

Tecnologías para la aplicación de nematodos entomopatógenos como herramienta complementaria en el Manejo Integrado de Plagas

Liliana Puente^{1*},
Ligia Carolina Rosales¹,
Liliana Velázquez¹,
Teida J. Hurtado²

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA),
Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP),
Unidad de Protección Vegetal.
²Asesor Fitosanitario.
*Correo: lilianapuate75@gmail.com

Los nematodos entomopatógenos (NEPs) son organismos vermiformes, con el cuerpo no segmentado, que pueden medir hasta un milímetro, poseen internamente bacterias simbiotas cuya acción conjunta, provoca patogénesis a los insectos causándoles la muerte. Los principales géneros son *Steinernema* y *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida).

Los NEPs se han convertido en una herramienta muy útil para muchos agricultores, ya que les ha permitido aumentar los rendimientos y la calidad de sus cultivos, además la inclusión de estos en el Manejo Integrado de Plagas es relativamente fácil (Ferrer *et al.*, 2004; Rosales, 2014).

Uno de los aspectos más importantes, una vez producidas las dosis de este biocontrolador, es contar con un método de aplicación en campo que asegure la mayor efectividad, de la escogencia del más adecuado, dependerá el éxito que estos nematodos tengan en el control de insectos plaga. En este trabajo se exponen algunos de los métodos más utilizados.

Generalidades

Los NEPs ejercen un control efectivo sobre una amplia variedad de plagas en diversos cultivos, pero es necesario determinar el mejor candidato (especie/cepa de nematodo) a ser utilizado, por lo tanto, se debe conocer la biología, ecología y susceptibilidad de la plaga hospedante; así como la tolerancia a factores ambientales de la especie/cepa de nematodo, su estrategia de búsqueda del insecto y la compatibilidad con otros agentes de control biológico, entre otros aspectos.

Estos nematodos poseen una combinación casi única de atributos deseables en los biorreguladores, como: amplia gama de hospedantes y capacidad para provocar altos índices de mortalidad; se consi-

deran ambientalmente seguros; pueden producirse a diferentes escalas mediante métodos *in vivo* e *in vitro*; los estadios infectivos pueden ser formulados y almacenados; el registro de los productos se requiere en pocos países; son fácilmente aplicables con los equipos estándares y de riego; aunado a que numerosas cepas son compatibles con diversos productos químicos y otros agentes biorreguladores (Rodríguez *et al.*, 2012).

Los NEPs están capacitados para buscar y matar rápidamente a su hospedador; además, poseen una alta virulencia y elevada tasa de reproducción. Las pruebas de laboratorio generalmente permiten seleccionar las especies adecuadas que serán aplicadas en el campo, dependiendo de la plaga y del cultivo. Los ensayos bien diseñados permiten una rápida selección de las especies y/o poblaciones de nematodos adecuadas para un insecto plaga específico y en cierta medida apta para las condiciones bióticas y abióticas donde estos serán aplicados.

Los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* incluyen la mayor cantidad de especies entomopatógenas y han sido detectados en numerosas regiones del mundo. Su utilidad práctica para el control de numerosos insectos plaga, así como su inocuidad ante otros animales y el medio ambiente, los ha convertido en un baluarte de la protección fitosanitaria, principalmente como parte del Manejo Integrado de Plagas (MIP), en siembras de poca extensión, así como huertos frutales y jardines, entre otros (Fernández *et al.*, 1998).

Una forma de reproducir los NEPs en grandes cantidades es utilizando como sustrato algún insecto que sea fácil de producir masivamente en el laboratorio. En muchos países, así como en Venezuela, es utilizada la polilla de la cera (*Galleria mellonella* - Lepidoptera: Pyralidae). De cada larva de polilla, se pueden obtener hasta 200.000 juveniles infectivos de NEPs, aproximadamente (Rosales *et al.*, 2009).

Mundialmente se han desarrollado métodos de producción industrial, donde usando grandes reactores, se generan millones de dosis en corto tiempo. Sin embargo, en nuestro país aun se mantiene la reproducción masiva artesanal sobre insectos vivos.

