

EVALUACION DE LA CAPACIDAD INFECTIVA DEL NEMATODO *Steinernema sp.* BAJO DIFERENTES SUSTRATOS ORGANICOS PARA EL CONTROL DE CHISA *Astaena sp.* (Coleoptera: Melolonthidae)

Daysi Jhoana Obando Alvarez¹; Laydi Viviana Castillo Barco¹;
Claudia Salazar González²

RESUMEN

Esta investigación se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Nariño con el objetivo de determinar la susceptibilidad de las larvas de tercer ínstar de chisa *Astaena sp.* (Coleoptera: Melolonthidae), al ser infectadas con una cepa nativa de *Steinernema sp.* bajo diferentes sustratos orgánicos (gallinaza, lombricompost y compost). El nematodo fue aislado de suelos de Nariño específicamente en el municipio de Ospina y en el Corregimiento de Mapachico. Su multiplicación se realizó en recipientes de plástico con capacidad de 1 kg, llenos de suelo infestado con *Steinernema sp.*; a los cuales se les agregó la mezcla correspondiente de abono orgánico más suelo con inóculo y 10 larvas de chisa. Los entomopatógenos produjeron mortalidad en larvas de tercer instar de *Astaena sp.* y mostraron diferencias en los porcentajes de mortalidad dependiendo de la concentración de nematodos que se utilizó en cada uno de los tratamientos, sin importar el sustrato utilizado. Se comprobó que a mayor concentración de la cepa nativa *Steinernema sp.* mayor porcentaje de mortalidad de las larvas; es así que la concentración 1 kg de suelo con inóculo (testigo con inóculo) con 2500 a 3000 nematodos y la concentración 500 g de abono orgánico

¹ Ingenieras Agrónomas. Universidad de Nariño. Pasto. Colombia. Email: odaysijohana@yahoo.es.

² Profesora Asistente Ing. Agr. M.Sc. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño. Pasto. Colombia. Email: claudiasalazarg@yahoo.com.

más 500 g de suelo con inóculo con 1250 a 1500 nematodos fueron las más sobresalientes, seguidas por la concentración 700 g de abono orgánico más 300 g de suelo con inóculo con 750 a 900 nematodos y la concentración 900 g de abono orgánico más 100 g de suelo con inóculo con 250 a 300 nematodos.

Palabras Clave: *Astaena sp.*, *Steinernema sp.*, nematodos entomopatógenos, cepa nativa, inóculo.

EVALUATION OF THE INFECTIOUS CAPACITY OF THE PARASITIC NEMATODE *Steinernema sp.* UNDER DIFFERENT ORGANIC SUBSTRATES TO THE WHITE GRUB CONTROL *Astaena sp.* (Coleoptera: Melolonthidae)

ABSTRACT

This investigation was carried out at the microbiology laboratory of the Nariño university in order to determinate the third instar white grub *Astaena sp.* (Coleoptera: Melolonthidae), larvae susceptibility to be infected with a *Steinernema sp.* native strain under different organic substrates (hen manure, earthworm manure and compost). The parasitic nematode was isolated from Nariño's soil specifically at Ospina municipality and Mapachico small town. The nematode was multiplied in plastic plots of 1 kg capacity with *Steinernema sp.* infested soil. The corresponding mixture of organic fertilizer plus inoculum soil and 10 chisa larvae was added. The entomopathogens caused the third instar larvae *Astaena sp.* mortality and showed mortality percentages differences depending of the nematode concentration that was used for each one of the treatments, making no difference about the fertilizer used. To a high *Steinernema sp.* native strain concentration a higher mortality larvae percentage; reason why in 1kg inoculum soil (control with inoculum) concentration with 2500 - 3000 nematodes and 500g of organic fertilizer plus 500g of inoculum soil concentration with 1250 - 1500 nematodes were the most significant, followed by

the 700g of organic fertilized plus 300g of inoculum soil concentration with 700 – 900 nematodes and the 900g of organic fertilized plus 100g of inoculum soil concentration with 250 – 300 nematodes.

Key Words: *Astaena sp.*, *Steinernema sp.*, entomopathogens nematodes, native strain, inoculum.

