

Efectividad de nematodos entomopatógenicos sobre larvas de *Heliothis armigera* (Hübner) (Lep.: Noctuidae) en laboratorio

J. R. GARCÍA VELA, M. P. LARA, C. SANTOS LOBATON y A. CANALES ROCA

En el presente trabajo estudiamos la efectividad de nematodos del género *Steinernema* sobre larvas del noctuido *Heliothis armigera*, en condiciones de laboratorio. Para ello hemos tenido que poner a punto un método de cría de este lepidóptero, que aquí describimos, que nos abasteciera de larvas suficientes para poder llevar a cabo los ensayos. Los resultados nos mostraron la alta susceptibilidad de las larvas (100% de control) a estos nematodos entomopatógenicos.

J. R. GARCÍA VELA, M. P. LARA y A. CANALES ROCA: Rhône-Poulenc Agro S.U., Centro de Investigación Agrícola Torre de la Reina, 41209 Torre de la Reina, SEVILLA.
C. SANTOS LOBATON: Laboratorio de Zoología Aplicada. Fac. de Biología. Avda. Reina Mercedes, 6. 41012 SEVILLA.

Palabras claves: *Steinernema*, efectividad, *Heliothis armigera*, cría, control biológico.

INTRODUCCIÓN

Heliothis armigera (Hübner) es un lepidóptero noctuido que causa graves daños a las plantaciones de algodón. Las larvas de esta especie destruyen botones, órganos florales y cápsulas, por lo que causan graves daños al cultivo y llega a constituir un factor limitante de la producción (CAYROL, 1972). Dada la importancia económica de los daños que esta plaga provoca y su difícil control, nos planteamos estudiar la posibilidad de métodos alternativos de control. Los nematodos entomopatógenicos (*Steinernematidae* [CHITWOOD and CHITWOOD] y *Heterorhabditidae* [POINAR]) son una atractiva alternativa a los pesticidas químicos. Sus deseables atributos tales como su fácil producción en masa, eficacia comparable con los mejores insecticidas en hábitats favorables y supervivencia de los organismos auxiliares, han invocado el interés comercial por estos parásitos.

Todos los estadios de vida de estos nematodos permanecen en el insecto hospedante,

excepto los juveniles infectivos de tercer estadio (IJ). Los IJs localizan y penetran en los insectos, liberando en el hemoceloma la bacteria mutualista *Xenorhabdus* o *Photorhabdus* que portan. La bacteria se multiplica rápidamente produciendo una septicemia generalizada que lleva a la muerte del insecto en un período de 24-48 horas. Los nematodos se alimentan de las bacterias y tejidos del hospedador, reproduciéndose, y produciendo IJs tras dos o tres generaciones. Estos IJs abandonarán el hospedador en el momento en que disminuyan los nutrientes, y buscarán nuevos hospedadores (GEORGIS *et al.*, 1995).

Los nematodos entomopatógenicos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, y su bacteria asociada *Xenorhabdus spp.* han recibido recientemente considerables atenciones como insecticidas biológicos (GEORGIS y POINAR, 1994). Su eficacia ya ha sido probada en numerosos test aplicados (KLEIN, 1990; BEGLEY, 1990) y varias empresas de fitosanitarios han comenzado su producción

a gran escala tanto en cultivos axénicos como monoxénicos.

Los ensayos que presentamos a continuación tienen como objetivo evaluar la susceptibilidad de *Heliothis armigera* a nematodos del género *Steinernema* en laboratorio. Según los resultados se propondrá, a corto plazo, ensayos en macetas de algodón y a continuación en campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cría de *Heliothis/Helicoverpa armigera* en condiciones controladas

En general, se siguieron las pautas establecidas por ARMES *et al.* (1992), pero se realizaron modificaciones. Las larvas iniciales fueron recogidas en el propio Centro de Investigación, concretamente de un cultivo de algodón (Fig. 1). Estas larvas fueron colocadas en cajas de Petri (90 × 15 mm.) y

alimentadas a base de una dieta artificial a base de agar (92 g), levadura de cerveza (136 g), sémola de maíz (512 g), germen de trigo (128 g), ácido benzoico (4 g), nipagina (3,6 g), ácido ascórbico (20 g), formaldehído (8 g) y agua destilada (1,4 l). Una vez que han pupado, las crisálidas fueron colocadas en un escurridor de plástico y sumergidas en una solución de agua destilada e hipoclorito sódico a 0,25% (v/v) con el fin de desinfectarlas. La inmersión no supera los tres segundos, durante la cual son agitadas para que pierdan los restos de comida y la última muda. Este paso se repitió varias veces. Al final del proceso se les da un baño de agua bajo el grifo y se secan en un papel absorbente. Después son colocadas sobre vermiculita en cajas de Petri de vidrio y vigiladas diariamente hasta que salgan los imagos. Los imagos son introducidos en jaulas de cartón de fabricación casera con dos laterales y la parte superior recortados y sustituidos por mallas de luz 1 × 1 mm. que



Fig. 1.—Cultivo de algodón

es cosida por el contorno de la abertura que dejamos (Fig. 2). Las mariposas fueron alimentadas a base de una solución al 10% (v/v) de miel y agua destilada en la que son empapados algodones circulares y colocados sobre la malla superior. Los huevos son depositados sobre las mallas, donde eclosionan y son recogidos mediante agujas enmangadas y pasadas a cajas de Petri con la dieta artificial. Todo el proceso se llevó a cabo en cámara a 25 ± 1 °C día y 20 ± 1 °C noche, un fotoperíodo de 18 horas de luz/6 horas de oscuridad y una humedad relativa entre 70-85%.



