

Nemátodos entomopatógenos en el manejo de *Plutella xylostella* L. (palomilla del dorso dorado)

Entomopathogenic nematodes in the management of *Plutella xylostella* L. (Diamondback moth)

M. Sc. Yander Fernández Cancio, Dr. C. Marcos Tulio García González¹, Dr. C. Edilberto Pozo Velázquez², Dr. C. Magda Elena Beltrán Cuenca¹, Dr. C. Deborah Henderson³ y M. Sc. Andrés Torres³

¹ Biofábricas Misiones, Ruta 12, km 7 ½, Misiones, Argentina.

² Universidad de Sancti Spiritus José Martí Pérez. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Cuba, yanderfcuniss@gmail.com

³ Universidad Politécnica de Kwantlen. Instituto de Horticultura Sostenible, Columbia Británica, Canadá

⁴ Dirección Provincial de Genética Médica. Sancti Spiritus, Cuba

⁵ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Departamento de Ciencias Agropecuarias, Módulo Apicultura, México

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Instituto de Horticultura Sostenible de la Universidad Politécnica de Kwantlen, British Columbia, Canadá, con el objetivo de evaluar el efecto de nemátodos entomopatógenos en el manejo de *P. xylostella*. Se utilizaron las cepas *Steinernema feltiae* L. (*Entonem*) y *H. bacteriophora* L. (*Larvanem*) de la compañía Koppert B. V. y una cepa producida por el método artesanal sobre larvas de insectos de la compañía Coopers de *H. bacteriophora*. Las concentraciones utilizadas fueron de 45, 100, 150 y 200 iji/larva/mL. Las semillas de col fueron obtenidas de la empresa West Coast Seeds. Se obtuvo el mejor porcentaje de mortalidad con la cepa de *S. feltiae* a las 96 h con las concentraciones de 200 y 150 iji/larva, y para las cepas de *Heterorhabditis* se alcanzó a las 72 h con 200 y 150 iji/larva.

Palabras claves: *Steinernema feltiae* L., *Heterorhabditis bacteriophora* L., LARVANEM®.

ABSTRACT

This work was carried out at the Institute of Sustainable Horticulture of the Polytechnic University of Kwantlen, British Columbia, Canada, with the objective of evaluating the effect of entomopathogenic nematodes in the management of *P. xylostella*. The strains, *Steinernema feltiae* L. (*ENTONEM*) and *H. bacteriophora* L. (*LARVANEM*) of the company Koppert B. V. and a strain produced by the traditional method on insect larvae of the company Coopers of *H. bacteriophora* were used. The concentrations used were 45, 100, 150 and 200 iji/larva/mL. Cabbage seeds were obtained from the West Coast Seeds company. Among the main results it was obtained that the best percentage of mortality for the *S. feltiae* strain was at 96 hours with the concentrations of 200 and 150 iji/larva and for the strains of *Heterorhabditis* it was reached at 72 hours with 200 and 150 iji/larva.

Key words: *Steinernema feltiae* L., *Heterorhabditis bacteriophora* L., LARVANEM®.

INTRODUCCIÓN

La palomilla del dorso dorado (*Plutella xylostella* L.) se encuentra entre las plagas insectiles más destructivas de las hortalizas crucíferas. En la actualidad representan 2,7 mil millones de dólares en pérdidas anuales de cultivos en todo el mundo, y la mayor parte del daño es causado a plantas como el repollo, col rizada, brócoli y nabo. Los costos de control asociados oscilan entre 1,3 mil millones de dólares y 2,3 mil millones al año como media mundial, y por lo general depende del uso de los insecticidas sintéticos SFIWM-FAO (2015).

La lucha contra *P. xylostella* incluía en un inicio una serie de medidas como insecticidas químicos, de 20 a 30 aplicaciones por ciclos del cultivo y un incremento en el costo de producción entre el 40 y 50 %. Se comenzó además el uso intensivo de medios biológicos, como *Beauveria bassiana* Balsame y bacterias entomopatógenas (*Bacillus thuringiensis* (Bt) y *Xenorhabdus nematophila*), aisladas de nemátodos entomopatógenos, de alta virulencia para este insecto (Nangong *et al.*, 2016).