INTRODUCCION

Dentro de las plagas que afectan cultivos, actualmente, las chisas han venido causando problemas en varias regiones del departamento de Nariño, especialmente las especies *Ancognatha sp.* y *Astaena sp.* (Coleoptera: Melolonthidae), su importancia radica en el daño que causan al sistema radical, manifestándose en debilitamiento y muerte de la planta, que conllevan así a una disminución consecuente en los rendimientos. En cultivos como papa, se han registrado pérdidas hasta del 82% y en cereales las pérdidas ascienden al 91% (Ruiz y Pumalpa, 1989).

Por otra parte, la inversión que los agricultores hacen en abonos y fertilizantes, semilla, protección fitosanitaria en general y mano de obra se ve afectada en muchos casos por los daños que ocasionan las larvas o adultos de estas plagas, que trozan las plantas o consumen las raíces. Algunas veces, los daños son notorios al momento de la cosecha como ocurre en tubérculos, bulbos y nabos en los cuales el follaje no manifiesta el daño hecho por la chisa en sitios de almacenamiento de nutrientes, es por esta razón que existe la necesidad de buscar alternativas diferentes o complementarias al método químico convencional y lograr un manejo integrado que no interfiera con la acción de los insectos benéficos que existen en el agroecosistema (Peña y Lucero, 2003).

Dentro de las posibles estrategias, el control de insectos con nematodos entomopatógenos facilita la posibilidad de aislar y manipular inóculo y obtener fundamentos técnicos necesarios para trabajos con agentes

biocontroladores en el campo, con el fin de contribuir al control de la chisa, de disminuir riesgos de contaminación ambiental, costos de control y hacer una aplicación cuando las condiciones del clima y suelo faciliten la dispersión y sobrevivencia de los nematodos biocontroladores (Peña y Lucero, 2003).

La utilidad práctica de los nematodos entomopatógenos para el control de numerosos insectos plaga así como su inocuidad ante otros animales y el medio los ha convertido en una defensa de la protección fitosanitaria para la siembra de cultivos, principalmente como parte del manejo integrado de plagas (Fernández, *et al.*, 1998).

METODOLOGIA

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Nariño con una temperatura promedio de 14 °C y una humedad relativa de 70% ubicado en las instalaciones de Torobajo a una altura de 2489 msnm., con 1°14'3'' de latitud norte y 77°17'7'' latitud oeste.

El suelo infestado con *Steinernema sp.* (7 kg) se colectó en el corregimiento de Mapachico y el municipio de Ospina, en los cuales se había registrado anteriormente la presencia de cepas nativas. El suelo libre de nematodos que se utilizó para realizar los ensayos, se recolectó en el municipio de Yacuanquer y en la ciudad de Pasto.

La identificación de la chisa se hizo mediante el uso del estereoscopio, observando características propias de la especie como el tamaño de la larva de 2 a 2.5 cm de longitud, el color amarillo marrón de la cabeza, las patas delgadas y las espinas de las tibias poco predominantes, además se observó la distribución de las setas en el raster y la abertura anal de las larvas, según lo planteado por Ruiz y Pumalpa (1989) y Londoño (1998).

Multiplicación Inicial del nematodo *Steinernema sp.*

Se recolectaron 70 larvas de chisa sanas en campo y se las llevó al laboratorio para realizar la multiplicación del nematodo y lograr una inoculación uniforme del sustrato mediante la metodología propuesta por Sañudo; *et al.* (2003). En 7 tarrinas plásticas de 1kg, llenas con el suelo infestado de nematodo, se depositaron dos larvas de chisa en cada una. Una vez lograda la infección de las larvas, se recolectaron aquellas muertas, para ser disectadas y observadas en el estereoscopio. Después, las larvas que presentaron nematodos en su cuerpo, se colocaron en una trampa de White para recuperar los nematodos casi en su totalidad (4 o 5 días).

Luego se mezclaron 7 kg de suelo infestado con nematodos con igual proporción de suelo libre de nematodos, para un total de 14 kg, en los cuales se depositaron 28 larvas de chisa; siguiendo el mismo procedimiento y en forma análoga hasta obtener un total de 28 kg de suelo infestado, teniendo en cuenta en cada oportunidad la muerte total de larvas de chisa. Este sustrato fue suficiente para el montaje del ensayo.

