

II Congreso Ecuatoriano de la Papa

[Home](#) / [CIP Quito](#) / [Información](#) / [Congresos](#) / [II Congreso Ecuatoriano de la Papa](#)

Memorias del

II CONGRESO ECUATORIANO DE LA PAPA

17, 18 y 19 de mayo del 2006, Ambato-Ecuador

La papa (*Solanum tuberosum*), es un alimento básico en la dieta de los ecuatorianos, constituye a su vez un renglón económico del cual subsisten la mayoría de población rural interandina ecuatoriana. En tal virtud y con el propósito de conocer y difundir los avances científicos y tecnológicos logrado en los últimos años en relación con el cultivo de papa, la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Ambato, conjuntamente con el Centro Internacional de la Papa- CIP y el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias –INIAP, asumió la responsabilidad de organizar el II CONGRESO ECUATORIANO DE LA PAPA, evento que tiene lugar en la ciudad de Ambato del 17 al 19 de mayo del 2006 y cuenta con la colaboración decidida de Instituciones locales, nacionales e internacionales vinculadas al desarrollo agropecuario del país tanto publicas como privadas.

El evento, sin duda también constituye un importante escenario para reunir a prestigiosos conferencistas internacionales, investigadores, científicos ecuatoriano, docentes universitarios, estudiantes y productores de todo el país y particularmente de la Región Interandina para intercambiar experiencias y planificar las acciones futuras encaminadas a mejorar los niveles de producción y productividad de la papa, tomando como base la tecnología desarrollada y disponible en la actualida

ORGANIZADORES PRINCIPALES



UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
Facultad de Ingeniería Agronómica



PROSPECCIÓN DE NEMATODOS ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE GUSANO BLANCO (*Premnotrypes vorax* Hustache) (Coleoptera: Curculionidae) EN ECUADOR

*Patricia Hernández*¹, *Jesús Alcázar*², *Sandra Garcés*³ y *Patricio Gallegos*⁴
¹ pthertz25@hotmail.com, ² j.alcazar@cgiar.org, ³ sandygarces@yahoo.es y
⁴ gallegos@fpapa.org.ec

RESÚMEN

El cultivo de la papa constituye una de las principales actividades económicas en Ecuador. Al existir un intenso uso de suelo en este cultivo, se incrementa el daño del gusano blanco que es su principal limitante. El objetivo de esta investigación fue realizar una prospección de nematodos entomopatógenos (NE) en tres provincias productoras de papa y estudios básicos de patogenicidad, como una alternativa de control biológico de la plaga. Se implementó la cría de *Galleria mellonella* para el aislamiento de los NE de muestras de suelo. Al mismo tiempo, se estableció la cría de *Premnotrypes vorax* para las pruebas. Se tomó un total de 357 muestras de suelo. Se encontraron 28 aislamientos de NE. Al realizar los postulados de Koch sobre larvas de *G. mellonella*, se determinó que once aislamientos presentaron una mortalidad superior al 90%. En la clasificación taxonómica realizada se establecieron cuatro aislamientos del género *Heterorhabditis* y siete como *Steinernema*. En la prueba de patogenicidad con larvas de quinto instar de *P. vorax*, se presentó una mortalidad superior al 50% con dos aislamientos provenientes de Carchi. Se determinó que la DI_{50} de los dos aislamientos en larvas de *P. vorax* fue de 3.2 juveniles infectivos/larva. Estos aislamientos se presentan como posibles organismos promisorios para el control biológico de gusano blanco.

1. INTRODUCCIÓN

En Ecuador el cultivo de la papa constituye una de las principales actividades económicas en las provincias de Carchi, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo y Cañar.

Alrededor de 80.000* familias dependen de este cultivo que cubre alrededor de 49719 hectáreas sembradas, con una producción de 239715 toneladas (INEC, 2002) y un rendimiento por hectárea de 12.69 toneladas, (promedio de las provincias de Cotopaxi, Carchi, Chimborazo y Bolívar) (Barrera *et al.*, 1998).

