

CARACTERIZACIÓN ECOLÓGICA DE DOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS AISLADOS EN ARGENTINA

Bernardi Desch, Nahuel Pablo^A

^AFacultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral.

Área: Ingeniería

Sub-Área: Agronomía

Grupo: Y

Palabras clave: control biológico, nematodos entomopatógenos, ecología.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos entomopatógenos (NEPs) son parásitos de insectos y pertenecen a los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* (Nematoda: *Heterorhabditidae* y *Steinernematidae*). Especies del género *Steinernema* están asociadas a bacterias del género *Xenorhabdus* y las de *Heterorhabditis* a *Photorhabdus* (Boemare *et al.*, 1993). Los insectos infectados generalmente mueren por septicemia aproximadamente a las 48 hs posteriores a la infección (Forst y Clarke, 2002). Luego, los nematodos se alimentan de bacterias y tejidos digeridos para completar de una a tres generaciones en su interior antes de la emergencia de los juveniles infectantes (JIs) al suelo (Poinar, 1990).

Estos organismos se utilizan con éxito como agentes de control biológico de plagas de cultivos de importancia agrícola (Grewal *et al.*, 2005).

La mayor parte de los estudios con NEPs implican aislamientos de nuevas especies y aislados de estos organismos a partir de muestras de suelo o insectos para su posterior descripción taxonómica, sin considerar sus características ecológicas (Koppenhofer y Kaya, 1999).

El presente trabajo determinó las características ecológicas de dos aislados nativos de NEPs (*Steinernema* sp. CAT3 y *Steinernema* sp. FLOR). Se evaluó la patogenicidad de los nematodos frente a varias plagas agrícolas, el efecto de la temperatura sobre la infectividad de los JIs y la influencia de la textura y humedad del suelo sobre los NEPs estudiados. El conocimiento generado permitirá aumentar las posibilidades de éxito de utilizar estos organismos frente a una plaga específica en programas de control biológico.

METODOLOGÍA

Nematodos e insectos

Los aislados de nematodos entomopatógenos procedieron de la colección perteneciente al laboratorio de Zoología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral (FCA-UNL). Las larvas de insectos utilizadas en este trabajo fueron provistas por el insectario de la FCA-UNL.

Pruebas de patogenicidad

La presente investigación fue financiada por Beca de Innovación Tecnológica – Fundación Nuevo Banco de Santa Fe.

Director de beca: Dr. Eleodoro Del Valle, Co-director: Leopoldo Palma.

Las pruebas de patogenicidad se efectuaron a 25°C exponiendo larvas de insectos individualmente a 50 y 500 JIs de cada especie de NEPs en Placas de Petri con una lámina de papel de filtro en su base. Los bioensayos fueron observados diariamente durante 5 días y se confirmó al quinto día si los NEPs ocasionaron la muerte de los insectos.

Efecto de la temperatura sobre la infectividad de NEPs.

En Placas de Petri preparadas de la manera anteriormente detallada se efectuó la aplicación de 500 JIs de cada especie y se conservaron a 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 °C durante 48 hs. Luego de cumplido este período de tiempo, se registró la mortalidad de los hospedadores. Los cadáveres fueron disecados a través de un corte longitudinal, obteniéndose dos mitades similares. Posteriormente se digirieron en solución pepsina (Mauleón et al. 1993) para determinar el número de nematodos establecidos en su interior. Cada tratamiento tuvo 9 repeticiones en un diseño en bloques aleatorizados con 3 repeticiones.

Efecto del tipo de suelo y el contenido de hídrico sobre la migración e infectividad de NEPs

La experiencia se efectuó de acuerdo a la metodología empleada por Morton & García-del-Pino (2009). Sobre tapas de cápsulas de Petri (100 mm de diámetro) se dispusieron tubos de PVC de 60 mm de diámetro interno y 20 cm de altura con una larva de último estadio de *G. mellonella* en la base. Los tubos contuvieron suelo con textura arenosa y limosa. Los ensayos se realizaron ajustando cada textura de suelo a -10,-100,-1000 y -3000 Kpa de potencial hídrico. Se agregó una suspensión acuosa conteniendo 1000 JIs de cada especie de NEPs por la abertura superior de la columna. Luego se selló la abertura del tubo para evitar la pérdida de humedad y los mismos se incubaron a 25°C durante 7 días. Cumplido este período, se registró la mortalidad de larvas de *G. mellonella*. Se realizaron 9 repeticiones por tratamiento en un diseño de 3 bloques aleatorizados con 3 repeticiones.