Determinación de la población de nematodos en el suelo infestado

Cuando se logró obtener 28 kg de suelo infestado con *Steinernema sp.* se determinó la población de nematodos presente en el suelo por medio de la utilización del método modificado del embudo de Baermann, utilizando una muestra de diez gramos y extrayendo un centímetro cúbico de agua con nematodos del embudo, para finalmente contabilizar los individuos en una rejilla Woodring y Kaya (1988).

Diseño experimental

Se estableció un diseño irrestrictamente al azar con arreglo factorial con 3 tratamientos para el factor A y 5 tratamientos para el factor B y cinco repeticiones para cada uno. En total se obtuvieron 75 unidades experimentales con 10 larvas sanas de chisa cada una, las cuales se colocaron en recipientes plásticos con capacidad de 1 kilo a una profundidad de 5 cm.

Tratamientos del factor A: correspondieron a tres abonos orgánicos:

- Gallinaza
- Lombricompuesto
- Compost

Tratamientos del factor B: correspondieron a las concentraciones de inóculo:

- 1 kg de abono orgánico (Testigo sin inóculo)
- 900 g de abono orgánico más 100 g de suelo con inóculo
- 700 g de abono orgánico más 300 g de suelo con inóculo
- 500 g de abono orgánico más 500 g de suelo con inóculo
- 1 Kg de suelo con inóculo (Testigo con inóculo)

VARIABLES DE RESPUESTA

Evaluación de la mortalidad. La evaluación se realizó a las 96 horas después de montado el ensayo y se determinó la presencia de síntomas y la mortalidad de las larvas.

Las chisas muertas se llevaron a cámara húmeda en cajas de Petri para recuperar el patógeno y verificar si fueron muertas por el nematodo o por otras causas.

Mortalidad larval (% M). Se calculó con base en la población original y la población afectada por el nematodo en cada uno de los tratamientos.

$$\% M = \frac{Po - Lv}{Po} \times 100$$

Po: Población inicial
Lv: Larvas vivas por tratamiento

Eficacia de cada tratamiento (% E). Se utilizaron los resultados obtenidos en la variable anterior (% M) y ajustados mediante la aplicación de la fórmula de Abbott.

$$\% E = \frac{P - C}{100 - C} \times 100$$

P: % de mortalidad en el tratamiento
C: % de mortalidad del testigo

Evaluación de los sustratos orgánicos. Los criterios de selección fueron de un porcentaje de eficacia mayor del 50% para cada tratamiento.

La evaluación de los sustratos orgánicos consistió en determinar la capacidad infectiva de *Steinernema sp.* sobre las larvas de chisa durante el tiempo que duró el ensayo, ésta se hizo al mismo tiempo que se realizó la evaluación de la mortalidad (96 horas).

Análisis estadístico

La interpretación estadística de los datos obtenidos, se realizó mediante un análisis de varianza y para la comparación de medias se realizó la prueba de Duncan al 0.5 %. Los datos de mortalidad y eficacia de cada tratamiento fueron transformados mediante la fórmula $Y = \arccoseno \sqrt{X}$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Descripción de síntomas en larvas. El seguimiento que se realizó permitió observar síntomas en las larvas infectadas entre el segundo y tercer día después de haber colocado las larvas de chisa en los recipientes con suelo con inóculo. Estos se manifestaron por poca movilidad, decoloración y, al cabo del cuarto y quinto día las larvas mueren por septicemia, flácidas, con color café oscuro y sin presentar mal olor.

Determinación de la población de nematodos. Se determinó una población uniforme en el suelo infestado que estaba entre los 250 y 300 nematodos por cada 100 g de suelo.

Evaluación de la mortalidad. En el análisis de varianza (Tabla 1) se encontró que existen diferencias significativas entre los abonos orgánicos y diferencias altamente significativas entre las concentraciones y diferencia no significativa en la interacción de los abonos orgánicos por las diferentes concentraciones de inóculo, por lo tanto, se concluye que los factores actúan independientemente y se deben escoger los mejores tratamientos dentro de cada factor comparando las medias (Legarda; *et al.*, 2001)

Tabla 1. Análisis de varianza de evaluación de la mortalidad de las larvas de *Astaena sp.* en las diferentes concentraciones y sustratos orgánicos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	2	288.234375	144.117188	1.3101*	0.277
FACTOR B	4	288.234375	8014.851563	72.8576**	0.000
INTERACCIÓN	8	430.515625	53.814453	0.4892 NS	0.000
ERROR	60	6600.421875	110.007034		
TOTAL	74	39378.578125			

C.V. = 19.13%

* Diferencias significativas al 95%

** Diferencias altamente significativas al 95%

NS Diferencias no significativas al 95%

En cuanto al factor A (abonos orgánicos), el análisis de varianza no presentó diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, es decir que la mortalidad de la chisa depende de la concentración del inóculo y no de los sustratos evaluados, tal como lo muestra la tabla 2.