La eficacia de los NEPs se puede mejorar siguiendo las siguientes recomendaciones:

1. Selección de una especie o población más competitiva: el uso de poblaciones de NEPs competitivas, mejorará las posibilidades de un control exitoso de plagas. El método escogido para la obtención de una población debe evaluar y detectar los NEPs en los sitios de futuras aplicaciones, para aislar e identificar especies nativas; infiriéndose que pueden ser más eficaces en el control de plagas de insectos locales.
2. Desarrollo de métodos de liberación y formulación: cada ambiente y cada combinación de plagas deben tener un método que sea el más adecuado, en según sea el cada caso. En este sentido, el tipo de suelo, la disponibilidad de agua y el manejo agronómico del cultivo, juegan un papel relevante para hacer esta selección.
3. Identificación del momento para realizar la aplicación: escoger el momento indicado, es uno de los factores más importantes para el éxito de una aplicación en campo; por ello hay que tomar en cuenta los siguientes aspectos:
 - El contenido de humedad del suelo debe ser elevado.
 - La temperatura del suelo debe estar entre 14 y 33 °C.
 - No aplicar bajo la luz directa del sol. Los nematodos son muy sensibles a la luz ultravioleta (UV). Para limitar la influencia de la UV y que los nematodos dispongan del máximo de humedad, la aplicación foliar se debe realizar al atardecer.

Tecnologías de aplicación

Los NEPs se aplican al suelo y al follaje con los mismos equipos que se emplean para otros bio-productos (mochilas, motomochilas, equipos de arrastre y aéreos, entre otros). También se pueden aplicar mediante el sistema de riego por goteo o por aspersión. La aplicación debe lograr una cobertura

uniforme sobre el área a tratar, manteniendo la suspensión en continuo movimiento para evitar que los nematodos se depositen en el fondo del tanque del equipo de aplicación.

Las aplicaciones de los NEPs se pueden realizar directamente al follaje de las plantas, al tallo o al suelo, según el lugar donde habiten los insectos plaga. También pueden realizarse aplicaciones inoculativas junto con las plántulas, antes del trasplante o colocarlas en el hoyo antes de la siembra.

Las aplicaciones se deben realizar con frecuencia que varían de 7 a 15 días, dependiendo del cultivo, las características de la plaga y el nivel de sus poblaciones; aunque sobre este particular no existe mucha experiencia en el país.

Para integrar los NEPs en programas de manejo de plagas en que se emplean plaguicidas sintéticos cuando las poblaciones de la plaga son elevadas, es recomendable aplicar primero un insecticida para disminuir estas poblaciones y luego los NEPs, para que su acción sea sobre la población de la plaga que no fue controlada por el producto químico.

Cuando se emplean simultáneamente bioplaguicidas, los NEPs pueden aplicarse sin dificultad, ya que, poseen efecto sinérgico con otros agentes entomopatógenos (*Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis* y otros), pudiendo aumentar la eficiencia y la economía del método. En muchos casos estas mezclas superan a otros patógenos en los índices de mortalidad que provocan.

Estos métodos son más factibles para áreas pequeñas, principalmente viveros, semilleros, plantas ornamentales, casas de cultivo y agricultura urbana, debido a que aún no se producen en cantidad suficiente en el país. Desde luego, las potencialidades de los NEPs para la lucha contra plagas de insectos son mayores, por lo que en la medida en que los agricultores adopten esta tecnología se podrá ampliar su utilización.

Generalmente se utilizan dosis entre 500.000 y 1.000.000 de juveniles infectivos por metro cuadrado para semilleros y canteros.

