

Susceptibilidad de *Heliothis virescens* Fabr. (Lepidoptera; Noctuidae) a nematodos entomopatógenos

Susceptibility of *Heliothis virescens* Fabr. (Lepidoptera; Noctuidae) to entomopathogenic nematodes

Edilberto Pozo Velázquez; Roberto Valdés Herrera; Marlén Cárdenas Morales y Oliver Winchel

Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carr. a Camajuaní km 6, Santa Clara, Villa Clara. CP 54830.

E-mail: edilbertopv@uclv.edu.cu

RESUMEN. Se determinó la susceptibilidad de larvas de *Heliothis virescens* Fabr. (Lepidoptera; Noctuidae) a nematodos entomopatógenos, *Heterorhabditis indica* cepas P₂M, CUX₁ y *H. sp.* cepas CIAP-DEY-6 y CIAP-DEY-7. Se utilizaron las siguientes concentraciones de nematodos entomopatógenos: 125, 250, 500 y 1400 nematodos/mL. Los nematodos fueron inoculados en 1 mL sobre papel de filtro en una placa de Petri de 7 cm de diámetro y luego se colocaron las larvas de los diferentes instares (1 por placa). Se anotaron las muertes por horas y por instares. *H. virescens* mostró susceptibilidad a los nematodos entomopatógenos con las cepas utilizadas. El I y II instares larvales de este insecto fueron los más susceptibles con un 100 % de mortalidad a las 24 horas después de inoculados. Los instares III y IV tuvieron un 100 % de mortalidad de sus larvas a las 72 horas, y mientras los instares V y VI, sólo a las 72 horas para la cepa P₂M, tuvieron un 100 % de mortalidad. Las mejores cepas fueron P₂M y CIAP-DEY-6.

Palabras clave: *Heliothis virescens*, *Heterorhabditis indica*, nematodos entomopatógenos, susceptibilidad, tabaco.

ABSTRACT. The susceptibility of larvae of *Heliothis virescens* Fabr. (Lepidoptera; Noctuidae) to entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indica* strains P₂M, CUX₁ and *H. sp.* strains CIAP-DEY-6 and CIAP-DEY-7, was determined. The concentrations of nematode entomopatógenos were used: 125, 250, 500 and 1400 nematodes/mL. The nematodes were inoculated in 1 mL it has more than enough filter paper in a Petri dishes of 7 cm diameter and then the larvae of the different instars were placed (1 for dishes). The deaths were written down per hours and for instars. *H. virescens* showed susceptibility to the entomopathogenic nematode with the used strains. The I and II larval instars of this insect were the most susceptible with 100 % of mortality at the 24 hours after inoculated. The instars III and IV had 100 % of mortality from their larvae to the 72 hours and the V and VI only death at the 72 hours for the strain P₂M, they had 100 % of mortality. The best stains were P₂M and CIAP-DEY-6.

Key words: *Heliothis virescens*, *Heterorhabditis indica*, entomopathogenic nematode, susceptibility, tobacco.

INTRODUCCIÓN

El tabaco es uno de los principales productos exportables de Cuba. En este cultivo las plagas influyen de forma negativa en los rendimientos y la calidad, las mismas, concentran su ataque, fundamentalmente, en la parte aérea de la planta (Milian, 1981), que son el fruto agrícola. La pérdida de porciones de hojas significa una merma en la

producción, por lo que el control que se pueda ejercer sobre los insectos masticadores, utilizando medios no convencionales, que no afectan el cultivo, no elevan los costos ni contaminan el medio ambiente, es muy necesario. (Mendoza y Pérez, 1980)

La principal y más dañina plaga de este cultivo: el cogollero del tabaco (*Heliothis virescens* Fabr.)

(Lepidoptera; Noctuidae), puede atacar a la planta en todos sus estadios de desarrollo y no existen variedades resistentes a su ataque. (Chamberlin y Tenhet, 1926; Brunner y Scaramuzza, 1936; Espino, 1998)

Es preciso buscar métodos alternativos de control como los nematodos entomopatógenos, con diversidad de hospedantes y la ventaja de localizarlos (Ehler, 1998). Son efectivos en un gran número de insectos plagas (Gaugler y Kaya, 1990; Kaya y Gaugler, 1993) y pudieran ser una alternativa para el control de *H. virescens*. La determinación de la susceptibilidad de este insecto a los mismos, fue el objetivo de este estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Patología de Insectos del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Universidad Central de Las Villas.