El uso de los nemátodos entomopatógenos (NP) se extendió a diferentes áreas productivas, según reportes de Nyasani *et al.* (2008) debido al auge en las investigaciones relacionadas con su empleo de los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* en el manejo integrado con estudios de prospección y tecnologías de aplicación para el control de insectos como *Cosmopolites sordidus* Germar, *Cylas formicarius* Fabricius, *Plutella xylostella* Linnaeus, *Trichoplusia ni* Hubner, *Heliothis virescens* Fabricius, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith y *Spodoptera exigua* Hubner, *Pachnaeus litus* Germar, *Helicoverpa zea* Boddie, *Hypothenemus hampei* Ferrari y *Aphis gossypii* Glover, incrementado la aceptación por parte de los productores (Rodríguez *et al.*, 2012).

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en casas de cultivos del Instituto de Horticultura Sostenible (IHS) de la Universidad Politécnica de Kwantlen, British Columbia, Canadá. Las especies utilizadas fueron *Steinernema feltiae* L. (nombre comercial Entonem) y *H. bacteriophora* L. (nombre comercial Larvanem) de la compañía Koppert B. V., y *H. bacteriophora* producida por el método artesanal sobre larvas de insectos de la compañía Coopers. El diseño metodológico de la investigación se estructuró en fases que dieron salida cronológicamente y de manera sistémica a los objetivos específicos del estudio, empleándose los siguientes métodos de investigación:

- La observación.
- La medición.
- El experimento.

Las concentraciones de nemátodos se calcularon por medio de las fórmulas de Woodring y Kaya (1988):

$$S = N \frac{1}{M} (x + 1)$$

donde:

N: Número de nemátodos observados por conteo bajo el estereoscopio.

M: Número de mililitros en que se llevó a cabo el conteo.

X + 1: Factor de disolución.

S: Concentración (nemátodos/mL) de la solución inicial.

Para el ajuste de las concentraciones se realizaron evaluaciones de viabilidad antes de las aplicaciones. Se colocó una planta de col (*Brassica oleracea* var. Capitata) variedad Charmant (con cinco y seis hojas verdaderas) dentro de una jaula antiáfidos (1600 cm² de base cuadrada y 80 cm de altura,) e infestaron con cinco larvas de *P. xylostella*.

Las semillas fueron obtenidas de la empresa West Coast Seeds y utilizó un sistema de riego y fertilización por goteo. Se aplicaron cuatro concentraciones de las tres especies en estudio con tres réplicas por tratamiento, donde cada planta representa una réplica en un diseño completamente aleatorizado con evaluaciones a las 24, 48, 72 y 96 h, determinando las larvas vivas y muertas.

Luego de montado en trampas White (Woodring and Kaya, 1988) se le realizó la necropsia al 15 % de los cadáveres para verificar la muerte de los mismos por nemátodos entomopatógenos (NEP). Las concentraciones utilizadas fueron 45, 100, 150, 200 iji/larva y un control absoluto.

Al porcentaje de mortalidad de las larvas del insecto por la cepa de *S. feltiae* se realizó Anova simple, y para las muertes por las cepas de *H. bacteriophora* se realizó un análisis bifactorial, donde se estableció una comparación entre las medias de la interacción entre las cepas y las concentraciones.

En los análisis estadísticos se tuvo en cuenta que se cumpliera el supuesto de normalidad por Kolmogorov Smirnov y homogeneidad de varianzas por la prueba de Levene. Estos análisis se realizaron en el paquete estadístico SPSS versión 11.5 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de mortalidad de las larvas a las 24 h con la cepa de *S. feltiae* (Tabla 1) muestra que las concentraciones de 150 y 200 iji/larva tuvieron diferencias estadísticas con las en estudio, pero a partir de las 48 h el tratamiento con 45 iji/larva fue inferior significativamente a los demás tratamientos.

