

AISLAMIENTO DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN ÁREAS DE BUENAVENTURA, VALLE DEL CAUCA, COLOMBIA

Alberto A. Méndez Barceló,¹ Glosby Olaya Riascos² y Ana Milena Caicedo Vallejo³

¹ Universidad de Las Tunas. Ave. Carlos J. Finlay s/n, Buenavista, Las Tunas, Cuba, mendez@ult.edu.cu

² Universidad del Pacífico. Ave. Simón Bolívar no. 54A-10, Los Laureles, Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia

³ Universidad del Valle. Calle 13 no. 100-00, Santiago de Cali, Colombia

RESUMEN

Se realizó un estudio para identificar nematodos entomopatógenos en tres localidades del distrito especial Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia (Cisneros, Córdoba y Llano Bajo), y se utilizó la técnica de insecto-trampa con larvas de *Galleria mellonella* (L.). Los nematodos entomopatógenos aislados se inocularon nuevamente en larvas de *G. mellonella* con el propósito de evaluar su patogenicidad y obtener muestras para su identificación a nivel de género. Se detectaron nematodos entomopatógenos en el 36,84 % de las muestras, y se identificó solo el género *Steinernema*. Los nematodos aislados en las tres localidades causaron el 100 % de mortalidad en las larvas de *G. mellonella* a las 48 h. Los resultados indican que el género *Steinernema* se encuentra presente en las tres localidades de Buenaventura. Este resultado abre posibilidades para su evaluación y posterior uso en programas de manejo integrado de insectos plaga de importancia económica en la región.

Palabras claves: nematodos, entomopatógenos, *Steinernema*

ABSTRACT

A study to identify entomopathogenic nematodes in three localities of the special district of Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia (Cisneros, Córdoba, Llano Bajo) was conducted, and the technique of insect-trap with larvae of *Galleria mellonella* (L.) was used. The isolated entomopathogenic nematodes were inoculated again in larvae of *G. mellonella* in order to assess its pathogenicity and to obtain samples for his identification to genus level. Entomopathogenic nematodes were detected in 36.84 % of samples and only genus *Steinernema* was positive in identification. Isolated nematodes of three localities caused 100 % mortality in the larvae of *G. mellonella* at 48 hours. Results indicate that the genus *Steinernema* is present in the three locations of Buenaventura. This result opens possibilities for evaluation and subsequent use in integrated management programs of insect pests with economic importance in the region.

Key words: nematodes, entomopathogenic, *Steinernema*

INTRODUCCIÓN

Los nematodos entomopatógenos constituyen importantes agentes para el control biológico de insectos plaga en cultivos de importancia, y son herramientas promisorias en los programas de Manejo Integrado de Plagas [Kaya, 1985; Stock, 1998].

Varios cultivos que contribuyen a la seguridad alimentaria en la costa pacífica colombiana son atacados por diferentes especies de insectos, donde se destacan los coleópteros esencialmente de la familia *Curculionidae* [Constantino *et al.*, 2003].

Dado que las medidas de control que en la actualidad y en las localidades donde se realizó la experiencia se

desarrollan con el uso indiscriminado de insecticidas químicos y contribuyen al desequilibrio ecológico con afectaciones para la salud de los agricultores y de los consumidores [Peña *et al.*, 2002; Constantino *et al.*, 2003], se justifica el uso de nematodos entomopatógenos como agentes de control biológico que pueden minimizar la utilización de agroquímicos.

El uso de nematodos para el control de plagas de interés agroeconómico ha sido probado ampliamente [Bedding y Millar, 1981; García-Roa *et al.*, 1993 citados por Rosales y Suárez, 1998]; sin embargo, es imprescindible desarrollar estudios de aislamiento y reconoci-

miento de los géneros y especies nativas de forma regionalizada para su posterior utilización en acciones de control biológico en las localidades agrícolas del distrito Buenaventura, de interés para la seguridad alimentaria de esa región donde solo se emplean productos químicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de suelo se tomaron en tres localidades del distrito especial portuario Buenaventura, Valle del Cauca (Cisneros, Córdova y Llano Bajo), en áreas de 10 000 m² representadas por policultivos. En Cisneros la composición florística estuvo integrada por chontaduro (*Bactris gasipaes* H. B. K.), papachina (*Coloasia esculenta*, Schott), plátano (*Musa* sp.), árbol del pan (*Artocarpus* sp.) y especies frutales y forestales. En la localidad de Córdova los cultivos presentes correspondieron a yuca (*Manihot sculenta*, Krantz), plátano (*Musa* sp.), chontaduro (*B. gasipaes*). El área muestreada en Llano Bajo presentó una asociación de chontaduro (*B. gasipaes*) y borojó (*Borojoa patinoi*, Cuatr.).

