2</sup>. Soil samples were placed in 500 cm<sup>3</sup> plastic containers with five *G. mellonella* larvae. Larvae with symptoms of NEPs infection were placed in White traps for later recovery. For NEPs of the genus *Steinernema* the "One on One" method was used and for NEPs of the genus *Heterorhabditis* the "Five on One" method was used. A total of 357 soil samples were evaluated for NEPs isolation using *G. mellonella* larvae. A total of 28 populations of NEPs, of which six correspond to the province of Carchi, eight to the province of Chimborazo, ten to the province of Cotopaxi, and four to the province of Tungurahua. According to the symptomatology of the larvae of *G. mellonella*, thirteen populations were identified as nematodes of the genus *Heterorhabditis* and fifteen of the genus *Steinernema*.

**Keywordsds. -** Prospecting, *Galleria mellonella*, *Xenorhadus*, *Photorhabdus*, White trap, bioluminescence, insecticides.

ISSN 1390-3004

Recibido: 18-02-2022

Aceptado: 06-10-2022

### INTRODUCCIÓN

*Solanum tuberosum* L, es el tercer cultivo alimenticio más importante del mundo en términos de consumo humano después de *Oriza sativa* L. y *Triticum aestivum* L. (CGIAR, 2022). Más de mil millones de personas consumen papa regularmente, y la producción total mundial del cultivo sobre pasa los 300 millones de toneladas métricas (CGIAR, 2022). La papa es un cultivo milenario en la región andina y en el Ecuador, constituye una fuente importante de ingresos y alimentación para familias campesinas (Andrade & Sherwood, 2002); además guarda un aspecto cultural e histórico dentro de sus orígenes. Hay más de 4 000 variedades de papas nativas que en su mayoría se encuentran en los Andes. Tienen diferentes tamaños, colores y formas. Asimismo, hay 151 especies de papa silvestre. Aunque son demasiado amargas para ser consumidas, su biodiversidad incluye importantes características como resistencia natural a plagas, enfermedades y condiciones

climáticas (CGIAR, 2022). Según el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGAP), el cultivo de papa representa el 4% de aporte al PIB agrícola y más de 88.130 fuentes de empleo directo e indirecto, además constituye el 7% de la canasta básica familiar (Chiguano & Jácome, 2014). En el Ecuador los cultivos de papa ocupa alrededor de 422 000 ha (MAG, 2015). La producción promedia las 520 000 toneladas anuales (INEC, 2016). Esta actividad genera alrededor de 80 millones de dólares anuales, convirtiéndose en una de las fuentes más importantes de ingresos para las comunidades rurales y un componente de la economía nacional (Meneses- Fueltala, 2019).

La productividad y rentabilidad de este cultivo es seriamente afectada por factores adversos, como la incidencia de enfermedades y plagas entre las que se destacan la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) y el gusano blanco (*Premnotrypes vorax*). Estas plagas en forma conjunta o aislada causan daños severos tanto en campo como en almacén en las provincias productoras de papa (Bastidas *et al.*, 2005). Ambas plagas atacan los tubérculos formando galerías y constituye el principal factor de pérdida de la calidad del producto, que puede llegar hasta el 100% de la producción si las condiciones ambientales y el manejo del cultivo son favorables. El método de control más utilizado por los agricultores para mitigar las plagas, es el uso de plaguicidas químicos, que, a pesar de su alta eficiencia económica y biológica, al ser aplicados sin justificación técnica afectan la salud del hombre, destruyen la fauna y microfauna nativa, contaminan las aguas, suelos, y crean resistencia de las plagas a los insecticidas (Barrera *et al.*, 1999).

Debido a los daños ocasionados por los plaguicidas se ha incrementado el interés por el uso de agentes biológicos, entre los que se destacan el uso de hongos, bacterias y virus entomopatógenos y en las últimas décadas los nematodos entomopatógenos (NEPs), han sido utilizados para el manejo de un amplio rango de especies de insectos de importancia agrícola (Hazir, 2003). Los nematodos entomopatógenos que han mostrado mejores resultados pertenecen a los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*. El mecanismo por el cual estos organismos infectan y se reproducen en los insectos hospederos involucra una relación mutualista con bacterias simbióticas de los géneros *Xenorhodus* spp. y *Photorhabdus* spp. (Chaston *et al.*, 2011). *Xenorhodus* y *Photorhabdus* son bacterias Gram negativas facultativas de la familia Enterobacteriaceae que viven en el intestino de los infectivos juveniles IJs del tercer instar (IJs), no forman esporas y son anaerobias; cinco especies están asociadas con *Steinernema*, tres especies están asociados a *Heterorhabditis*. La principal característica de estas especies es su capacidad de formar relaciones simbióticas con nematodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*; todos los miembros de *Photorhabdus* pueden ser identificados por su relación mutualista con los nematodos de la familia *Heterorhabditidae*, mientras que las especies de *Xenorhodus* son mutualistas de nematodos de la familia *Steinernematidae*.

