



ISSN: 1390-3004

Boletín Técnico
Serie Zoológica 17



Publicación Científica del
Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura,
Carrera Agropecuaria
IASA I

Universidad de las Fuerzas Armadas
ESPE

Vicerrectorado de Investigación y Vinculación

Sangolquí - Ecuador

Noviembre, 2022

Boletín Técnico, Serie Zoológica 17
**Publicación Científica Anual, Departamento de Ciencias de la
Vida y de la Agricultura, Carrera Agropecuaria - IASA I
Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE**
Av. El Progreso s/n, Apartado Postal: 171-5-231-B, Sangolquí – Ecuador.

Abreviación: *Bol. Téc. Serie Zoológica: 17*

ISSN: 1390-3004

Periodicidad: Un número por año
Sistema de Arbitraje: Revisión por pares

Editor:

Wilmer E. Pozo-Rivera, Ph. D.

*Jefe de Laboratorio de Zoología & Museo de Investigaciones Zoológicas (MIZI), Departamento de Ciencias de la Vida y de la
Agricultura, Universidad de las Fuerzas Armadas -ESPE*

Gestor:

Juan Carlos Giacometti Villacis, Dr.

*Analista de Laboratorio, Bloque 2, Carrera Agropecuaria, Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura,
Universidad de las Fuerzas Armadas -ESPE*

Consejo Editorial:

Anthony Di Fiore,
*Department of Anthropology,
University of Texas at Austin, USA*

Christian H. Ponce L.,
*Colegio de Ciencias de la Salud
Universidad San Francisco, Quito*

Armando Castellanos,
Andean Bear Foundation, Quito

Jaime Villacís B.,
*Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias,
Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agri-
cultura, ESPE, Sangolquí*

Cristopher Canaday,
Fundación Omaere, Puyo

Mario H. Yañez-Muñoz,
*Museo de Zoología (QCAZ), Escuela de Ciencias
Biológicas, Pontificia Universidad Católica del
Ecuador. Quito*

Dionisios Youlatos,
*Department of Zoology,
University of Thessaloniki, Grecia*

Diego G. Tirira,
Fundación Mamíferos y Conservación, Quito

Miguel Pinto,
*Instituto de Ciencias Biológicas, Escuela Politéc-
nica Nacional, Quito.*

Diseño de la Portada:
Wilmer E. Pozo R.

Fotografía de la Portada:
Leopardus pardalis, autor: Diana Liz Duque-Sandoval (dibujo y fotografía)
Reserva Forestal Caparo, Venezuela
Proyecto: "Conservación del mono araña"

Impresión:
EDI-ESPE
HECHO EN ECUADOR
Aceptamos canje con publicaciones similares.

Nota científica:

Primer reporte de *Tunga* sp. (Siphonaptera) en Oso Andino (*Tremarctos ornatus*)

Armando Castellanos¹, Viviana Albarracín D.² & Victoria
Ossio³

¹Presidente. Fundación Oso Andino, La Isla, Quito, Ecuador. E-mail: iznachi@gmail.com.

²Investigador Asociado. Museo Nacional de Historia Natural. Calle 26. Cota Cota, La Paz -
Bolivia, E-mail: jukumari.bolivia@gmail.com.

³Refugio de Vida silvestre Senda Verde, Coroico, La Paz - Bolivia. E-mail:
vossiop@gmail.com.

ISSN 1390-3004

Recibido: 13-01-2022

Aceptado: 13-06-2022

Tunga sp. es una pulga (Siphonaptera, Tungidae), de este ectoparásito se han descrito 13 especies en los trópicos (De Avelar, 2010). La tungiasis o niguas empiezan cuando la pulga hembra adulta excava en la piel y espera el apareamiento de un macho. Una vez fertilizada, su cuerpo se agranda formando un neosoma debajo de la piel, una excrescencia parecida a una verruga que encierra células inflamatorias (Linardi & De Avelar, 2014). La tungiasis es una enfermedad que afecta a seres humanos, a una variedad de animales domésticos y silvestres, se manifiesta en lesiones cutáneas características que pueden resultar en complicaciones graves tales como deformación de dedos, pérdida de uñas de los pies, tétanos y gangrena (Greco *et al.*, 2001; Eisele *et al.*, 2003).

El oso andino (*Tremarctos ornatus*) es el único oso de América del Sur y es considerado vulnerable por la UICN y el libro rojo de vertebrados de Bolivia (Albarracín *et al.* 2013; Vélez-Liendo *et al.* 2009). En la presente nota científica reportamos por primera vez la presencia de *Tunga* sp (Nigua) en dos crías de oso andino que fueron rescatados por las autoridades ambientales en Bolivia.

En octubre de 2021, Autoridades del Ministerio de Medio Ambiente y Agua de Bolivia con la Policía Forestal y de Medio Ambiente (POFOMA), realizan el rescate de dos oseznos de entre dos a tres meses de edad en la localidad de Cajuata del municipio de Inquisivi del departamento de La Paz, Bolivia

(16°42'08.8"S 67°10'14.9"W, 1670 m s.n.m.), los oseznos fueron llevados al Refugio de Fauna Silvestre La Senda Verde.

Una vez en el Refugio, los veterinarios evaluaron exhaustivamente el estado de los oseznos encontrando una especie de ectoparásito correspondiente a *Tunga* sp., que se encontraban en sus cuatro patas (Fig. 1).



Figura 1. Planta del pie de Oso Andino con la tungiasis o niguas.

A los oseznos se les aplicó la ivermectina de forma tópica en la cara palmar y plantar de las regiones afectadas, los parásitos muertos fueron extraídos con pinzas y las heridas desinfectadas con plata coloidal, este procedimiento dejó lesiones cóncavas, inflamadas, y con presencia de hemorragias leves, también se observó que el tejido muerto sobresale distintivamente del tejido normal circundante para luego dar paso a la regeneración del tejido afectado, las heridas ocasionadas por *Tunga* sp. evolucionaron con adecuada cicatrización (Fig. 2).

Se sabe muy poco sobre el impacto de la tungiasis o niguas en los animales silvestres. *T. penetrans* se ha encontrado en huéspedes pertenecientes a ocho órdenes diferentes de mamíferos, incluidos: Cingulata, Pilosa, Artiodactyla, Perissodactyla, Carnivora, Rodentia, Primates y Proboscidea (Linardi y De Avelar, 2014). Los carnívoros más grandes parasitados han sido jaguares (Widmer & Azevedo, 2012). Los reportes de *T. penetrans* en elefantes, gorilas y monos deben ser visto como un accidente, debido a que la identificación de esta especie no siempre la realizan expertos y a veces se basa en el único

criterio de "pulgas penetrantes" y pueden haber ocurrido algunas identificaciones erróneas (Linardi & De Avelar, 2014). No estamos seguros que los osos fueron parasitados por *T. penetrans*, pues no logramos coleccionar muestras.



Figura 2. Planta de Oso Andino con herida de nigua cicatrizada.

Conflictos de interés: Los autores declaramos que no existen conflictos de interés durante el desarrollo de todas las fases que envuelven la presente investigación.

REFERENCIAS

- Albarracín V, Paisley P, Aliaga-Rossel E & Vélez Liendo X. 2013. State of the Andean bear (*Tremarctos ornatus*) in Bolivia. Pp. 507- 602. En: Ruiz-García M & Shostell JM. (Eds.). Molecular Population Genetics, Evolutionary Biology and Biological Conservation of Neotropical Carnivores. Nova Publishers. New York, USA.
- De Avelar DM. 2010. Sistemática e análise cladística das espécies neotropicais do gênero *Tunga* Jarocki, 1838 (Siphonaptera:Tungidae). PhD. Thesis, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.
- Eisele MJ, Heukelbach J, Van Marck E, Melhorn H, Meckes O, Franck S & Feldmeier H. 2003. Investigations on the biology, epidemiology,

pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil. I. Natural history of tungiasis in man. *Parasitology research*.90: 87-99.

- Greco JB, Sacramento E, Tavares-Neto J.** 2001. Chronic ulcers and myiasis as ports of entry for *Clostridium tetani*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 5: 319-323.
- Linardi PM & De Avelar DM. 2014. Neosomes of tungid fleas on wild and domestic animals. *Parasitology research*.113: 3517.
- Vélez-Liendo X, Ríos-Uzeda B & Albarracín V.** 2009. Oso Andino (*Tremarctos ornatus*) Pp. 531-533. En: Aguirre LF, Aguayo R, Balderrama JA, Cortéz C, Tarifa T. (Eds.). Libro rojo de la fauna silvestre de vertebrados de Bolivia. Ministerio de Medio Ambiente y Agua. La Paz, Bolivia.
- Widmer CE & Azevedo FC.** 2012. Tungiasis in a free-ranging jaguar (*Panthera onca*) population in Brazil. *Parasitology research*. 110(3): 1311-1314.

Nota científica:

Observación de *Saimiri cassiquiarensis* (Primatidae: Cebidae) con cola corta

Salomón M. Ramírez-Jaramillo

Investigador independiente. Barrio Santa Isabel. Quito, Ecuador. Email: kp-7sz@hotmail.com, sz.biosupay@gmail.com

ISSN 1390-3004

Recibido: 07-07-2022.

Aceptado: 09-09-2022

El mono ardilla de Humboldt Elliot (1907) se distribuye en la Amazonía de Venezuela hasta Perú, incluyendo parte del occidente de Brasil (Paim *et al.*, 2021). En Ecuador habita al oriente de los Andes entre 200 y 1 200 metros de altitud, está bien adaptada a los cambios de vegetación y ocupa varios estratos en el bosque siendo gregarios diurnos, suele ser presa del tráfico silvestre (Solórzano *et al.*, 2018). En el Ecuador sus poblaciones se han visto reducidas en los 10 últimos años, por lo que la especie cambio de la categoría Casi Amenazada (NT) (de la Torre *et al.*, 2001) a Vulnerable (VU) A4acd (Tirira, 2021).

Su coloración dorsal es gris oliváceo a oro oliváceo, con tintes negros entremezclados; el vientre es amarillo pálido, crema amarillento o blancuzco, con el hocico negruzco y con una máscara blanca alrededor de los ojos; la frente con bandas blanquecinas arqueadas, una sobre cada ojo; las orejas son blancas; del mentón al pecho, y detrás de las orejas son blancos; la corona es gris amarillento. La cola no es prensil, de color amarillo oliváceo, con la punta negruzca por encima y más pálida por debajo (compilado en Solórzano *et al.*, 2018). Sus medidas son CC: 250-320, LC: 340-440, LP: 78-90, LO 21-30, peso 590-1380 g (Tirira, 2007). En bosque maduro se movilizan con frecuencia entre los 5 y 10 metros, llegando hasta los 25 metros de alto (Pozo, 2004; Pozo & Youlatos, 2005).

En la provincia Napo, cantón Tena, parroquia Tena, en el Parque Amazónico La Isla (0°59'38S 77°48'55 O, a 505 a m snm.), en el ecosistema Bosque siempreverde piemontano de Galeras (MAE, 2013). El 23 de diciembre de 2018, desde las 10h52 hasta las 11h14 se observó el desplazamiento de una tropa de

Saimiri cassiquiarensis, conformada por al menos 14 individuos, incluyendo una hembra con su cría, y los siguientes registros:

De las 11h01 a las 11h03 se avistó un macho adulto dando pequeños brincos sobre el suelo hasta aproximadamente 2,5 metros de alto (Figura 1A). Luego se detuvo a forrajear en la flor de un platanillo (*Musa sp.*) a cerca de 1,3 metros durante 50 segundos (Figura 1B). Seguido avanzó con la tropa moviéndose de la misma manera (Figura 1C-D). El individuo registraba la cola corta, con una reducción de al menos el 75%.



Figura 1. Primer macho adulto con cola corta

De 11h04 a 11h07 se avistó un segundo macho desplazándose entre la vegetación a alturas entre 2 y 3 metros (Figura 2A), buscando alimento y avanzando con la tropa (Figura 2B-C). El individuo registraba una reducción de al menos el 40%.

El hábitat se conformaba con frecuencia por árboles entre los 3 y 20 metros de alto, el desplazamiento de la tropa en la vegetación fue entre los 10 metros de alto, sin embargo, había pocos individuos que se movían en estratos menores, entre ellos una hembra con su cría. Llamó la atención, dos individuos con cola corta. La reducción de la cola podría ser el resultado de la endogamia, aunque también podría ser por golpes o ataques de depredadores. Se observó que esta

anomalía limita su desplazamiento habitual, aunque no impide que avancen con la tropa.



Figura 2. Segundo macho adulto con cola corta

El hábitat se conformaba con frecuencia por árboles entre los 3 y 20 metros de alto, el desplazamiento de la tropa en la vegetación fue entre los 10 metros de alto, sin embargo, había pocos individuos que se movían en estratos menores, entre ellos una hembra con su cría. Llamó la atención, dos individuos con cola corta. La reducción de la cola podría ser el resultado de la endogamia, aunque también podría ser por golpes o ataques de depredadores. Se observó que esta anomalía limita su desplazamiento habitual, aunque no impide que avancen con la tropa.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por el constante apoyo brindado durante todo este tiempo.

Conflictos de interés: El autor declara no existir conflictos de interés durante el desarrollo de todas las fases que envuelven esta investigación.

REFERENCIAS

de la Torre S, Pozo-Rivera WE, Zapata-Ríos G, Arcos-D R & Tirira DG. 2021. Mono ardilla común. Pp. 248. En: Tirira DG. (ed.). *Libro Rojo de los mamíferos del Ecuador* (3a edición). Publicación Especial sobre los mamíferos del Ecuador 13. Asociación Ecuatoriana de Mastozoología,

Fundación Mamíferos y Conservación, Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Ministerio de Ambiente, Quito.

- Ministerio del Ambiente del Ecuador (MAE).** 2013. *Sistema de Clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental*. Subsecretaría de Patrimonio Natural, Quito.
- Paim FP, De La Torre A, Carretero X, Guzmán-Caro DC, Stevenson PR, Lynch Alfaro JW, Boubli JP, Urbani, B, Palacios E, Silva Júnior JS, Heymann EW, Link A, Moscoso P, Ravetta AL & Calouro AM.** 2021. *Saimiri cassiquiarensis* (amended version of 2020 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T160940148A192585552. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T160940148A192585552.en>. Accessed on 26 June 2022.
- Pozo-Rivera WE.** 2004. Preferencias de hábitat de seis especies de primates simpátricos del Yasuní, Ecuador. *Ecología Aplicada* 3(1-2): 128-133.
- Pozo-Rivera WE & Youlatos D.** 2005. Estudio sinecológico de nueve especies de primates del Parque Nacional Yasuní, Ecuador. *Revista Politécnica* 26(1): 83-107.
- Solórzano MF, Cervera L, Álvarez-Solas S, de la Torre S & Tirira DG.** 2018. Mono Ardilla de Humboldt *Saimiri cassiquiarensis* Lesson, 1840. Pp. En: Tirira DG, de la Torre S & Zapata-Ríos G (Eds.). *Estado de conservación de los primates del Ecuador*. Grupo de Estudio de los Primates de Ecuador y Asociación Ecuatoriana de Mastozoología, Quito.
- Tirira DG.** 2007. *Guía de campo de los mamíferos del Ecuador*. Ediciones Murciélago Blanco. Publicación especial sobre los mamíferos del Ecuador 7, Quito.
- Tirira DG.** 2021. *Lista roja de los mamíferos del Ecuador*. 3ra. Edición. Asociación Ecuatoriana de Mastozoología, PUCE, Fundación Mamíferos y Conservación, Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica. Quito.