El clima, según González *et al.* (2009), en todas las áreas es de bosque tropical húmedo con temperatura anual media de 28 °C y precipitaciones acumuladas de 7000 mm en el año. La altura sobre el nivel del mar es de 0,2 m.

Los muestreos del suelo se realizaron de agosto a diciembre de 2007. En cada área de muestreo (10 000 m²) se tomaron 50 muestras de suelo con un barreno sacabocado tipo California de 10,5 cm de diámetro, a profundidades de 0-20 cm en las diagonales del campo y en forma de zigzag. Las muestras de 1 kg de cada punto se mezclaron y luego se tomaron 2 kg para continuar el proceso según el método propuesto por García *et al.* (1979). Después de cada toma de muestra, el barreno se limpió y lavó con agua. Se tomaron además 10 muestras de material orgánico en descomposición proveniente del estipe de plantas muertas de chontaduro. Las muestras se situaron en bolsas plásticas debidamente rotuladas y se conservaron en neveras de icopor. En laboratorio se mantuvieron durante 12 h a 5 °C hasta su procesamiento.

La fase de laboratorio se desarrolló en las instalaciones de producción de microorganismos para el control de plagas y enfermedades del Laboratorio Bioecológico en la ciudad de Palmira, Valle del Cauca, con temperatura media de 23 °C y Hr del 65 %.

Para la recuperación de los nematodos entomopatógenos se utilizaron larvas del último instar de *G. mellonella* criadas a base de dieta artificial.

Las muestras mezcladas de cada área se dividieron en seis submuestras de 300 g, las que se situaron en recipientes plásticos de 500 mL de capacidad y se humedecieron con agua destilada en los que se introdujeron 10 larvas del último instar de *G. mellonella*. Los recipientes se taparon y se cubrieron con una tela negra para proporcionar oscuridad durante cinco días.

Las larvas muertas o con síntomas de infección por nematodos adquirieron una coloración crema y textura flácida, lo que coincide con lo informado por Boemare (2002). Se retiraron y colocaron en cámara húmeda hasta que se observó la presencia de los nematodos. Posteriormente se llevaron a trampas White y colectadas en los tres primeros días. Se lavaron mediante decantaciones sucesivas y conservaron en formaldehído al 0,01 % a 4 °C. La metodología para la identificación del género fue la propuesta por Poinar (1990) y Byron y Khuong (2002), basada esencialmente en la descripción y comparación morfológica y dimensiones del aparato reproductor, esófago, labios, cola, ano y otras estructuras.

La evaluación de la mortalidad se desarrolló mediante la inoculación de 60 larvas de *G. mellonella* con concentraciones de 200, 400 y 600 nematodos/mL, en placas Petri sobre papel de filtro humedecido con 1 mL de agua destilada. Las larvas se trasladaron a la trampa White y se cuantificaron las larvas muertas a las 24 y 48 h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las localidades de Cisneros, Córdova y Llano Bajo fue detectado el género *Steinernema* en el 39,77 % de las muestras (Tabla 1).

El mayor porcentaje de muestras positivas para nematodos del género *Steinernema* se corresponden con las localidades de Córdova (50 y 30 %) y Cisneros (30 y 33,33 %). En estos sitios las muestras de suelo fueron colectadas en sistemas agroforestales, donde se presume que existe mayor conservación del suelo como consecuencia de la asociación de diversas especies en el agroecosistema, que confieren similitudes con el bosque natural, mientras que en la localidad de Llano Bajo las muestras de suelo y de material orgánico de estipe en descomposición se colectaron en un agroecosistema con menor diversidad (borojó y chontaduro). Según Gyayetto y Chichon (2006), en los sitios con menor degradación hay mayor presencia de nematodos del género *Steinernema*, lo que coincide con los resultados encontrados en el presente trabajo.