Se utilizaron nematodos entomopatógenos de las especies *Heterorhabditis indica* cepas P₂M y Cux-1 y *Heterorhabditis* sp. cepas -6, -7, procedentes del INISAV (Fisher-le Saux, 1998) y el CIAP, respectivamente. (Pozo *et al.*, 2003)

Las concentraciones de nematodos se calcularon por las fórmulas de Woodring and Kaya (1988):

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

donde:

N= Número de nematodos observados por conteo bajo el microscopio.

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

X+1= Factor de dilución.

S= Concentración (nematodos/mL.) de la solución inicial.

Para calcular esta cantidad de nematodos por larva se aplica la fórmula siguiente (Woodring and Kaya, 1988):

$$A = \frac{D * C}{B}$$

donde:

A= Mililitros de la suspensión de concentración conocida para ser diluida.

B= Número de nematodos/mL de la suspensión que va a ser diluida.

C= Volumen final que se necesita calcular.

D= mililitros de agua a añadir a la nueva dilución.

Lo que se necesita calcular es el valor de C, y se obtiene por despeje.

La reproducción de los mismos se llevó a cabo sobre la especie *Galleria mellonella* L.

Se realizaron ensayos con larvas de *H. virescens* provenientes de una cría de laboratorio de este insecto, Alvarez (2004). Se utilizaron las siguientes concentraciones de nematodos entomopatógenos: 125, 250, 500 y 1400 nematodos/mL. Se colocó un papel de filtro por placa y se le adicionó 1 mL de la suspensión de las concentraciones que se determinaron. Inmediatamente se colocaron las larvas (1 por placa). Se utilizaron 10 larvas por instar y para cada concentración.

Las observaciones se realizaron cada 24 horas (Woodring and Kaya, 1988) y se anotó el número de muertes y el porcentaje de las mismas por cepas.

Se aplicó un modelo de análisis de varianza, teniendo en cuenta los tres tratamientos utilizados para evaluar los efectos principales y posibles interacciones de los factores. Las comparaciones de medias se realizaron mediante las pruebas de Tukey. Para el procesamiento estadístico se utilizaron los programas Statgraphics Plus ver 5.0 y Excel sobre Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Heliothis virescens mostró que es susceptible a nematodos entomopatógenos a las concentraciones utilizadas desde 125 a 1400 nematodos/larva que le provocaron la muerte a las larvas antes de las 96 horas, en todos los instares tratados con las cepas utilizadas.

Los instares I y II de este lepidóptero fueron los más susceptibles para todas las cepas, con una efectividad del 100 % en un tiempo de 24 horas.