En la investigación se alcanzó más del 50 % de mortalidad a partir de las 72 h con todos los tratamientos, lo cual refiere la virulencia del entomopatógeno utilizado.

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad de las larvas de *P. xylostella* por el efecto de *S. feltiae*

Table 1. Percentage of mortality of *P. xylostella* larvae for the effect of *S. feltiae*

<i>h</i>	<i>Evaluaciones</i>			
	<i>24 horas</i>	<i>48 horas</i>	<i>72 horas</i>	<i>96 horas</i>
45 iji/larva	29,32 c	42,56 b	78,56 b	85,00 b
100 iji/larva	48,36 b	57,30 ab	89,62 a	90,87 ab
150 iji/larva	58,95 a	64,58 a	95,30 a	99,42 a
200 iji/larva	62,36 a	67,80 a	95,65 a	98,81 a
EE (±)	0,17	0,58	0,96	0,12
CV (%)	5,65	2,65	1,36	4,35

Letras desiguales en una misma columna difieren para Tukey $p \leq 0,05$.

Uneven letters in the same column differ for Tukey $p \leq 0.05$.

El efecto de los nemátodos de las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae para el control de *P. xylostella* han sido reportados por diferentes autores (Zolfagharian *et al.*, 2016; Nangong, 2016; y Figueiroa *et al.*, 2019) como altamente virulentos y efectivos para el control de esta especie de insecto.

Estos resultados no coinciden con lo informado por Sáenz (2012), quien con dosis entre 100 y 300 iji/larva demostró la relativa rapidez que estos entomopatógenos causan la muerte a los insectos hospedantes entre 24 y 48 h, además de la alta variabilidad, acción que ha despertado gran interés en su uso, como control biológico y manejo integrado de plagas.

En un estudio realizado por Figueiroa *et al.* (2019) con cepas nativas de nemátodos de las especies *S. carpocapse*, *H. amazonensis*, *Heterorhabditis* spp., *S. brasiliense* y cepas exóticas *S. feltiae* y *H. bacte-*

riophora demostraron que todas presentaron patogenicidad, multiplicándose eficazmente en larvas de tercer y cuarto instar de *P. xylostella*.

El análisis estadístico del porcentaje de mortalidad de las larvas de *P. xylostella* a las 24 h con las cepas de *H. bacteriophora* mostró diferencias para las combinaciones de las cepas con las concentraciones, y entre las concentraciones las cepas no tuvo diferencias entre ellas. Las interacciones entre cepas y concentraciones de mayor porcentaje de mortalidad fueron Larvamen + 200 iji/larva, así como 200 y 150 iji/larva para *H. bacteriophora* artesanal (Tabla 2). La concentración con mayor porcentaje de larvas muertas lo alcanzó 200 iji/larva con diferencia estadística con el resto, seguido del tratamiento con 150 iji/larva. La concentración de menor porcentaje de mortalidad para ambas cepas fue de 45 iji/larvas.

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad de las larvas de *P. xylostella* por el efecto de *H. bacteriophora* a las 24 h

Table 2. Percentage of mortality of *P. xylostella* larvae for the effect of *H. bacteriophora* at 24 h

<i>Concentración</i>	45	100	150	200		
<i>Mortalidad de larvas P. xylostella 24 h</i>						
<i>Cepas</i>					<i>Media cepa</i>	<i>Error típico</i>
Larvamen	33,58 E	42,62 D	48,30 B	52,95 AB	47,65 a	
<i>H. bacteriophora</i> artesanal	36,54 E	51,36 C	53,62 AB	58,36 A	50,13 a	
Media concentración	34,62 d	46,74 c	51,95 b	63,56 a	52,23	0,056
Error típico	0,023				0,020	
CV (%)						3,68

Letras mayúsculas desiguales para las medias de las interacciones difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey.