Los métodos de aplicación se pueden dividir en dos grupos:

Sobre el suelo

Se refiere a todos los métodos de aplicación aéreos donde generalmente los nematodos se encuentran en una suspensión acuosa y son aplicados sobre la superficie del suelo, quedando expuestos a las condiciones ambientales. Los más utilizados son:

- Sistema de riego por goteo: consiste en proporcionar agua justo al pie de cada planta, en la zona de influencia de las raíces, por medio de un sistema de válvulas, tuberías y emisores (Foto 1a). En las aplicaciones por goteo, los NEPs son introducidos en el sistema de irrigación por goteo existente y el agua los distribuye al campo (Foto1b). Lo primordial es realizar la mezcla precisa de agua y NEPs con la dosis de 2×10^8 Juveniles infectivos de NEPs por hectárea. Es sumamente importante que el sistema esté instalado apropiadamente. La instalación incorrecta aumenta el riesgo de daños, errores en la aplicación o el impacto a las áreas que no se necesitan tratar (Potosí, 2007).
- Asperjadoras (manuales o de motor): las boquillas más utilizadas en los pulverizadores de mochila son las de cono y las de abanico o cortina, esta última recomendada para la aplicación de herbicidas (Foto 2a). Para el uso de los NEPs se procede según se indica a continuación:
 1. Colocar en un envase agua corriente a una temperatura de 10 - 25° C.
 2. Añadir los NEPs, dependiendo de la superficie a aplicar y previo cálculo de la dosis a utilizar.
 3. Remover y dejar 5 minutos en reposo.
 4. Pasar el contenido al tanque de la asperjadora.
 5. Añadir agua hasta completar la medida de la asperjadora.
 6. Asperjar inmediatamente después de la preparación.
 7. Realizar la aplicación abriendo al máximo la boquilla para mojar bien y dirigirla al cuello de la planta.
 8. Agitar continuamente para evitar que los nematodos se depositen en el fondo del tanque.

En el caso del aspersor manual se usa cuando las aplicaciones se van a efectuar en ensayos de investigación o dirigido a plantas sembradas en pequeñas extensiones. En este caso, la dosis de NEPs se calcula con base a la capacidad de la asperjadora, generalmente un litro (Foto 2b).

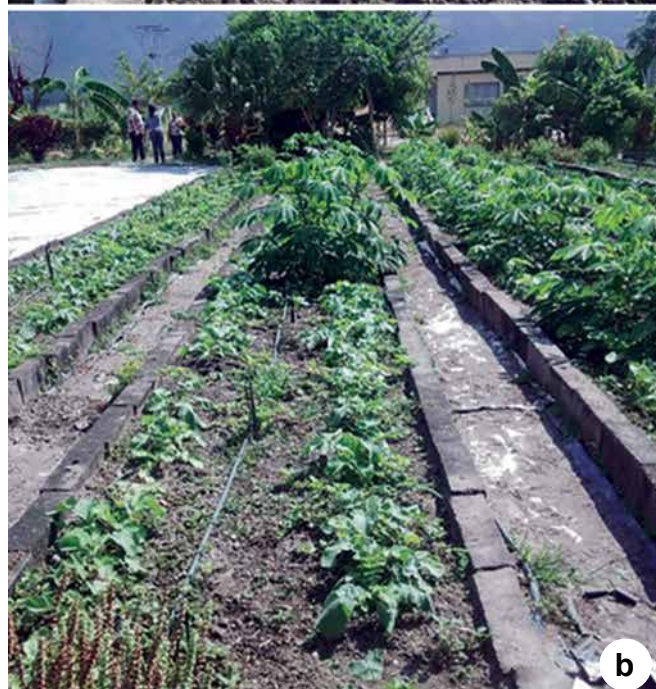


Foto 1. a) Sistema de Riego por goteo.
b) Sistema de riego por goteo en canchales de hortalizas que pueden ser utilizados para la aplicación de NEPs.



Foto 2. a. Asperjadora de espalda usada para la aplicación de biocontroladores y otros productos. **b.** Aplicación de NEPs usando asperjadora de mano.