Tabla 1. Ocurrencia de nematodos del género *Steinernema* en las tres localidades donde se realizaron los muestreos en el distrito Buenaventura

Sitio	Aislamiento	Número de muestras		
		Evaluadas	Positivas	%
Cisneros	1	6	2	33,33
	2	10	3	30,00
Córdova	1	6	3	50,00
	2	10	3	30,00
Llano Bajo	1	6	1	16,60
	2	10	2	20,00
Totales		38	14	36,84

1: Muestras de suelo, 2: Muestras de estipe de chontaduro en descomposición

La ocurrencia del 36,84 % de nematodos del género *Steinernema* en las muestras de suelo y estipes de chontaduro en descomposición indican una significativa incidencia de estos organismos en sistemas de cultivos tradicionales en la zona rural de Buenaventura. Esa incidencia es superior a la encontrada por otros autores en Colombia, como Caicedo *et al.* (2004), que informaron el 5,1 %; Hernández *et al.* (2005) encontraron el 7,8 %, y Rosales y Suárez (1998) informaron en Venezuela el 8,3 % de ocurrencia de nematodos entomopatógenos. Es importante considerar que los porcentajes de distribución encontrados en el presente trabajo son inferiores a los observados en Alemania con el 38 % y Gran Bretaña con el 48 %, de acuerdo con lo informado por Hominick (2002). Es probable que se deba a que algunos estudios realizados muestran que el género *Steinernema* es frecuente en climas fríos y templados.

Así, el género se ha reportado en China [Qiu *et al.*, 2005], Bélgica [Ansari *et al.*, 2005], Japón [Long *et al.*, 2006], en Canadá [Simard *et al.*, 2007] y también está informado en zonas tropicales [Hazir *et al.*, 2003].

Todos los nematodos encontrados en las muestras de las tres localidades se correspondieron con el género *Steinernema* y coinciden con las descripciones informadas para este género por Stock (1998) y Stock y Hunt (2005), según lo informado por Stock (1998) y Stock y Hunt (2005). Los ecotipos aislados fueron codificados de acuerdo con el sitio donde se colectaron y el año: SCISB-07 (*Steinernema* sp. Cisneros), SCORB-07 (*Steinernema* sp. Córdova), SLLAB1-07 (*Steinernema* sp. Llano Bajo). Todas las dosis utilizadas (200, 400 y 600 nematodos/mL) ocasionaron el 100 % de mortalidad de larvas de *G. mellonella* a las 48 h posteriores a la inoculación (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad de larvas del último instar de *G. mellonella* inoculadas con los nematodos aislados (60 larvas de *G. mellonella*)

Ecotipos	Dosis (Nematodos/mL)			Mortalidad (%)
	200	400	600	
SCISB-07	60	60	60	100
SCORB-07	60	60	60	100
SLLAB1-07	60	60	60	100
SLLAB2-07	60	60	60	100

La textura de los suelos donde se desarrollaron los nematodos entomopatógenos en las tres áreas muestreadas era arcilloso. Resultados similares en ese sentido encontraron Rosa *et al.* (2000) en las islas Azores, y Rolston *et al.* (2005) en Indonesia; sin embargo, Kaya (1990) afirmó que en suelos arcillosos los juveni-

les no prosperan. En la mayoría de los casos se han aislados nematodos entomopatógenos en suelos con contenido bajo de arcillas [Hominick y Briscoe, 1990; Griffin *et al.*, 1994]. Los resultados encontrados en este trabajo indican que en zonas de la región pacífica vallecaucana la textura del suelo no parece ser un fac-

tor que determine de forma directa la presencia o ausencia de nematodos entomopatógenos.

Las muestras fueron tomadas a una profundidad de 0 a 20 cm, donde existe una gran dinámica de la materia orgánica por los aportes de biomasa que hacen los árboles al suelo y la rápida descomposición favorecida por la alta humedad y la temperatura. Otros autores [Kaya, 1990; Portillo *et al.*, 2000 y Molina y López, 2002] aducen que la supervivencia de los nematodos entomopatógenos es menor en suelos orgánicos cuando poseen alto contenido de arcilla, aspecto que no coincide con los resultados en esta in-

vestigación, lo que puede deberse a que la composición y textura del suelo no son los únicos elementos del agroecosistema que pueden influir en los niveles de su supervivencia. Las muestras obtenidas en estipes de chontaduro en descomposición tuvieron un contenido alto de materia orgánica (88 %) en la localidad de Cisneros, mientras que las muestras en la localidad de Córdova contenían solo el 39 % (Tabla 3). A pesar de la notable diferencia en el contenido de materia orgánica en los suelos de ambas localidades, el mayor número de muestras positivas se encontró en la localidad de Córdova.

Tabla 3. Características del suelo en los sitios muestreados

Sitios	pH	Temperatura (°C)	Textura	Materia orgánica (%)	Humedad (%)
Cisneros	5,2	26	Arcilloso	88	30
Córdova	4,5	26	Arcilloso	39	61,4
Llano Bajo	5,5	28	Arcilloso	32	38

La temperatura también es una variable que puede limitar la permanencia de los nematodos. Según Haukeland *et al.* (1992), el rango de temperatura óptima para el desarrollo de los nematodos entomopatógenos en *G. mellonella* difiere de acuerdo con las especies. *S. feltiae* es favorecida por rangos de temperatura de 6 a 27 °C, mientras que *S. capocapsae* posee mayor desarrollo entre 14 y 32 °C.