El género *Photorhabdus* consta actualmente de tres especies, *P. luminescens*, *P. temperata* y *P. symbiotica*; la especie *P. luminescens*, consta de dos subespecies,

*Photorhabdus luminescens caribbeanensis*, *P. luminescens hainanensis*, y *P. temperata* consta de dos subespecies *P. temperata khanii* y *P. temperata tasmaniensis* (Tailliez, *et al.*, 2010). El género *Xenorhabdus* consta de 20 especies: *X. beddingii*, *X. bovienii*, *X. japonicus*, *X. nematophilus* y *X. poinarii* (Tailliez, *et al.*, 2010). Los IJs penetran a través de la boca, ano o espiráculos del insecto hospedero. Una vez que los IJs han invadido el hemocele del insecto, liberan las bacterias simbiotas *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* que producen numerosos factores de virulencia que suprimen el sistema de defensa del insecto que protegen el cadáver. Por su naturaleza *Photorhabdus* y *Xenorhabdus* tienen el potencial de ser patógenas para una gran variedad de insectos huéspedes, de hecho, varias especies de insectos de una variedad de órdenes de insectos incluyendo Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera y Dictyoptera son susceptibles. *Xenorhabdus* produce toda una gama de antimicrobianos basados en metabolitos secundarios y péptidos lineales y péptidos cíclicos, como la bencilidenoacetona nematofina, xenocumacinas 1 y 2 xenórtidos A y B (Shapiro-Ilan, *et al.*, 2003). Igualmente *P. luminescens* produce una gran cantidad de toxinas antimicrobianas como el 2-isopropil-5-(3-fenil-oxiranyl)-benceno-1,3 diol, 3,5,-dihidroxi-4-isopropil-estilbeno y el lactama carbapenem, pequeños compuestos orgánicos sintetizados por genes de policétidos sintetasa. Especies bacterianas del género *Photorhabdus* se destaca la luminiscencia mientras que las bacterias del género *Xenorhabdus* no presentan luminiscencia. Ambos géneros bacteriales producen células diferentes conocidas como forma primaria y forma secundaria (Forst y Clarke, 2002; Sáenz, 2005). La forma primaria está asociada naturalmente con los juveniles infectivos, mientras la forma secundaria surge espontáneamente cuando los cultivos bacteriales están en estado estacionario de no crecimiento en cultivos *in vitro*. La forma secundaria de *Xenorhabdus* puede cambiar a la forma primaria, pero este fenómeno no ha sido establecido para *Photorhabdus*.

Finalmente, las bacterias se replican rápidamente y causan septicemia en los insectos. Los metabolitos secundarios, producidos por las bacterias, han sido reportados, como compuestos bioactivos con propiedades citotóxicas, antimicrobianos, antiparasitarios e insecticidas. Las bacterias simbiotas se reproducen en forma exponencial en los cadáveres de los insectos, produciendo una gran variedad de compuestos antimicrobianos que inhiben el crecimiento de microorganismos antagonistas. A nivel mundial se han identificado aproximadamente 100 especies de nematodos del género *Steinernema* y 26 especies del género *Heterorhabditis* (Boemare *et al.*, 2002). Sin embargo, la diversidad y su aplicación de los NEP's y sus bacterias simbiotas son poco estudiadas. En nuestro país, se han identificado 13 especies de *Steinernema* y 12 de *Heterorhabditis* en suelos asociados a cultivos de papa en las provincias de El Carchi, Cotopaxi, Chimborazo y Tungurahua. Las bacterias simbiotas han sido descubiertas a nivel mundial, con aproximadamente 24 especies de *Xenorhabdus* y 5 especies de *Photorhabdus*. La comercialización de NEPs de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* y sus bacterias simbióticas *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, han surgido como excelentes agentes de control biológico y han recibido una considerable atención como bioinsecticidas, debido a la

combinación impresionante y única de sus atributos, entre los que se destacan un amplio rango de insectos hospederos, alta virulencia, facilidad para su reproducción (Gaugler & Kaya, 1990).

Por lo expuesto, se requiere buscar y caracterizar NEPs nativos, donde probablemente existen e interactúan con insectos nativos, lo que permitirá establecer las bases para su uso en programas de manejo integrado de plagas, que posibiliten el desarrollo de nuevas tecnologías para su aplicación. El grado de adaptabilidad, persistencia, tolerancia, infectividad y variabilidad genética entre ellos, determinarán su potencial como agentes de control biológico sobre insectos plaga que afectan cultivos de importancia económica en las provincias ecuatorianas más productoras de papa.

## METODOLOGÍA

**Obtención de muestras de suelo.**- Durante los meses de enero a mayo del 2020, se colectaron 457 muestras de suelo en los sistemas de producción papapastizales, papa-otros cultivos, bosques protectores o vegetación nativa, y almacenamiento en las provincias del Carchi, Cotopaxi, Chimborazo y Tungurahua. En cada sitio, con la ayuda de una pala de mano, previamente desinfectada con alcohol al 70%, se tomaron tres muestras hasta obtener una cantidad aproximada de 1 000 cm<sup>3</sup> a una profundidad de 10 a 15 cm en un área de 4 m<sup>2</sup>. Las muestras de suelo fueron colocadas en fundas de polietileno debidamente rotuladas y transportadas al laboratorio en una termonevera a 150 C. Las muestras se mantuvieron en incubadora, para evitar la pérdida de humedad. En cada muestra se registró la altitud, temperatura y el tipo de vegetación.