La producción de papa es afectada por enfermedades e insectos plaga, destacándose el gusano blanco como la plaga más dañina en la mayoría de las provincias paperas de Ecuador. La larva al alimentarse daña los tubérculos en campo, haciendo galerías que afectan la calidad del producto. En las provincias de Cañar, Carchi, Chimborazo y Cotopaxi, los niveles de pérdida del valor comercial de los tubérculos afectados oscilan entre 20 y 50% (Oyarzun *et al.*, 2002; Gallegos *et al.*, 1997).

Los agricultores emplean el control químico para reducir los daños de esta larva, utilizando insecticidas tóxicos como: Carbofuran, metamidafos, acefato y profenofos, los cuales son aplicados al follaje ó al suelo (Gallegos *et al.*, 1997); ocasionando problemas de contaminación ambiental, crecimiento de plagas secundarias (mosca minadora *Liryomiza* sp.), resistencia a insecticidas, efectos nocivos sobre la salud del agricultor, fauna útil y sus enemigos naturales.

El Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) y el Centro Internacional de la Papa (CIP) por lo anterior, y considerando la necesidad de buscar otras alternativas para el sistema de Manejo Integrado del gusano blanco, proponen la investigación sobre el uso de NE, las cuales se perfilan como un valioso aporte del control biológico, que permitirá regular la población de la plaga, sin efectos nocivos al medio ambiente y al hombre. Se debe destacar que estos nemátodos son habitantes naturales del suelo y tienen la capacidad de buscar, parasitar y causar la muerte a gran número de insectos plaga (Garzón *et al.*, 1996).

2. OBJETIVOS

- Colectar poblaciones de NE en campos, bodegas y ambientes no disturbados (aledaños

* Comunicación personal con Barrera (2005)

al cultivo) en las principales provincias productoras de papa.

- Determinar el grado de patogenicidad de las poblaciones colectadas, en larvas de gusano blanco.
- Determinar la dosis letal media (DL₅₀) de las poblaciones de nematodos entomopatógenos colectados.

3. METODOLOGIA

3.1 Muestreo de suelo de campos, bodegas y ambientes no disturbados (aledaños al cultivo) del cultivo de papa.

Se colectaron muestras de suelo en varias zonas de las provincias de Carchi, Cotopaxi y Chimborazo, por ser las de mayor área en producción de papa en el país. Los puntos de muestreo se seleccionaron de acuerdo a los sistemas de producción: Papa – pastos, papa – otros cultivos, bosques protectores ó vegetación nativa y sitios de almacenamiento. En cada punto de muestreo se tomaron tres submuestras a una profundidad de 10 a 15 cm, las cuales fueron colocadas y mezcladas en una funda plástica.

3.1.1 Cría de la polilla de la cera *Galleria mellonella* y de Gusano blanco *P. vorax*

La cría de la polilla de la cera se realizó para aislar y multiplicar los nematodos entomopatógenos que pudieran encontrarse en las muestras de suelo. Paralelamente a esta actividad, se estableció una cría de larvas de gusano blanco para disponer de especímenes sanos (sin contaminación) y de la misma edad. Las larvas fueron utilizadas en las diversas pruebas de laboratorio.

3.1.2 Aislamiento y Multiplicación de nematodos entomopatógenos

Cada muestra de suelo se distribuyó en dos tarrinas y se colocaron 5 larvas de *G. mellonella* sobre la superficie, los recipientes se taparon y se incubaron a 20°C por siete días. Las larvas de *G. mellonella* afectadas por el nematodo se distinguen de las sanas por su

coloración, pudiendo mostrar un color rojo, crema o negro, según la especie de nematodo que se trate. Cada larva afectada por nematodos se lavo con agua destilada y se recuperaron los nematodos en trampas White (Kaya y Stock, 1997). La trampa consiste de una placa petri de 150 mm, la cual se lleno con 20 ml de agua destilada y en cuyo interior se dispuso de otra placa petri de 90 mm conteniendo un disco de papel filtro humedecido. Sobre el papel filtro de esta placa se colocaron las larvas de *G. mellonella* que presentaron sintomatología de ataque por nematodos, y se incubaron a 20°C por dos semanas.