Original research

Andean tapir (*Tapirus pinchaque*) social groups and calf dispersal patterns in Ecuador

Armando X. Castellanos P.^{1,2*}, Liza Dadone³, Melchor Ascanta A.¹,
Budhan Pukazhenth⁴, Ángel E. Yáñez Z.¹

¹ Andean Bear Foundation, Quito-Ecuador,

² Research associate, INABIO, Instituto Nacional de Biodiversidad, Quito-Ecuador,

E-mail: iznachi@gmail.com

³ Senior Giraffe Veterinarian, Cheyenne Mountain Zoo, Colorado Springs, USA, E-mail:
ldadone@cmzoo.org

⁴ Research Physiologist, Smithsonian National Zoo and Conservation Biology Institute, Washington
DC, USA, E-mail: PukazhenthB@si.edu

* corresponding author

ABSTRACT

The social behaviors of individual Andean tapirs Ecuador were studied over 12 years. The results suggest that mountain tapir are more social than previously understood, with family groups that include subadult calves which may disperse gradually over several years. A more comprehensive understanding of the behaviors, reproductive strategies, and key habitats of endangered mountain tapir could help with the development of effective conservation strategies for this species.

Key words.- Andean tapir, social behavior

RESUMEN

Se estudio el comportamiento social del tapir Andino en Ecuador durante 12 años. Los resultados sugieren que esta especie es más social de lo que se creía anteriormente, con grupos familiares que incluyen crías subadultas que pueden dispersarse gradualmente durante varios años. Una comprensión más integral de los comportamientos, las estrategias reproductivas y los hábitats clave del tapir Andino podría ayudar en el desarrollo de estrategias de conservación efectivas para esta especie.

Palabras Clave.- Tapir Andino, comportamiento social

INTRODUCTION

Andean tapir (*Tapirus pinchaque*), also known as Mountain tapir, is an Appendix 1 CITES species and has been classified as Endangered by the IUCN Red List (2016). Current estimates suggest there are fewer than 2,500 Andean tapirs remaining (Downer, 1996; Lizcano *et al.*, 2016). Because of ongoing habitat loss, human-wildlife conflict, and climate change, mountain tapir populations in Ecuador are projected to further decrease by 19-44% by 2050 (Ortega-Andrade 2015).

Declining Andean tapir populations could impact the overall health of key ecosystems. Andean tapirs are often called “gardeners of the forest” because they are essential for seed dispersal and maintenance of forest diversity. They live in the highland plateau (Paramo) and cloud forests, at elevations between 1,400-4,500 meter above sea level. These habitats are also important sources of fresh water for people in Ecuador.

Field observations from 12 years of research in Andean tapir habitats in Ecuador were compiled for this rare and elusive species. A more detailed understanding of the social behaviors and reproductive strategies of Andean tapirs could help understand which habitats are most important for the survival of this endangered species.

METHODS

Between 2010 and 2022, the Andean Bear Foundation team and collaborators observed Andean tapir in multiple habitats in Ecuador. Additionally, some Andean tapirs were anesthetized and fitted with Iridium / GPS collars in the paramo of the Cayambe Coca National Park, such that individuals could be monitored long-term. All field anesthesia and collar placements were done with an experienced field team, with appropriate permits from Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica del Ecuador (MAATE).

RESULTS

Long-term field observations of multiple Andean tapir indicate social behaviors that have not previously been reported for this species. This includes calves that stay with their mother or foster for at least two years, and social groupings of tapir ranging from three to eight individuals.

Case 1: Adult female “Panchita”

In 2010, an adult Andean tapir female, nicknamed “Panchita,” was anesthetized and fitted with an Iridium/GPS collar in the Cayambe Coca National Park. She was recaptured four more times over the years to replace her collar as batteries wore out. Based on GPS data, this female’s home range was ~500 ha (Castellanos 2013).

In the 11 years since she was first fitted with a collar, this female had five calves. Two of her calves were killed by Andean bears (*Tremarctos ornatus*). One surviving calf was observed with its mother for more than two years. In February 2019,

“Panchita” was observed with two other tapirs; one with completely black and the other was a smaller subadult with incipient streaks of white fur, estimated to be ~18 months old.

Case 2: Orphan male “Santiago”

In 2019, an approximately six-month-old male Andean tapir calf, nicknamed “Santiago,” approached a cow of the Nuñez Fuentes Family farm in the Llanganates National Park. The cow allowed the tapir calf to nurse, perhaps in part because of her past experiences fostering orphaned calves from the cow herd. The tapir calf remained with this cow and nursed from her for the next 22 months. The tapir calf occasionally attempted to nurse from other cows but was usually unsuccessful.

As of September 2021, the orphan calf had grown considerably but was still regularly sleeping in the stable beside his foster mother (cow). Video surveillance revealed that the calf continued to nurse both at night and during early morning hours. When the tapir calf was approximately two years old, he was anesthetized and fitted with an Iridium / GPS + camera collar to track his movements as he starts to wander away from the village.

Case 3: Orphan female “Esperanza”

In 1994, from one to two-month-old female calf, nicknamed “Esperanza,” was found orphaned in Sangay National Park (Castellanos, 1994). This calf was then bottle-fed in Pasocha Wildlife Refuge (PWR) by park rangers until she was approximately 24 months old. The tapir calf was initially fed pasteurized cow milk but developed diarrhea. Once the milk formula was replaced with equal parts pasteurized cow milk and water, the diarrhea was resolved.

When “Esperanza” was two years old, she was a normal size for her age and lived free in the PWR cloud forest. When she was approximately two years old, this tapir died of rabies after being bitten by a domestic dog that had that disease in that region.

Case 4: Orphan male “Leo”

In 2011, an approximately two months old male Andean tapir calf, nicknamed “Leo,” was rescued in Los Cedros, Quijos Alto, Antisana Ecological Reserve. The calf was cared for and raised in captivity on a farm (Gómez et al., 2013). This calf was bottle fed with cow milk cow by farmers until he was approximately 30-months-old. After being released, he development an extraordinarily aggressive behavior towards humans. When he was four years old (April 2015), the tapir was euthanized by an MAATE veterinarian because of multiple episodes of aggression towards humans (Castellanos y Gomez 2015).

Larger Social Groups

In 2011, eight Andean tapir was observed walking together on the shores of the Brunner lagoon, along the Cerro Hermoso, in the Llanganates National Park.

In 2015, three tapir of different ages were observed grazing together. Both the 2011 and 2015 tapir herds were seen by a team from the Asociación Paramos Jaramillo

del Cantón Píllaro, Tungurahua Province (personal communication, Juan Medina Dueñas).

In March 2015, a similar group of three tapir was photographed by a camera trap in the cloud forest of the Sabia Esperanza Nature Reserve (Fig. 1).



Figure 1. A group of three Andean tapir of different ages walking as a group in the cloud forest of the Sabia Esperanza Natural Reserve. Photo Credit: Marcelo Ramirez.

DISCUSSION

Based on field observations and long-term monitoring, Andean tapir may spend more time in social groups and calves may remain with their mothers for longer than previously understood. These observations suggest that the Andean tapir are not a strictly solitary species, unlike what has been previously suggested by Eisenberg *et al.* (1990). Similar observations have been reported in another large mammal of the Andes; the spectacled bear which had been considered a solitary species (Jackson *et al.* 2017).

As female “Panchita” had five calves in 11 years and tapir gestation last 13-14 months, this suggests that mountain tapir can enter post-partum estrus soon after parturition. This is similar to the post-partum estrus of domestic horses (*Equus caballus*), where lactating females can become pregnant 12 days after foaling (Pineda 2013).

Unlike previous observations that suggest Andean tapir calves leave their mothers at around one year of age, field observations now suggest some calves may stay with their mother for at least two years. This is based on the behaviors of at least one of “Panchita’s” calves and the observation that orphans “Santiago” and “Esperanza” stayed in their foster situation for more than two years. Again, this supports the observation that mountain tapir may have more complex social relationships than previously understood.

It is currently unknown whether orphaned mountain tapir will successfully return to the wild after fostering. The desensitization of hand-raised tapir could impact their avoidance behaviors and might have been a factor in one tapir contracting rabies from a feral dog and a male tapir showing major aggression to humans after his fostering. Successfully fostering and re-introductions have been described for multiple lowland tapirs (*Tapirus terrestris*), especially females, that move away during the mating season and occasionally later return with their calf. For example, a lowland tapir "Omaca" has returned to the Tiputini biological station of the Pontificia Universidad Católica del Ecuador annually for the past 12 years. Sometimes this female has been accompanied by a calf (pers. comm, Miguel Rodríguez). Similarly, in the Bamenó region, Yasuní National Park, the Waorani community has lived with four lowland tapirs that have then returned to the wild upon reaching sexual maturity (pers. comm. Pentí Baihua). The success of mountain tapir reintroductions warrants further study.

The successful cross-fostering of an orphan Andean tapir calf by a domestic cow has not been previously reported. While humans often try to hand-raise wildlife as pets, and other cross-species adoptions have been reported including felines adopting herbivores, whales adopting dolphins, and dogs adopting sheep (Cronin 2014), this does not always meet the nutritional, social, or behavioral needs of the orphaned animal. In the case of tapir calf "Santiago," short-term this fostering situation did seem to meet most of his needs. However, this desensitization and close contact with humans and livestock could pose challenges long-term to the survival of wild tapir including an increased risk of poaching, attacks from feral dogs, and the potential transmission of infectious diseases from domestic livestock or humans.

CONCLUSION

Andean tapir calves stay with their mothers at least two years. The Andean tapir is not a strictly solitary species, groups between 3-9 individuals can sometimes be found eating or walking together.

Conflicts of interest:

The authors declare that there is no conflict of interest in the development of this research

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was carried out under scientific authorization granted by the Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica de Ecuador, N° MAAE-ARSFC-2021-1644. The procurement of the Iridium/GPS collars has been funded by the International Climate Initiative (ICI or IKI in German) of the German Federal Ministry for the Environment, Nature Conservation, and Nuclear Safety with support of KfW Development Bank (BMZ project no. 2098 10 987). Thanks to the Instituto Nacional de Biodiversidad del Ecuador, Smithsonian Conservation Biology Institute, Cheyenne Mountain Zoo, Termas Papallacta, Llanganates National Park, Núñez Fuentes Family, and Juan Medina Dueñas.

REFERENCES

- Castellanos A.** 1994. *El tapir Andino (Tapirus pinchaque Roulin): crianza de un ejemplar en el bosque protector Pasochoa y notas ecológicas en el Parque Nacional Sangay, Ecuador.* Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Castellanos A.** 2013. Iridium/GPS telemetry to study home range and population density of mountain tapirs in the Rio Papallacta Watershed, Ecuador. *Tapir Specialist Group Newsletter* 31(22): 20-25.
- Castellanos A. & Gómez L.** 2015. Reintroduced Andean tapir attacks a person in the Antisana Ecological Reserve, Ecuador. *Tapir Specialist Group Newsletter* 24(33): 11-12.
- Cronin M.** 2014. 12 Remarkable interspecies relationships that prove adoption isn't just for humans. <https://www.thedodo.com/12-remarkable-interspecies-rel-523336558.html>
- Downer CC.** 1996. The mountain tapir, endangered 'flagship' species of the high Andes. *ORYX* 30(1): 45-58.
- Eisenberg JF, Groves CP & MacKinnon K.** 1990. Tapirs. Pp. 598–620 in *Grzimek's encyclopedia of mammals*, S. P. Parker (Eds). Vol. 4. McGraw Hill Publishing Company, New York.
- Gómez L, Urcuango R, Romero A, Urgiles-Verdugo C. y Gallo F.** 2013. Manejo semi-in situ de un ejemplar de tapir de montaña (*Tapirus pinchaque*), en la localidad de Cuyuja, Reserva Ecológica Antisana, Ecuador. *Primer Congreso Latinoamericano de Tapires- Segundo Congreso Ecuatoriano de Mastozoología*. Abstract. Puyo, Pastaza, Ecuador.
- Lizcano DJ, Amanzo J, Castellanos A, Tapia A & Lopez-Malaga CP.** 2016. *Tapirus pinchaque*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T21473A45173922. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T21473A45173922.en>
- Jackson D, Castellanos A. & Vasquez D.** 2017. Kinship relations in a multi-generational Andean Bear (*Tremarctos ornatus*) family in north Ecuador. *International Bear News, Quarterly Newsletter of the International Association for Bear Research and Management (IBA) and the IUCN / SSC Bear Specialist Group* 26 (1): 24.
- Ortega-Andrade HM, Prieto-Torres DA, Gómez-Lora I, Lizcano DJ.** 2015. Ecological and geographical analysis of the distribution of the mountain tapir (*Tapirus pinchaque*) in Ecuador: importance of protected areas in future scenarios of global warming. *PLoS One* 10(3): e0121137. DOI: 10.1371/journal.pone.0121137. PMID: 25798851; PMCID: PMC4370470.
- Pineda Guzmán M.** 2013. *Determinación de la tasa de preñez en yeguas según el tiempo de duración del primer estro postparto (celo de potro), en el último día de monta o servicio, en la Aldea el Aguacate, Chiquimulilla, Santa Rosa.* Tesis de Licenciatura, Universidad de San Carlos, Guatemala.

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.¹, Marlon Núñez C.², Claudia P. Hernández S.³, Patricio Gallegos³, Mónica P. Cazar C.⁴

¹Departamento 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

²Departamento de Ciencias de la Vida, Carrera de Biología, Universidad Estatal Amazónica. Puyo-Ecuador, Email: mao-manu@hotmail.com

³Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina, INIAP. Quito-Ecuador, E-mail: patherz25@yahoo.com.ar, gallegos@papa.org.ec

⁴Facultad de Biología, Universidad Central del Ecuador. Quito-Ecuador, Email: 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 m². Las muestras de suelo se depositaron en recipientes plásticos de 500 cm³ 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 m². Soil samples were placed in 500 cm³ 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. asymbiotica*; 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 cm³ a una profundidad de 10 a 15 cm en un área de 4 m². 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 cm³ (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%) |
| | TOTAL | 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%) |
| | TOTAL | 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%) |
| | TOTAL | 100 (90,9%) | 10 (9,1%) | 110 (100%) |
| Tungurahua | Frutales | 2 | 2 (100%) | 2 (100%) |
| | Papa en rotación | 2 | 2 (100%) | 2 (100%) |
| | TOTAL | 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.** Suurvey 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.