**Cultivo de gusano blanco (*Premnotrypes vorax*, Hustache).**- El cultivo de larvas de *P. vorax*, se realizó en las instalaciones de la Estación Experimental "Santa Catalina" del INIAP. Se utilizó la metodología de cría desarrollado por Bastidas *et al.*, 2005 y el Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima-Perú. Las larvas del V instar de *P. vorax*, se obtuvieron a partir de oviposiciones de insectos adultos, recolectados de los cultivos de papa en la provincia de Cotopaxi (Fig. 1). Los insectos se mantuvieron en recipientes plásticos con rodajas de papa, como alimento y restos de gramíneas, para la recolección de las oviposiciones. Las oviposiciones fueron transferidas a platos Petri e incubados a temperatura ambiente durante 30 a 40 días (Fig. 2).

Larvas del primer instar de *P. vorax* fueron transferidos a un recipiente plástico de 20 mL con rodajas de papa e incubadas a temperatura ambiente por 38 días, pasado este tiempo, las larvas del V instar abandonan el tubérculo y busca un lugar en el suelo para cambiar a su siguiente estado, denominado pre-pupa y luego a pupa, las pupas fueron colocadas en vasos plásticos con papel absorbente del que emergen aproximadamente a los 45 días (Fig. 2). Las instalaciones para el cultivo de larvas de *P. vorax*, fueron acondicionados a 16°C y a una humedad relativa del 75%. Los datos fueron medidos y registrados

diariamente mediante el uso de un higrotermógrafo.



**Figura 1.** Recolección de adultos de *Premnotrypes vorax*, en cultivos de papa en la provincia de Cotopaxi A) Trampa para el adulto de *Premnotrypes vorax*. B) Disposición en el campo de las trampas para *Premnotrypes vorax*. C) Recolección de adultos de *Premnotrypes vorax* en trampas (Fotografías Jesús Alcázar, INIAP; CIP).



**Figura 2.** Cultivo de *P. vorax*. A) Adultos de *P. vorax*. B) Oviposiciones *P. vorax*. C) Larvas de *P. vorax* del I instar. D) Larvas de *P. vorax* del V instar

**Cultivo de larvas de la polilla de cera (*Galleria mellonella* L.).**- Las polillas de la cera (*Galleria mellonella* L.), utilizadas en la investigación fueron facilitadas por la Estación Experimental "Pichilingue" del INIAP-Quevedo, Provincia de los Ríos. Las instalaciones para la cría de las polillas fueron acondicionadas a 25°C de temperatura y 75% humedad relativa. El control de la temperatura y humedad relativa se utilizó un higrotermógrafo. Los adultos de *G. mellonella* fueron colocados en recipientes plásticos con tapa de tul (Fig. 3); en cada recipiente, se colocaron papel encerado corrugado, para la recolección de las oviposturas; como alimento se utilizó, una mezcla de agua con miel (2:1). Las oviposturas se transfirieron a recipientes plásticos con panales de cera y polen triturado. El tiempo de eclosión de la larva de primer instar se estableció en quince días (Fig. 3). Las larvas pasan por ocho estadios de desarrollo en un tiempo de 35 días y la pre-pupa forma un cocoon (capullo)

duro del cual emergen los adultos en 15 días.



**Figura 3.** Cultivo de la polilla de la cera *Galleria mellonella*. A) Adultos de *G. mellonella*. B) Huevos de *G. mellonella* C) Larvas de *G. mellonella*

**Aislamiento de nematodos entomopatógenos (NEP's).**- Para el aislamiento de los NEP's nativos se utilizaron la técnica descrita por Beeding *et al.* (1983). Cada muestra de suelo de 1 kg se homogeneizó, luego se distribuyó en dos recipientes plásticos de 250 a 500 cm<sup>3</sup> (Fig. 4); en la parte superior se depositaron cinco larvas del último instar de *G. mellonella* (Shapiro-Ilan *et al.*, 2003). Los recipientes se taparon, se invirtieron y se incubaron en la oscuridad a 20 ± 10C, durante siete días (Stock & Kaya, 1999). A los siete días se extrajeron las larvas de *G. mellonella* muertas por bacterias, hongos y nematodos, las mismas que fueron remplazadas por larvas sanas en cada uno de los recipientes, procedimiento que se repitieron dos veces (Garzón *et al.* 1996; citado por Kaya & Stock, 1997; Alcázar & Kaya, 2003). Las larvas de *G. mellonella*, infectadas por nematodos del género *Steinernema* se presentan aparentemente hinchadas, de coloración amarillo cremoso, y algunas veces de color oscuro, los cadáveres no presentan bioluminiscencia.

