

Posibilidades del uso de nematodos entomopatógenos para el control de *Aeneolamia varia* en caña de azúcar

Francisco Ferrer¹
Miguel Arias²
Alfredo Trelles¹
Gustavo Palencia¹
José M. Navarro²
Rafael Colmenarez¹

RESUMEN. Se llevaron a cabo dos experimentos con la finalidad de determinar la efectividad del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* para controlar las ninfas de la candelilla de la caña de azúcar, *Aeneolamia varia* (F.), así como las dosis óptimas de aplicación. Los nematodos entomopatógenos de los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* constituyen una opción viable en el control biológico de este insecto plaga, porque poseen estadios infestivos duraderos que permiten su distribución y persistencia en el suelo. A las 72 horas después de la aplicación, se observaron porcentajes de mortalidad entre 71,35 y 75,4%, en dosis de 50 a 100 millones de nematodos por hectárea. En otro experimento de dosis más bajas (2 a 4 millones de nematodos por hectárea), no se encontró un efecto significativo. En el tratamiento testigo se encontró una cepa nativa, que fue identificada como *Heterorhabditis indica*. El uso de nematodos entomopatógenos constituye una alternativa muy viable para ser incorporada dentro de los programas de manejo integrado de *A. varia* en caña de azúcar.

Palabras clave: nematodos entomopatógenos, control biológico, Cercopidae, Heterorhabditidae, insectos del suelo.

ABSTRACT. Possibilities of the use of entomopathogenic nematodes to control the sugarcane frog hopper, *Aeneolamia varia*. Two experiments were conducted to determine the effectiveness of the nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in controlling nymphs of the sugar frog hopper, *Aeneolamia varia* (F.), as well as the optimum dose of nematodes. The entomogenous nematodes of the genus *Heterorhabditis* and *Steinernema* constitute a viable option for the biological control of this pest, because they possess long infective stages that allow their distribution and permanence in the soil. Seventy-two hours after the application, nymph mortality was at 71.35 to 75.4%, with doses of 50 to 100 million infective nematodes per ha. In the experiment with low doses (2 to 4 millions of nematodes per ha) no significant effects were observed. A native nematode was found in the control treatment, and identified as *H. indica*. Entomogenous nematodes constitute a useful tool to be incorporated to the integrated pest management of *A. varia*.

Key words: Entomopathogenic nematodes, biological control, Cercopidae, Heterorhabditids, soil insects.

Introducción

En Venezuela, desde los años 80, el control biológico de la candelilla *Aeneolamia varia* (Homoptera: Cercopidae) se suele realizar utilizando hongos entomopatógenos, como *Metarhizium anisopliae*, sin otras opciones biológicas (Molina *et al.* 1991, Zambrano 1987, Zambrano *et al.* 1993). Ferrer y Torres (1984) indicaron que las larvas de la mosca *Salpingogaster nigra* (Sirphidae) son un enemigo natural de las ninfas de

la candelilla; sin embargo, los intentos de reproducirlas masivamente en el laboratorio no han sido promisorios.

Los nematodos entomopatógenos, en particular los correspondientes a los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* (Rhabditidae: Steinernematidae: Heterorhabditidae), han recibido mucha atención debido a su potencial de controlar insectos plagas en agricultura, pastos e instalaciones domésticas (Woodring y

¹ Servicio Biológico C.A. Carretera Vieja Barquisimeto Yaritagua. Sector Chorobobo. Edo. Lara. **Venezuela.** Tel/Fax: (051) 231 6253. fferrer@telcel.net.ve

² Agropecuaria El Retorno. Carretera Nacional Píritu-Turen, Estado Portuguesa, **Venezuela.** Tel/Fax (0058-251) 231 0812.

Kaya 1988). Existen numerosas investigaciones con relación al control de insectos que afectan los cultivos en el nivel del suelo. Matthew *et al.* (1997) utilizaron nematodos del género *Steirnerema* para el control de *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae); Duncan y McCoy (1996) utilizaron *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steirnerema riobravus* para el control del picudo negro de los cítricos, *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). Reed *et al.* (1986) utilizaron *H. bacteriophora* para el control de las larvas del crisomélido *Acalymma vittatum*; Sosa y Beavers (1985) usaron *Steirnerema feltia* y *Heterorhabditis heliothidis* con dosis de 5000 nematodos por larva para el control de *Ligyris subtropicus* (Coleoptera: Scarabaeidae); Suggers (1994) logró un control de más del 80% del gusano blanco *Cyclocephala borealis* (Coleoptera: Scarabaeidae) utilizando en irrigación 1,25 billones de nematodos/ha.