Artículo científico

Evaluación de la patogenicidad de nematodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* en gusano blanco (*Premnotrypes vorax* Hustache) plaga de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Ecuador

Eduardo E. Argotti V.^{1*}, Segundo M. Benavides L.¹, Claudia P. Hernández S.², Mónica P. Cazar C.³, Jesús Alcazar⁴

¹Departamento 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, Email: ceargotti@espe.edu.ec; sembenavides3@espe.edu.ec

²Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina, INIAP. Quito-Ecuador, Email: patherz25@yahoo.com.ar

³Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador, Email: monicacazar72@gmail.com

⁴Laboratorio de entomología del Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima-Perú, Email: j.alcazar@cgiar . * corresponding author

RESUMEN

Premnotrypes vorax, 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 poblaciones de nematodos entomopatógenos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* que mostraron porcentajes de mortalidad superiores al 90% de larvas de *Galleria mellonella* fueron evaluadas la patogenicidad sobre larvas del V instar de *P. vorax*, plaga de importancia económica para el cultivo de *Solanum tuberosum* en Ecuador. Se utilizaron los métodos "Five on One" para aislamientos del género *Heterorhabditis* y "One on One" para aislamientos del género *Steinernema*. La mortalidad se registró a las 24, 48, 72 y 96 horas de la inoculación. De los resultados obtenidos se observó una mortalidad del 68% y del 57% con los aislamientos CC01 y CC03 respectivamente, los nematodos del género *Heterorhabditis* CH06 y H4D presentaron mortalidades del 47% y 48%. Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis Probit, en la que se determinó una dosis letal media (LD50) de 3,2 IJs/larva para el aislamiento CC01 y CC03, respectivamente. Los resultados mostrados nos permiten aseverar que los aislamientos CC01 y CC03 se presentan como alternativa promisoriosa para el control biológico de *P. vorax* en cultivos de *Solanum tuberosum* en Ecuador.

Palabras clave: Probit, *Five on One*, *One on One*, oviposturas, instar, mortalidad.

ABSTRACT

Premnotrypes vorax has become one of the most important insect pests in potato production in the provinces of Carchi, Cotopaxi, Chimborazo, and Tungurahua. Populations of entomopathogenic nematodes of the genus *Steinernema* and *Heterorhabditis* that showed mortality percentages higher than 90% of *Galleria mellonella* larvae were evaluated for pathogenicity on larvae of the V instar of *P. vorax*, a pest of economic importance for the *Solanum tuberosum* crop in Ecuador. The "Five on One" method was used for isolates of the genus *Heterorhabditis* and "One on One" for isolates of the genus *Steinernema*. Mortality was recorded 24, 48, 72, and 96 hours after inoculation. From the results obtained, a mortality of 68% and 57% was observed with isolates CC01 and CC03, respectively. The nematodes of the genus *Heterorhabditis* CH06 and H4D presented mortalities of 47% and 48%. The results obtained were subjected to Probit analysis, in which a mean lethal dose (LD₅₀) of 3.2 IJs/larva was determined for isolates CC01 and CC03, respectively. The results shown allow us to assert that isolates CC01 and CC03 are presented as promising alternatives for the biological control of *P. vorax* in *Solanum tuberosum* crops in Ecuador.

Keywords: Probit, *Five on One*, *One on One*, oviposition, instar, mortality

ISSN 1390-3004

Recibido: 18-02-2022

Aceptado: 19-10-2022

INTRODUCCIÓN

En Ecuador el cultivo de la papa constituye una de las principales actividades económicas en las provincias de la Sierra. Alrededor de 80.000 familias dependen de este cultivo que cubre alrededor de 49.719 hectáreas sembradas, con una producción promedio de 239.715 toneladas (INEC; 2002). Estudios realizados por el INIAP, señalan que el cultivo de la papa genera alrededor de 60 millones de dólares anuales, convirtiéndose en una fuente importante de ingresos para las comunidades rurales y un componente fundamental de la economía nacional (Oyarzún *et al.*, 2002).

La producción de papa es afectada por enfermedades e insectos plaga, destacándose el gusano blanco (*Premnotrypes vorax* Hustache) como la plaga más dañina en todas las provincias paperas del Ecuador. La larva al alimentarse daña los tubérculos en campo, formando galerías que afectan la calidad del producto. En las provincias de Cañar, Carchi, Chimborazo y Cotopaxi, los niveles de pérdida del valor comercial de los tubérculos afectados oscilan entre 20 y 50% (Oyarzún *et al.*, 2002; Gallegos *et al.*, 1997). Esta plaga se distribuye en Suramérica entre los 2.600 a 3.700 msnm. Los mayores daños los ocasionan las larvas que barrenan el tubérculo formando túneles en los que depositan sus excrementos. Su ciclo biológico comprende: los huevos son cilíndricos de color blanco brillante, cuando van a eclosionar se tornan color ámbar, y tienen una duración de 35 días para eclosionar. Las larvas son de color blanco cremoso, con cabeza pigmentada, la duración del

estado de larva es de 38 días. El periodo de pupa es 44 días y es de color blanco, se desarrolla dentro de una celda formada de tierra (Gallegos *et al.*, 1997). El insecto adulto puede sobrevivir 260 días, y su capacidad de multiplicación a nivel experimental se ha registrado en 260 huevecillos por hembra. En una población de gusano blanco, la proporción de sexos es aproximadamente 1 a 1. El hábito del insecto adulto indica que prefiere moverse en la noche en busca de fuentes de alimento (Herrera, 1997). En el día se refugia en sitios oscuros y húmedos, debajo de terrones y de plantas. Se alimenta en mayor proporción de las hojas inferiores de la planta de papa y de los folíolos de sus extremos. No puede volar y su desplazamiento es a nivel del suelo. Puede recorrer 12 m en línea recta en una noche, y se dice que hasta 1 km en 6 meses (Herrera, 1997). La infestación si llega de uno de los bordes el insecto adulto se ubica en mayor proporción hasta los 5 m del cultivo o en los 3 surcos iniciales, en los primeros 40 días de edad de la planta. También, hay un desplazamiento de la población entre las primeras plantas del cultivo y los bordes de malezas (Gallegos *et al.*, 1997).

Los agricultores emplean el control químico para reducir los daños de esta larva, siendo insecticidas tóxicos como Carbofuran, Metamidafos, Acefato y Profenofos aplicados al follaje o al suelo (Gallegos *et al.*, 1997). Otro de los insecticidas muy utilizados por los agricultores es el Kadabra, es un insecticida de alto rendimiento: es un Insecticida que combina dos principios activos: Bifenthrin que es de acción directa por contacto y el Fipronil que es un insecticida sistémico que actúa por contacto e ingestión, es extremadamente activo (Herrera, 1997). La acción combinada de los dos ingredientes interviene en el sistema nervioso del insecto plaga pre y post sináptica del impulso nervioso. Hasta el momento no se conoce el uso de biotecnología o de mejoramiento genético del cultivo contra esta plaga. No se han encontrado fuentes de resistencia en variedades o cultivares mejorados o nativos. Entre las alternativas de manejo se encuentran: biológicas, culturales, físicas y químicas. El control químico es una de las alternativas de mayor difusión para esta plaga. De acuerdo con Agüera & Laumond (1994), como consecuencia del uso indiscriminado de plaguicidas se ocasionan serios problemas referentes a la contaminación ambiental, incremento de la población de plagas secundarias (mosca minadora *Liryomiza* sp.), resistencia a insecticidas, efecto nocivo sobre la salud del agricultor, destrucción de la fauna útil y enemigos naturales.

Por lo expuesto, y considerando la necesidad de buscar otras alternativas para el Manejo Integrado del gusano blanco, el uso de nematodos entomopatógenos (NEPs) se perfila como un valioso paso en el control biológico, que permitirá regular la población de la plaga sin efectos dañinos al medio ambiente y al hombre. Es importante destacar que los NEPs son habitantes naturales del suelo y tienen la capacidad de buscar, parasitar y causar la muerte a gran número de insectos plaga (Garzón *et al.*, 1996).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cría de *P. vorax*.- El método de cría de *P. vorax* se basó en las experiencias desarrolladas por el Centro Internacional de la Papa (CIP) en Perú. Para iniciar la cría se colocaron adultos traídos de la provincia de Cotopaxi. Los insectos se

mantuvieron en recipientes plásticos con rodajas de papa como alimento y tallos secos de gramíneas para receptor las oviposiciones. Se procedió a la recolección de huevos, colocándolos en platos Petri. La incubación de las oviposiciones duro de 30 a 40 días a 15 °C.

Las larvas del I instar de *P. vorax* se colocaron sobre rodajas de papa contenidas en recipientes plásticos. A los 35 días las larvas de V instar salieron de las rodajas de papa para pasar al estado de prepupa, estas fueron colocadas en nuevos recipientes con papel absorbente hasta su emergencia como adulto a los 45 días. La cría se mantuvo a 15 °C y una humedad del 75%.

Prueba de patogenicidad.- Para la prueba de patogenicidad se utilizó la metodología propuesta por Kaya & Stock (1997). En el caso de nematodos del género *Steinernema* se realizaron ensayos “One on One”, para lo cual se inoculo un juvenil (IJs) en una larva de *P. vorax* de V instar, en una placa de 20 celdas con papel filtro Whatman No. 1 estéril. Para el caso de nematodos del género *Heterorhabditis* se realizaron ensayos “Five on One”, para lo cual se inocularon cinco IJs en una larva de *P. vorax* de V instar, en un tubo Eppendorf (1,5 ml de capacidad) con 1 ml de arena estéril (Kaya & Stock, 1997; Alcázar, 2003) (Figura 1). A las larvas testigo se les coloco agua destilada estéril. Posteriormente las placas y los tubos se colocaron dentro de una bolsa plástica y se incubaron a 20 °C. El número de larvas muertas de *P. vorax* se registraron a las 24, 48, 72 y 96 horas de la inoculación. Para verificar la muerte de las larvas de *P. vorax* por acción de los nematodos, éstas se colocaron en agua destilada y se observaron al estereoscopio.

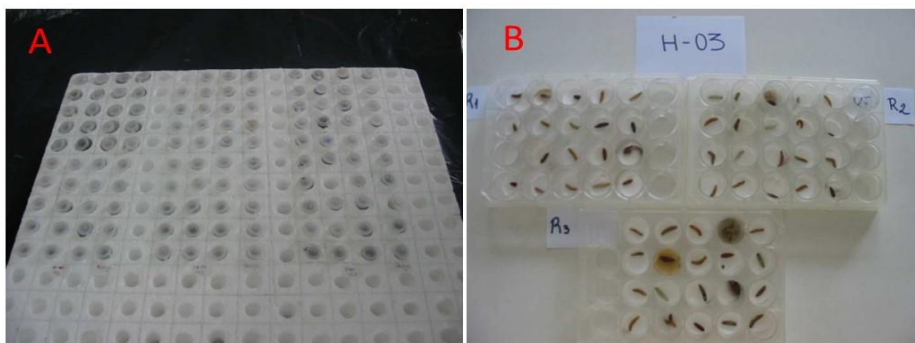


Figura 1. Evaluación de la patogenicidad de NEPs del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* A) Ensayos “Five on One”. B) Ensayos “One on One”.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial A x B con tres repeticiones. El número de tratamientos evaluados fueron 11, correspondientes a los aislamientos de NEPs, en combinación con los niveles del inóculo. La unidad experimental fue una placa de 20 celdas para el caso de nematodos del género *Steinernema* y en tubos Eppendorf para *Heterorhabditis*. Las diferencias significativas se discriminaron mediante la prueba de Tukey al ($P \leq 0,05$).

Dosis letal media (LD₅₀) de NEPs. - Se seleccionaron las poblaciones de NEPs que mostraron mayor porcentaje de mortalidad de larvas de *P. vorax* en las pruebas de patogenicidad, se determinó la dosis letal media (LD₅₀). Se utilizaron tubos Eppendorf con 1 ml de arena estéril humedecida con 100 µL se colocó una larva de V instar de *P. vorax*. Después sobre cada larva se inoculó un nivel de población determinado. Se evaluaron las concentraciones de 0 (control), 1, 2, 4, 8 y 16 IJs/larva del V instar de *P. vorax*. Posteriormente se taparon los tubos y se colocaron dentro de una bolsa plástica negra y se incubaron a 20 °C (Kaya & Stock, 1997; Alcázar, 2003). La evaluación de la mortalidad se realizó a partir de las 24 hasta las 120 horas después de la inoculación de los NEPs. Para evaluar la presencia de NEPs en las larvas muertas, éstas fueron lavadas con agua destilada y disectadas en un estereomicroscopio. El cálculo de regresión entre los niveles de población y el porcentaje de mortalidad para determinar la Dosis Letal media (LD₅₀) y los límites fiduciales (intervalos de confianza), se realizó mediante el análisis PROBIT. La unidad experimental estuvo representada por tubos Eppendorf con una larva de V instar de *P. vorax* (20 tubos). Se efectuó una regresión entre el tiempo y el porcentaje de mortalidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Patogenicidad de NEPs sobre larvas de *P. vorax*.- El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre poblaciones de NEPs del género *Heterorhabditis* ($F_{3,8} = 135,22, P < 0,0001$). El tratamiento testigo (sin NEPs) no se consideró para el análisis estadístico debido a que mostró resultados de cero patogenicidad en todas las repeticiones. El mejor tratamiento fue el aislamiento CC01 con 68% de mortalidad en larvas del V instar de *P. vorax*, seguido por la población CC03 con 57% de mortalidad. Los aislamientos CT13 y H01T mostraron baja patogenicidad con 37 y 28% de mortalidad, respectivamente (Figura 2). Según los resultados mostrados, se puede deducir que las cuatro poblaciones de NEPs del género *Heterorhabditis* pertenecen a especies diferentes.

Los NEPs del género *Steinernema* son diferentes significativamente en la patogenicidad ($F_{6,14} = 57,511, P < 0,0001$). En el análisis estadístico no se consideró el tratamiento control, debido a que mostró una patogenicidad de cero en todas las repeticiones. Los mejores tratamientos fueron los aislamientos CH06 y H4D con 48 y 47% de mortalidad sobre larvas de *P. vorax*. Mientras que la población H03R evidenció una baja patogenicidad sobre larvas de *P. vorax* (Figura 3).

Los aislamientos CC01 y CC03, obtenidos en cultivos de papa en la Provincia del Carchi mostraron mayor porcentaje de patogenicidad, probablemente la agresividad mostrada por estas poblaciones sobre larvas de V instar de *P. vorax*, este vinculado con adaptabilidad de estos nematodos a medios adversos como los que se establecen en la Provincia del Carchi, en donde los agricultores aplican una amplia gama de agroquímicos en sus cultivos.

Existe la posibilidad de que estos aislamientos de NEPs muestren compatibilidad con el sistema de manejo del cultivo de papa, lo que los hace altamente

promisorios en el control biológico. Sin embargo, en el estudio realizado por Hara & Kaya (1983a) indica que los pesticidas organofosforados y carbamatos producen efectos sub-letales sobre los IJs de *S. carpocapsae*, como, parálisis parcial, enrollamiento y postura curvada. En otro estudio los mismos autores Hara & Kaya (1983b), señalan que larvas de *Spodoptera exigua* tratadas con organofosforados, carbamatos y piretroides fueron invadidas por IJs de *S. carpocapsae* a niveles de 82 a 100%.