Las larvas infectadas por nematodos del género *Heterorhabditis* se muestran hinchadas, con una coloración rojiza y algunas veces púrpuras, anaranjadas y verdes, los cadáveres presentan bioluminiscencia (Fig. 4). Las larvas que mostraron sintomatología de infección por NEP se lavaron con agua destilada estéril (ADE) (Woodring & Kaya, 1988) y se transfirieron a trampas White modificada (Stock *et al.*, 1998). La trampa White consiste de un plato Petri de 9 cm x 1,5 cm con papel filtro Whatman No.1 humedecido dentro de un plato Petri de 15 cm por 1,5 cm con 20 ml de ADE, sobre la cual se depositaron las larvas de *G. mellonella* con síntomas de infección por NEPs (Fig. 4). Posteriormente se incubaron por dos semanas a 20°C, hasta que todos los IJs emergieran del cadáver. El tiempo de emergencia de los IJs depende de la especie del nematodo, IJs del género *Steinernema* emergieron a los 8 a 10 días después de la infección; IJs del género *Heterorhabditis* de 14 a 15 días después de la infección (Kaya y Stock, 1997; Alcázar y Kaya, 2003). Para confirmar la patogenicidad de los nematodos aislados se procedió con los postulados de Koch, colocando en placas Petri con papel filtro estéril, larvas de último instar de *G. mellonella*, que se inocularon con 10 IJs/larva de cada aislamiento (Kaya y Stock, 1997).



**Figura 4.** Técnica de aislamiento NEPs *Steinernema* y *Heterorhabditis* A) muestras de suelo. B) Larvas de *G. mellonella* infectadas por nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis*. C) Trampa White (Fotografías Patricia Hernández)

**Análisis de la información.-** El análisis de la información se realizó mediante el registro de frecuencias en base a la presencia o ausencia de poblaciones de NEPs en combinación con los sistemas de producción de cada Provincia. Para las pruebas de patogenicidad sobre larvas de *G. mellonella*, se aplicó un Diseño completamente al Azar. La discriminación de medias entre aislamientos se realizó mediante la prueba Tukey ( $p < 0,05$ ). El análisis de textura, porcentaje de materia orgánica y pH de las muestras de suelo de los aislamientos de NEPs que mostraron porcentajes de mortalidad superiores al 90% de larvas de *G. mellonella* se realizó en el Laboratorio de Suelos del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Aislamiento de NEPs y relación con los sistemas de producción.-** Se colectaron 357 muestras de suelo; 111 en la provincia de Carchi, 129 en la provincia de Chimborazo, 110 en la provincia de Cotopaxi y 7 muestras adicionales tomadas en la provincia de Tungurahua. En la Provincia del Carchi se registraron seis (1,68), Chimborazo ocho (2,24%), Cotopaxi diez (2,80%) y Tungurahua cuatro (1,12%) muestras positivas para NEPs (Tabla 1). La evaluación de la presencia de NEPs se han realizado en una amplia diversidad de hábitats a nivel mundial; en esta investigación se consideró sistemas agroecológicos específicos, encontrándose 28 (100%) poblaciones de NEPs (Tabla 2), de las cuales 15 (53,6%) corresponde al género *Steinernema* y 13 (46,4%) al género *Heterorhabditis*.

Los resultados de esta investigación son significativamente más altos a los reportes realizados por Román & Beavers (1983) en Puerto Rico con el 2,3%; Steiner (1996) en Irlanda del Norte con el 3,8%; Georgis et al. (1994) en Alemania con el 1,2%; Choo et al., (1995) en Korea con el 4,6%; Griffin et al. (1994) en las Islas Guadalupe con el 6%. De igual forma los resultados son similares a los reportados por García & Palomo (1996) en España con el 8 y 12%; Akhurst & Bedding (1986) en Australia con el 8,2%; García et al., (2008) en suelos italianos con el 8,4 %. La evaluación de la presencia de NEPs se han realizado en una amplia diversidad de hábitats a nivel mundial; en esta investigación se consideró sistemas agroecológicos específicos, encontrándose

28 (100%) poblaciones de NEPs. El sistema de producción Papa-otro cultivo (*Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Allium cepa*, *Lupinus mutabilis*, *Ullucus tuberosus*, *Zea mays*, *Triticum aestivum* y *Solanum betaceum*) presentó el mayor número de muestras positivas para NEPs de los géneros *Heterorhabditis* con el 53,58% y *Steinernema* con el 46,42%.

**Tabla 1.** Distribución de NEPs aislados en diferentes sistemas de producción en las provincias de Carchi, Chimborazo, Cotopaxi y Tungurahua.