Fig. 2.—Jaula de cartón de fabricación casera.

Ensayo de susceptibilidad en laboratorio

Se evaluó la susceptibilidad de *Heliothis armigera* a nematodos del género *Steinernema*. Las formas infectivas de *Steinernema* sp. (aún sin determinar) fueron aisladas en Sevilla, y cultivadas en laboratorio sobre larvas del lepidóptero *Galleria mellonella* (Linne, 1758) (Lep.: Pyralidae) siguiendo la técnica de DUTKY *et al.* (1964). Se colocaron 5 larvas en cajas de Petri (90 × 15 mm.) en cuya base se colocó un papel de filtro. Luego se realizaron las inoculaciones a las dosis de 50 y 100 nematodos en 5 ml. de agua destilada. A los testigos se les añadió solamente agua destilada. El ensayo constaba de 4 repeticiones. Una vez tapadas las cajas, fueron llevadas a una cámara a 25 °C, 75% H.R. y un fotoperíodo de 14 horas de luz y 8 de oscuridad. Se realizaron evaluaciones visuales a las 24 y 48 horas, observando la mortalidad de las larvas (inmovilidad total) y realizando disecciones a las 72 horas para asegurar la presencia o ausencia de los nematodos dentro de los insectos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cría de *Heliothis/Helicoverpa armigera*

Los primeros imagos en salir fueron hembras y unos días después comenzaron los

machos. A los tres días de meter los imagos en la jaula comenzaron a aparecer, sobre la malla, los primeros huevos de color blanco, globulosos y estriados, que poco a poco se tornaron marrones y eclosionaron las primeras larvas. Se estimó que el número medio de huevos por hembras, en esas condiciones (dos generaciones), fue de 613, con un máximo de 825. Nuestros resultados de media de huevos por hembras (613) son inferiores a los 839 obtenidos por ARMES, *et al.* (1992), seguramente debido a algunas de las modificaciones que hemos incorporado, tal y como es la dieta aportada tanto a imagos como larvas. Además también confirmamos la observación que hicieron de que los imagos hembras salen 1-2 días antes que los machos. Consideramos suficientes las poblaciones obtenidas para satisfacer nuestras necesidades.

Ensayo de susceptibilidad en laboratorio

En la primera evaluación a las 24 horas, pudimos observar como disminuyó bastante la movilidad de las larvas. A las 48 horas la inmovilidad fue absoluta, tanto en la dosis de 50 nematodos como en la de 100. Al tercer día iniciamos las disecciones para observar la presencia o ausencia de estos nemato-

dos en el interior de las larvas, y conocer si realmente habían muerto por la acción del nematodo. En todos los casos se observó la presencia de grandes masas de nematodos en el interior del insecto, e incluso se observaron formas juveniles que ya habían salido

al exterior del insecto. En los testigos no hubo mortalidad. Debido a la susceptibilidad, de *Heliothis armigera*, observada pensamos en realizar otros ensayos pero ahora sobre macetas de algodón y posteriormente a nivel de campo.

ABSTRACT

GARCÍA VELA, J. R.; LARA, M. P.; SANTOS LOBATON, C. y CANALES ROCA, A., 1998: Effectiveness of entomopathogenic nematodes on *Heliothis armigera* (Hübner) (Lep.: Noctuidae) larvae in laboratory. *Bol. San. Veg. Plagas*, **24**(4): 849-852.

In the present study, the effectiveness of entomopathogenic nematodes of the genera *Steinernema* on *Heliothis armigera* larvae in laboratory was evaluated. Also techniques for the laboratory rearing of *Heliothis armigera* are described. The results showed the high susceptibility of the larvae (100% control) for this entomopathogenic nematodes.

Key words: *Steinernema*, effectiveness, *Heliothis armigera*, rearing, biological control.

REFERENCIAS

- ARMES, N. J.; BOND, G. S. y COOTER, R. J., 1992: The laboratory culture and development of *Helicoverpa armigera*. *Natural Resources Institute Bulletin* **57**, Chatham, U.K.: Natural Resources Institute.
- BEGLEY, J. W., 1990: Efficacy against insects in habitats other than soil. pp. 215-232. In R. Gaugler & H. K. Kaya [eds.], *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC, Boca Raton, Fla.
- CAYROL, R. A., 1972: Famille des Noctuides. En *Entomologie appliquée a l'Agriculture*. (A. S. Balachowsky de.) Tome II. Lépidopteres Deuxième vol. Masson et cie, Paris. 1255-1244 pp.
- DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V. y CANTWELL, G. E., 1964: A technique for mass propagation of the DD-136 nematode. *J. Insect Pathol.* **6**: 417-422.
- GEORGIS, R. y POINAR, G. O. Jr., 1994: Nematodes as bioinsecticides in turf and ornamentals, pp. 470-489. In A. R. Leslie [eds.], *Integrated pest management for turf and ornamentals*. CRC, Boca Raton, Fla.
- GEORGIS, R.; DUNLOP, D. B. y GREWAL, P. S., 1995: Formulation of entomopathogenic nematodes. pp. 197-205. In *Biorational Pest Control Agents: Formulation and Delivery*. ACS Symposium Series n.º **595**.
- KLEIN, M. G., 1990: Efficacy against soil-inhabiting insects pest. pp. 195-214. In R. Gaugler & H. K. Kaya [eds.], *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC, Boca Raton, Fla.

(Recepción: 12 enero 1998)

(Aceptación: 21 mayo 1998)