Letras minúsculas desiguales en la fila para las medias de las concentraciones difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey.

Letras minúsculas desiguales en la columna para las medias de las cepas difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey.

Uneven uppercase letters for the means of the interactions differ for $p \leq 0.05$ according to Tukey's multiple range test.

Uneven lowercase letters in the row for the means of the concentrations differ for $p \leq 0.05$ according to Tukey's multiple range test.

Uneven lowercase letters in the column for the means of the strains differ for $p \leq 0.05$ according to Tukey's multiple range test.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en otros estudios, donde también han reportado la eficacia de diferentes NEP de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* contra larvas de *P. xylostella*, demostrados por autores como Vashisth *et al.* (2017).

A las 48 h de aplicados los nemátodos no hubo diferencias estadísticas en el porcentaje de mortalidad entre las cepas en estudio (Tabla 3), pero las combinaciones

de las dos cepas con las concentraciones 200, 150 y 100 iji/larva fueron significativamente superiores a combinaciones con 45 iji/larva. La concentración de 45 iji/larva fue la de menor porcentaje de mortalidad con diferencias estadísticas con el resto. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Nyasani *et al.* (2008) en el control de *P. xylostella*, quien obtuvo con nemátodos entomopatógenos solo un 87 % de mortalidad a los cinco días de la aplicación.

Tabla 3. Porcentaje de mortalidad de las larvas de *P. xylostella* por el efecto de *H. bacteriophora* a las 48 h

Table 3. Percentage of mortality of *P. xylostella* larvae for the effect of *H. bacteriophora* at 48 h

Concentración	45	100	150	200		
<i>Mortalidad de larvas P. xylostella 48h</i>						
Cepas					Media cepa	Error típico
Larvamen	53,98 B	74,65 AB	83,16 A	86,63 A	75,12 a	
<i>H. bacteriophora</i> artesanal	49,75 B	76,69 AB	86,41 A	88,52 A	77,36 a	
Media concentración	52,36 b	74,96 ab	85,36 a	87,21 a	75,89	0,001
Error típico	0,048				0,013	
CV (%)						2,97

Letras mayúsculas desiguales para las medias de las interacciones difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey. Letras minúsculas desiguales en la fila para las medias de las concentraciones difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey. Letras minúsculas desiguales en la columna para las medias de las cepas difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey. Uneven uppercase letters for the means of the interactions differ for $p \leq 0,05$ according to Tukey's multiple range test. Uneven lowercase letters in the row for the means of the concentrations differ for $p \leq 0,05$ according to Tukey's multiple range test. Uneven lowercase letters in the column for the means of the strains differ for $p \leq 0,05$ according to Tukey's multiple range test.

A las 72 h se observó que no hubo diferencias estadísticas en las medias de las cepas por el porcentaje de mortalidad de las larvas de la polilla de la col (Tabla 4) pero sí en las concentraciones y en las combinaciones de estas con las cepas. Las combinaciones Larvamen y *H. bacteriophora* artesanal con 200 y 150 iji/larva

fueron las de mayor porcentaje de mortalidad con diferencias significativas con el resto.

La concentración con menor porcentaje de mortalidad fue la de 45 iji/larva con diferencias estadísticas con las demás concentraciones en estudio.