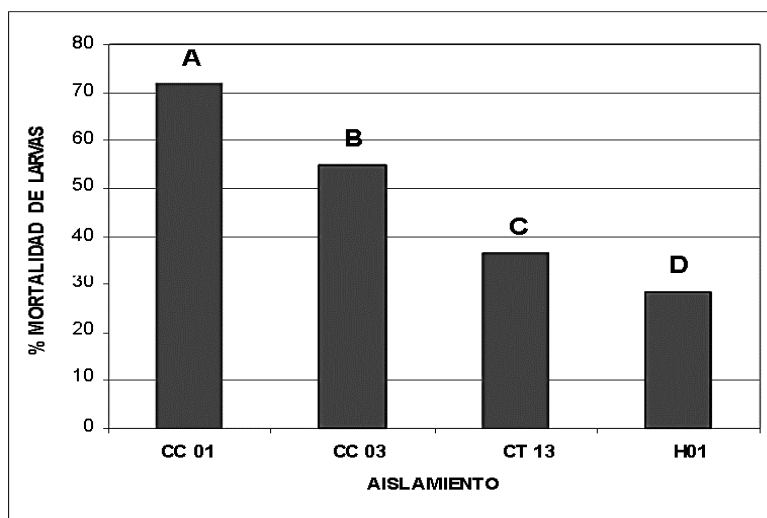


Figura 2. Patogenicidad de poblaciones de NEPs del género *Heterorhabditis* sobre larvas del V instar de *P. vorax*.

Hara & Kaya (1983a), menciona que los insecticidas organofosforados no muestran efectos sobre los juveniles de *S. carpocapsae*. Según Hara & Kaya (1983a) argumentan que existe evidencia de actividad anticolinesterasa por parte del nematodo para inhibir el efecto de los pesticidas. De acuerdo a lo anterior, se amplía la posibilidad de compatibilidad de los NEPs con aplicaciones de pesticidas en el cultivo de papa, teniendo en cuenta que estos deben ser aplicados antes de la aplicación de los pesticidas biológicos.

En Ecuador hay pocos estudios sobre la utilización de NEPs para el control de *P. vorax*. El INIAP (1983 y 1985) desarrolló una investigación sobre control biológico de *P. vorax*, con el nematodo *S. carpocapsae* suministrado por la Universidad de California. Los resultados obtenidos en laboratorio mostraron mortalidades superiores al 50%. Los NEPs del género *Steinernema* muestran una estrategia de emboscada desplazándose en la superficie del suelo para atacar presas móviles. Mientras que los NEPs del género *Heterorhabditis* detectan a su huésped moviéndose aleatoriamente a través del suelo buscando al hospedero, siendo más efectivos contra presas sedentarias dentro del suelo (Kaya & Stock, 1997; Grewal *et al.*, 1999; Kaya & Alcázar, 2005) (Campbell & Gaugler, 1993, Pérez *et al.*, 2003). Las larvas del V instar de *P. vorax* en campo salen del tubérculo para empupar en el suelo, es el momento en cual los NEPs del género *Heterorhabditis* son más efectivos.

Se seleccionaron los aislamientos CC01 y CC03 *Heterorhabditis*, para determinar la dosis letal media (LD₅₀) y la caracterización etológica de los NEPs.

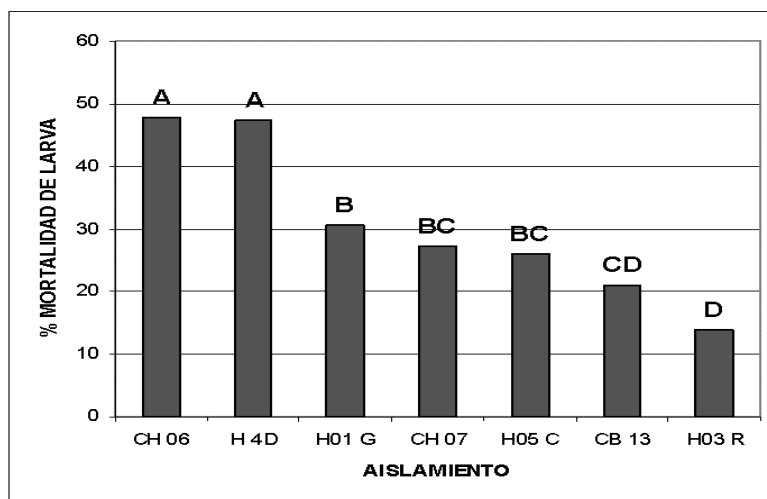


Figura 3. Patogenicidad de poblaciones de NEPs del género *Steinernema* sobre larvas del V instar de *P. vorax*.

Dosis Letal media (LD₅₀). -De acuerdo al análisis Probit (Tabla 1), se determinó que la Dosis letal media (LD₅₀) para los aislamientos CC01 y CC03 fue de 3,2 IJs/larva de V instar de *P. vorax*; en el análisis Probit no se consideró el testigo debido a que no mostro ninguna mortalidad de larvas del V instar de *P. vorax*. (Tabla 1). Los resultados de la ecuación de regresión indican que el incremento en la concentración de NEPs implica una mortalidad mayor en un período menor hasta un límite, que al incrementar la dosis, la mortalidad se mantiene constante o con ligeros incrementos (Figuras 4 y 5).

La mayor mortalidad se determinó a las 72 y 96 horas de inoculación. En Colombia Garzón *et al.*, (1996) evaluaron una cepa nativa de *Steinernema* sp comparada con el producto comercial EXHIBIT (*S. carpocapsae* Raza 25), ambos tratamientos mostraron patogenicidad hacia *P. vorax*, determinando una LD₅₀ de 526,43 IJs del aislamiento nativo y 26,30 IJs del producto comercial, demostrándose que el NEPs del producto comercial fueron 20 veces más patogénico que la cepa nativa. En el estudio realizado por el INIAP (1983 y 1985), se determinó que la dosis letal media fue de 12 IJs/larva de *P. vorax*. En campo, el NEPs (*S. carpocapsae*) no logró reproducirse exitosamente en campo debido a factores ambientales como la temperatura y la humedad.

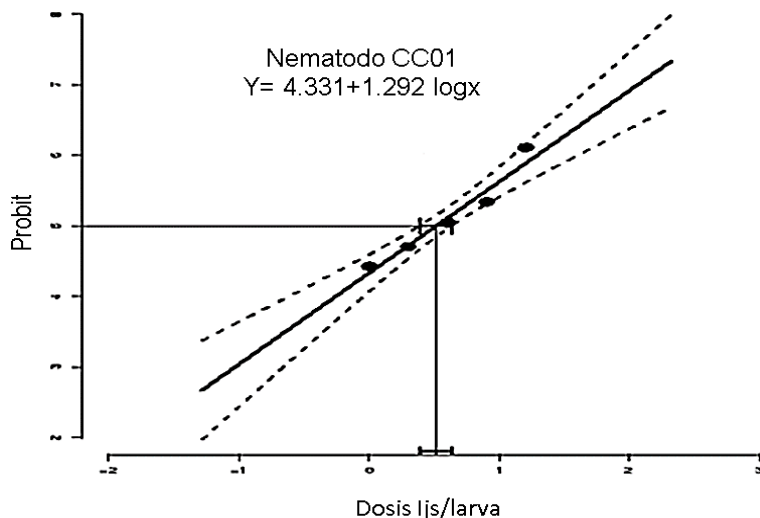


Figura 4. Ecuación de regresión de la tendencia de mortalidad de larvas de *P.vorax* a diferentes dosis del aislamiento CC01 (*Heterorhabditis* sp.).

Trabajos realizados por Parada-Santamaría (2002) demostraron que NEPs del género *Steinernema* infectan estadios inmaduros de *P. vorax* que se hallaban dentro de tubérculos de *Solanum phureja* y *Solanum tuberosum*, variedades Capiro y Parda Pastusa, en los departamentos de Boyacá y Cundinamarca, Colombia. Garzón *et al.*, (1996) reportó la presencia de nematodos del género *Steinernema* ocasionando gran patogenicidad a larvas de *P. vorax* en el departamento de Cundinamarca. En otras investigaciones, Sepúlveda *et al.*, (2008), encontró alta mortalidad de larvas de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae) en plátano ocasionada por una cepa nativa de *Steinernema* en dosis de 1 000 IJs/25µl.

Tabla 1. Análisis Probit de la mortalidad de las poblaciones de NEPs del género *Heterorhabditis* sobre larvas del V instar de *P. vorax*

| Aislamientos NEPs | Límites de confianza | X ² | DE | Ecuación de regresión | DL ₅₀ |
|-------------------|----------------------|----------------|-------|------------------------|------------------|
| CC01 | 2,448 – 4,307 | 2,270 | 0,454 | Y= 4,331 + 1,292 log x | 3,291 |
| | 2,21 – 4,168 | 4,048 | 0,484 | Y= 4,289 + 1,455 log x | 3,078 |
| | 2,516 – 4,569 | 3,387 | 0,502 | Y= 4,271 + 1,364 log x | 3,423 |
| Promedio | | | | | 3,264 |
| CC03 | 2,518 – 4,282 | 2,706 | 0,433 | Y= 4,278 + 1,385 log x | 3,320 |
| | 2,409 – 4,156 | 0,445 | 0,429 | Y= 4,318 + 1,346 log x | 3,208 |
| | 2,418 – 4,227 | 1,804 | 0,443 | Y= 4,33 + 1,311 log x | 3,242 |
| Promedio | | | | | 3,256 |

X²= Chi cuadrado, DE= Desviación Estándar, LD₅₀=Dosis letal media

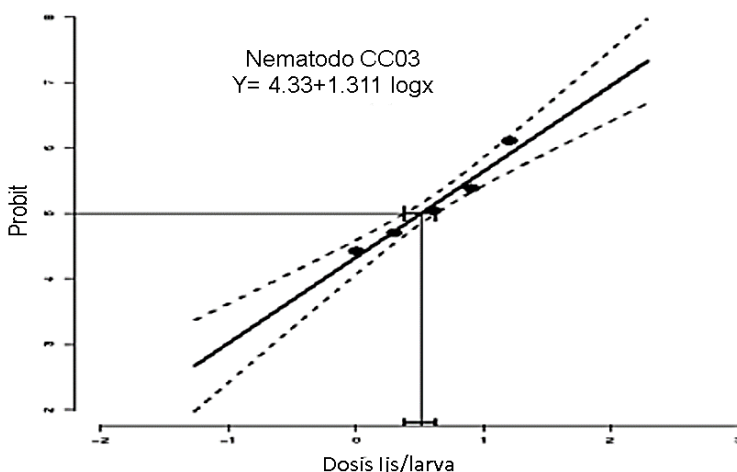


Figura 5. Ecuación de regresión de la tendencia de mortalidad de larvas de *P.vorax* a diferentes dosis del aislamiento CC03 (*Steinernema* sp.)

CONCLUSIONES

Las pruebas de patogenicidad con los aislamientos de NEPs CC01 y CC03 pertenecientes al género *Heterorhabditis*, mostraron los porcentajes de mortalidad superiores al 50% sobre larvas de V instar de *P. vorax* a las 72 y 96 horas después de la inoculación.

La dosis letal media (LD₅₀) tanto para el aislamiento CC01 como para el aislamiento CC03 fue de 3,2 IJs/larva del V instar de *P. vorax*, a las 72 y 96 después de la inoculación. La ecuación de la regresión del análisis Probit determina que al aumentar la concentración del inóculo aumenta la mortalidad del hospedero, hasta llegar a un cierto nivel del inóculo la mortalidad del hospedero no aumenta a pesar del aumento de la dosis del inóculo.

Los resultados obtenidos demuestran que los aislamientos CC01 y CC03, están adaptados a situaciones de estrés extremo, debido a que fueron aislados de suelos con altas concentraciones de insecticidas.

En investigaciones posteriores hay que determinar la susceptibilidad de larvas del primer del cuarto instar de *P. vorax* con las poblaciones de NEPs CC01 y CC03.

Evaluar la Dosis letal media (LD₅₀) establecida para *P. vorax* en larvas de otras plagas que atacan a los cultivos de *Solanum tuberosum*, como *Phthorimaea operculella*, *Tecia solanivora* a fin de determinar la susceptibilidad a los NEPs. CC01 y CC03.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro sincero agradecimiento a las personas e instituciones que hicieron posible la realización de esta investigación. Al Centro Internacional de la papa 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, por darme las facilidades para participar en la realización de esta investigación y a Luis Villa por la revisión del artículo y la elaboración del Abstract.

REFERENCES

- Agüera M & Laumond C. 1994. *Uso de nematodos entomopatógenos a campo*. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.
- Alcázar J. 2003. Experiments for Perú with *Heterorhabditis* species. Perú. Centro Internacional de la Papa, Perú.
- Campbell JF & Gaugler R. 1993. Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (*Heterorhabditidae* and *Steinernematidae*). *Behaviour* 126(3-4):155-169.
- Gallegos P, Avalos G & Castillo C. 1997. El Gusano Blanco de la Papa en Ecuador: Comportamiento y Control. INIAP, Quito, Ecuador.
- 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.
- Grewal P, Converse V & Georgis R. 1999. Influence of production and bioassay methods on infectivity of two ambush foragers (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 73: 40-44.
- Hara A & Kaya H. 1983a. Toxicity of selected organophosphate and carbamate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoaplectana carposapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Environmental Entomology* 12(2): 496-501 .
- Hara A & Kaya H. 1983b. Development of the entomogenous nematode *Neoaplectana carposapsae* (Rhabditida: Steinernematidae), in insecticide killed beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 76(3): 423-426.
- Herrera F. 1997. *El gusano blanco de la papa: biología, comportamiento y prácticas de manejo integrado* (No. Doc. 18261)* CO-BAC, Santafé de Bogotá, Colombia.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC). 2002. *Encuesta de superficie, área sembrada y producción por muestreos de áreas*. INEC, Quito, Ecuador.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 1983 y 1985. *Informes Anuales de Nematología*. Estación Experimental Santa Catalina, Quito, Ecuador.
- Kaya H & Stock P. 1997. Techniques in insect's nematology. Manual of techniques in insect's pathology. Academic Press, San Diego. USA.
- Kaya H & Alcázar J. 2005. *Prácticas de laboratorio con nematodos entomopatógenos*. Curso de control biológico. Centro Internacional de la Papa. Perú.
- Oyarzun P, Espinosa P, Forbes G & Reinoso I. 2002. *El cultivo de la papa en Ecuador*. INIAP/CIP, Quito, Ecuador.
- Parada-Santamaría JC. 2001. Steinernematidae and Heterorhabditidae in areas of potato of production in Cundinamarca and south of Boyaca. En línea: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CO20020021077>.
- Pérez E, Lewis E & Shapiro-Ilan S. 2003. Impact of the host cadaver on survival and infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida:

Argotti-V EE *et al.* *Patogenicidad de nematodos en gusano blanco de papa.*

Steinernematidae and Heterorhabditidae) under desiccating conditions.
Journal of Invertebrate Pathology 82: 111-118.

Nota científica:

Primer registro de ectoparásitos (Hippoboscidae e Ixodidae) sobre *Mazama rufina* en Ecuador

Vladimir Carvajal L. ¹ & Armando Castellanos P.^{2,3}

¹Entomólogo. Departamento de Biología, Escuela Politécnica Nacional. Quito-Ecuador,
E-mail: chuspi_vc@hotmail.com.

²Mastozoólogo. Andean Bear Foundation.

³Investigador Asociado del Instituto nacional de Biodiversidad INABIO, E-mail:
iznachi@gmail.com.

