

## MANEJO DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN LABORATORIO

Castillo C., Gallegos P., Oña M.

Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina (EESC), Departamento Nacional de Protección Vegetal (DNPV). Panamericana Sur de Quito, km 1.

E-mail: [carmen.castillo@iniap.gob.ec](mailto:carmen.castillo@iniap.gob.ec)

Palabras clave: control biológico, *Steinernema*, *Heterorhabditis*

### INTRODUCCION

Desde el año 2004, el DNPV del INIAP ha trabajado en Nematodos Entomopatógenos (NEPs) de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* para su uso en el control biológico de plagas principalmente de cutzo (*Phyllophaga*) (INIAP 2004), gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) y polilla de la papa (*Tecia solanivora*) (INIAP 2006). En *T. solanivora* se han encontrado mortalidades de 62.2% con *Heterorhabditis* y de 32.7% con *Steinernema*, en laboratorio (Argottiet al. 2010). Durante estos años se han adaptado y desarrollado técnicas de laboratorio para el manejo de NEPs de forma eficiente (INIAP 2006 y Castillo et al. 2010). Técnicas de multiplicación y mantenimiento de estos organismos de control biológico de alto potencial se presentan en este artículo.

Ofrecer metodologías de multiplicación y mantenimiento de NEPs en laboratorio a técnicos agropecuarios, profesores universitarios y estudiantes.

### MATERIALES Y METODOS

Para el aislamiento de NEPs desde el suelo se utilizan insectos trampa y para recuperar los NEPs de estos insectos se utilizan trampas White. Los NEPs en estado de juveniles infectivos (JIs) salen del cadáver del insecto y son retenidos en el agua de la trampa White. En este punto, los NEPs pueden ser contabilizados y almacenados. Para contar los NEPs se afora a un volumen determinado la suspensión de los nematodos, se los contabiliza en 10 µl bajo un estereoscopio y se realizan los cálculos pertinentes. Los NEPs pueden ser almacenados en cajas Petri de 15 cm de diámetro o en otros recipientes en los que se pueda mantener una delgada lámina de agua y que puedan ser tapados ligeramente. En cada recipiente se puede colocar 30 ml de agua destilada con una cantidad de 7200 a 16500 NEPs. Otro método de almacenamiento de NEPs consiste en colocar la suspensión de agua con los nematodos en esponjas cortadas en tiras de aproximadamente 1x1x5 cm. En una funda plástica de 15x15 cm se pueden poner 15 tiras de esponja y 120 ml de agua con una concentración de 68000 NEPs. Las cajas Petri y las fundas con las esponjas deben ser refrigeradas a 4°C. El nivel del agua en las cajas debe ser revisado continuamente y reemplazado de ser necesario. Los NEPs almacenados en cajas pueden permanecer tres meses y en esponjas seis meses. Luego de este periodo los NEPs deben ser renovados en insectos. La renovación y multiplicación de los NEPs tienen un mismo procedimiento, solo varía en la cantidad de larvas de *Galleria mellonella* o de otros

insectos como *Phyllophagasp.* y *Spodopterasp.* Se coloca 1ml de una suspensión que contenga de 200 a 250 JIs sobre un papel filtro en una caja Petri (9cm diámetro) y se colocan 10 larvas de los insectos mencionados. Las cajas no deben sellarse para permitir el intercambio de aire y deben ser envueltas en plástico negro para evitar el paso de la luz y la evaporación del agua. Se deben incubar a 20-24°C por cinco días, luego se deben abrir las cajas para mejorar la aireación y tapar nuevamente pero ya no se debe utilizar el plástico. Dejar por cinco días más las cajas dentro de la incubadora y proceder a la cosecha de los NEPs o a su empleo en el campo.

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

Luego de la prospección de los NEPs en las principales zonas paperas de Ecuador, se seleccionaron los mejores por sus ventajas en su multiplicación en laboratorio y por su efectividad en la mortalidad de las larvas de varios insectos. Los NEPs seleccionados fueron multiplicados y conservados exitosamente en el laboratorio.

## **CONCLUSIONES**

Los métodos de manejo de los NEPs en laboratorio están siendo empleados con éxito y se dispone de una publicación sobre esos procedimientos. Se pueden distribuir NEPs obtenidos en el laboratorio para que los agricultores los multipliquen en composteras.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Argotti E., Gallegos P., Alcázar J. y Kaya H. 2010. Patogenicidad de nematodos entomopatógenos del género *Steinernema* y *Heterorhabditis* sobre larvas de *Tecia solanivora* en Ecuador. Boletín Técnico 9. Serie Zoológica 6: 162-172. Laboratorios IASA I. Sangolquí, Ecuador.
- Castillo C., Gallegos P., Asaquibay C. y Oña M. (editores). 2010. Guía de prospección y producción de nematodos entomopatógenos. INIAP, EESC, Departamento Nacional de Protección Vegetal. Quito. Manual Técnico No.88. 15p.
- INIAP 2004. Control del cutzo (*Phyllophagasp.*) con *Beauveria* y *Metarhiziumsp.* en el cultivo de tomate de árbol. Informe Anual del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Est. Exp. Santa Catalina.
- INIAP 2006. Colección, identificación, patogenicidad y caracterización ecológica de nematodos parásitos de insectos en gusano blanco *Premnotrypes vorax* y polilla guatemalteca *Tecia solanivora* de la papa en Ecuador. Informe Anual del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Est. Exp. Santa Catalina.