Provincia	Sistema	Frecuencia		Total
		Sin NEPs	Con NEPs	
Carchi	Papa- Pasto	17 (94,4%)	1 (5,4%)	18 (100%)
	Papa- otro cultivo	41(91,1%)	4 (8,9%)	45 (100%)
	Almacenamiento	24 (100%)	0	24 (100%)
	Vegetación Natural	23 (95,5%)	1 (4,2%)	24 (100%)
	<b>TOTAL</b>	105 (94,6%)	6 (5,4%)	111 (100%)
Chimborazo	Papa-Pasto	25 (89,3%)	3(10,7%)	28 (100%)
	Papa- otro cultivo	26 (92,9%)	2 (7,1%)	28 (100%)
	Almacenamiento	25 (96,2%)	1(3,8%)	26 (100%)
	Vegetación Natural	45 (95,7%)	2 (4,3%)	47 (100%)
	<b>TOTAL</b>	121 (93,8%)	8 (6,2%)	129 (100%)
Cotopaxi	Papa- Pasto	4 (100%)	0	4 (100%)
	Papa- otro cultivo	85 (94,4%)	5 (5,6)	90 (100%)
	Almacenamiento	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)
	Vegetación Natural	8 (88,9%)	1 (11,1%)	9 (100%)
	<b>TOTAL</b>	100 (90,9%)	10 (9,1%)	110 (100%)
Tungurahua	Frutales	2	2 (100%)	2 (100%)
	Papa en rotación	2	2 (100%)	2 (100%)
	<b>TOTAL</b>	4	4 (100%)	4 (100%)

Los resultados mostrados quizá tengan relación con la disponibilidad y variabilidad de insectos hospederos que habitan en estos tipos de cultivos. Los cuales corroboran a los reportes realizados por Hominick & Briscoe (1995), quienes manifiestan que los sistemas agroecológicos junto con las tierras sanas, proveen un hábitat adecuado para la existencia de NEPs.

La ocurrencia del 7,8% de NEPs en el total de muestras de suelo, indican un alto porcentaje de prevalencia de estos nematodos en los diferentes tipos de suelo y sistemas de cultivo en las cuatro provincias productoras de papa (*Solanum tuberosum*) del país. Resultados similares han sido reportados en Colombia por Caicedo *et al.*, (2004a) con 5,1% y Melo *et al.*, (2004) con 6,6%, en Venezuela por Rosales y Suárez (1998) con 8,21% de ocurrencia de NEPs; también a la tasa obtenida por Stock (1992); Rosa *et al.*, 2000), de 13,2% de nematodos benéficos en la región de la Pampa Argentina. De la misma forma, en Oregón (EE.UU) Liu y Berry (1995); Rosa *et al.* 2000), citan el 11,8% de nematodos. Resultados que son corroborados por el estudio realizado por Hara *et al.*, (1991), en donde de un total de 351 muestras de suelo se encontró el 6,8% de NEPs en las Islas de Hawai.

**Tabla 2.** Identificación preliminar de 28 aislamientos de NE en larvas de *G. mellonella*.

Provincia	Aislamiento	Hábitat	Género NEPs
Carchi	CC03	B	<i>Heterorhabditis</i>
	CC01	B	<i>Heterorhabditis</i>
	CH07	B	<i>Steinernema</i>
	CH06	A	<i>Steinernema</i>
	CB13	B	<i>Steinernema</i>
	CCH07	D	<i>Steinernema</i>
Chimborazo	H04D	B	<i>Steinernema</i>
	H01T	D	<i>Heterorhabditis</i>
	H03R	A	<i>Steinernema</i>
	H02H	B	<i>Steinernema</i>
	V02	C	<i>Steinernema</i>
	H05C	D	<i>Steinernema</i>
	H13C	B	<i>Steinernema</i>
	H01G	B	<i>Steinernema</i>
Cotopaxi	CT14P	E	<i>Steinernema</i>
	CT08	C	<i>Steinernema</i>
	CT10	E	<i>Heterorhabditis</i>
	CT11	C	<i>Heterorhabditis</i>
	CT15	B	<i>Heterorhabditis</i>
	CT05	B	<i>Steinernema</i>
	CT13	B	<i>Heterorhabditis</i>
	CT02	B	<i>Heterorhabditis</i>
	CT17	D	<i>Steinernema</i>
	CT07	B	<i>Heterorhabditis</i>
Tungurahua	1T	B	<i>Heterorhabditis</i>
	2T	B	<i>Heterorhabditis</i>
	3T	E	<i>Heterorhabditis</i>
	4T	E	<i>Heterorhabditis</i>

A: Papa-Pasto; B: Papa-otro cultivo; C: Almacenamiento; D: Vegetación natural; E: Frutales

Por otro lado, en una clasificación taxonómica preliminar de acuerdo a la sintomatología y los signos sobre larvas de *G. mellonella*, se establecieron en Carchi cuatro poblaciones de nematodos del género *Steinernema* (80%) y dos de *Heterorhabditis* (20%). En Chimborazo se encontraron siete poblaciones de nematodos del género *Steinernema* (87,5%) y una de *Heterorhabditis* (12,5%). En Cotopaxi cuatro poblaciones de nematodos del *Steinernema* (40%) y seis de *Heterorhabditis* (60%); y en Tungurahua cuatro poblaciones pertenecientes al género *Heterorhabditis* (100%).