ISSN 1390-3004

Recibido: 22-04-2021

Aceptado: 17-11-2022

El conocimiento sobre los ectoparásitos de la fauna de vertebrados en el Ecuador, aún es incipiente. Tal es el caso de la cervicabra, *Mazama rufina*, un cérvido que vive a lo largo de los bosques altoandinos y nublados de los Andes, en el noroeste de Suramérica, desde la región noreste de Colombia, hasta el sur de los Andes en Ecuador y el extremo norte de Perú (Eisenberg, 1989) con un rango altitudinal entre los 1 500 y 3 500 m s.n.m. Prefiere zonas de difícil acceso y gran cobertura vegetal, pero también hace uso de zonas en las que predominan claros, formados por pastizal en regeneración (Eisenberg, 1989; Emmons & Feer, 1990; Cújar, 2006). Este pequeño venado, alcanza una altura de 45 cm a la cruz y es la especie más pequeña del género *Mazama* en Ecuador. El pelaje presenta una coloración café rojiza brillante (Vallejo & Boada, 2019). Su estado de conservación de acuerdo a la Lista Roja de Especies Amenazadas de la IUCN es de Vulnerable (Lizcano & Álvarez, 2016).

Los cérvidos, son huéspedes conocidos para varias especies de garrapatas (Jones *et al.* 1972; Deem *et al.*, 2004). Sin embargo, en el venado rojo o cervicabra (*Mazama rufina*), solo se ha reportado al género *Ixodes* (Torres & de la Fuente, 2006) con la especie *I. aragoei* (Onofrio *et al.*, 2014). Dentro de los ectoparásitos, en el Neotrópico se conocen alrededor de 70 especies de garrapatas duras del género *Rhipicephalus*; siendo en Ecuador, la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, la más frecuente en los hábitats que habita la cervicabra, pero sin haber sido registrada sobre la misma (Canestrini, 1887; Barros-Battesti *et al.*, 2006; Labruna & Guglielmone, 2009; Vásquez *et al.*, 2011).

Las moscas piojo de la subfamilia Lipoptenidae, también son ectoparásitos hematófagos frecuentes de artiodáctilos silvestres (Graciolli *et al.*, 2011). El género *Lipoptena*, parasita mamíferos y aves, y ha sido encontrado sobre varias especies de la familia Cervidae. Esta mosca, cuando se halla en grandes densidades, provoca la pérdida significativa sangre, emaciación, y daño en la piel y el pelaje de los venados (Kadulski, 1996; Broce, 2006; Wall, 2007). Sin embargo, hasta ahora, no se tenían reportes de la misma para Ecuador.

En ese contexto; la presente nota científica amplía la información sobre las especies de ectoparásitos que afectan a *Mazama rufina*; además, se indica el área corporal de picadura.

METODOLOGÍA

Se analizaron 20 garrapatas de la familia Ixodidae (garrapatas duras), en diferentes estados de desarrollo, extraídas de *Mazama rufina*, capturada en un bosque alto andino de la vía Salcedo-Napo. También se revisaron 5 dípteros Hippoboscidae provenientes del mismo cévido estudiado. Las garrapatas fueron preservadas en viales con Etanol al 70 %. La identificación se realizó utilizando las claves de Aragão & Fonseca (1961), Fairchild *et al.* (1966), Jones *et al.* (1972), Guglielmone & Viñabal (1994), y Voltzit (2007). Los especímenes fueron analizados e identificados con la ayuda de un estereomicroscopio Olympus de 90 X y las fotografías se tomaron con una cámara Infiniti 1. Todos los ejemplares se encuentran depositados en la Colección de Invertebrados del Instituto de Ciencias Biológicas de la Escuela Politécnica Nacional.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se reporta por primera vez la presencia del díptero ectoparásito *Lipoptena mazamae* sobre cervicabra (*Mazama rufina*) y se incrementa información sobre el área de preferencia de picadura de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* parasitando a cervicabra. A continuación, se describen los hallazgos realizados:

DIPTERA

Hippoboscidae

Lipoptena mazamae Rondani, 1844

Sin. = *Lipoptena odocoilei*.

Material examinado: Pichincha, P.N. Cayambe-Coca: 5 individuos sobre *Mazama rufina*. (ene/2014).

Comentarios: El registro de la mosca piojo *Lipoptena mazamae* (Fig. 1), sobre cervicabra, *Mazama rufina*, confirma la presencia y aporta a la distribución de este ectoparásito de cérvidos en el Ecuador, el cual también es frecuente sobre los venados de cola blanca (*Odocoileus virginianus*).

Tanto los machos como las hembras son ectoparásitos obligados que se alimentan de sangre de aves y mamíferos. Están adaptados para aferrarse y moverse a través del plumaje y pelaje, para lo que han desarrollado garras

especializadas que los ayudan a aferrarse al pelo o las plumas de sus huéspedes. Las moscas piojo de los venados poseen alas cuando emergen de la pupa, posteriormente se desplazan y las pierden una vez que se han instalado en su huésped.



Figura 1. Vista dorsal de la mosca parásita de venado, *Lipoptena mazamae* Rondani, 1844.

La especie *L. mazamae*, es un parásito obligado del venado de cola blanca (*Odocoileus virginianus ustus*) y del venado colorado (*Mazama americana*). Ocurre desde el sureste de Estados Unidos en América del Norte, pasando por América Central, hasta el norte de Argentina en América del Sur (Maa, 1969; Samuel & Trainer, 1972; Demarais *et al.*, 1987; Mertins *et al.*, 1992; Reeves *et al.*, 2006). Se ha aislado la bacteria *Bartonella* pero no se ha llegado a demostrar su capacidad como vector (Reeves *et al.*, 2006).

IXODIDA

Ixodidae

Rhipicephalus (Boophilus) microplus Canestrini, 1887

Material examinado: Pichincha, P.N. Cayambe-Coca, Papallacta: 14 hembras sobre *Mazama rufina*. (ene/2014).

Comentarios: *R. microplus* (Figs. 2 y 3), fue extraída del tórax de *M. rufina*. Es una garrapata dura que infesta diversos huéspedes, principalmente ganado bovino, equino, caprino, ovino, porcino; así como algunos animales silvestres, entre ellos los venados. Debido a su capacidad vectorial. A nivel zoonosanitario, es considerada mundialmente la garrapata más parasita el ganado bovino. Al parecer, esta garrapata dependería de la presencia de ganado vacuno para su subsistencia (Guglielmone & Nava, 2005), y su presencia en fauna silvestre se explica por el permanente proceso de ampliación de la frontera agrícola que reduce las áreas de bosque y páramo en la que habitan diversos cérvidos.

No se conocen reportes anteriores de *R. microlopus* parasitando sobre *M. rufina* en Ecuador. Por otro lado, *R. microlopus* es un conocido vector de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* que producen la babesiosis, y de *Anaplasma marginale* que produce la anaplasmosis.



Figura. 2. *Rhipicephalus (Boophilus) microlopus*; hembra: a) dorsal, b) ventral



Figura. 3. Hypostoma de *Rhipicephalus (Boophilus) microlopus*

CONCLUSIONES

Los ectoparásitos ixódidos, de los grandes vertebrados del Ecuador, han sido bien documentados en el Ecuador (Guglielmone *et al.*, 2003). Si bien los géneros de garrapatas ixódidas son de distribución amplia, las especies parecen presentar cierta dependencia hacia su huésped cuando se trata de fauna silvestre (Torres & de la Fuente, 2006). Factores como la ampliación de la frontera agrícola y ganadera con lleva a la reducción de la cubierta forestal nativa y a presionar a la fauna que en ella habita. Algunos animales silvestres

frecuentan estas áreas intervenidas con abundante presencia de ganado vacuno y equino, llegando a generar espacios de contacto y posible intercambio de sus parásitos (Torres & de la Fuente, 2006).

La mosca piojo *L. mazamae*, constituye un nuevo hallazgo para la parasitofauna del Ecuador, incorporando a *Mazama rufina* en la lista de sus huéspedes. Algunos estudios de Norte América reportan a esta mosca como responsable de generar anemia en poblaciones de venados altamente infestados (Kadulski, 1996; Halos 2004; Reeve *et al.*, 2006; Broce, 2006; Wall, 2007); sin embargo, no existen datos o referencias para Ecuador, que permitan sugerir si en algún momento puede llegar a convertirse en una amenaza para los cérvidos locales, tanto por su acción hematófaga, como por su capacidad vectorial.

Las garrapatas *Rhipicephalus microplus*, son vectores conocidos de bacterias de importancia zoo-sanitaria como: *Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* y *Rickettsia* (Barros-Battesti *et al.*, 2006); bacterias que han sido halladas tanto en animales de granja como en grandes mamíferos de la fauna silvestre. En general, los hallazgos realizados fortalecen el conocimiento sobre los ectoparásitos de los grandes vertebrados que habitan en los Andes, contribuyendo a mejorar su manejo y conservación.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento al Departamento de Biología de la Escuela Politécnica Nacional, por facilitar sus instalaciones para el desarrollo de las identificaciones.

REFERENCIAS

- Barros-Battesti DM, Arzua M, & Bechara GH. 2006. *Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies*. São Paulo, Vox/ICTTD-3/Butantan.
- Broce A. 2006. Ectoparasites control. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 22: 463-474.
- Cújar A. 2006. *Caracterización y uso de hábitat del venado Mazama rufina en la reserva biológica cachalú y su área de influencia en los municipios de Encino y Charalá, Santander*. Tesis de Pregrado (Biología). - Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
- Deem SL, Noss AJ, Villarroel R, Uhart MM, & Karesh WB. 2004. Disease Survey of Free-ranging Grey Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*) in the Gran Chaco, Bolivia. *Journal of Wildlife Diseases* 40(1): 92-98.
- Demarais S, Jacobson H, & Guymn DC. 1987. Effects of seasons and area on ectoparasites of whitetail deer (*Odocoileus virginianus*) in Mississippi. *Journal of Wildlife Diseases* 23: 261-266.
- Disease Vector Ecology Profiles (DVEPs). 1998. *Defense Pest Management Information Analysis Center*. Armed Forces Pest Management Board, Forest Glen Section, Walter Reed Army Medical Center, Washington, DC.

- Eisenberg J.** 1989. *Mammals of the Neotropics, Vol 1, The Northern Neotropics*. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Emmons LH, & Feer F.** 1990. *Neotropical rain forest mammals: a field guide*. Univ. Chicago Press. Chicago.
- Fairchild GB, Kohls GM, & Tipton VJ.** 1966. The ticks of Panama (*Acarina: Ixodoidea*). In: Wenzel WR & Tipton VJ. (Eds.). *Ectoparasites of Panama*. Field Museum of Natural History, Chicago.
- Gracioli G, Zucco CA, Duarte CPH, & Mourão G.** 2011. Parasitism rates of *Lipoptena guimaraesi* and a new record of *Lipoptena mazamae* on *Ozotoceros bezoarticus* from the Central Pantanal wetlands in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 20(2): 178-180.
- Guglielmone AA, & Nava S.** 2005. Las Garrapatas de la familia Argasidae y de los géneros Dermacentor, Haemaphysalis, Ixodes y Rhipicephalus (Ixodidae) de la Argentina: Distribución y Hospedadores. *RIA* 34(2): 123-141.
- Guglielmone AA, Estrada-Peña A, Keirans JE, & RG Robbins.** 2003. *Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region*. Atlanta, Houten.
- Halos L, Jamal T, Maillard R, Girard B, Guillot J, Chomel B, Vayssier-Taussat M, & Boulouis HJ.** 2004. Role of Hippoboscidae Flies as Potential Vectors of Bartonella spp. Infecting Wild and Domestic Ruminants. *Applied and Environmental Microbiology* 70(10): 6302-6305.
- Kadulski S.** 1996. Ectoparasites of cervidae in Northeast Poland. *Acta Parasitologica* 41: 204- 210.
- Lizcano DJ, & Alvarez SJ.** 2016. *Mazama rufina*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T12914A22165586.
- Maa TC.** 1969. A Revised Checklist and Concise Host Index of Hippoboscidae (Diptera). *Pacific Inseccts Monograph* 20: 261-299.
- Mertins JL, Schiater JJ, & Corn JL.** 1992. Ectoparasites of the black buck antelope (*Antilope cervicapra*). *Journal of Wildlife Diseases* 28: 481-484.
- Nava S, Guglielmone AA, & Mangold AJ.** 2009. *An overview of systematics and evolution of ticks*. *Frontiers on Bioscience*, 14, 2857-2877.
- Reeves WK, Nelder MP, Cobb KD, & GA Dasch.** 2006. *Bartonella* spp. in deer keds, *Lipoptena mazamae* (Diptera: Hippoboscidae), from Georgia and South Carolina, USA. *Journal of Wildlife Diseases* 42: 391-396.
- Samuel WM, & Trainer DO.** 1972. *Lipoptena mazamae* Rondani, 1878, (Diptera: Hippoboscidae) on white-tail deer in Southern Texas. *Journal of Medical Entomology* 9: 104-106.
- Vallejo AF, & Boada C.** 2019. *Mazama rufina*. En: Brito J, Camacho MA, Romero V, Vallejo AF. (eds). *Mamíferos del Ecuador*. Version 2018.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Web site: <https://bioweb.bio/faunaweb/mammaliaweb/FichaEspecie/Mazama%20rufina>. Fecha de consulta: 2021-04-13.
- Vásquez CL, Muro JJ, & Clavijo JJ.** 2011. Garrapatas del género *Ixodes* Latreille, 1795 y *Rhipicephalus* (*Boophilus*) Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) presentes en la colección de Zoología Agrícola. *Entomotropica* 26: 89-97.
- Wall R.** 2007. Ectoparasites: future challenges in a changing world. *Veterinary Parasitology* 148: 62-74.

Artículo científico

Etología de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* aislados de larvas de gusano blanco (*Premnotrypes vorax*) plaga de la papa (*Solanum tuberosum*) en Ecuador

Eduardo E. Argotti V.¹, Luis O. Villa T.¹, Claudia P. Hernández S.^{2*},
Patricio Gallegos², Mónica P. Cazar C.³, Jesús Alcazar⁴

¹Departamento 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, Email: eeargotti@espe.edu.ec, lovilla@espe.edu.ec.

²Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina, INIAP. Quito-Ecuador, Email: patherz25@yahoo.com.ar, gallegos@fpapa.org.ec.

³Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador, Email: monicacazar72@gmail.com

⁴Laboratorio de entomología del Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima-Perú, Email: j.alcazar@cgiar

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue la caracterización etológica de las poblaciones de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* como candidatos para el control biológico del gusano blanco (*Premnotrypes vorax*), plaga de importancia económica en los cultivos de la papa (*Solanum tuberosum*). Se evaluó el potencial reproductivo, la capacidad de desplazamiento, la humedad relativa y el rango de hospederos sobre larvas del V instar de *P. vorax*. En el potencial de reproducción determinó que una larva de *P. vorax* con un peso promedio de 62 mg puede producir $66,5 \times 10^3$ IJs del aislamiento CC01 y $6,5 \times 10^3$ IJs del aislamiento CC03. Se estableció que el 45,6% de los IJs se desplazaron hasta 5 cm de profundidad, el 30,6% hasta 10 cm y el 16,1% hasta 15 cm. La humedad relativa del 15% mostró ser la más óptima para el desplazamiento de los NEPs de los aislamientos CC01 y CC03 con 24,9 IJs/larva de *Galleria mellonella*. El 11% de humedad presentó un promedio de 13,8 IJs/larva y el 5% de humedad mostró 9,3 IJs/larva; lo que demuestra que a mayor porcentaje de humedad del sustrato ingresan un mayor número de IJs por larva, y lo opuesto, cuando el sustrato tiende a ser más seco inhibe la acción y desplazamiento de los NEPs. Los dos aislamientos mostraron ser altamente patogénicos también para otras plagas como *Tecia solanivora* y *Symetrichema tangolias*.