- Regadera Manual: es un recipiente de metal o plástico que contiene el agua para regar las plantas. Dispone de un cuello que termina en un regador a través de la que se vierten los NEPs, además de un mango para su manejo. La capacidad del recipiente puede oscilar entre 0,5 litros para plantas de interior y 10 litros para uso general en jardinería. Al final del cuello las regaderas suelen tener una roseta (pequeña tapa perforada por multitud de agujeros) para convertir el chorro continuo de agua en “ducha” y evitar la excesiva presión sobre la tierra o las plantas delicadas (Foto 3).



Foto 3. Aplicación de NEPs usando regadera manual.

- Jeringuillas dosificadoras: miden con exactitud la cantidad de NEPs a usar, gracias a la presión que se puede ejercer para mezclar el producto con el agua rápidamente. Es un método sofisticado, de uso conocido en pocos países de Norte América y Europa. Sirve para dosis de hasta 50 mililitros por aplicación. Esta jeringuilla se puede introducir en la mayoría de envases y su enjuague es muy sencillo, basta con tomar agua donde estén los NEPs, agitar bien, volver a expulsarla y repetir el proceso si fuese necesario, manteniéndola siempre limpia y sin residuos. Además, este proceso es muy útil para aplicar el producto en la base del tallo.

En el suelo

Se refiere a los métodos de aplicación donde los nematodos son incorporados al suelo, protegiéndose así de los factores ambientales como luz solar.

Liberación de larvas

La aplicación de NEPs formulados como larvas de insectos muertos, es una alternativa a las aplicaciones acuosas. En este caso los cadáveres de insectos son aplicados directamente al lugar donde se encuentra la plaga, constituyéndose como la fuente de emergencia de los juveniles infectivos (Foto 4a y 4b). Esta tecnología es especialmente efectiva para pequeños productores con áreas menores a 10 hectáreas o con siembras en macetas e invernaderos. Se ha demostrado que los juveniles infectivos emergidos de cadáveres directamente al suelo son más patogénicos, tienen una mayor capacidad de dispersión y además son más longevos que los aplicados en suspensión acuosa. Al aplicarlos manualmente se abren pequeños agujeros de 5 centímetros de profundidad y se colocan a mano los cadáveres. Luego son cubiertos con suelo (Dolinski *et al.*, 2015).

Situación en Venezuela

En nuestro país las experiencias de aplicación de NEPs han sido asociadas a los métodos tradicionales de aplicación de bioproductos. Se realizan por sistema de aspersión y riego por goteo principalmente. Han sido aplicados en cultivos bajo sistemas protegidos para control de plagas de ornamentales y hortalizas, como tomate y pimentón.



Foto 4. a. Aplicación de NEPs mediante la liberación de insectos muertos.
b. Aplicación mediante la liberación de insectos parasitados por NEPs.

En Venezuela, el uso de NEPs se ha limitado a experimentos bajo condiciones controladas y sólo en pocos casos han sido reportados para usos comerciales. Entre empresas comerciales y entes académicos representados por universidades e instituciones científicas públicas, no existe un consenso en cuanto a la procedencia de los NEPs a utilizar. Los primeros debido a la determinación

para importar y aplicar especie/población de nematodos foráneos con poca experimentación previa; y los segundos por concentrar sus esfuerzos en la búsqueda de nematodos nativos sin validaciones en campo. Afortunadamente, en los últimos años, una mejor relación entre el sector público y privado en materia de investigación, producción y aplicaciones de NEPs en campo, parece estar emergiendo para dar respuesta en esta área (Rosales, 2014).

En la última década, las políticas han sido diseñadas para incrementar el uso de la diversidad biológica de biocontroladores con el fin de reducir la entrada de plaguicidas químicos al medio ambiente. Sin embargo, los datos oficiales no han sido divulgados para conocer el estado actual de los programas existentes. La primera mención de agentes biológicos en la legislación venezolana se encuentra en la Ley de semillas, material para la reproducción animal e insumos biológicos (Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela, 2002), donde se regula la comercialización, investigación, desarrollo y certificación de los diferentes tipos de agentes de control biológico. Luego se promulgan la Ley de Salud Agrícola Integral (Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela, 2008) que contiene entre sus normas legales más importantes, lo relacionado a la promoción del uso correcto de los medios biológicos en la agricultura y la creación de una red de laboratorios encargados de todos los procesos de actividades de control biológico.