Tabla 2. Análisis de varianza de evaluación de la mortalidad de las larvas de *Astaena sp.* en los diferentes sustratos orgánicos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTO	2	57.58	28.79	0.00532 NS	0.948
ERROR	12	6498.24	541.52		
TOTAL	14	6555.8281			

C.V. = 42.45%

NS Diferencias no significativas al 95%

En cuanto al factor B (Sustratos y concentración de inóculo), la mayor mortalidad de larvas de *Astaena sp.* se encontró con el sustrato con inóculo que no fue mezclado con abono (testigo con inóculo) con una mortalidad promedio de 71.81%, y el menor promedio de mortalidad se encontró con el abono orgánico que no se mezcló con el suelo con inóculo o testigo sin inóculo, con una mortalidad promedio de 19.56% para los tres abonos orgánicos (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de la comparación de medias de diferentes concentraciones de inóculo

TRATAMIENTO	MEDIA
1 Kg de suelo con inóculo (Testigo con inóculo)	74.31 A
500 g de abono orgánico más 500 g de suelo con inóculo	71.50 AB
700 g de abono orgánico más 300 g de suelo con inóculo	59.12 BC
900 g de abono orgánico más 100 g de suelo con inóculo	52.52 C
1 kg de abono orgánico (Testigo sin inóculo)	16.67 D

Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas entre si (Duncan al 0.05 %)

Esto se debe a que el suelo con inóculo (testigo con inóculo) contiene un mayor número de nematodos que las demás proporciones mezcladas (abono orgánico más suelo con inóculo) en las cuales la mortalidad aumenta a medida que la proporción de suelo con inóculo también aumenta. Este efecto se debe a que existe una relación directa entre la cantidad de inóculo y la infectividad del patógeno, garantizando una mayor oportunidad para que el nematodo cause infección cuando el inóculo es mayor, observándose una respuesta directamente proporcional entre el incremento de la dosis y la mortalidad de los individuos estudiados como también lo manifiesta (Sornoza, 1991).

Con respecto al abono orgánico (testigo sin inóculo) la mortalidad ocasionada por nematodos es igual a cero aunque existe un porcentaje promedio de mortalidad de 19.56% que corresponde a la muerte ocasionada por otros factores como la manipulación de las larvas en el momento de la recolección y transporte de campo hasta el laboratorio, la falta de alimento que sufren las larvas, el confinamiento al que se someten durante la evaluación, entre otros.

El porcentaje de mortalidad de los tres abonos orgánicos mezclados a diferentes concentraciones con suelo con inóculo indica que el compost, la gallinaza y el lombricompost tienen en promedio un porcentaje de mortalidad mayor del 50% sobre las larvas de *Astaena sp.*, con un 55.88%, 55.05% y 51.38% respectivamente (Figura 1).

Figura 1. Porcentaje de mortalidad de tres abonos orgánicos mezclados a diferentes concentraciones con suelo con *Steinernema sp.* (Rhabditida: Steinernematidae) en el control de *Astaena sp.* (Coleoptera: Melolonthidae) en condiciones de laboratorio.



Lo anterior se debe a que el hábitat mas apropiado para los nematodos es el suelo, el cual los protege de las condiciones ambientales externas y ofrece todo el potencial para su establecimiento y reproducción (Kaya, 1990). El suelo en este caso fue mezclado con abono orgánico o presentó un porcentaje de materia orgánica que permitió mejorar las condiciones físicas del suelo como la humedad, la textura, la

temperatura y la concentración de oxígeno indispensables para la supervivencia, actividad parasítica, infectividad y dispersión de los nematodos.