Palabras clave: *Xenorhabdus*, *Photorhabdus*, desplazamiento, *Tecia solanivora*, *Galleria mellonella*, *Symmetrichema tangolias*.

ABSTRACT

The objective of this research was the ethological characterization of entomopathogenic nematode populations of the genus *Heterorhabditis* as candidates for the biological control of the white grub (*Premnotrypes vorax*), a pest of economic importance in potato (*Solanum tuberosum*) crops. The reproductive potential, displacement capacity, relative humidity, and host range of *P. vorax* V instar larvae were evaluated. The reproductive potential determined that a *P. vorax* larva with an average weight of 62 mg can produce 66,5x10³ IJs from isolate CC01 and 65x10³ IJs from isolate CC03. It was established that 45.6 % of the IJs moved up to 5 cm depth, 30.6 % up to 10 cm, and 16.1 % up to 15 cm. The relative humidity of 15% showed to be the most optimal for the displacement of NEPs of isolates CC01 and CC03 with 24.9 IJs/larva of *Galleria mellonella*. The 11 % humidity presented an average of 13.8 IJs/larva and 5 % humidity showed 9.3 IJs/larva; which shows that the higher the percentage of humidity of the substrate, the greater the number of IJs per larva, and the opposite, when the substrate tends to be drier, it inhibits the action and displacement of NEPs. The two isolates were shown to be highly pathogenic also for other pests such as *Tecia solanivora* and *Symmetrichema tangolias*.

Keywords: *Xenorhabdus*, *Photorhabdus*, displacement, *Tecia solanivora*, *Galleria mellonella*, *Symmetrichema tangolias*

ISSN 1390-3004

Recibido: 18-02-2022

Acceptado: 30-11-2022

INTRODUCCIÓN

Los nematodos representan un Phylum muy diverso dentro del reino Animal, los cuales se encuentran colonizando los medios más diversos y variados. Por referencia se les conoce como animales dañinos que afectan al hombre, animales y plantas, pero, existe un grupo de nematodos que parasitan insectos y que, por sus características bioecológicas constituyen un elemento importante en el control biológico de plagas (Poinar, 1990). Los nematodos entomopatógenos (NEPs) pertenecientes a las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae son patógenos obligados de un amplio rango de insectos plaga, los mismos que son utilizados por más de 20 años para el control de un amplio rango de insectos plaga de importancia agrícola. Los NEPs matan los insectos con la ayuda de bacterias mutualistas (*Xenorhabdus* spp. y *Photorhabdus*) que son transportadas en el intestino del nematodo (Poinar, 1990; Boemare, 2002). Los infectivos juveniles (IJs) del tercer instar penetran a través de las aberturas naturales del hospedero, en algunos casos a través de la cutícula, y liberan las bacterias simbiotas. Las toxinas producidas por las bacterias matan al insecto hospedero dentro de 2 a 3 días (Dowds & Peters, 2002) y los cadáveres proveen de alimentos a tres generaciones de nematodos. Las bacterias de este género se caracterizan por ser Gram-negativas, anaerobias facultativas, no forman esporas, presentan flagelos, y solamente se localizan en el intestino de infectivos juveniles o de hospederos infectados (Garzón et al., 1996;

Stock & Camino, 1992; Agüera & Laumond, 1994; Alcázar y Cañedo, 2003; Kaya & Stock, 1997; Kuno & Hernández, 1982).

Aunque los IJS juegan un papel importante en la muerte del insecto al transportar la bacteria en el intestino, en realidad la bacteria es la responsable de la muerte del insecto, constituyéndose el IJ en el vector que necesita la bacteria para ser transportado hacia el hemocele del insecto hospedero (Gotz *et al.*, 1981). Conocer la etología de las cepas de NEPs de los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* es muy importante, debido a que los NEPs son una excelente alternativa para el control biológico de *P. vorax* (gusano blanco de la papa), considerado como una de las plagas más devastadoras de los cultivos de papa en Ecuador. Las larvas al alimentarse hacen galerías en los tubérculos afectando la calidad del producto desde el campo. Para mitigar los daños producidos por las larvas de *P. vorax*, los agricultores emplean insecticidas tóxicos como Carbofuran, Metamidafos, Acefato y Profenofos aplicados al follaje o al suelo (Gallegos *et al.*, 1997).

Por lo expuesto, en este estudio se pretende realizar caracterización etológica de los NEPs de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, como base para el desarrollo, producción y formulación de nuevas herramientas de control biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Potencial de reproducción de los NEPs.- El potencial de reproducción de los aislamientos de NEPs CC01 y CC03 del género *Heterorhabditis* se determinó sobre larvas del V de *P. vorax*. Se midió el peso de 50 larvas de *P. vorax* las mismas que fueron inoculadas con 20 IJs de cada uno de los aislamientos; las larvas fueron depositadas en tubos Eppendorf de 1,5 ml con 1 ml de arena y 100 μ L de agua estéril. Posteriormente los tubos se colocaron dentro de una bolsa plástica negra y se incubaron a 20°C. La evaluación se realizó después de cuatro días de producida la infección. Las larvas parasitadas se lavaron con agua destilada y se colocaron en forma individual en trampas White. Los IJs obtenidos de la trampa se cosecharon por 25 días. Se realizó el conteo de los IJs por el método de dilución volumétrica (Kaya & Stock, 1997; Alcázar & Cañedo, 2003). Para el análisis estadístico se realizó una regresión entre el número de juveniles infectivos producidos por larva de *P. vorax* y el peso de cada larva.

Capacidad de desplazamiento de los NEPs.- Se siguió la metodología propuesta por Kaya & Stock (1997), utilizando barreras de arena y tierra estériles. Tubos de PVC de 5, 10 y 15 cm de alto se llenaron unos con arena (11 % de humedad) y otros con tierra (10 % de humedad), en el fondo del tubo se colocó una larva de la polilla de la cera *Galleria mellonella* y en la superficie del tubo se inoculó 50 IJs de cada aislamiento. Los dos extremos de los tubos se cubrieron con placas Petri de 50 mm de diámetro y se incubaron a 20°C. A los 10 días de la inoculación se diseccionaron las larvas de *G. mellonella* para determinar el número de NEPs que ingresaron. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial A x B x C con tres observaciones. Las diferencias significativas entre profundidad y las interacciones entre NEPs, sustrato y profundidad se discriminaron con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Efecto de la humedad sobre la infectividad de los NEPs.- Se evaluaron tres rangos de humedad relativa en sustrato arena: 5, 11 y 15 %. La humedad fue determinada mediante el uso de un Higrómetro. Se utilizaron tubos de PVC de 5, 10 y 15 cm de alto, en el fondo del tubo se colocó una larva de *G. mellonella*, se llenó el tubo con arena y en la superficie se inoculó 50 IJs de los NEPs. Los extremos del tubo se taparon con cajas Petri de 50 mm de diámetro y se incubaron a 20°C. La evaluación se realizó a los 10 días de la inoculación. Se diseccionaron las larvas para establecer el número de NEPs que ingresaron al hospedero. Se utilizó un DCA con arreglo factorial A x B x C con tres repeticiones. Las diferencias significativas se discriminaron mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Rango de hospederos de los NEPs.- Se probó la susceptibilidad de larvas de *Tecia solanivora* y *Symstrongylosis tangolias* plagas del cultivo de papa con la DL_{50} de 3,2 IJs/larva de *P. vorax* de los aislamientos de NEPs CC01 y CC03. Los insectos evaluados fueron larvas de IV instar de *Tecia solanivora* y larvas de V instar de *Symstrongylosis tangolias*. Las larvas de *T. solanivora* y *S. tangolias* se depositaron en tubos Eppendorf de 1,5 ml con 1 ml de arena estéril humedecida con 100 μ L de agua estéril e inoculadas con la DL_{50} obtenida de los aislamientos CC01 y CC03 sobre larvas de *P. vorax* (Woodring & Kaya, 1988; Garzón et al., 1996). Los tubos Eppendorf se colocaron dentro de una bolsa plástica negra y se incubaron a 20°C. El número de larvas muertas de cada plaga fue registrado hasta 120 horas después de la inoculación. Para verificar la muerte de las larvas por acción de los NEPs, se diseccionaron y se observaron al estereomicroscopio (Koppenhofer & Kaya, 1999). Se efectuó un DCA con tres repeticiones. Las diferencias significativas entre hospederos *T. solanivora* y *S. tangolias* el inóculo se discriminaron con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Análisis de la información.- Para establecer la relación entre el peso y la producción total de IJs de larvas de *P. vorax*, 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 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 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 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 de los NEPs.- El aislamiento CC01 producen en promedio $66,5 \times 10^3$ IJs/larva del V instar de *P. vorax* (± 62 mg) (Fig. 1), sin

presentar una correlación significativa ($r = 0,0676$; $p = -0,2301x + 64,016$). En cuanto al aislamiento CC03, se obtuvieron en promedio de $61,5 \times 10^3$ IJs/larva del V instar de *P. vorax* ($\pm 57,05$ mg) (Fig. 2), de igual manera no exhibió una correlación significativa ($r = 0,1816$; $p = -0,306x + 60,263$) (Tabla 1). No se presentó una correlación significativa entre el peso de la larva y el número de juveniles producidos de cada aislamiento de NEPs, ya que el número de IJs que logran penetrar al insecto no son necesariamente todos los inoculados, además de factores externos que pueden influir en el proceso de infección por parte del nematodo y de la bacteria simbiótica, esto incluido la mortalidad natural que se puede presentar.

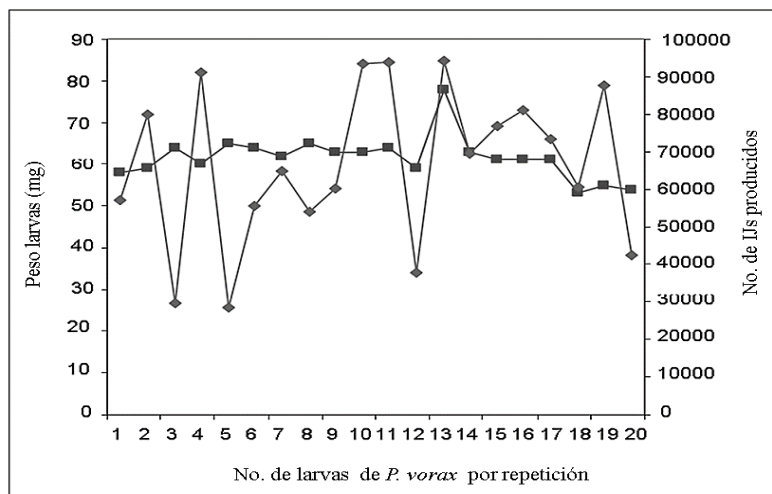


Figura 1. Potencial de producción de NEPs del aislamiento CC01 en larvas del V instar de *P. vorax*

La tasa de $66,5 \times 10^3$ IJs/larva obtenidos del aislamiento CC01 y de $61,5 \times 10^3$ IJs/larva del aislamiento CC03, son valores altos si comparamos a los resultados obtenidos por Cabanillas (2003), quien reporto una producción de $76,8 \times 10^2$ IJs por larva de gorgojo del algodón (*Anthonomus grandis*). Reportes realizados por Wang & Bedding (1996), indican que *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* pueden producir tres generaciones de IJs, con un total de 15×10^4 juveniles por larva de *G. mellonella*, con un peso promedio de 0,15 g en tres semanas. Según Stock & Bonifassi (1994) por cada larva de *G. mellonella* puede obtenerse una progenie de 2×10^5 a $22,5 \times 10^4$ nematodos, resultantes de tres generaciones de *S. feltidae* desarrolladas dentro del insecto hospedante. Según Mannion & Jansson (1992), la habilidad de los NEPs por reproducirse en larvas huéspedes es importante para el establecimiento y persistencia en el campo.

Los resultados mostraron que por cada miligramo de larva de *P. vorax* se obtuvo 1073 IJs para el aislamiento CC01, 1 078 IJs para el aislamiento CC03. Dutky *et al.*, (1964) obtuvieron 1 110 IJs por mg de larva de *G. mellonella*. Wang *et al.*, (1995) reportaron una producción de 3 091 IJs de *S. carpocapsae* por mg de larva de *G. mellonella* inoculados con 0 IJs. Según Unlu *et al.*, (2003) las diferencias en el potencial de reproducción de NEPs, están relacionado con la especie de nematodo, humedad relativa 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 35 000 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 NEPs.

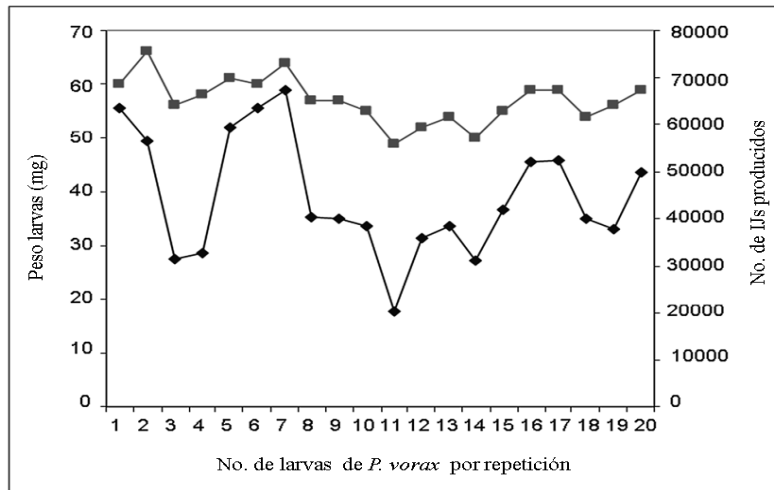


Figura 2. Potencial de producción de NEPs del aislamiento CC03 en larvas del V instar de *P. vorax*

De acuerdo a la curva de producción de IJs de los aislamientos de NEPs CC01 y CC03 en el tiempo (Fig. 3), se encontró que no hay correlación positiva entre el número de IJs emergidos a la trampa White y los días de emergencia ($R^2= 0,7253$; $y= -1\ 272,1x + 13,082$). El primer día de recolección se presentó la mayor emergencia de IJs en ambas poblaciones en la trampa White, 15 640 para CC01 y 34 460 para CC03, estableciéndose una disminución paulatina en la curva hasta el séptimo día de recolección 5 699,8 para CC01 y 2 370,6 para CC03. A partir del noveno día mostró un detrimento en la emergencia de los IJs hasta llegar a cero en el día 23 para el aislamiento CC01 y el día 25 para el aislamiento CC03. El aislamiento CC03 mostró un mayor número de IJs emergidos en la trampa White que CC01.

Aunque la producción de los IJs se evidenció en los nueve primeros días, algunos autores manifiestan que los nematodos del género *Heterorhabditis* pueden continuar produciendo IJs en el tiempo, como en el caso del gorgojo de la patata dulce, que puede producir IJs hasta por 15 días en larvas de *G. mellonella* y 46 días después de la inoculación (Mannion & Jansson, 1992).