Estos resultados indican que en general hubo predominancia de poblaciones

de nematodos del género *Steinernema* sobre el género *Heterorhabditis*; varios factores pueden haber influido en la presencia de un mayor número de poblaciones de NEPs del género *Steinernema*; uno de los factores puede ser la altitud, ya que la mayoría de las muestras de NEPs del género *Steinernema* fueron tomadas en altitudes superiores a 3 000 m s.n.m.; mientras que NEPs del género *Heterorhabditis* se aislaron de suelos con altitudes menores a 2 700 msnm. Aunque la población H01T (*Heterorhabditis*) fue aislada de una muestra de suelo a 3 573 msnm, lo que indica que *Heterorhabditis*, también se puede encontrar en altitudes superiores a 3 000 m s.n.m. (Tabla 2).

Lo anterior se confirma con el estudio de Rosa *et al.* (2000) quienes señalan que la altitud influye en la distribución de dos géneros presentes en las Islas de Azores; el género *Heterorhabditis* es más abundante en muestras de suelo tomadas de altitudes inferiores a 1 800 m s.n.m., y decrece al aumentar la altitud, en donde comienza a ser más abundante las poblaciones de NEPs del género *Steinernema*. De la misma forma Hara *et al.*, (1991), demuestran que la altitud es un factor limitante en la distribución de los dos géneros de nematodos benéficos en las Islas de Hawai. A nivel del mar se presentó un mayor número de muestras de poblaciones de NEPs del género *Heterorhabditis*, y a medida que se incrementa la altitud aumenta las poblaciones de NEPs del género *Steinernema*. Los mismos indican que poblaciones de NEPs del género *Heterorhabditis* están más adaptados a ambientes Tropicales y subtropicales.

**Asociación de *Steinernema* y *Heterorhabditis* con el pH.-** Los aislamientos pertenecientes al género *Steinernema* fueron recuperados de suelos con pH 5,5 a 6,5 (Tabla 3); al respecto Kung *et al.*, (1990b), reportan que el pH en el cual existe más abundancia de NEPs del género *Steinernema* fluctúa entre 6,0 a 8,4. Los NEPs del género *Heterorhabditis* se aislaron en suelos con pH de 6,5 a 8,1. Estos resultados son similares a los obtenidos por Kung *et al.* (1990b); Griffin *et al.* (1994) quienes reportaron la prevalencia de NEPs en suelos con un pH de 4,6 a 8,0. Al respecto, Kung *et al.*, (1990b) reportaron que un suelo con pH de 8,0+1 presenta una alcalinidad que no afecta la presencia de NEPs. Según Amarasinghe *et al.*, (1994). La alcalinidad ligera de los suelos se debe a la presencia de carbonatos de calcio presentes a poca profundidad. Sin embargo, el punto extremo del ácido (pH 3,5 a 5,1) puede limitar la presencia de NEPs. Según Kung *et al.* (1990a) los suelos ligeramente alcalinos con pH superior a diez (pH > 10) disminuyen drásticamente la supervivencia y afectan adversamente la capacidad patógena de los NEPs. Kaya (1990) puntualiza que el pH no actúa como un factor limitante sobre la actividad de los NEPs. Esta puede ser una de las causas para una amplia distribución de estos NEPs en los sistemas agroecológicos. Por consiguiente, este estudio demostró que valores de pH están dentro del espectro de supervivencia y patogenicidad de los NEPs del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* (Kaya, 1990; Kung *et al.* 1990b).

**Asociación de *Steinernema* y *Heterorhabditis* con la materia orgánica.-** *Steinernema* tiene un amplio rango de distribución, y está presente en suelos

con porcentajes de materia orgánica de 4,7 a 16,3%, y el género *Heterorhabditis* en suelos con porcentajes de orgánica de 5,1 a 7,6%, resultados similares a los reportados por Stock *et al.*, (1998) en California EE. UU., afirman la presencia de NEPs del género *Steinernema* en suelos con porcentajes de materia orgánica de 2,4% a 7,1%, *H. bacteriophora* y *H. marelatus* se recuperaron en suelos con bajo contenido de materia orgánica 2,1 a 3,9% y 1,1 a 1,2%, respectivamente. Steiner, (1996), citado por Rosa *et al.*, (2000), reportaron que especies del género *Heterorhabditis* son abundantes en suelos con bajo contenido de materia orgánica y los especies de *Steinernema* son abundantes en suelos con alto porcentaje de materia orgánica.

## CONCLUSIONES

De 357 muestras de suelo obtenidas en sistemas de producción asociados a cultivos de *Solanum tuberosum*, se aislaron 28 poblaciones de NEPs, con una abundancia del 7,8%; 15 pertenecen al género *Steinernema* y 13 al género *Heterorhabditis*. En la provincia del Carchi se registraron seis (1,68%) aislamientos positivos, Chimborazo ocho (2,24%), Cotopaxi diez (2,80%) y Tungurahua cuatro (1,12%).