El proceso de multiplicación se realizó colocando 200 juveniles infectivos de cada aislamiento en una placa petri, con papel filtro sobre 10 larvas de *G. mellonella*; las placas se incubaron a 20°C por una semana, posteriormente las larvas se colocaron en trampa White. Los nematodos que emergieron de la trampa se cosecharon por cuatro días, lavándolos con agua destilada, tres veces. Después se almacenaron en placas petri, grandes, con una solución de bicarbonato de sodio (al 2%), a 10°C.

3.2 Determinación del grado de patogenicidad de las poblaciones encontradas

La prueba de patogenicidad se realizó según la metodología de Kaya y Stock (1997): en el caso de nematodos del género *Steinernema* se realizaron ensayos “One on one”, para lo cual se inoculo un juvenil del nematodo (IJs) en una larva de gusano blanco de V instar, contenida en una celda de una placa (20 celdas), con papel filtro Whatman No 1 estéril; para el caso de nematodos del género *Heterorhabditis* se realizaron ensayos “Five on one”, para lo cual se inoculo 5 IJs en una larva de gusano blanco de V instar contenida en un tubo “eppendorf” (1.5 ml de capacidad) con 0.5 ml de arena estéril (Kaya y Sotck, 1997; Alcázar, 2003). Posteriormente las placas y los tubos se incubaron a 20°C. El número de larvas muertas de gusano blanco se registro a las 24, 48, 72 y 96 horas de la inoculación. Para verificar la muerte de las larvas de gusano blanco por acción de los nematodos, éstas se disectaron.

3.3 Determinación de la dosis letal media (DL₅₀) de las poblaciones patogénicas

La determinación de la dosis letal media (DL₅₀) se realizó mediante una metodología similar sobre patogenicidad. En los tubos eppendorf se introdujo arena estéril, sobre la cual se colocaron 20 larvas de gusano blanco, de V instar, una por tubo (Woodring y Kaya, 1988; citados por Garzón *et al.*, 1996). Después, sobre cada una de estas larvas se inoculó una población correspondiente a 6 niveles (0, 1, 2, 4, 8 y 16 IJs/larva de gusano blanco). Posteriormente los tubos se incubaron a 20°C. Se realizaron lecturas de mortalidad a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas de la inoculación. Para confirmar la presencia de nematodos en las larvas muertas, posteriormente se disectaron en agua destilada ó suero fisiológico.

4. RESULTADOS

4.1 Muestras de suelo de campos, bodegas y ambientes no disturbados (aledaños al cultivo) del cultivo de papa.

4.1.1 Establecimiento de la Cría de *G. mellonella*

Los adultos se mantuvieron en recipientes plásticos con tul, en un número de 100 individuos por recipiente, para facilitar la oviposición se colocó papel filtro y una mezcla de agua - miel (2:1) como alimento. Los adultos viven un tiempo aproximado de ocho días. Las oviposturas se colocaron en recipientes plásticos con panales de cera y polen triturado. El tiempo de eclosión de la larva de primer instar se estableció en ocho días. El estado de larva pasa por ocho estadios en un tiempo de 35 días. La prepupa forma un cocoon duro del cual emerge el adulto en 15 días. La habitación de cría se acondicionó a 25°C de temperatura y 75% humedad.

4.1.2 Establecimiento de la cría de gusano blanco (*P. vorax*)

Los gorgojos se les mantuvo en recipientes plásticos con rodajas de papa y pajitas de gramíneas, para receptar las oviposiciones. Las posturas fueron recogidas semanalmente y

colocadas en placas petri. La eclosión del primer instar larval se presentó aproximadamente en 30 días. En este instar se colocó a la larva en rodajas de papa, dentro de vasitos plásticos, colocando una larva por rodaja. A los 35 días las larvas de V instar salieron de las rodajas de papa para entrar en el estado de prepupa, éstas se colocaron colocadas en nuevos vasitos plásticos con papel absorbente, de donde emergió el adulto, aproximadamente, en 45 días. El cuarto de cría se acondicionó a 15°C de temperatura y una humedad del 75%.