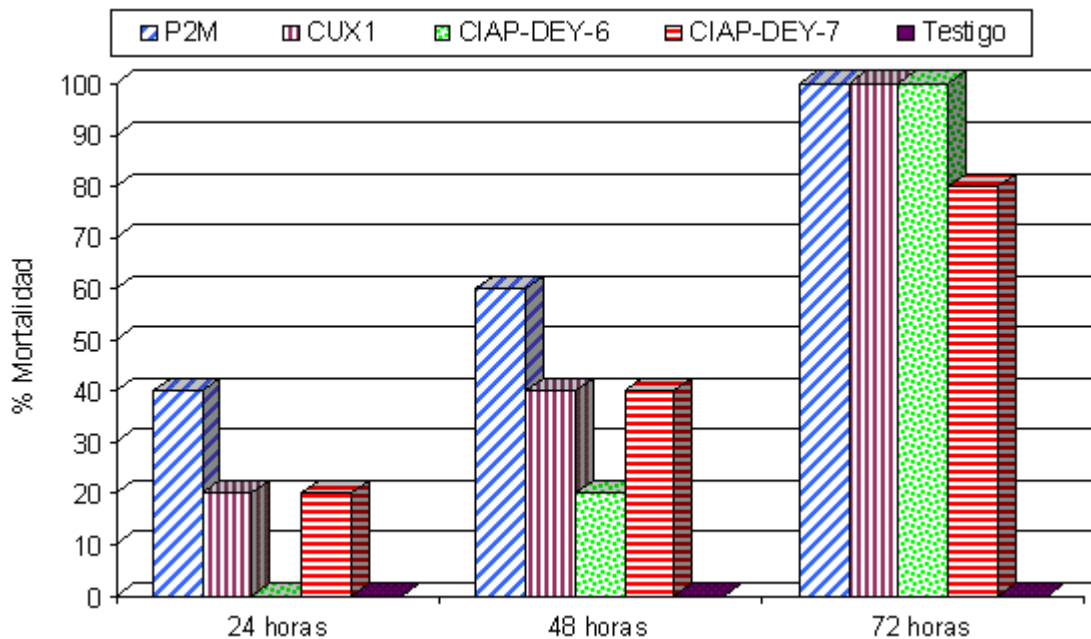


Figura 1. Efectividad de las cepas de nematodos sobre los instares III y IV de *H. virescens*

Para los instares III y IV (figura 1) el resultado varió en cuanto a la patogenicidad de las cepas de nematodos utilizadas donde la más efectiva con el 40 % y el 60 % de las larvas muertas fue P₂M a las 24 y 48 horas, respectivamente, aunque a excepción de CIAP-DEY-7 todas alcanzaron el 100 % de mortalidad de las larvas del III y IV instares de *H. virescens* a las 72 horas, sin diferencias significativas entre las cepas, lo cual coincide con varios autores que exponen que a partir de las 24 hasta las 72 horas es el tiempo efectivo para que los nematodos entomopatógenos le ocasionen la muerte al hospedante en lepidópteros. El control no mostró muertes. El orden de las cepas por su patogenicidad fue P₂M, CUX₁, CIAP-DEY-6 y, por último, CIAP-DEY-7, con sólo un 80 % de mortalidad a las 72 horas en estas larvas.

La cepa P₂M fue la que mostró la mayor efectividad para ocasionar la muerte de las larvas de los instares V y VI de *H. virescens* con diferencias significativas con el resto de las cepas, coincidiendo con los resultados de los instares anteriores, pero en estos instares su efectividad fue mayor, (un 100 %) que el resto de las cepas evaluadas, mientras que un 75 % de muertes como máximo a las 72 horas se obtuvo cuando se aplicaron CIAP-DEY-6 y CIAP-DEY-7 mientras CUX₁ logró un 62,5 %, lo que evidencia la gran susceptibilidad de las larvas de este

lepidóptero para las cepas de nematodos empleadas, y P₂M fue la de mejores resultados. (Figura 2.) En estos instares la cutícula de las larvas de los lepidópteros adquiere una mayor dureza y rigidez, además se desarrolla el sistema inmune del insecto por lo que la acción de un medio biológico es menos efectiva al ser larvas de los últimos instares.

Este mismo resultado obtuvieron Melo-Molina *et al.* (2007) con las larvas de los últimos instares de *Phyllophaga menetriesi* y *Anomala inconstans*. Por otra parte, Peters and Ehlers (1994), en experiencia de susceptibilidad sobre Tipulidos *Tipula paludosa* y *Tipula oleracea* (Tipulidae; Nematocera) obtuvieron que el efecto de los nematodos entomopatógenos decrece desde las larvas 2 a la 4.

A las larvas muertas de todos los instares tratados se les practicó una necrosis a los 10 días después de inoculados los nematodos y se comprobó la existencia de los mismos en el interior del cadáver.

La prueba de White o puente (Woodring and Kaya, 1988) practicada a los 12 días resultó positiva, y con la nueva generación obtenida de nematodos entomopatógenos se inocularon larvas de *G. melonella*, que fueron muertas por la acción de esos i_j.