En Venezuela, se han llevado a cabo pocas investigaciones sobre la posibilidad de usar nematodos entomopatógenos en el control de insectos plagas. Rosales y Suárez (1998) consideraron la posibilidad de controlar el gorgojo negro del plátano, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae), mediante los nematodos *H. bacteriophora*, *Heterorhabditis indica*, *Steirnerema bibionis* y *Steirnerema carpocapsae*. En cuanto a los nematodos depredadores de *A. varia*, Poinar y Linares (1985) determinaron en los años 1981-1982, en las localidades de Guanare (Portuguesa, Venezuela), una alta incidencia natural del nematodo *Hexameris dactylocercus*, el cual parasitaba hasta un 50% de las ninfas y adultos recolectados. Bennett (1984) destaca la posibilidad de usar nematodos para el control de *A. varia* basándose en información existente desde principios de siglo. Menciona también el nematodo mermhitido *Hexameris* sp. parasitando *A. varia* en Trinidad y, en Brasil, sobre *Mahanarva fimbriolata* (Homoptera: Cercopidae). En Trinidad, Hunt (1981), citado por Bennett, realizó ensayos en el laboratorio con diferentes razas del nematodo *Neoplectana carpocapsae* sobre adultos y ninfas de *A. varia*, con ciertos resultados favorables, concluyendo que las investigaciones deberían continuar centrándose en la búsqueda de especies de nematodos más adecuados como enemigos naturales de la candelilla.

Según Allard (1987), el uso de los nematodos entomopatógenos en conjunto con *Metarhizium anisopliae* puede ofrecer una solución en el largo plazo para el control de *A. varia*. En Venezuela, se ha estudiado por

co la identificación y el uso de nematodos. En general, los nematodos entomopatógenos de los géneros *Heterorhabditis* y *Steirnerema* constituyen una opción favorable en el control biológico de insectos plagas. Entre sus características destaca el hecho de poseer estadios infestivos duraderos que permiten su distribución, almacenamiento y persistencia. Muchas especies componen ambos géneros, difiriendo tanto en su morfología como en su patogenicidad. Se ha demostrado, además, que existe una gran variabilidad en el comportamiento entre diferentes aislamientos de una misma especie, tornando importante la selección de cepas promisorias para su uso como agentes de control biológico.

El propósito de este trabajo fue investigar el control de *A. varia* por el nematodo *H. bacteriophora* e incorporarlo al manejo integrado de plagas de la caña de azúcar, así como investigar la posibilidad de obtener cepas nativas y reproducirlas en forma masiva. Esta investigación se realizó con la colaboración del personal de la Hacienda El Retorno (Turén, Edo. Portuguesa), donde se ha observado una alta mortalidad de la candelilla ocasionada por nematodos, cosa que refuerza la posibilidad de usarlos en el combate de esta plaga (Miguel Arias, observación del autor).

Materiales y métodos

H. bacteriophora fue introducido por Servicio Biológico C.A. desde el Complejo Biológico Pablo Noriega, en La Habana, Cuba, en 1999. Este se multiplicó en el laboratorio mediante la utilización de larvas de *Galleria mellonella*, criadas en dietas artificiales. Se logró un rendimiento aproximado de 100000 nematodos por larva de *G. mellonella*. Se llevaron a cabo dos experimentos para determinar las dosis óptimas de aplicación de los nematodos. El primero —iniciado en la Finca de la Agropecuaria El Retorno, Boca de Sabana (Turén, Edo. Portuguesa) el 1 de septiembre del 2000—, utilizó dosis altas (50, 75 y 100 millones de nematodos/ha). El segundo —iniciado en la finca Don Paco (Agua Blanca, Edo. Portuguesa) el 23 septiembre de 2000—, utilizó dosis bajas (de 2, 4 y 6 millones de nematodos/ha).

Experimento 1

Se utilizaron cuatro tratamientos: testigo, sin nematodos (T0); 50 millones de nematodos/ha (T1); 75 millones de nematodos/ha (T2); y 100 millones de nematodos/ha (T3). Las aplicaciones se realizaron por medio

de una asperjadora de espalda de 15 L capacidad, calibrada a un equivalente de 250 L/ha. Las parcelas tenían dimensiones de 12 m x 12 m. Se efectuaron cuatro repeticiones de cada tratamiento, en un diseño de bloques al azar. Se realizaron conteos antes y después de la aplicación, recolectando en ambos casos ninfas de *A. varia* en cada una de las parcelas, considerando dos puntos de evaluación de 0,5 m² localizados en el centro de cada parcela.