Un suelo provisto de materia orgánica humificada es un suelo más aireado, menos sensible a la sequía y con mayor capacidad biológica ya que el humus sirve de alimento a una multitud de microorganismos que hacen del suelo un medio vivo. Los suelos ricos en humus se calientan más y mantienen un régimen térmico más estable, reducen las variaciones bruscas del pH y ello es fundamental en los suelos agrícolas, por los efectos negativos que conllevaría la variación brusca del pH sobre la vida microbiana (Labrador, 1993).

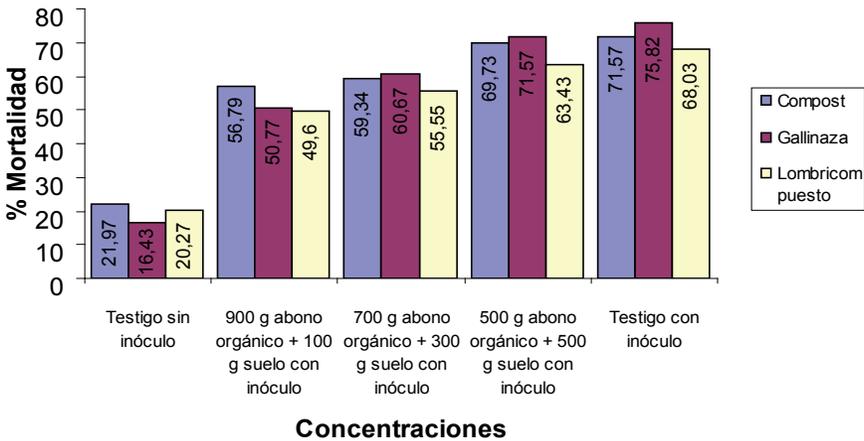
La temperatura unida a la humedad del suelo, afectan principalmente la persistencia y dispersión. Los nematodos parásitos de insectos presentan variabilidad inter o intraespecífica, en relación con la tolerancia a la temperatura, presentándose sobrevivencia y eficacia en parasitismo, dentro de un amplio rango (3 a 35 °C), valores de pH extremos (11 o 3), limitan su capacidad de infección más no su viabilidad. Humedades extremas, además de afectar su viabilidad y establecimiento, pueden dificultar su movilidad (Koppenhofer *et al.* 1997).

La cepa de *Steinernema sp.* utilizada para este ensayo es una cepa nativa que fue tomada de un suelo donde se había estado multiplicando el nematodo con larvas de chisa y bajo condiciones ambientales favorables para su desarrollo y multiplicación, por lo tanto presenta una mayor actividad y capacidad patogénica que si hubiera sido aislada y almacenada en laboratorio.

En la interacción del abono orgánico por las diferentes concentraciones de este con el suelo con inóculo se observa que con el abono orgánico (testigo sin inóculo) el mayor porcentaje de mortalidad lo obtiene el compost con un 21.97% luego sigue el lombricompost con un 20.27% y por último la gallinaza con 16.43% (Figura 3).

En la concentración 900 g de abono orgánico y 100 g de suelo con inóculo el mayor porcentaje de mortalidad lo obtiene el compost con un 56.79%, luego sigue la gallinaza con un 50.77% y por último el lombricompuesto con un 49.60% (Figura 3).

Figura 3. Porcentaje de mortalidad de la interacción de cinco concentraciones de abono orgánico y suelo con *Steinernema sp.* (Rhabditida: Steinernematidae) en el control de *Astaena sp.* (Coleoptera: Melolonthidae) en condiciones de laboratorio.



En la misma figura en las concentraciones: 700 g de abono orgánico más 300 g de suelo con inóculo y 500 g de abono orgánico más 500 g de suelo con inóculo el mayor porcentaje de mortalidad lo obtiene la gallinaza con un 60.67% y un 71.57% respectivamente, luego sigue el compost con un porcentaje de mortalidad de 59.34% y un 69.73% respectivamente y por último el lombricompuesto con un porcentaje de mortalidad de 55.55% y un 63.43% respectivamente. En el suelo con inóculo que no fue mezclado con abono orgánico (testigo con inóculo) el mayor porcentaje de mortalidad lo obtiene la gallinaza con un 75.82% luego sigue el compost con un 71.57% y por último el lombricompuesto con 68.03%.