Tabla 4. Porcentaje de mortalidad de las larvas de *P. xylostella* por el efecto de *H. bacteriophora* a las 72 h

Table 4. Percentage of mortality of *P. xylostella* larvae for the effect of *H. bacteriophora* at 72 h

Concentración	45	100	150	200		
Cepas					Media cepa	Error típico
Larvamen	78,85 C	88,63 BC	97,65 A	99,45 A	92,65	
<i>H. bacteriophora</i> artesanal	78,01 C	89,35 BC	99,56 A	99,52 A	93,86	
Media concentración	78,03 b	88,69 a	98,01 a	99,33 a	92,02	0,038
Error típico	0,013				0,051	
CV (%)						0,87

Letras mayúsculas desiguales para las medias de las interacciones difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey. Letras minúsculas desiguales en la fila para las medias de las concentraciones difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey. Letras minúsculas desiguales en la columna para las medias de las cepas difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey. Uneven uppercase letters for the means of the interactions differ for $p \leq 0,05$ according to Tukey's multiple range test. Uneven lowercase letters in the row for the means of the concentrations differ for $p \leq 0,05$ according to Tukey's multiple range test. Uneven lowercase letters in the column for the means of the strains differ for $p \leq 0,05$ according to Tukey's multiple range test.

Este resultado a las 72 h está determinado por el desarrollo fisiológico de la plaga, ya que el mayor porcentaje de las larvas se encontraban en el instar cuatro, y el volumen de hoja defoliada era mayor, por tanto la exposición al nemátodo fue superior, y en consecuencia los valores de mortalidad son altos. El valor obtenido en este experimento coincide con los valores porcentuales del 80 % a las 72 h, alcanzados por Rodríguez (2012) en investigaciones con las especies *Heterorhabditis* sp. y *Steinernema* spp.

Resultados más recientes de Zolfagharian *et al.* (2016) demuestran una alta mortalidad de larvas de *P. xylostella* (72,6-96 %), por las especies *S. carpocapsae* y *H. bacteriophora* en experimentos de laboratorio.

Tolera *et al.* (2016) evaluaron tres aislamientos de *Steinernema* y dos de *Heterorhabditis* sobre este lepidóptero, y todos causaron infección y mortalidad sobre larvas L3 a las 24 h, y el mayor porcentaje de mortalidad fue registrado a las 72 h después de

aplicado el tratamiento en todos los aislamientos. Sin embargo, se observaron diferencias significativas entre los aislados de nemátodos entomopatógenos en relación con el porcentaje de mortalidad y el tiempo necesario para matar a las larvas.

En la evaluación, a las 96 h no hubo diferencias estadísticas para las concentraciones y cepas en estudio solo en la combinación de Larvanem + 45 iji/larva, la cual fue la de menor porcentaje de mortalidad, presentando diferencias con el resto (Tabla 5). Según Georgis y Hague (2009), la simbiosis del nemátodo posibilita la protección de la bacteria ambiental y destrucción del sistema inmune del insecto con la producción de toxinas extracelulares, garantizando de esta forma el desarrollo bacteriano independientemente de las concentraciones utilizadas. Otros autores como Vashisth *et al.* (2017) indican que además de las cualidades intrínsecas de los NEP, la eficacia de estos está influenciada por la concentración aplicada.

Tabla 5. Porcentaje de mortalidad de las larvas de *P. xylostella* por el efecto de *H. bacteriophora* a las 96 h

Table 5. Percentage of mortality of *P. xylostella* larvae due to the effect of *H. bacteriophora* at 96 h

Concentración	45	100	150	200		
<i>Mortalidad de larvas P. xylostella 24 h</i>						
Cepas					<i>Media cepa</i>	<i>Error típico</i>
Larvamen	89,36 B	97,53 A	99,30 A	99,00 A	95,70	
<i>H. bacteriophora</i> artesanal	93,74 AB	96,63 A	98,49 A	99,09 A	96,53	
Media concentración	91,21 a	96,06 a	99,35 a	99,00 a	96,08	0,003
Error típico	0,007				0,038	
CV (%)						3,85

Letras mayúsculas desiguales para las medias de las interacciones difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey.

Letras minúsculas desiguales en la fila para las medias de las concentraciones difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey.

Letras minúsculas desiguales en la columna para las medias de las cepas difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Tukey.

Uneven uppercase letters for the means of the interactions differ for $p \leq 0.05$ according to Tukey's multiple range test.