Kung *et al.* (1990) y Koppenhofer *et al.* (2006) encontraron que los nematodos del género *Steinernema* sobreviven en suelos con baja humedad. Las muestras de suelo en la localidad de Córdova con alta humedad presentaron un elevado nivel poblacional de nematodos en el suelo.

Los rangos de variación del pH en las muestras positivas varió entre 4,5 y 5,5, aspecto que coincide con lo encontrado en otros trabajos, donde la variación fue de 4,6 a 8,0 [Hara *et al.*, 2002; Griffin *et al.*, 1994].

CONCLUSIONES

- Se aisló el género *Steinernema* en tres localidades rurales del municipio de Buenaventura, Valle del Cauca, lo que constituye un nuevo informe para la nematofauna colombiana.
- Los mayores niveles de población del género *Steinernema* muestreados se encontraron en las localidades de Córdova y Cisneros.

- Los nematodos nativos del género *Steinernema* encontrados en las tres localidades de Buenaventura ocasionaron el 100 % de mortalidad.

REFERENCIAS

Ansari, M. A.; L. Waeyenbergen; M. Moens: «First Record of *Steinernema glaseri* Steiner, 1929. (Rhabditida: Steinernematidae) from Belgium: a Natural Pathogen of *Hoplia philanthis* (Coleoptera: Scarabidae)», *Nematology* 7 (6): 953-956, Inglaterra, 2005.

Boemare, N.: *Biology, Taxonomy and Systematic of Photorabdus and Xenorhabdus, Entomopathogenic Nematology*, New Jersey, Rutgers University, EE. UU., 2002, pp. 35 y 36.

Byron, J. A.; B. N. Khuong: *Entomopathogenic Nematology. Taxonomy and Systematics*, CAB International, Entomology and Nematology Department, University of Florida, EE. UU., 2002.

Caicedo, A. M.; H. Trujillo; M. P. Quintero; P. Calatayud; A. Bellotti: «Reconocimiento de nematodos entomopatógenos asociados a *Cyrtoneus bergi* en tres localidades de Colombia», *Memorias del XXXI Congreso de La Sociedad Colombiana de Entomología*, julio 26-30, Bogotá, Colombia, 2004.

Constantino, L. M.; S. H. Caicedo; C. A. Torres: «Manejo integrado del barrenador del fruto del chontaduro *Palmelampus heirichi* con pequeños productores del municipio de Guapi-Cauca», *Fundación Levante en marcha, PRONATTA, Informe Técnico*, Cali, 2003.

García, O. T.; Fernández, E. G.; A. Schesteporov: «Indicaciones metodológicas para la detección y evaluación de las infestaciones de nematodos parásitos en cultivos agrícolas», *Información Técnica*, año II, no. 4, Inisav, La Habana, 1979.

González, R. T.; D. Torres; V. H. Moreno; F. Molineros: «Viveros del Pacífico», *Agrupación de Viveristas del Consejo Comunitario del Alto y medio río Dagua. Universidad del Pacífico- Fundación Danza & Vida-Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca*, 2009.

Griffin, C. T.; S. A. Joyce; I. Dix; A. M. Burnell; M. J. Downes: «Characterization of Heterorhabditis (Nematoda: Heterorhabditidae) for Ireland