4.1.3 Muestreo y Aislamiento de nematodos entomopatógenos

Se tomo en total 357 muestras de suelo, comprendidas en las tres provincias. En Carchi 111, Chimborazo 129, Cotopaxi 110 y 7 muestras adicionales tomadas en la provincia de Tungurahua. De las muestras se aislaron 28 poblaciones de NE (7.8%), correspondiendo a seis en Carchi, aisladas de sistemas de papa – pasto (1), papa en rotación (4) y vegetación natural (1). En Chimborazo ocho aislamientos, encontradas en papa – pasto (3), papa en rotación (2), almacenamiento (1) y vegetación natural (2). En Cotopaxi diez, aisladas de sistemas de papa en rotación (5), almacenamiento (2), vegetación natural (1) y frutales (2). En Tungurahua cuatro, aisladas de frutales (2) y papa en rotación (2).

La ocurrencia de 7.8% de nematodos entomopatógenos en el total de muestras de suelo, indican un alto porcentaje de prevalencia de estos nematodos en los diferentes tipos de suelo y sistemas de cultivo del país. Estos resultados son similares con los reportados en Colombia por Caicedo *et al.* (2004) con 5.1% y en Venezuela por Rosales y Suárez (1998), con 8.21% de ocurrencia de NE.

4.2 Prueba de patogenicidad

Con los 28 aislamientos se realizó una selección mediante el empleo de larvas de *G. mellonella*. Se determinaron diferencias altamente significativas en patogenicidad entre los aislamientos ($F_{27, 56} = 26.291$, $P < 0.0001$). Mediante la prueba Tukey se identificaron once aislamientos, los cuales presentaron mortalidades superiores al 90% en 72 y 96 horas

(Tabla 1). Los aislamientos de NE correspondieron a cinco colectados en Carchi, cinco en Chimborazo y uno en Cotopaxi.

La mayor parte de los aislamientos (9) correspondieron a sistemas de producción de papa en rotación con otros cultivos como arveja, haba, melloco, pasto y maíz; solo dos aislamientos pertenecieron a vegetación natural. Estos resultados indican que estos nematodos entomopatógenos se encuentran asociados al cultivo de papa y a la plaga.

Tabla 1. Mortalidad de larvas de *G. mellonella* mediante 28 aislamientos de nematodos entomopatógenos

PROVINCIA	COMUNIDAD	CODIGO	% MORTALIDAD	GÉNERO DE NE
Carchi	Cuesaca	Cc 03	93.3%	<i>Heterorhabditis</i>
	Cuesaca	Cc 01	90.0%	<i>Heterorhabditis</i>
	Chutan Bajo	Ch 07	95.6%	<i>Steinernema</i>
	Chutan Bajo	Ch 06	94.3%	<i>Steinernema</i>
	Monteverde	Cb 13	98.0%	<i>Steinernema</i>
	Chutan Alto	Cch 07	45.3%	<i>Steinernema</i>
Chimborazo	La Delicia	H 04 D	94.0%	<i>Steinernema</i>
	Tambo Huasha	H 01T	90.0%	<i>Heterorhabditis</i>
	Rayoloma	H 03 R	98.0%	<i>Steinernema</i>
	Huacona La Merced	H 02 H	61.3%	<i>Steinernema</i>
	Santa Fé de Galán	V 02	23.6%	<i>Steinernema</i>
	Calerita Santa Rosa	H 05 C	94.3%	<i>Steinernema</i>
	Cahuaji Alto	H 13 C	61.3%	<i>Steinernema</i>
	Guayllabamba	H 01 G	94.3%	<i>Steinernema</i>
Cotopaxi	Patain Norte	Ct 14 P	35.3%	<i>Steinernema</i>
	Chambapongo	Ct 08	50.0%	<i>Steinernema</i>
	Patain Norte	Ct 10	33.0%	<i>Heterorhabditis</i>
	Yanahurco	Ct 11	49.0%	<i>Heterorhabditis</i>
	Patain Norte	Ct 15	59.0%	<i>Heterorhabditis</i>
	La Hoya	Ct 05	46.6%	<i>Steinernema</i>
	Patain Norte	Ct 13	94.6%	<i>Heterorhabditis</i>
	Anchilivi	Ct 02	6.6%	<i>Heterorhabditis</i>
	Yanahurco	Ct 17	74.3%	<i>Steinernema</i>
	Chanchazo	Ct 07	77.6%	<i>Heterorhabditis</i>
Tungurahua	Huachi	1 T	52.3%	<i>Heterorhabditis</i>
	Huachi	2 T	69.6%	<i>Heterorhabditis</i>
	Valle Hermoso	3 T	53.6%	<i>Heterorhabditis</i>
	Valle Hermoso	4 T	62.3%	<i>Heterorhabditis</i>