Análisis estadístico

El efecto de los tratamientos fue analizado con ANOVA utilizando el software estadístico INFOSTAT y las medias se separaron con el test de LSD Fisher al nivel de 5% de probabilidad.

RESULTADOS

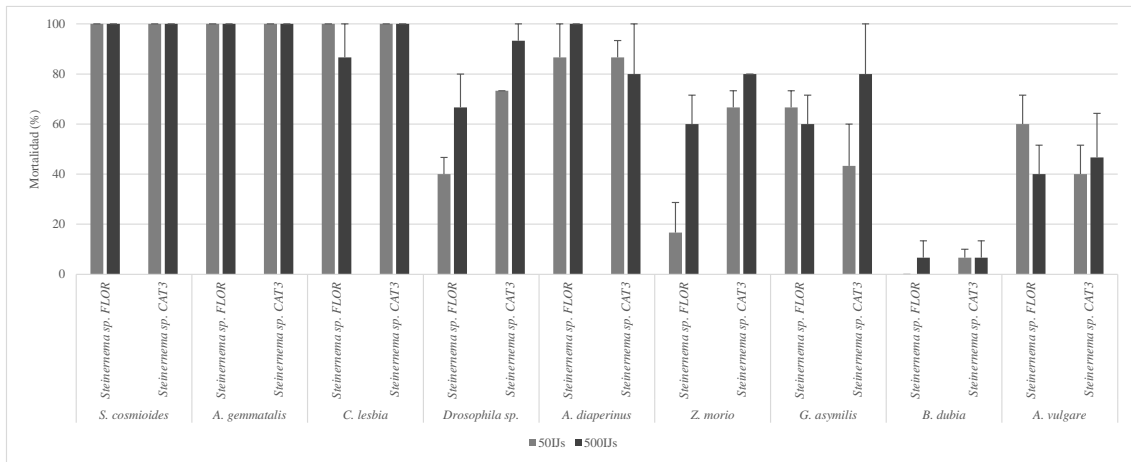


Figura 1: Patogenicidad de *Steinernema sp. CAT3* y *Steinernema sp. FLOR* frente a diferentes especies plagas al inocularse con dos dosis de Juveniles infectantes (JIs).

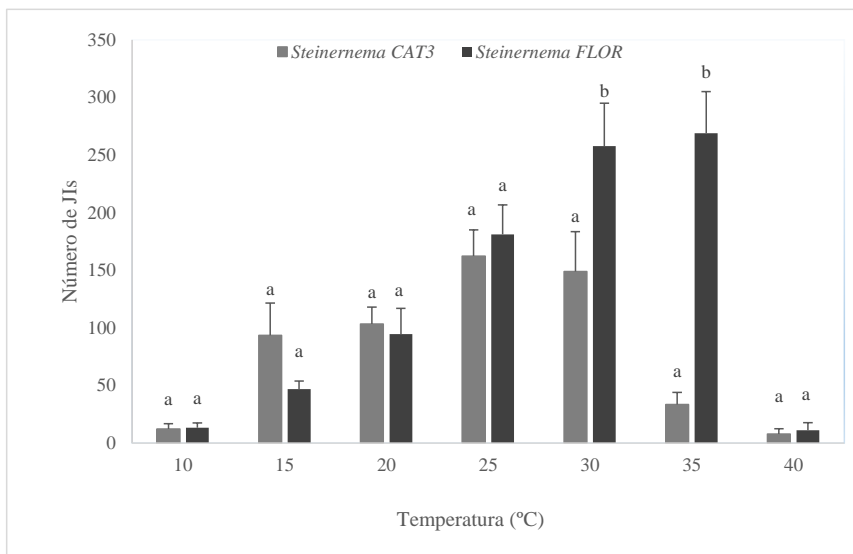


Figura 2: Penetración de Juveniles infectantes (JIs) de *Steinernema sp. CAT3* y *Steinernema sp. FLOR* en larvas de último estadio de *Galleria mellonella*.