Se encontró que todas las concentraciones de nematodos evaluadas, causaron alta mortalidad en larvas de tercer instar de *Astaena sp.* Los porcentajes de mortalidad presentaron una tendencia a aumentar en la medida en que las concentraciones se incrementaron, de tal manera que las dos concentraciones más altas se destacaron por generar porcentajes de mortalidad más elevado, como es el caso de las concentraciones del suelo con inóculo o testigo con inóculo con 2500 a 3000 nematodos/recipiente plástico y las concentraciones de abono orgánico más suelo con inóculo con 1250 a 1500 nematodos/recipiente plástico.

En la proporción 900 g de abono orgánico más 100 gr de suelo con inóculo hay de 250 a 300 nematodos distribuidos en 1000 g de mezcla, en la proporción 700 g de abono orgánico más 300 g de suelo con inóculo hay de 750 a 900 nematodos distribuidos en 1000 g de mezcla, en la proporción 500 g de abono orgánico más 500 g de suelo con inóculo hay de 1250 a 1500 nematodos distribuidos en 1000 g de mezcla y en 1000 g de suelo con inóculo hay de 2500 a 3000 nematodos. Si cada recipiente plástico contenía 10 larvas, la cantidad de nematodos por larva fue de 25 a 30; 75 a 90; 125 a 150 y 250 a 300 nematodos/larva respecto a las mezclas anteriores.

En lo que respecta a la susceptibilidad de los hospedantes, se conoce que estos han desarrollado mecanismos de defensa en contra de los patógenos, que pueden ser morfológicos, fisiológicos y conductuales (Gullan y Kosztarab, 1997). Los mecanismos de defensa morfológicos que pudieron influir en los diferentes porcentajes de mortalidad encontrados en este estudio, con las diferentes concentraciones de abono orgánico más suelo con inóculo son: el tamaño del hospedante y las aberturas naturales que probablemente impidieron el paso de los infectivos juveniles. No se puede descartar la posibilidad de que algunos de los juveniles infectivos hayan sido eliminados durante el proceso de invasión o en el interior del hospedante por mecanismos fisiológicos, ya que cuando los patógenos invaden un organismo, los hemocitos se unen a estos y los aíslan por fagocitosis, atrapándolos en agregados llamados nódulos; pero cuando, el invasor es muy grande

para ser fagocitado, es encapsulado por múltiples capas de hemocitos y/o una capa de melanina (Forsler y Gardner, 1991).

Los mecanismos de defensa conductual pudieron haber influido para evitar la infección. Las larvas de *Astaena sp.* tienen la tendencia a enterrarse en el suelo y la profundidad a la que se entierran depende de la textura del suelo. Este fenómeno limita la probabilidad de contacto con los nematodos a pesar de que estos pueden responder a estímulos, como moverse a través de un gradiente de CO₂ producido por las larvas, ser atraído por las heces o por la presencia del hospedante (Kaya, 1993). Lo cual demuestra que si el suelo no presenta características físicas adecuadas para el desplazamiento del nematodo se va a dificultar su orientación hacia las larvas de chisa por lo tanto el porcentaje de mortalidad va a disminuir, en este aspecto podríamos favorecer el uso de los abonos orgánicos en este experimento, ya que su uso permitió favorecer tanto las condiciones físicas como químicas del suelo.

Evaluación de los sustratos orgánicos.

Los abonos orgánicos se comportaron de la misma manera con cualquiera de las concentraciones, por lo tanto, con cualquiera de ellos se va a obtener buena capacidad infectiva de los nematodos sobre las larvas de *Astaena sp.*, existiendo en general una relación directamente proporcional entre la concentración de nematodos y la mortalidad de las larvas, pues a medida que aumento la concentración de nematodos infectivos, se incrementó la mortalidad de las larvas de chisa.

La capacidad infectiva de *Steinernema sp.* sobre las larvas de chisa bajo los diferentes sustratos orgánicos se determinó por medio de la eficacia de cada tratamiento, por lo tanto para el caso del compost se determinó que todos los tratamientos presentan una buena capacidad infectiva ya que tienen un porcentaje de eficacia mayor del 50%, por lo cual el compost es un medio que brinda una adecuada capacidad infectiva al nematodo *Steinernema sp.* sobre las larvas de *Astaena sp.* (Tabla 4).