Con los 11 mejores aislamientos de NE se realizó la prueba de patogenicidad sobre larvas de V instar de *P. vorax*. De los resultados obtenidos se establecieron diferencias altamente significativas con los nematodos del género *Heterorhabditis* ($F_{3, 8} = 135.22, P < 0.0001$); con mortalidades de 68 y 57% en 48 y 72 horas con los aislamientos Cc 01 y Cc 03. En cuanto a nematodos del género *Steinernema* se establecieron, igualmente diferencias altamente significativas entre aislamientos ($F_{6, 14} = 57.511, P < 0.0001$), siendo los más sobresalientes Ch 06 y H 4d, con mortalidades de 47 y 48% en 72 horas, respectivamente (Figura 1).

De acuerdo a esto, los NE que mejor resultaron de las pruebas correspondieron a los aislados de Carchi, evidenciando una mayor agresividad frente a larvas de gusano blanco que otros aislamientos, posiblemente debido a una mayor adaptabilidad de estos nematodos a medios adversos como los que se establecen en esta provincia, en donde los agricultores incorporan una amplia gama de pesticidas en sus cultivos; mostrando probablemente los nematodos compatibilidad con el sistema de manejo del cultivo de papa, lo que los hace organismos altamente promisorios en el control biológico.

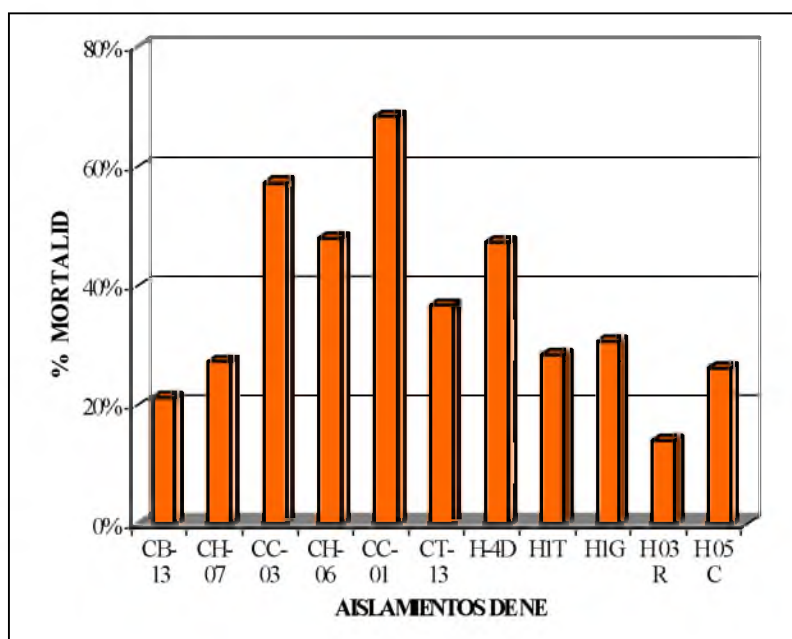


Figura 1. Prueba de patogenicidad con 11 aislamientos de NE sobre larvas de V instar de *P. vorax*.

4.3 Dosis letal media (DL₅₀) de las poblaciones patogénicas

Con los aislamientos Cc 01 y Cc 03 se determinó la dosis letal media, estos nematodos fueron seleccionados por cuanto en la prueba de patogenicidad presentaron las mayores mortalidades. Además, por su comportamiento tienen la capacidad de buscar al gusano blanco en el suelo. De acuerdo al análisis Probit (Tabla 2), se determinó que la DL₅₀ para los dos aislamientos fue de 3.2 IJs/larva de V instar de *P. vorax* (promedio de tres repeticiones en el tiempo). Según los resultados de la ecuación de regresión, indican que el incremento en la concentración de nematodos implica una mortalidad mayor en un período menor, hasta un límite que al incrementar la dosis, la mortalidad se mantiene constante o con ligeros incrementos.