La evaluación se realizó cuatro días después de la aplicación, determinándose el número de ninfas vivas y muertas. Doce ninfas muertas de cada tratamiento se colocaron en trampas White (White 1927) para determinar el número de nematodos juveniles emergidos. Esto se realizó para todas las parcelas, incluyendo el testigo, para evaluar la posibilidad de aislar nematodos nativos.

Treinta días después de la aplicación de las diferentes dosis de nematodos, se efectuó un muestreo de suelo en las parcelas del experimento para determinar la persistencia de los nematodos, siguiendo la técnica descrita por Bedding y Arkhurst (1975). Las muestras del suelo se tomaron a una profundidad de 10 cm, utilizando una pala para facilitar su extracción. Cada muestra se identificó y se transportó al laboratorio para ser evaluada. Del total de las muestras, solo se tomó una porción para colocar 100 g en cada una de diez cápsulas Petri. En cada una de ellas se colocaron dos larvas de *G. mellonella*. Las evaluaciones se realizaron tres días después, y las larvas se colocaron en trampas White para la obtención de los nematodos.

Experimento 2

Se evaluó la población de ninfas de *A. varia* antes y después de la aplicación de los tratamientos, con el mismo diseño experimental pero en dosis bajas (2, 4 y 6 millones de nematodos/ha para los tratamientos T1, T2, y T3). La información se recabó de la misma forma que en el Experimento 1, observándose muestras de ninfas a los cuatro y ocho días después de la aplicación.

Resultados

Experimento 1

En los conteos previos a la aplicación se observaron de 140 a 427 ninfas de *A. varia* por m². En la evaluación realizada después de la aplicación, se observaron porcentajes de mortalidad de 71,4; 75,3; y 75,4% para los tratamientos de 100, 50 y 75 millones de nematodos/ha, respectivamente. En el tratamiento testigo se observó una mortalidad del 11,5 %. Los valores fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$ y, para el análisis de variancia en bloques al azar, se obtuvo un valor de $F = 165,08$ ($p > 0,01$). Según la prueba de Tuckey, hubo diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, pero no entre los tratamientos con nematodos (Cuadro 1).

Después de colocar las ninfas muertas en trampas White, se recuperó un promedio de 133,29; 194,33; 175,44 y 369,25 nematodos/ninfa en los tratamientos T0, T1, T2 y T3, respectivamente. Los datos fueron transformados a $\sqrt{x+1}$ y analizados en bloques al azar, y arrojaron diferencias significativas según la prueba de Tuckey; se observa una pequeña ventaja en el tratamiento con 100 millones de nematodos/ha (T3) sobre el testigo, pero no es estadística según la prueba de Tuckey (Cuadro 2).

Cuadro 1. Número de ninfas observadas y porcentaje de mortalidad de ninfas de *Aeneolamia varia* en tratamientos con nematodos entomopatógenos.

Repetición	Tratamientos							
	Testigo (T0)		50 millones (T1)		75 millones (T2)		100 millones (T3)	
	NV	%M	NV	%M	NV	%M	NV	%M
I	110	9,09	119,1	63	195	76,9	105	65,1
II	173	10,4	93	78,5	145	75,9	105	69,6
III	130	15,4	165	84,8	190	78,9	145	79,3
IV	141	11,3	207	74,9	133	69,9	158	71,4
Total	554	46,2	584,1	301,2	663	302	513	285
Media	139	11,5	146	75,3	165,8	75,4	128,3	71,4
Significancia Tuckey		a		b		b		b

NV: ninfas vivas; %M: porcentaje de mortalidad.

Promedios en una misma columna seguidos de la misma letra no difieren significativamente según la prueba de Tuckey (valor crítico de Tuckey = 0,8199; ($p = 0,05$)).

Cuadro 2. Número de nematodos entomopatógenos emergidos en cada tratamiento (12 ninfas de *Aeneolamia varia* observadas por repetición).

Repeticiones	Tratamientos			
	Testigo (T0)	50 millones (T1)	75 millones (T2)	100 millones (T3)
I	10	572	6741	5845
II	4914	1620	1323	3179
III	884	3100	81	4387
IV	590	4060	276	3978
Total	6398	9352	8421	17388
Promedio	1599,5	2338	2105,25	4347
Signif. s/ Tuckey	a	a	a	a
Prom. por ninfa	133,29	194,83	175,44	362,25

Promedios de una misma fila seguidos de la misma letra no difieren (mediante datos transformados a $\sqrt{x + 1}$) significativamente según prueba de Tuckey ($p = 0,05$) ($F = 1,61$; $p = 0,2398$).