Uneven lowercase letters in the row for the means of the concentrations differ for $p \leq 0.05$ according to Tukey's multiple range test.

Uneven lowercase letters in the column for the means of the strains differ for $p \leq 0.05$ according to Tukey's multiple range test.

CONCLUSIONES

- El mejor porcentaje de mortalidad de *S. feltiae* fue a las 96 h con las concentraciones de 200, 150 y 100 iji/larva.
- Las cepas de *Heterorhabditis* alcanzaron el mejor porcentaje de mortalidad a las 72 h con 200 y 150 iji/larva.

REFERENCIAS

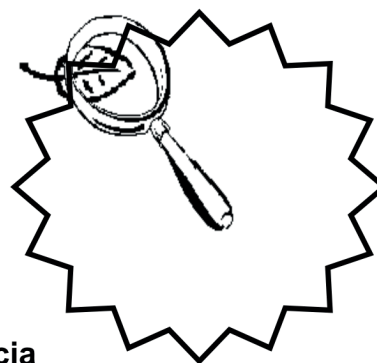
- Figueiroa L. E., Predes R. C., Molina J. P., Negrisoli A. S., Paz E. R., Gonzaga E. P. y López D.J., 2019. Patogenicidad y multiplicación de aislados de nemátodos entomopatógenos para el control de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae). *Revista Chilena de Entomología*. 45 (1) 15-20.
- Georgis R. y Hague N.G., 2009. Nematodes as biological insecticides. *Pesticides Outlook*.(2), 29-32.
- Nangong Z., Wang Q., Song P., Hao J., Yang Q. y Wang L., 2016. Synergism between *Bacillus thuringiensis* and *Xenorhabdus nematophila*

- against resistant and susceptible *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Biocontrol Science and Technology*. 26 (10), 1411-1419.
- Nyasani J. O., Kimenju F.M., Olubayo S. I., Shibairo A., Wilson M., 2008. Laboratory and field investigations using indigenous entomopathogenic nematodes for biological control of *Plutella xylostella* in Kenya. *International Journal of pest management*. 54 (4), 355-361.
- Rodríguez M., Hernández D., Gómez L., 2012. Nematodos entomopatógenos: elementos del desarrollo histórico y retos para su consolidación como biorreguladores en la agricultura en Cuba. *Revista Protección Vegetal*. 27 (3), 137-146. 2012.
- The State of Food Insecurity in the World Meeting the 2015 international hunger targets (SFIWM): taking stock of uneven progress Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Tolera G. T., Hailu M., Dawd M., Negeriand T. y Selvara J., 2016. Evaluation of entomopathogenic nematodes against Diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) on Cabbage under Laboratory and Glasshouse Conditions. *Journal of Agricultural Technology*. 12(5), 879-891.
- Vashisth S. Y., Chandel R., Chandeland P., Sharma S., 2017. Pathogenicity of *Heterorhabditis* nematodes isolated from north-western Himalaya against the larvae of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *International journal of entomology*. 53(3), 373
- Woodring J. L. y Kaya H.K., 1988. *Steinernematid* and *Heterorhabditid* nematodes. *A Handbook of Biology and Technique*. 331, 32.
- Záens A., 2012. Susceptibilidad de *Plutella xylostella* L. a *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Revista Colombiana Entomología*.
- Zolfagharian M., Saeedizadeh A. y Abbasipour H., 2016. Efficacy of two entomopathogenic nematode species as potential biocontrol agents against the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Journal of Biological Control*. 30 (2), 78-83.

MUCHAS VEGES SOLO SE NECESITA UN DETALLE

¡LA CLAVE DE SU INVESTIGACIÓN!

Centro de información
y Documentación de Sanidad Vegetal
CIDISAV-INISAV



- Consulta en sala de lectura y de referencia
- Préstamo interno e interbibliotecario
- Edición de publicaciones científico-técnicas
- Búsqueda bibliográfica automatizada
- Diseminación selectiva de la información