En sistemas de producción Papa-otro cultivo se registró el mayor número de muestras positivas para NEPs de los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* con 46,36%, seguido por el sistema de producción papa-otro cultivo, vegetación natural y frutal con el 14,29%; el sistema de producción almacenamiento de tubérculos mostró el porcentaje más bajo de muestras positivas para NEPs con el 10,71%.

Los aislamientos del género *Heterorhabditis* fueron registrados en suelos de textura franco y franco-arenosos; *Steinernema* en suelos de textura franco-limoso. Los aislamientos del género *Heterorhabditis* fueron registrados en suelos con porcentaje de materia orgánica de 0,7 a 5,1%; pH de 6,5 a 7,6; alturas desde los 2 700 a los 3 573 m s.n.m.; *Steinernema* en suelos con porcentaje de materia orgánica de 4,7 a 16,3 %. pH 5,5 a 6,4; altitudes de 2 850 a 3 481 m s.n.m.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no tener conflictos de interés durante el proceso de publicación de este artículo.

## AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros sinceros 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 recolección de muestras. A Jesús Alcázar, investigador del CIP por dar las facilidades a EEAV para participar en la realización de esta investigación, a Luis Oswaldo Villa Tixe por la revisión del primer borrador de artículo.

## REFERENCIAS

- Akhurst RJ. & Bedding RA. 1986.** Natural occurrence of insect pathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in soil in Australia. *Journal Australian Entomology Society* 25: 241-244.
- Alcázar & Kaya H. 2003.** Hallazgo de un nematodo nativo del género *Heterorhabditis*, parásito del Gorgojo de los Andes *Premnotrypes suturicallus*, en Husahuasi, Junín. En: Resúmenes XLV Convención Nacional de Entomología. 1 - 5 de Diciembre. Ayacucho. Pp. 158.
- Amarashinge LD, Hominick WM, Briscoe BR & Reid AP. 1994.** Occurrence and distribution of entomopathogenic nematodes in Sri Lanka. *Journal of Helminthology*. 68:277-286.
- Andrade H, Bastidas O & Sherwood S. 2002.** La papa en Ecuador. Pp. 21-32. *En:* Pumisacho M & Sherwood S. (eds.). El cultivo de la papa en Ecuador. INIAP, Estación Experimental Santa Catalina/CIP. Quito.
- Barrera V & Crissman C. 1999.** Estudios de caso del impacto económico de la tecnología generada por el INIAP en el rubro papa. INIAP, Estación Experimental Santa Catalina/CIP. Quito.
- Bastidas S, Morales P, Pumisacho M, Gallegos P, Heredia G & Benítez J. 2005.** El catzo o adulto del gusano blanco de la papa y alternativas de manejo. Guía de aprendizaje para pequeños agricultores. INIAP, Estación Experimental Santa Catalina/CIP. Quito.
- Bedding RA, Molyneux AS & Akhurst RJ. 1983.** *Heterorhabditis* spp., *Neoaplectana* spp., and *Steinernema kraussei*: interspecific and intraspecific differences in infectivity for insects. *Experimental parasitology* 55(2): 249-257.
- Boemare N. 2002.** Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. *Entomopathogenic nematology*: 35-56.
- Caicedo A, Trujillo H, Quintero M, Calatayud P & Belloti A. 2004.** Reconocimiento de nematodos entomopatógenos asociados a *Cyrtomenus bergi* en tres localidades de Colombia. *Memorias del XXXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología*. Colombia.
- CGIAR W. 2022.** Cómo promover una agricultura climáticamente inteligente en la Región Andina. Recomendaciones para política pública. En Línea: <https://repositorio.iica.int/handle/11324/19578>.
- Chaston JM, Suen G, Tucker SL, Andersen AW, Bhasin A, Bode E & Goodrich-Blair H. 2011.** The entomopathogenic bacterial endosymbionts *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: convergent lifestyles from divergent genomes. *PloS one* 6(11): e27909.
- Chiguanu W & Jácome C. 2014.** *Diagnóstico de comercialización de papa en mercados*. Informe de Diagnóstico. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Quito.
- Choo HY, Koppenhofer AM & Kaya HK. 1996.** Combination of two entomopathogenic nematode species for suppression of an insect pest. *Journal of Economic Entomology*. 89(1): 97-103.
- Forst S, & Clarke D. 2002.** Entomopathogenic nematology. Pp. 57-77. In: Gaugle E. (ed.). *Bacteria-nematode symbiosis*. CABI Publishing, Wallingford, UK.