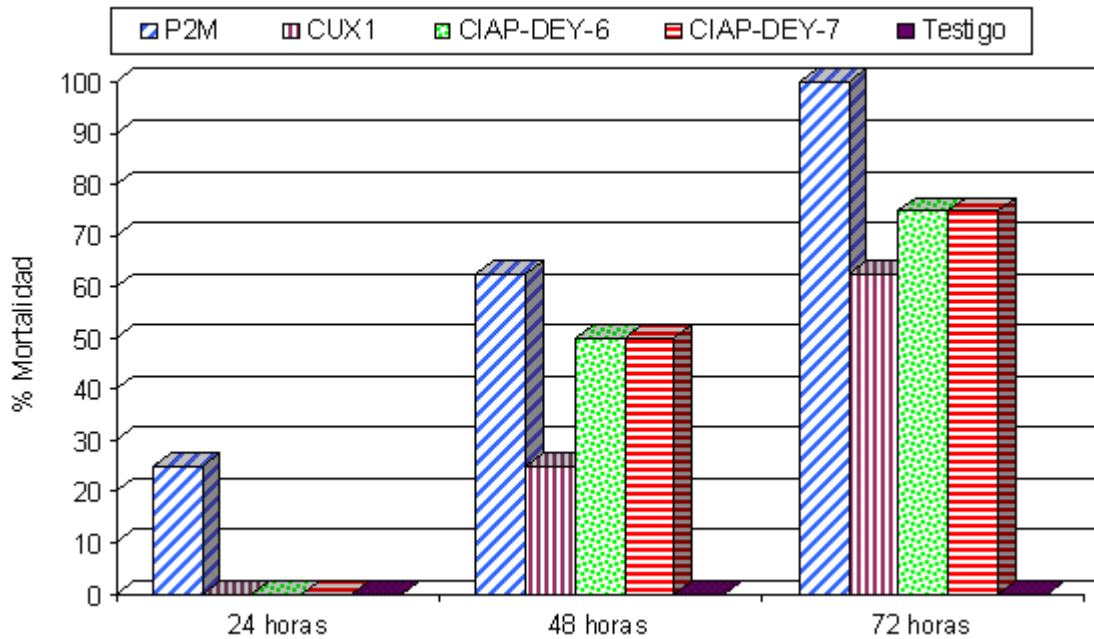


Figura 2. Efecto de las cepas de nematodos sobre los instares V y VI de *H. virescens*. Letras desiguales difieren para Tukey P d" 0,05

Estos resultados coinciden con los estudios realizados por García *et al.* (1998) quienes evaluaron la susceptibilidad de *Heliothis armígera* (Hübner) a nematodos entomopatógenos con muy buenos resultados.

Estos resultados evidencian la efectividad de las

cepas de nematodos estudiadas para su manejo en el control de *H. virescens*, mostrando una recuperación de los nematodos y su capacidad de atravesar la pared del cuerpo de las larvas de los últimos instares por las regiones o aperturas naturales sin que el propio proceso de endurecimiento de la cutícula de los últimos instares les afecte en su acción.

CONCLUSIONES

1. *H. virescens* mostró susceptibilidad a los nematodos entomopatógenos con las cepas utilizadas en nuestro trabajo.

2. El I y II instares larvales de *H. virescens* fueron los más susceptibles con un 100 % de mortalidad a las 24 horas después de inoculados.

3. En los instares III y IV las muertes del 100 % se evidenciaron a las 72 horas para las cepas P₂M, CUX₁ y CIAP-DEY-6; mientras que CIAP-DEY-7 sólo provocó provocar la muerte al 80 % de las larvas tratadas.

4. Los instares V y VI mostraron una mayor resistencia al ataque de los nematodos y sólo la cepa P₂M logró un 100 % de mortalidad a las 72 horas, CIAP-DEY-6 y CUX-1 lograron un 75 % y CIAP-

DEY-7 sólo logró 62,5 % de mortalidad.

5. Las mejores cepas resultaron P₂M y CIAP-DEY-6 con altos porcentajes de muertes en los diferentes instares larvales.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALVAREZ, H.: Contribución al Manejo Integrado de *Heliothis virescens* en tabaco. Tesis presentada para aspirar al grado científico de doctor en ciencias agrícolas, UCLV, 2004.