Tabla 4. Porcentajes de eficacia de cuatro concentraciones de abono orgánico y suelo con *Steinernema sp.* (Rhabditida: Steinernematidae) en el control de *Astaena sp.* (Coleoptera: Melolonthidae) en condiciones de laboratorio. Datos transformados mediante la fórmula $Y = \text{Arcoseno } \sqrt{X}$.

PORCENTAJE DE EFICACIA			
CONCENTRACIÓN	COMPOST	GALLINAZA	LOMBRI-COMPUESTO
900 g abono orgánico + 100 g suelo con inóculo	53.73	49.02	46.15
700gr abono orgánico + 300 g suelo con inóculo	56.79	59.34	53.13
500 g abono orgánico + 500 g suelo con inóculo	68.03	70.63	61.34
1kg suelo con inóculo (Testigo con inóculo)	69.73	74.66	66.42

Para la gallinaza y el compost se determinó que todas las concentraciones presentan una buena capacidad infectiva ya que tienen un porcentaje de eficacia mayor del 50% a excepción del tratamiento 900 g de abono orgánico más 100 g de suelo con inóculo con un porcentaje de eficacia del 49.02% y del 46.15% respectivamente, por lo cual la gallinaza y el compost brindan una adecuada capacidad infectiva al nematodo *Steinernema sp.* sobre las larvas de *Astaena sp.* cuando el tratamiento es de 700 g de gallinaza o compost más 300 g de suelo con inóculo; 500 g de gallinaza o compost más 500 g de suelo con inóculo y 1 Kg de suelo con inóculo (testigo con inóculo), (Tabla 4).

Los factores que afectan la dispersión activa del nematodo en el suelo para encontrar al hospedante, incluyen: Los espacios intersticiales, que en los suelos arcillosos son pequeños y limitan el movimiento del nematodo, la humedad debido a que los nematodos requieren de una película de agua para dispersarse en el suelo; pero, en condiciones secas y cuando oscila la temperatura de 5 a 25 °C se incrementa la dispersión

de 0 a 50%. Las condiciones secas con bajas temperaturas inhiben el movimiento por falta del agua para moverse y la temperatura induce a la inactividad. Los niveles altos de humedad o el exceso de agua reducen la dispersión del nematodo, debido a la anoxia y al deslizamiento Kaya (1990).

Según Glazer (1996), la eficacia de los nematodos entomopatógenos difiere significativamente en el mismo insecto objetivo. Estas diferencias se han atribuido a:

- La variación entre las cepas de nematodos y la actividad de los IJ en el suelo; aunque los nematodos se pueden desarrollar muy bien en muchas especies de hospedantes diferentes, el desarrollo óptimo difiere con la especie o cepa de nematodo.
- El número de bacterias por infectivo juvenil. En *Steinernema carpocapsae* varía de 20 a 250 células y la virulencia de la bacteria simbiote, la cual está influenciada por el porcentaje de crecimiento de la bacteria y la actividad de las enzimas proteolíticas.
- La proporción de juveniles que lleva el hospedante; el porcentaje de invasión de nematodos al hemocele del insecto es el factor más importante que afecta la patogenicidad global de Steinernematidos y Heterorhabditidos y el tiempo que tardan para liberar las bacterias. De aquí se desprende la necesidad de evaluar el efecto de la concentración de nematodos en una especie de insecto determinado y el tamaño del insecto hospedante.

CONCLUSIONES

Bajo condiciones controladas de laboratorio el nematodo entomopatógeno *Steinernema sp.* es capaz de infectar y parasitar larvas de tercer ínstar de *Astaena sp.*

La metodología utilizada para la multiplicación del nematodo es eficiente para obtener una inoculación uniforme del sustrato, mantener el nematodo en constante actividad y obtener una cantidad considerable de nematodos infectivos en corto tiempo.

Esta investigación demostró que existen diferencias en los porcentajes de mortalidad de las larvas de *Astaena sp.* con las diferentes concentraciones de la cepa nativa *Steinernema sp.*, de tal manera que a mayor concentración de nematodos mayor porcentaje de mortalidad.

Se lograron separar dos niveles de significancia entre las concentraciones de abono orgánico y suelo con inóculo con base en los porcentajes de mortalidad; las concentraciones 1 kg de suelo con inóculo (testigo con inóculo) y 500 gr de abono orgánico más 500 gr de suelo con inóculo fueron las más sobresalientes, seguidas por las concentraciones 700 gr de abono orgánico más 300 gr de suelo con inóculo y 900 gr de abono orgánico más 100 gr de suelo con inóculo.