El trapeo de nematodos después de 30 días de finalizado el experimento mostró que la mortalidad de *G. mellonella* por nematodos fue bastante alta, llegando a un 95% en todas las parcelas observadas.

Los nematodos provenientes de ninfas de las parcelas testigo de la Hacienda Boca de Sabana se remitaron a la Universidad de la Florida, Departamento de Entomología y Nematología. La identificación fue realizada el por el Dr. Khuong Nguyen, quien identificó a *Heterorhabditis indicus*.

Experimento 2

No hubo diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la recuperación de nematodos en trampas White en observaciones a los cuatro y ocho días. En el tratamiento testigo se observa, al igual que en el Experimento 1, la presencia de nematodos nativos. Cuando se compara entre las dos observaciones, a los cuatro y ocho días después de la aplicación de los tratamientos se observa en los tratamientos testigo y 2 millones un incremento significativo de 62,5 a 297 y 2018 a 4750 nematodos promedio por 12 ninfas, res-

pectivamente. La gran variabilidad de los resultados obtenidos en las trampas White hace suponer que hubo otros factores que afectaron las dosis de 4 y 6 millones/ha, donde no se observa el incremento de las poblaciones de nematodos.

Discusión

Existe la posibilidad del control de *A. varia* mediante nematodos entomopatógenos como *H. bacteriophora*. Al usar dosis de 50 a 75 millones/ha se obtuvieron resultados positivos, con un control que llegó al 71,4 y 75,3%; sin embargo, la presencia de nematodos nativos pudo ejercer un efecto adicional, ya que en el tratamiento testigo se observó una mortalidad del 11,4% de las ninfas. En el experimento con dosis bajas (2, 4 y 6 millones/ha), donde solo se observó la emergencia de nematodos de las ninfas recolectadas, es necesario realizar investigaciones adicionales en el área del experimento, debido a la variabilidad de los resultados.

Al no contarse con información en la literatura sobre el combate de cercópodos con nematodos en caña de azúcar, este trabajo se presenta como el primer

Cuadro 3. Número de nematodos entomopatógenos emergidos por tratamiento después de cuatro y ocho días de realizadas las aplicaciones (12 ninfas de *Aeneolamia varia* observadas por repetición).

Tratamientos	Observación a los 4 días		Observación a los 8 días		Significancia entre días ^y
	Total de nematodos ^z	Promedio en 12 ninfas	Total de nematodos ^z	Promedio en 12 ninfas	
Testigo (T0)	250	63	1188	297	Sí
2 millones (T1)	8063	2018	19000	4750	Sí
4 millones (T2)	500	125	438	109	No
8 millones (T3)	2500	625	125	31	No

^z Total de nematodos de cuatro repeticiones de 12 ninfas cada una; ^y diferencias mediante pruebas de *t*; $t = 10,53$

^y 44,09 para tratamientos testigo y 2 millones (T tabla = 3,18; $p = 0,05$). No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos del mismo período mediante análisis de bloques ($F = 0,47$; $p = 0,70$ para observación a los cuatro días; $F = 2,94$; $p = 0,064$ para observación a los ocho días). Todos los valores se transformaron a $\sqrt{x + 1}$.

reporte sobre la posibilidad de controlar dicha plaga por medio de nematodos. En investigaciones realizadas en el control de insectos del suelo con previa irrigación, como *Popilia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) en pasto azul Kentucky (*Poa pratensis*), se requirieron dosis de 2,47 a 4,9 billones de nematodos/ha (Yeh y Alm 1995); asimismo, para controlar *Cyclocephala borealis* (Coleoptera: Scarabaeidae) se requirieron 1,25 billones de nematodos/ha (Suggers 1994). El mejor control obtenido, de 75,4% de mortalidad, podría ser insuficiente, ya que cuando *A. varia* se encuentra en grandes poblaciones causa daños severos en la caña de azúcar, lo que hace pensar que es necesario utilizar dosis más altas que los 100 millones/ha utilizados aquí.

Los costos en una producción artesanal de nematodos por medio del hospedante *G. mellonella* con dosis de 150 millones/ha estarían en el orden de US\$ 10,50/ha. En las condiciones de laboratorio se producen alrededor de 100000 nematodos por larva, por lo que resulta indispensable incrementar la producción cuando se requiera asperjarlos en grandes extensiones. Una opción muy viable podría ser incorporar la utilización del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, que actualmente se utiliza en forma extensiva en las haciendas afectadas por candelilla en diferentes zona cañeras de Venezuela (Zambrano *et al.* 1987, 1993). La utilización racional de productos químicos en conjunto con los nematodos podría potenciar el efecto contra la candelilla. La presente investigación abre una ventana para seguir buscando medidas que se complementen en un manejo integrado real y económico, tales como el estudio de los hongos entomopatógenos, de las poblaciones nativas, y de su persistencia y multiplicación en el suelo.