Capacidad de desplazamiento de NEPs.- El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos profundidad y sustrato ($F_{2, 168}= 0,0011$; $P= 0,99$), sin embargo, no se identificaron diferencias estadísticas entre aislamientos de NEPs. Las interacciones mostraron diferencias significativas al 5 %,

entre aislamientos de NEPs por profundidades y sustratos por profundidad; el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre la interacción aislamiento de NEPs por sustratos; en la triple interacción nematodos-sustratos-profundidades, muestran diferencias significativas, en la tabla 1, se muestra los promedios obtenidos con los diferentes tratamientos.

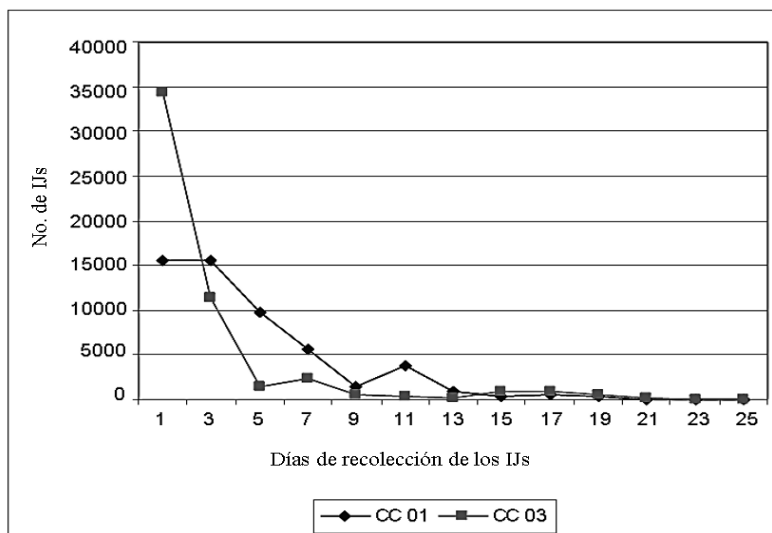


Figura 3. Curva de emergencia de los IJs de los aislamientos CC01 y CC03 del género *Heterorhabditis* sobre larvas del V instar de *P. vorax*.

La discriminación de media Tukey mostró que el mejor tratamiento fue el suelo endémico con un promedio de 16,9 IJs de los aislamientos CC01 y CC03 por larva de *G. mellonella*, mientras que en el sustrato arena el número de IJs que lograron ingresar por larva de *G. mellonella* fueron en promedio de 13,8 IJs/larva.

La prueba de Tukey realizada para el factor profundidad demostró diferencias significativas; la profundidad de 5 cm mostró el mayor número de IJs (22,8) por larva de *G. mellonella*, correspondiendo al 45,6 % de IJs que se desplazaron e infectaron el hospedero. La profundidad de 10 cm mostró un promedio de 15,3 IJs/larva de *G. mellonella*, llegando al 3,6 % de desplazamiento, y a 15 cm de profundidad se evidenció el menor promedio con 8,05 IJs/larva de *G. mellonella*, con un porcentaje de desplazamiento de 16,1 %.

Los resultados mostraron que la capacidad de desplazamiento de CC01 y CC03, decrece a medida que se aumenta la profundidad; posiblemente debido a la disminución del oxígeno (Molyenux & Bedding, 1984) independientemente del tipo de sustrato; a pesar que el número de IJs que colonizaron el hemocele del hospedero fue bajo a profundidades mayores, pero fueron suficientes para provocar la muerte de *G. mellonella*; lo que se puede aseverar que el ambiente fue propicio para que las bacterias simbiotas se reproduzcan en el hemocele del insecto y provoquen la muerte por septicemia. Reportes realizados por Alcázar *et al.* (2005), con una especie de *Heterorhabditis* que parasita larvas de *Bothinus* sp. y

Anomala sp., demostraron que los IJs presentan un desplazamiento de 54 % a 5 cm, 36 % a 10 cm y 12 % a 15 cm de profundidad. De igual forma Georgis & Poinar (1983), en su estudio indican que la mayoría de los IJ permanecieron dentro de 2 cm de la superficie del suelo, sin embargo, algunos penetraron a 10 cm de profundidad en arena y suelos franco-arenosos; mientras que a 24 y 28 cm de profundidad la recuperación de nematodos fue menor. En el análisis de la interacción sustrato por profundidad se evidenció que los mejores tratamientos fueron el suelo y la arena a 5 cm de profundidad con un valor promedio de 23,53 y 22,06 IJs/larva de *G. mellonella*.

Tabla 1. Capacidad de penetración de los aislamientos CC01 y CC03 del género *Heterorhabditis* en larvas de *G. mellonella* en la triple interacción nematodo-sustrato-profundidad.

| Aislamientos NEPs | Sustrato | Profundidad (cm) | No. IJs /larva |
|----------------------|-------------|---------------------|----------------|
| CC01 | Arena 11 % | 5 | 21,4 b |
| | Arena 11 % | 10 | 14,2 d |
| | Arena 11 % | 15 | 5,6 d |
| | Tierra 10 % | 5 | 22,3 ab |
| | Tierra 10 % | 10 | 17,2 c |
| | Tierra 10 % | 15 | 9,6 f |
| CC03 | Arena 11 % | 5 | 22,7 ab |
| | Arena 11 % | 10 | 12,8 de |
| | Arena 11 % | 15 | 6,0 d |
| | Tierra 10 % | 5 | 24,7 a |
| | Tierra 10 % | 10 | 16,9 c |
| | Tierra 10 % | 15 | 10,9 ef |
| CV | | | 14,5 % |

N = Número de larvas tratadas, CV = Coeficiente de variación.

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 señales físicas y químicas producidas por los insectos para encontrarlos (Kaya & Stock, 1997). Solo una pequeña proporción de NEPs de género *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 (Duncan et al., 1996).

Estos resultados brindan importantes indicadores en el momento de realizar un control biológico en campo, ya que proveen información acerca de cómo la población de nematodos podría incrementarse en áreas de alta densidad del hospedero. Según Rosales & Suárez (1998), la infectividad o patogenicidad de los NEPs está condicionada principalmente por la capacidad de sus juveniles

infectivos en detectar la presencia del insecto, movilizarse por el sustrato hasta alcanzarlo y penetrar en su interior.

Efecto de la humedad sobre la infectividad de los NEPs.- El efecto de la humedad se determinó con 5, 11 y 15 % de humedad relativa, a tres profundidades 5, 10 y 15 cm (Fig. 4). El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los niveles de humedad y profundidades ($F_{4, 252} = 2,71$; $P = 0,030$); no mostraron diferencias estadísticas entre aislamientos NEPs. Las interacciones presentaron diferencias significativas entre aislamiento de NEPs por profundidades, y humedad por profundidades; en la triple interacción aislamiento de NEPs por humedad por profundidades, se establecieron diferencias significativas al 5 %. En la tabla 1, se muestran los promedios obtenidos en cada tratamiento.

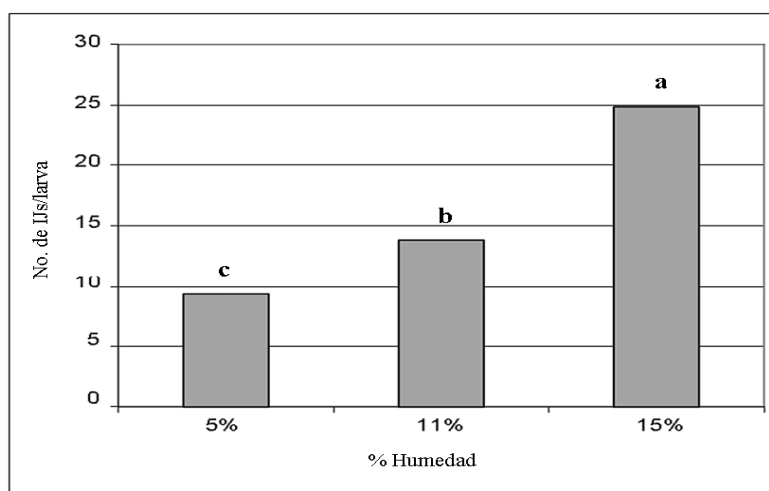


Figura 4. Promedio de IJs de los aislamientos CC01 y CC03 que infectaron larvas de *G. mellonella* a 5, 11 y 15 % de humedad relativa.

El 15 % de humedad resultó ser el más efectivo para el desplazamiento, ya que mostró un promedio de penetración de los dos aislamientos de NEPs de 24,9 IJs/larva de *G. mellonella*. La humedad relativa del 11 % presentó un promedio de 13,8 IJs/larva y el 5 % de humedad relativa mostró 9,3 IJs/larva; lo que demuestra que, a mayor porcentaje de humedad del sustrato de inoculación de los NEPs, ingresan un mayor número de IJs por larva, y al contrario cuando el sustrato tiende a ser seco inhibe la acción y desplazamiento de los NEPs (Fig. 5).

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. 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 %. Barbercheck & Kaya (1991) demostraron que la migración de los NEPs y la infección del hospedero son inhibidas por un bajo nivel de humedad en el suelo. Molyneux & Bedding (1984; citados por Cabanillas, 2003), reportan que una humedad superior al 40 % puede inhibir la infectividad de los NEPs por inmovilización de los mismos y puede disminuir la sobrevivencia por deficiencia de oxígeno. Cabanillas (2003), reporto un bajo parasitismo en el gorgojo del algodón (*A. grandis*) cuando la humedad del suelo era del 10 %, y un alto parasitismo al 20 % de humedad.

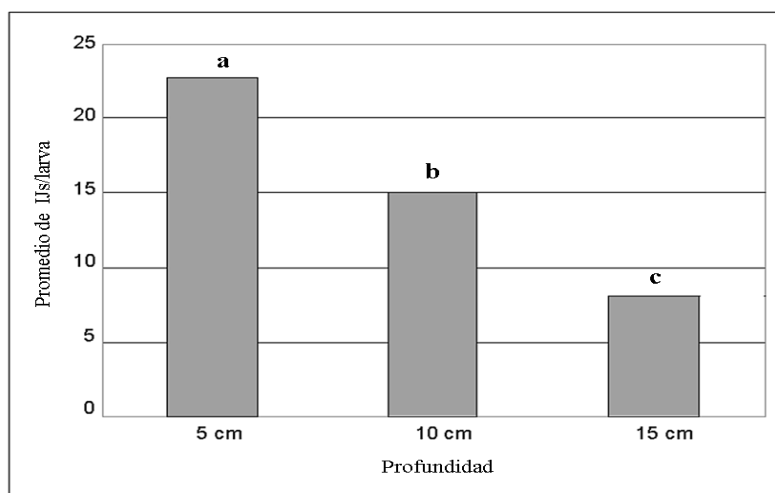


Figura 5. Promedio de IJs de los aislamientos CC01 y CC03 pertenecientes al género *Heterorhabditis* que infectaron larvas de *G. mellonella* a 5, 10 y 15 cm de profundidad.

En cuanto a la profundidad, se estableció que el mejor tratamiento fue el de 5 cm de profundidad con un promedio de 22,7 IJs/larva de *G. mellonella*, constituyendo el 45,2 % de IJs que se desplazaron e infectaron al hospedero. La profundidad de 10 cm presentó un promedio de 16,1 IJs/larva, correspondiendo al 32,2 % de desplazamiento, a 15 cm de profundidad se evidenció el menor promedio de infección con el 9,2 IJs/larva de *G. mellonella*, con un desplazamiento de 18,4 %. La tendencia de desplazamiento de los IJs de las poblaciones CC01 y CC03), se presenta hacia abajo del punto de inoculación, lo que también se evidenció en la prueba de capacidad de penetración.

Los resultados reportados en este estudio confirman las aseveraciones de Alcázar *et al.* (2005), que sostienen que al aumentar la profundidad, el número de juveniles infectivos del nematodo *Heterorhabditis* sp. que logran infectar larvas de *Bothinus* sp. y *Anomala* sp. disminuye.

Rango de Hospederos de los NEPs.- Con la dosis letal media de 3,2 IJs/larva de los aislamientos CC01 y CC03 de *Heterorhabditis* para *P. vorax*, se estimó el rango de

hospederos con larvas de IV instar de la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* y larvas de V instar de la polilla de la papa *Symetrichema tangolias*. En el análisis de varianza realizado para la especie *T. solanivora*, no se encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos ($F_{1, 4} = 1,4305$, $P > 0,0001$). Se observó una mortalidad promedio de 67,2 % con el aislamiento CC03 y 69,4 % con la población CC01 (promedio de tres repeticiones en el tiempo).

Tabla 2. Efecto de la humedad relativa en la infectividad de los NEPs CC01 y CC03 del género *Heterorhabditis* en larvas de *G. mellonella*.

| Aislamiento | Humedad % | Profundidad (cm) | Promedio IJs /larva |
|-------------|-----------|------------------|---------------------|
| CC01 | 5 | 5 | 13,7 gh |
| | 5 | 10 | 9,7 i |
| | 5 | 15 | 4,8 j |
| | 11 | 5 | 21,4 cd |
| | 11 | 10 | 14,3 fg |
| | 11 | 15 | 5,6 j |
| | 15 | 5 | 31,6 a |
| | 15 | 10 | 27,4 b |
| CC03 | 15 | 15 | 17 ef |
| | 5 | 5 | 13,8 gh |
| | 5 | 10 | 9,3 i |
| | 5 | 15 | 4,4 j |
| | 11 | 5 | 22,7 c |
| | 11 | 10 | 12,8 hi |
| | 11 | 15 | 6,0 j |
| | 15 | 5 | 32,7 a |
| CV | 15 | 10 | 23,1 c |
| | 15 | 15 | 17,6 de |
| | | | 14 % |

CV = Coeficiente de variación.

La mayor mortalidad se presentó con el aislamiento CC01 en las tres repeticiones realizadas en el tiempo, sin embargo, la población CC03 mostró un comportamiento similar en el tiempo (Tabla 4). En cuanto a los resultados obtenidos con *S. tangolias*, el análisis de varianza no mostró diferencias estadísticas entre tratamientos ($F_{1, 4} = 0,6164$, $P > 0,0001$). La mortalidad promedio se estableció en 73,8 % para el aislamiento CC01 y 72,2 % para la población CC03. De igual manera se presentó el mismo comportamiento que con *T. solanivora*, indicando una mayor mortalidad con el aislamiento CC01, aunque el aislamiento CC03 mostró un comportamiento similar en las tres repeticiones realizadas en el tiempo (Tabla 3).

Además, se encontró que las polillas de la papa mostraron una mayor susceptibilidad a la dosis letal media (DL_{50} establecida para gusano blanco de 3,2 IJs/larva), con mortalidades superiores al 60 %, la susceptibilidad fue más evidente en *S. tangolias*. Estos resultados demuestran que los aislamientos CC01 y CC03, son organismos promisorios en el control biológico de diferentes plagas en el cultivo de la papa y otros cultivos de importancia agrícola. En el trabajo de Alcázar *et al.*,

(2005), se reporta en la prueba de rango de hospederos una alta susceptibilidad de *Eusepes postfasciatus*, *P. suturicallus*, *Phthorimaea operculella* y *S. tangolias*, con la dosis letal media de *Heterorhabditis* parásito de larvas de *Bothinus* sp. y *Anomala* sp.