Los abonos orgánicos (gallinaza, lombricompost y compost) permiten mejorar las condiciones físicas del suelo con el cual se mezclaron favoreciendo la dispersión de los nematodos en el suelo y por ende la localización de las larvas de chisa para su infección.

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que las concentraciones evaluadas en este estudio representan una alternativa no tóxica o residual, ambientalmente aceptable y un potencial como agentes de control biológico en larvas de *Astaena sp.* dentro de un programa de manejo integrado de plagas.

BIBLIOGRAFIA

FERNÁNDEZ, E.; ARTEAGA, E. y PÉREZ, M. Utilización de los nematodos entomopatógenos en el control de plagas agrícolas. Ciudad de la Habana, Cuba: Laboratorio de nematología INISAV, 1998. 13 p.

GULLAN, P y KOSZTARAB, M. 1997. Adaptations in scale insects. In: Annual review of entomology. Vol 42 (Jul) p. 23 - 50 .

FORSCLER, B. y GARDNER, W. Parasitism of Phyllophaga hirticula (Coleoptera: Scarabaeidae) by Heterorhabditis heliothis and

Steinernema carpocapsae. In: Journal Invertebrates Pathology. Vol. 58 (dic. 1991); p. 396 - 407.

GLAZER, I. Survival mechanisms of entomopathogenic nematodes. In: Biocontrol science and technology. Vol. 6 (jun. 1996); p. 373 - 378.

KAYA, H. Soil ecology. In: GAUGLER, R. y KAYA, H. Entomopathogenic nematodes in biological control. Estados Unidos: Boca Raton, CRC Press, 1990. p. 93 - 115.

KOPPENHOFER, A.; BAUR, M.; STOCK, S.; CHOO, H.; CHINNASRI, B. y KAYA, H. Survival of entomopathogenic nematodes within host cadavers in dry soil. In: App. Soil. Ecol. Vol. 6 (ago. 1997); p. 231 - 240.

LABRADOR, J. La materia orgánica en los sistemas agrícolas: Manejo y utilización. España: s.n., 1993. v. 3, p. 2 - 23.

LEGARDA, L.; LAGOS, T. y VICUÑA, L. Diseño de experimentos agropecuarios. Pasto, Nariño: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, 2001. p. 200 - 232.

LONDOÑO, M. La Chisa o Mojojoy: un modelo de Investigación entomológica. En: Cuarto seminario técnico regional. Rionegro, Antioquia: Corpoica. Vol. 4, No. 4 (ago. 1998); p. 48 - 55.

PEÑA, L. y LUCERO, A. Manejo Integrado de la chisa en el Departamento de Nariño. San Juan de Pasto: Corpoica, 2003. 16 p.

RUIZ, N. y PUMALPA, N. Conozca la chisa y su control. Bogota: Instituto Colombiano Agropecuario ICA, 1989. 3 p. (Plegable de divulgación; no. 217).

SAÑUDO, B.; SALAZAR, C. y BETANCOURTH, C. Principios de nematología agrícola. Pasto, Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de ciencias agrícolas, 2003. 120 p.

SAÑUDO, B. y CASTILLO, G. Papel de los microorganismos en el control biológico de plagas. Pasto, Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de ciencias agrícolas, 1994. 68 p.

SORNOZA, S. D. Cría masiva de *Neoplectana* sp. (Rhabditidae: Neoplectanidae) en laboratorio y su efecto contra *Sagalassa valida* Walter en palma africana. Manabí, Ecuador, 1991, 110 p. Trabajo de grado (Ingeniero agrónomo). Universidad Técnica de Manabí. Facultad de Ingeniería Agronómica.

WOODRING, J. y KAYA, H. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes. In: A handbook of techniques. Fayette Ville, Arkansas: Agricultural experiment station, 1988. 30p. (Southem cooperatives series; no. 331).

WOUTS, W.M. *Steinernema* (*Neoplectana*) and *Heterorhabditis* species. In: NICKEL, W.R. Manual de agriculture nematology. New York: Marcel Decker, 1991. p. 855 - 897.