Literatura citada

- Allard, GB. 1987. Prospects for the biocontrol of sugar cane frog hopper with particular reference to Trinidad. *Biocontrol News and Information*. June 1987, no. 2.
- Bedding, RA; Arkhurst. 1975. A simple technique for the detection of the parasitic rhabditid nematode in soil. *Nematologica* 21:109-110.
- Bennett, FD. 1984. Discusión sobre las posibilidades de control biológico de la candelilla. In *Seminario Problemas de la candelilla y el taladrador de la caña de azúcar y pastos* (Barquisimeto, 1984). Unión de productores de azúcar. p. 39-48.
- Duncan, LW; McCoy, CW. 1996. Vertical distribution in soil, persistence, and efficacy against citrus root weevil (Coleoptera: Curculionidae) of two species of entomogenous nematodos (Rhabditidae: Steinernematidae: Heterorhabditidae). *Environmental Entomology* 25(1):174-178.
- Ferrer, FR; Torres, M. 1984. Sinopsis histórica sobre el control de la candelilla (*Aeneolamia* spp.) en Venezuela. *Seminario Problemas de la candelilla y el taladrador de la caña de azúcar y pastos* (Barquisimeto, 1984). Unión de productores de azúcar. p. 105-140.
- Hunt DJ. 1981. Evaluation of nematodos as biocontrol agents of sugarcane frog hopper, *Aeneolamia varia*. *Repot. Commonwealth Institute of Parasitology. Sin publicar.*
- Matthew, FB; Kaya, HK; Tabashnik, F. 1997. Efficacy of a dehydrated steinernematid nematode against black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae), and diamond back moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* 90(5):1200-1206.
- Molina, N; Linares, B; Zambrano, C. 1991. Control biológico de *Aeneolamia varia* F. (Homoptera Cercopidae) con el hyphomicete, *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sor. en Venezuela. In Panis, C; Kermarrec, A. eds. *Recontres caraïbes en lutte biologique*. Guadeloupe, French West Indies, INRA. p. 343-360. (Les Coloques no. 58).
- Poinar, GO, Jr, Linares, B. 1985. *Hexameris dactylocerus* sp.n. (Mermithidae: Nematoda a parasite of *Aeneolamia varia* (Cercopidae: Homoptera) in Venezuela. *Revue de Nematologie* 8: 109-111.
- Reed, DK; Reed, GL; Creighton, CS. 1986. Introduction of entomogenous nematodos into trickle irrigation systems to control striped cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 79(5): 1330 1335.
- Rosales, LC; Suárez, Z. 1998. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control de gorgojo negro del plátano, *Cosmopolites sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae) *Boletín Entomológico de Venezuela* 13(2):123-140.
- Sosa, OJ; Beavers, JB. 1985. Entomogenous nematodos as biological control organisms for *Ligyris subtropicus* (Coleoptera: Scarabaeidae) in sugarcane. *Environmental Entomology* 14(1): 80-82.
- Suggers, DA. 1994. Effect of irrigation and spray volume on efficacy of entomopathogenic nematodos (Rhabditida: Heterorhabditidae) against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology* 87(3): 643-646.
- White, GF. 1927. A method for sampling infective nematode larvae from cultures. *Science* 66:302-202.
- Woodring, JL; Kaya, HK. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes. A handbook of biology and techniques. Fayetteville, Arkansas, US, Arkansas Agricultural Experimental Station. 29 p. (Southern Cooperative Series Bulletin no. 331).
- Yeh, T; Alm, SR. 1995. Evaluation of *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) for biological control of Japanese and oriental beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology* 88(5): 1251-1253.
- Zambrano, C; Molina, N; Sosa, ML. 1987. Control biológico de la candelilla (*A. varia*) mediante el uso de *M. anisopliae* en las fincas 'Las Raíces' y 'Choro' del Estado Portuguesa. *Venezuela Azucarera* 26: 4-8.
- _____; Agüero, C; Linares, B; Molina, N. 1993. *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok: pasado, presente y futuro en Venezuela. In *Reunión Técnica del Programa de Manejo Integrado de Plagas de la Caña de Azúcar (PICANTA)* (7, 1993, Acarigua, VE). *Reporte*. Acarigua, VE, PROBIOAGRO. 29 p.