Tabla 3. Rango de hospederos de los aislamientos de NEPs CC01 y CC03 del género *Heterorhabditis* con *T. solanivora* y *S. tangolias*.

| Especie Insecto | NEPs | Ensayo | IJs/larva | No. Larvas muertas | Mortalidad % |
|-------------------------|------|----------|-----------|--------------------|--------------|
| <i>T. solanivora</i> | CC01 | Ensayo 1 | 3 | 40 | 66,6 |
| | | Ensayo 2 | 3 | 43 | 71,6 |
| | | Ensayo 3 | 3 | 42 | 70,0 |
| | CC03 | Ensayo 1 | 3 | 39 | 65,0 |
| | | Ensayo 2 | 3 | 41 | 68,3 |
| | | Ensayo 3 | 3 | 41 | 68,3 |
| <i>S. tangolias</i> | CC01 | Ensayo 1 | 3 | 46 | 76,6 |
| | | Ensayo 2 | 3 | 44 | 73,3 |
| | | Ensayo 3 | 3 | 43 | 71,6 |
| | CC03 | Ensayo 1 | 3 | 45 | 75,0 |
| | | Ensayo 2 | 3 | 43 | 71,6 |
| | | Ensayo 3 | 3 | 42 | 70,0 |
| CV <i>T. solanivora</i> | | | | | 3,2 % |
| CV <i>S. tangolias</i> | | | | | 3,4 % |

CV = Coeficiente de variación.

Aunque algunos autores señalan que los NEPs del género *Steinernema* presentan mayor patogenicidad sobre larvas de lepidópteros que los nematodos del género *Heterorhabditis* (Glazer & Navon, 1990; Cabanillas & Raulston, 1994; citados por Ochoa et al., 1996). De igual forma Koppenhöfer & Kaya (1999), señalan que el NEPs *S. rarum* han mostrado adaptabilidad para infectar larvas de lepidópteros, seguido por larvas de algunos coleópteros, termitas y cucarachas; presentando esta especie de nematodo un comportamiento de búsqueda de alimento intermedio, es decir que puede encontrar a hospederos móviles sobre la superficie del suelo y hospederos sedentarios bajo la superficie del suelo. No siendo esta hipótesis aplicable para todas las especies de lepidópteros, ya que los resultados obtenidos refutarían lo anterior.

CONCLUSIONES

Los porcentajes de producción de IJs de los aislamientos CC01 y CC03 en larvas del V instar de *P. vorax* es una variable transcendental que se debe considerar al momento de seleccionar a los nematodos entomopatógenos como agentes de control biológico de *P. vorax*. Los resultados mostrados nos permiten aseverar que existe una relación entre el peso del hospedero y el número de IJs producidos por larva.

La capacidad de movilizarse de los aislamientos CC01 y CC03 e infectar larvas del V instar de *P. vorax* están relacionados con el tipo de suelo y la humedad relativa; los resultados obtenidos demuestran que suelos francos, franco arenosos y

humedades relativas superiores al 15 % son los más óptimos para el desplazamiento e infección de larvas del V instar de *P. vorax*.

Los IJs de los aislamientos CC01 y CC03 del género *Heterorhabditis* tienen un amplio rango de infección sobre larvas de lepidópteros como *Tecia solanivora* y *Symetrichema tangolias*, presentando porcentajes de mortalidad superiores al 60 %.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro sincero agradecimiento 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 darnos las facilidades para participar en la realización de esta investigación, a Oswaldo Villa por la revisión del artículo y por la elaboración del *abstract*.

Conflictos de interés: Los autores declaran no presentar conflictos de interés para este trabajo.

REFERENCIAS

- Agüera M & Laumond C. 1994. Uso de nematodos entomopatógenos en campo. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.
- Alcázar J, Farfán C, Salazar J, Castillo C & Kaya H. 2005. Hallazgo de un nematodo entomopatógeno nativo *Heterorhabditis* parasitando larvas de *Bothinus* sp. y *Anomala* sp. en la Costa Central. *Memorias del XLVII Convención Nacional de Entomología*. Perú 92.
- Barbercheck ME & Kaya, HK. 1991. Effect of host condition and soil texture on host finding by the entomogenous nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Environmental Entomology* 20(2): 582-589.
- Barbercheck M & Kaya H. 1991. Competitive interactions between entomopathogenic nematodos and *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in soilborne larvae *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environment Entomology* 20(2): 707-712.
- Bedding RA. 1990. Logistics and strategies for introducing entomopathogenic nematode technology into developing countries. Pp: 233-246. In: Gauler R, Kaya HK (eds.). *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press. New Jersey, USA.
- Boemare, N. 2002. Biology, taxonomy, and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. Pp: 35-56. In: Gauler R (ed.). *Entomopathogenic nematology*. CABI Publishing, Rutgers University. USA.
- Boff MI, Wiegers G, Gerritsen LJ & Smits PH. 2000. Development of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* strain NLH-E 87.3 in *Galleria mellonella*. *Nematology* 2(3): 303-308.

- Cabanillas H. 2003.** Susceptibility of the boll weevil to *Steinernema riobrave* and other entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology* 82: 188-197.
- Dowds BC & Peters ARNE. 2002.** Virulence mechanisms. *Entomopathogenic nematology*: 79-98.
- Duncan LW & McCoy CW. 1996.** Vertical distribution in soil, persistence, and efficacy against citrus root weevil (Coleoptera, Curculionidae) of two species of entomogenous nematodes. *Environmental Entomology* 25(1): 174-178.
- Dutky SR, Thompson JV & Cantwell GE. 1964.** A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. *Journal of Insect Physiology* 6(4): 417-422.
- Gallegos P, Avalos G & Castillo C. 1997.** El Gusano Blanco de la Papa en Ecuador: Comportamiento y Control. INIAP. Quito, Ecuador.
- 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.
- Georgis R & Poinar G. 1983.** Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoalectana carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Nematology* 15(2): 308-311.
- Glazer I & Navon A. 1990.** Activity and persistence of entomoparasitic nematodes tested against *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 83(5): 1795-1800.
- Gotz P, Boman A & Boman HG. 1981.** Interactions between insect immunity and an insect-pathogenic nematode with symbiotic bacteria. Proceedings of the Royal Society of London. Series B. *Biological Sciences* 212(1188): 333-350.
- Hara AH, Gaugler R, Kaya HK & Lebeck LM. 1991.** Natural populations of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) from the Hawaiian Island. *Environmental Entomology* 20(1): 211-216.
- Kaya HK & Gaugler R. 1990.** Soil ecology. Pp. 93-115. In: R. Gaugler & Kaya H. K. (eds.) *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press, Boca Raton.
- Kaya H & Stock P. 1997.** Techniques in insects nematology. 281-324. In: *Manual of techniques in insects pathology*. Academic Press, San Diego. USA.
- Kondo E & Ishibashi N. 1986.** Nictating behavior and infectivity of entomogenous nematodes, *Steinernema* spp., to the larvae of common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae), on the soil surface. *Applied Entomology and Zoology* 21(4): 553-560.
- Koppenhöfer AM, Choo HY, Kaya HK, Lee DW & Gelernter WD. 1999.** Increased Field and Greenhouse Efficacy against Scarab Grubs with a Combination of an Entomopathogenic Nematode and *Bacillus thuringiensis*. *Biological Control* 14(1): 37-44.
- Koppenhofer A & Kaya H. 1999.** Ecological Characterization of *Steinernema rarum*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 73: 120-128.
- Mannion C & Jansson R. 1992.** Comparison of ten entomopathogenic nematodes for control of sweet potato weevil (Coleoptera: Apionidae). En: *Journal of Economic Entomology* 85(5): 1642-1650.

- Molyneux AS & Bedding RA. 1984.** Influence of soil texture and moisture on the infectivity of *Heterorhabditis* sp. D1 and *Steinernema glaseri* for larvae of the sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Nematology* 30(3): 358-365.
- Ochoa M, Hamm J, Lezama R, Bojalil L, Arenas M & González M. 1996.** Virulence of six entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Vedalia* 3: 25-29.
- Oyarzun P, Espinosa P, Forbes G & Reinoso I. 2002.** El cultivo de la papa en Ecuador. INIAP/CIP. Quito.
- Poinar Jr GO. 1990.** Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. Pp: 54-58. In: Gauler R, Kaya HK (Eds.). *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press. New Jersey, USA.
- Rosales L & Suárez Z. 1998.** Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo del plátano *Cosmopolitas sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae). *Entomología Venezuela* 13(2): 123-140.
- Rosales L, Rodríguez MG, Salazar E, Bautista L, Peteira B, Suárez HZ & Centeno F. 2008.** Investigación en nematodos entomopatógenos desarrolladas en el INIA, Venezuela.
- Stock P & Bonifassi E. 1994.** Producción de Nematodos Entomopatógenos. Universidad Nacional de la Plata. La Plata, Argentina.
- Stock P & Camino N. 1992.** Nematodos Entomopatógenos. Universidad Nacional de la Plata. La Plata, Argentina.
- Stock SP & Camino NB. 1992.** *Hexameris ovistriata* n. sp. (Nematoda: Mermithidae) a parasite of the grasshopper *Staurorhectus longicornis* Gigliotus (Orthoptera: Acridiidae) in Argentina. *Fundamental and applied Nematology* 15(1): 15-18.
- Stock SP, Choo HY & Kaya HK. 1997.** An entomopathogenic nematode, *Steinernema monticolum* (Rhabditida: Steinernematidae) from Korea with a key to other species. *Nematology* 43(1): 15-29.
- Toledo J, Ibarra JE, Liedo P, Gómez A, Rasgado MA & Williams T. 2005.** Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis* under laboratory and field conditions. *Biocontrol Science and Technology* 15: 627-634.
- Unlu IO & Ozer N. 2003.** Evaluation of the reproductive potential and competition between two entomopathogenic Nematodes, *Steinernema feltidae*, (Rhabditidae: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rabditidae: Heterorhabditidae). *J. Biol.* 27: 149-155.
- Wang J & Bedding AR. 1995.** Population development of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema capocapsae* in the larvae of *Galleria mellonella*. *Fundamental and Applied Nematology* 19(4): 363-367.
- Woodring JL & Kaya HK. 1988.** Steinernematide and heterorhabditide nematodes: a handbook of biology and techniques. Southern cooperative series bulletin. USA.

NORMAS PARA LA PRESENTACIÓN DE ARTÍCULOS EN BOLETÍN TÉCNICO, SERIE ZOOLOGICA

Características del Artículo

Los artículos provendrán de datos originales obtenidos por los autores, es responsabilidad de los autores el uso de datos de terceros. Ningún escrito debe haber sido publicado con anterioridad ni deberá publicarse en otras revistas. Los temas pertenecerán a las siguientes áreas: Fisiología Animal, Veterinaria, Zootecnia, Zoología Aplicada, Conservación Animal, Zoogeografía, Etología, Ecología Animal y Taxonomía Animal. Pueden ser considerados también artículos sobre control biológico de plagas animales (insectos, arácnidos, nematodos, entre otros).

Secciones del Artículo

Título, Autor(es), Afiliación Institucional, Resumen, Palabras clave, Abstract, Key words, Introducción (que incluirá el objetivo descrito en un texto sin separación), Metodología (que incluirá el uso de materiales redactados en un texto y no una lista de ellos), Resultados y Discusión, Agradecimientos, y Bibliografía.

Formato de los manuscritos

Idioma: Español/Inglés., Tipo de letra: Book Antiqua., Tamaño de Papel: B5

Título: con una extensión máxima de 20 palabras. Tamaño de letra (TL) 16, solo la primera palabra, los nombres propios y/o taxonómicos, excepto el específico, con mayúscula.

Autor o Autores: Primer Nombre, Inicial de Segundo Nombre, Apellido, Inicial de Segundo Apellido. Negrita. Centrado. TL 12. Afiliación institucional: Área de trabajo. Institución. Ciudad-País. Cuenta electrónica. Si los autores representan a diferentes instituciones indicar con un numeral. Cursivas, excepto el E-mail. Centrado. TL 9

Resumen con una extensión máxima de 200 palabras. Palabras clave, mínimo 5 máximo 10. No repita como palabras clave a palabras ya usadas en el título. Abstract y Key words son su traducción al inglés.

Títulos de los capítulos en mayúsculas, negrita y centrados. TL 12.

Texto normal, TL 10 si requiere un subtítulo van en el mismo párrafo con negrita, formato título y separado del texto por punto y raya.

Titule todas las tablas al inicio y las figuras a su final. TL 9; se llamarán tablas también a los cuadros, y figuras a gráficos, fotos y mapas. Use Times New Roman y TL 9 en diseño de tablas y figuras.

Ordene, las citas que se incluyan en el texto, en forma cronológica, use el orden alfabético solo si las citas pertenecen al mismo año, ejemplo:(Morris, 1991; Defler *et al.*, 2001; Pozo, 2001)....

Se prefieren referencias que provengan de artículo publicados en revistas científicas indexadas (ISSN), libros reconocidos (ISBN), o tesis de Doctorado o Maestría. Las referencias deben ordenarse alfabéticamente. Use formato, párrafo, sangría especial, francesa. TL 10. Referencias provenientes de Memorias o Resúmenes de Congresos no indexados e impaginados no serán validos. Ríjase estrictamente a los siguientes ejemplos de bibliografía.

Artículo científico:

de Castro J, Monteiro MA & Motta JC. 2006. Dieta do quiriquirei, *Falco sparverius* (Aves: Falconiformes), na Estação Ecológica de Itirapina, SP. *Revista Brasileira de Ornitologia* 14 (4): 393-399.

Capítulo en un libro:

Meyer CFJ, Streubig MJ & Willig MR. 2016. Responses of tropical bats to habitat fragmentation, logging and deforestation. Pp: 63-103. En: Voigt CC, Kingston T (Eds.). *Bats in anthropocene: conservation of bats in a changing World.* Springer, New York and London. DOI: 10.1007/9783-319-25220-9_4.

Libro completo:

Voigt CC & Kingston T. 2016. *Bats in anthropocene: conservation of bats in a changing World.* Springer, New York and London. DOI: 10.1007/9783-319-25220-9.

Tesis:

Pozo-Rivera WE. 2017. *Relaciones de la diversidad arbórea y la estructura del paisaje agrícola tropical ecuatoriano con la biodiversidad de murciélagos filostómidos.* Ph. D. Tesis. Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Departamento de Biología Animal y Humana, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana.

Artículo bajado del Internet:

Tavares V, Muñoz A, Rodríguez B & Arroyo-Cabrales J. 2015. *Vampyriscus nymphaea.* The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T22840A22058669. Web site: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20154.RLTS.T22840A22058669.en>. Fecha de consulta: 2017-05-27.

Artículo de autor institucional:

Bird Life International. 2012. *Falco sparverius.* In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. Web site: www.iucnredlist.org. Fecha de consulta: 2014_04_14.

Envíe para su revisión

Visite la página <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/index>, inscribese como autor, lector y/o revisor, lea la sección acerca de/envíos en línea, descargue los formatos para el tipo de manuscrito que desea publicar, la carta de presentación y compromiso y remita a serie.zoologica@espe.edu.ec

Wilmer E. Pozo R., Ph. D.

EDITOR Serie Zoológica

Departamento Ciencias de la Vida y de la Agricultura,

Carrera de Ciencias Agropecuarias (IASA I),

Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE,

PO Box 171-5-231-B, Sangolquí - Ecuador.

Versión Digital

Boletín Técnico, Serie Zoológica 17
Publicación Científica Anual
Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE
Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura
Carrera Agropecuaria – IASA I
ISSN: 1390-3004