2. BRUNER, S. C. Y R. C. SCARAMUZZA: Reseña de los insectos del tabaco en Cuba. Estación Experimental de Agronomía, Santiago de las Vegas, La Habana. Circular no. 50, pp 5-10, 1936

3. CHAMBERLIN F. S. AND J. N. TENNET: "The seasonal history and Food Habits of the tobacco budworm

- (*Heliothis virescens* L.) in the Saithern tobacco growing region,” *J. Entomol.* 19(4): 611-614,1926.
- 4.EHLERS, R. U:“Entomopathogenic nematodes. Save biocontrol agents por sustainable systems”, *Rev. Phitoprotection.* Suppl.79, pp. 94-113,1998.
- 5.ESPINO, E.; V. ANDINO; G. QUINTANA; O. PITA;Y OTRO Instructivo Técnico para el cultivo del Tabaco, p. 128,1990.
- 6.FISHER-LE, SAUX MARION; H. MAULÉON; P. CONSTANT; B. BRUNEL AND N. BOEMARE: PCR- Ribotyping of Xenorhabdus and Photorhabdus isolates from the Caribbean Region in relation to the taxonomy and geography distribution of their nematodes hosts *Rev. Applied Environmental Microbiology* 64(11): 4246-4254, Nov.,1998.
- 7.GARCÍA VELA, J. R.; M. P. LARA; C. Y SANTOS LOBATON,AND A. CANALES ROCA: “Effectiveness of entomopathogenic nematodes on *Heliothis armígera* (Hübner) (Lep.: *Noctuidae*) larvae in laboratory,” *Bol. San. Veg. Plagas*, 24(4):849-852,1998.
- 8.GAUGLER,R AND H. K. KAYA. “Entomopathogenic nematodes”, *Ann. Rev. entomol.* (38):181-206.
- 9.GAUGLER, R. AND H. K. KAYA. (1990). Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, Fla.,1990.
- 10.MELO-MOLINA, ELSA LILIANA, C. A. ORTEGA-OJEDA Y A. GAIGL: “Efecto de nematodos sobre larvas de *Phyllophaga menetriesi* y *Anomala inconstans* (Coleoptera: Melolonthidae)”, *Revista Colombiana de Entomología* 33 (1): 21-26, 2007.
- 11.MENDOZA, F. Y R. I. PÉREZ: “Estudio del grado de preferencia de *G. melonella* F. (*Lepidóptera: Noctuidae*) en cinco variedades de tabaco negro,” *Centro Agrícola.* VII(2): 33-39, 1980.
- 12.MILLÁN CASTRO, A: *Cuba Tabaco*, Época II, no. 39,1981.
- 13.PETERS, A.AND R.U. EHLERS: “Susceptibility of leatherjackets (*Tipula paludosa* and *Tipula oleracea*; *Tipulidae*; *Nematocera*) to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltia*.”. *Journal of invertebrate pathology.* 63(2): 163-171,USA,1994.
- 14.POZO VELÁZQUEZ, E.; DAIMARA LÓPEZ RODRÍGUEZ Y YAILI MARTÍNEZ GONZÁLEZ: “Nuevos aislados de nematodos entomopatígenos en la región central de Cuba,”. *Centro Agrícola* 30 (4): 94-95, 2003
- 15.STATGRAPHICS PLUS ver 5.0. Microsoft. 2000.
- 16.WOODRING, JENNIFER L. AND H. K. KAYA: Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A Handbook of Biology and technique. Southern Cooperative Series. Bulletin 331, Arkansas, USA, p. 32.

Recibido: 12/Enero/2007

Aceptado: 25/Abril/2007

Suelos y Biofertilizantes

Los abonos para su agricultura orgánica!!!

Centro de Investigaciones Agropecuarias



Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
Santa Clara. CUBA

Ofrecemos:

- *Consultorías*
- *Capacitaciones*
- *Extensiones de Tecnologías de Mejoramiento de Suelos a través del aprovechamiento de residuos de cosechas y Minerales naturales*

Centro de Investigaciones Agropecuarias
Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas
Carretera a Camajuaní Km 6,
Santa Clara, Villa Clara, Cuba
Telef: 53-42-281520 fax: 53-42-281608
E-mail: pedrocc@uclv.edu.cu
joaquinma@uclv.edu.cu