- García PF & Palomo FA. 1996.** Natural occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Spanish soils. *Journal of Invertebrate Pathology* 68: 84-90.
- Garzón M, Aza B, Jiménez J & Luque J. 1996.** Potencial del nematodo *Steinernema* sp para el control biológico del gusano blanco de la papa. *Revista Colombiana de Entomología* 22(1): 25 - 30.
- Gaugler R. 1990.** *Entomopathogenic nematodes in biological control*. H K Kaya (Ed.). CRC Press, Boca Raton.
- Griffin CT & Joyce SA, Dix I, Burnell AM & Downes MJ. 1994.** Characterization of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* (Nematoda: Heterorhabditidae) from Ireland and Britain by molecular and cross-breeding techniques, and the occurrence of the genus in these islands. *Fundamental and Applied Nematology* 17(3): 245-253.
- Hara A, Gaugler R, Kaya H & Lebeck L. 1991.** Natural populations of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) from the Hawaiian Islands. *Environment Entomology* 20(1): 211-216.
- Hazir S, Keskin N, Stock SP, Kaya HK & Özcan S. 2003.** Diversity and distribution of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Turkey. *Biodiversity & Conservation* 12(2): 375-386.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC). 2002.** Encuesta de superficie, área sembrada y producción por muestreos de áreas. INEC Quito.
- Kaya HK & Stock P. 1997.** Techniques in insect's nematology. Pp. 281 - 324. *In: Manual of techniques in insect's pathology*. Academic Press, San Diego. USA.
- Kaya HK. 1990.** Soils ecology. Pp. 93-111. *In: Gaugler R. & Kaya HK (eds.). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, Boca Raton.
- Kung SP, Gaugler R & Kaya HK. 1990a.** Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. *Journal of Nematology* 22(4): 440- 445.
- Kung SP, Gaugler R & Kaya HK. 1990b.** Soil type and entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Invertebrate Pathology* 55: 401-406.
- Liu J & Berry RE. 1995.** Natural distribution of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) en Oregon soils. *Environmental Entomology* 24(1): 159-163.
- Melo E, Ortega C, Gaigl A, Belloti A, Ehlers R & Susurluk A. 2004.** Búsqueda de poblaciones nativas de nematodos entomopatógenos en regiones de Colombia y Panamá. *Memorias del Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología*.
- Meneses Fweltala WV. 2019.** *Análisis sobre los procesos de producción y comercialización de la papa (Solanum tuberosum), variedad súper chola en el Cantón Tulcán, Provincia del Carchi* (Bachelor's thesis, El Angel: UTB, 2019).
- Oyarzun P, Espinosa P, Forbes G & Reinoso I. 2002.** El cultivo de la papa en Ecuador. INIAP/CIP. Quito.

- Pelczar MJ, Reid RD & Chan ECS. 1977.** Microbiology. (4a Ed.). McGraw-Hill, Book Co. New York, USA.
- Rosa J, Bonifassi E, Amaral J, Lacey L, Simoes N & Laumond C. 2000.** Natural occurrence of entomopathogenic nematodos (Rhabditida: *Steinernema*, *Heterorhabditis*) in the Azores. *Journal of Nematology* 32(2): 215-222.
- Rosales L & Suárez Z. 1998.** Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo del plátano *Cosmopolitas sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín de Entomología Venezolana* 13 (2): 123 - 140.
- Sáenz A. 2005.** Importancia de los nematodos entomopatógenos para el control biológico de plagas en palma de aceite. *Revista Palmas* 26(2): 41-57.
- Shapiro-Ilan D, Gardner W, Fuxa J, Wood B, Nguyen K, Adams B, Humber, R & Hall M. 2003.** Survey of Entomopathogenic Nematodes and Fungi Endemic to Pecan Orchards of the Southeastern United States and their Virulence to the Pecan Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology* 32(1): 187-195.
- Steiner WA. 1996.** Distribution of entomopathogenic nematodes in the Swiss Alps. *Review Suisse Zoology* 103(2): 439-452.
- Stock P. 1992.** *Técnicas empleadas con nematodos entomopatógenos.* Universidad Nacional de la Plata. La Plata, Argentina.
- Stock SP, Pryor BM & Kaya HK. 1999.** Distribution of entomopathogenic nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) in natural habitats in California, USA. *Biodiversity & Conservation* 8(4): 535-549.
- Stock SP & Somsook V. 1998.** *Steinernema siamkayai* (Rhabditida: Steinernematidae), an Entomopathogenic nematode from thailly. *Systematic Parasitology* 41: 105-113.
- Tailliez P, Laroui C, Ginibre N, Paule A, Pagès S & Boemare N. 2010.** Phylogeny of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* based on universally conserved protein-coding sequences and implications for the taxonomy of these two genera. Proposal of new taxa: *X. vietnamensis* sp. nov., *P. luminescens* subsp. *caribbeanensis* subsp. nov., *P. luminescens* subsp. *hainanensis* subsp. nov., *P. temperata* subsp. *khanii* subsp. nov., *P. temperata* subsp. *tasmaniensis* subsp. nov., and the reclassification of *P. luminescens* subsp. *thracensis* as *P. temperata* subsp. *thracensis* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 60(8): 1921-1937.
- Woodring JL & Kaya HK. 1988.** *Steinernematide and heterorhabditide nematodes: a handbook of biology and techniques.* Arkansas Agricultural Experiment Station, USA.