Tabla 2. Dosis letal media de los aislamientos Cc 01 y Cc 03 (*Heterorhabditis* sp.), sobre larvas de último instar de *P. vorax*

AISLAMIENTO	REPETICIONES	DL ₅₀	LIMITES DE CONFIANZA	ECUACIÓN DE REGRESIÓN
CC 01	ENSAYO 1	3.291	2.448 – 4.307	Y= 4.331 + 1.29 log x
	ENSAYO 2	3.078	2.21 – 4.168	Y= 4.289 + 1.45 log x
	ENSAYO 3	3.423	2.516 – 4.569	Y= 4.271 + 1.36 log x
CC 03	ENSAYO 1	3.320	2.518 – 4.282	Y= 4.278 + 1.385 log x
	ENSAYO 2	3.208	2.409 – 4.156	Y= 4.318 + 1.34 log x
	ENSAYO 3	3.242	2.418 – 4.227	Y= 4.33 + 1.311 log x

En Colombia Garzón *et al.* (1996), evaluaron una cepa de *Steinernema* sp. encontrada en forma natural y comparada con el producto comercial EXHIBIT (*S. carpocapsae* Raza 25). De los resultados obtenidos se concluyó que ambos tratamientos mostraron patogenicidad hacia el gusano blanco, determinando una CL₅₀ de 526.43 IJs del aislamiento nativo y 26.30 IJs del producto comercial, demostrando que el nematodo del producto comercial fue 20 veces más patogénico que el nematodo nativo. En el presente caso encontramos que la dosis obtenida es mejor que lo reportado en Colombia.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- De un total de 357 muestras de suelo se aislaron 28 poblaciones de nematodos entomopatógenos.
- La mayor parte de los NE correspondieron a aislamientos de cultivo de papa en rotación con otro cultivo.
- Once aislamientos mostraron alta patogenicidad sobre larvas de *G. mellonella*.
- Los NE Cc 01 y Cc 03 (*Heterorhabditis* sp.), mostraron una alta patogenicidad sobre larvas de V instar de gusano blanco.
- Determinar la susceptibilidad de los diferentes estadios del gusano blanco con los NE Cc 01 y Cc 03.
- Establecer ensayos en invernadero y campo con los nematodos que mostraron los mejores resultados en laboratorio.

6. BIBLIOGRAFIA

- Alcazar, J. 2003. Experiments for Peru with *Heterorhabditis* species. Péru. Centro Internacional de la Papa (mimeografiado).
- Barrera, V.; Unda, J.; Ortiz, O. y Norton, G. 1998. Manejo de las principales plagas de la papa por los agricultores en la República del Ecuador. Quito, Ecuador. INIAP-CIP-IPM CRSP Virginia Tech. 10 – 11 p.
- Caicedo, A.; Trujillo, H.; Quintero, M.; Calatayud, P. y Belloti, A. 2004. Reconocimiento de nematodos entomopatógenos asociados a *Cyrtomenus bergi* en tres localidades de Colombia. En: Memorias del XXXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, Julio 28 al 30 de 2004.
- Gallegos, P.; Avalos, G. y Castillo, C. 1997. El Gusano Blanco de la Papa en Ecuador: Comportamiento y Control. Quito, Ecuador. INIAP. p. 35.
- Garzón, M.; Aza, B.; Jiménez, J. y Luque, J. 1996. Potencial del nematodo *Steinernema* sp. para el control biológico del gusano blanco de la papa. En: Revista Colombiana de Entomología. Vol. 22. No. 1 p. 25 - 30.

- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC). 2002. Encuesta de superficie, área sembrada y producción por muestreos de áreas. Quito, Ecuador. 113 - 119.
- Kaya, H. y Stock, P. 1997. Techniques in insects nematology. 281 - 324. En: Manual of techniques in insects pathology. Academic Press, San Diego. USA.
- Oyarzun, P.; Espinosa, P.; Forbes, G. y Reinoso, I. 2002. El cultivo de la papa en Ecuador. Quito, Ec, INIAP/CIP. 229 p.
- Rosales, L. y Suárez, Z. 1998. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo del plátano *Cosmopolitas sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae). En: Bol. Entomol. Venez. Vol. 13 (2). 123 – 140.