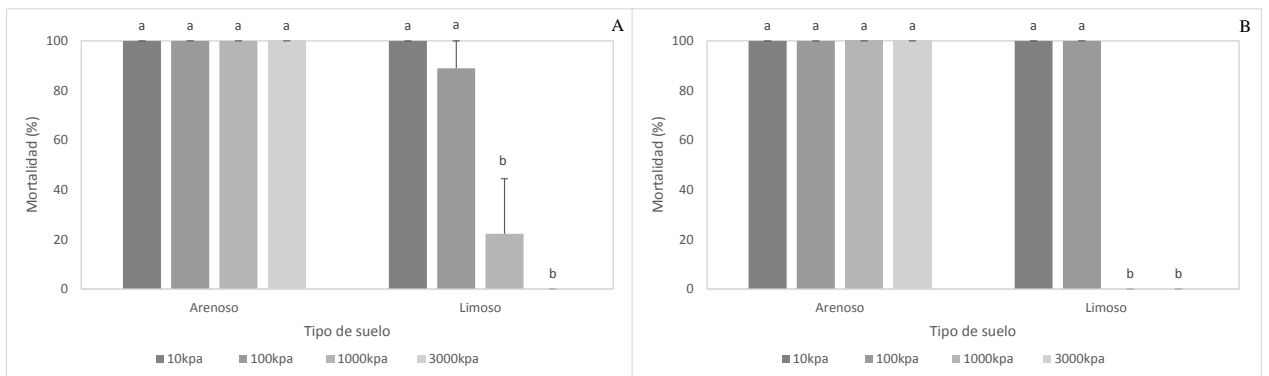


Figura 3: Mortalidad de larvas de *Galleria mellonella* causada por *Steinernema* sp. FLOR en suelos de textura arenosa (A) y limosa (B) con diferentes contenidos hídricos.

CONCLUSIONES

- *Steinernema* sp. CAT3 y *Steinernema* sp. FLOR son especies de nematodos entomopatógenos adaptadas a parasitar plagas pertenecientes al orden Lepidóptera, aunque son patogénicas a especies de varios órdenes de insectos.
- *Steinernema* sp. FLOR demostró ser más infectivo frente a larvas de *Galleria mellonella* que *Steinernema* sp. CAT3 en condiciones de elevada temperatura.
- Ambos nematodos fueron patogénicos en suelos de textura arenosa, independientemente del contenido hídrico. En suelos de textura limosa, la patogenicidad se reduce al disminuir el contenido hídrico del suelo.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Boemare, N.E., Akhurst, R.J., Mourant, R.G., 1993. Deoxyribonucleic acid relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, with a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus *Photorhabdus* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43, 249-255.
- Forst, S., Clarke D., 2002. Bacteria-nematode symbiosis, in: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic nematology*. CABI, Wallingford, UK, pp. 57-77.
- Grewal, P.S., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I., 2005. *Nematodes As Biocontrol Agents*. CABI, U.K.
- Koppenhöfer, A.M., Kaya, H.K., 1999. Ecological characterization of *Steinernema rarum*. *J. Invert. Pathol.* 73, 120–128.
- Mauleon, H., Briand, S., Laumond, C., Bonifassi, E., 1993. Utilisation d'enzyme digestives pour l'étude du parasitisme des Steinernematidae et Heterorhabditidae envers les larves d'insectes. *Fundam. Appl. Nematol.* 16, 185–186.
- Morton, A, Garcia-del-Pino, F. 2009. Ecological characterization of entomopathogenic nematodes isolated in stone fruit orchard soils of Mediterranean areas. *J. Invert. Pathol.* 102, 203-213.
- Poinar, G.O., 1990. Biology and taxonomy of *Steinernematidae*, in: Gaugler, R.R., Kaya, H.K. (Eds.), *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, FL, pp. 23-61.