- and Britain by Molecular and Cross-Breeding Techniques and the Occurrence of the Genus in These Islands», *Fundamental and Applied Nematology* 17: 245-243, Inglaterra, 1994.
- Gyayetto, A. L.; L. I. Chichon: «Distribución, gama de huéspedes y especificidad de cinco poblaciones de *Heterorhabditis* (Nematoda: Heterorhabditidae) del Alto Valle del Río Negro y Neuquén, Argentina», *RIA*. 35 (2): 163-183, INTA, Argentina, 2006.
- Hara, A. H.; R. Gugler; H. K. Kaya; L. M. Lebeck: «Natural Populagtikons of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae) from the Hawaiian Islands», *Environmental Entomology* 17: 211-216, EE. UU., 2002.
- Haukeland, S.; A. Otto; N. Hauge: «The Effect of Temperature on the Efficacy of Steinernematid and Heterorhabditid Nematodes», XXV Annual Meeting Society for Invertebrate Pathology, Heidelberg, 1992, p. 98.
- Hazir, S.; K. Nevin; S. P. Stock; H. K. Kaya; O. Servent: «Diversity and Distribution of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Turkey», *Biodiversity and Conservation* 12: 375-386, Alemania, 2003.
- Hernández, P.; J. Alcázar; S. Garcés; P. Gallegos: «Prospección de nematodos entomopatógenos para el control del gusano blanco *Prenotrypes vorax* (Hustache) (Coleoptera:Curculionidae) en Ecuador», http://www.redpav-fpolar.info.ve/ventomol/v_13-2/132b0002, 2005.
- Hominick, W. M.; M. Bricoe: «Occurrence of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae) in British soils», *Parasitology* 100: 295-302, Inglaterra, 1990.
- Hominick, W. M.: «Biogeography», *Entomopathogenic Nematology*, CAB International, New Jersey, Rutgers University, EE. UU., 2002, pp. 115-143.
- Kaya, H. K.: «Entomogenous Nematodes for Insect Control in IPM Systems», *Biological Control in Agricultural IPM Systems*, Academic Press, Nueva York, 1985, pp. 283-302.
- Kaya, H. K.: «Soil Ecology», *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*, CRC Press, Boston, EE. UU., 1990, pp. 923-1011.
- Koppenhofer, A. M.; H. K. Kaya; S. P. Taormino: «Infectivity of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae) at Different Soil Depths and Moistures», *Journal Invertebrate Pathology* 65: 193-199, Holanda, 2006.
- Kung, S. P.; R. Gaugler; H. K. Kaya: «Influence of Soil pH and Oxygen on Persistence of *Steinernema* spp.», *Journal of Nematology*, Lakeland 22 (4): 440-445, EE. UU., 1990.
- Long, K. P.; S. Takemoto; K. Futai: «*Steinernema ashiuenses* sp. n (Nematoda:Steinernematidae) a New Entomopathogenic Nematode from Japan», *Nematology* 8 (5): 681-690, Inglaterra, 2006.
- Molina, A.; N. J. López: «Producción *in vitro* de tres entomonematodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes», *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1-2): 723-778. 2002.
- Peña, R. E.; C. R. Reyes; P. S. Bastidas: «Reconocimiento del daño y manejo del insecto *Palmelampus heirichi*, barrenador del fruto del chontaduro en la costa pacífica colombiana», *Corpoica*, Boletín de Divulgación no. 16, Tumaco-Nariño, 2002.
- Poinar, G. O.: «Taxonomy and Biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae», *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*, CRC Press, Boca Ratón, Florida, EE. UU., 1990, pp. 75-87.
- Portillo, A. C.; G. M. Villani; J. M. Tauber; A. C. Tauber; P. J. Nyrop: «Entomopathogenic Nematode (Rhabditida: Heterorhabditida Steinernematidae) Response to Soil Texture and Bulk Density», *Environmental Entomology*, Lanham 28 (2): 123-126, EE. UU., 2000.
- Qiu, L. Hu; X. Zhou; Y. Pang; K. B. Nguyen: «*Steinernema beddingi* n. sp. (Yunnan, China)», *Nematology* 7 (5): 737-748, Inglaterra, 2005.
- Rolston, A.; C. T. Griffin; D. Downes: «Distribution of Entomopathogenic Nematodes in Indonesia. *Journal Helminthol* 7 (2): 259-266, EE. UU., 2005.
- Rosa, J. S.; E. Bonifassi; J. Amaral; L. A. Lacey; N. Simoes; C. Laumond: «Natural occurrence of Entomopathogenic (Rhabditidae: Steinernematidae) in the Azores», *Jour. Nematol.* 32: 215-222, EE. UU., 2000.
- Rosales, L.; Z. Suárez: «Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera:Curculionidae)», *Bol. Entomol. Venez.* 13 (2): 123-140, 1998.
- Simard, L.; G. Belair; S. P. Stock; H. Mauleon; J. Dionne: «Natural Occurrence of Entomopathogenic Nematodes (Nematidae: Steinernematidae) on Golf Courses in Eastern Canada», *Nematology* 9 (3): 325-332, Inglaterra, 2007.
- Stock, P.: «Sistemática y biología de nematodos parásitos asociados a insectos de importancia económica», Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina, 1998.
- Stock, S. P.; D. Hunt: «Morphology and Systematics of Nematodes Used in Biocontrol. *Nematodes as Biocontrol Agents*, CABI Publishing, Inglaterra, pp. 3-43, 2005.