Actualmente los agricultores han aumentado el uso de insumos biológicos; sin embargo, en el país la infraestructura (pública y privada) no está en capacidad para abastecer todos los productos requeridos. Es probable que en los próximos años los NEPs sean un producto común en los comercios agrícolas. No obstante, se deben cumplir algunos pasos como ubicar poblaciones nativas con probada eficiencia en el control específico de plagas de insectos en condiciones de laboratorio y campo. Por su parte, la producción masiva tiene que ser adaptada a una tecnología basada en materia prima local y de acuerdo a las condiciones tropicales. Al mismo tiempo, las demostraciones de campo son necesarias para motivar a los productores a introducir tales agentes de control biológico en el MIP, en programas y estrategias educativas para la inclusión de estos NEPs, así como en planes de estudio a nivel de escuelas y universidades (San Blas *et al.*, 2015).

Consideraciones Finales

El desarrollo de nuevas formulaciones no solo debe orientarse a mejorar la eficacia de los NEPs, sino también enfocarse en el desarrollo de nuevos procedimientos para el manejo y aplicación, mejorando su almacenamiento, transporte y reducción de costos generales.

Los avances en la mejora de la aplicación de NEPs dependerán del conocimiento de las interacciones entre los nematodos y su entorno. Además, los factores bióticos y abióticos influyen en el éxito del control de una plaga específica, para un determinado medio ambiente y cultivo.

Las tecnologías conocidas son factibles para aplicar los NEPs en el campo. Los costos de aplicación son variables, por lo que la decisión final de cómo aplicarlos, va a depender de un análisis detallado de cada situación y de la disponibilidad de estas tecnologías en el sitio donde se desee implementar.

En Venezuela se hace necesario financiar la investigación en esta área del control biológico, ya que son pocos los programas que se han llevado a cabo en los últimos años. Sin programas de investigación base es difícil que se disponga de materiales promisorios para su producción masiva y posterior incorporación en el Manejo Integrado de Plagas.

Agradecimiento

Proyecto: Innovación en tecnologías para la producción de controladores biológicos de plagas de importancia agrícola en Venezuela, Acción: Evaluación de cepas de nematodos entomopatógenos en cultivos de hortalizas en los altos mirandinos. Plan Zamora, Código: PZ-OT-BIO5.

Bibliografía

- Dolinski C, Shapiro-Ilan D, Lewis E. 2015. Insect Cadaver Applications: Pros and Cons. Chapter 8 *In: Nematode pathogenesis of insects and other pest.* Springer International Publishing. Pp. 207-210
- Fernández E, Arteaga E. Pérez M. 1998. Utilización de los nematodos entomopatógenos en el control de plagas agrícolas. Laboratorio de Nematología del INISAV. pp. 1-4.
- Ferrer, F., Arias, M., Trelles, A., Palencia, G., Navarro, J. y R. Colmenares. 2004. Posibilidades del uso de nematodos entomopatógenos para el control de *Aeneolamia* varía en caña de azúcar. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología.* 72:p.39-43
- Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela n.º 37.552 de fecha 12 de Julios de 2002 Art. 1. Ley de semillas, material para la reproducción animal e insumos biológicos. Pp.1-6
- Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela N° 5890 Extraordinario de fecha 31 de julio de 2008. Art. 10. Decreto N° 6129, con Rango Valor y Fuerza de Ley de Salud Agrícola Integral. Pp.20-21
- Potosí J. 2007. Riego por goteo. Disponible en: <http://sistemasderiegotorgoteo.blogspot.com/2007/11/riego-por-goteo-ventajas-y-desventajas.html>. Consultado 03 de marzo de 2017.
- Rodríguez M, Hernández D, Gómez L. 2012. Elementos del desarrollo histórico y retos para su consolidación como biorreguladores en la agricultura en Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, 27(3): La Habana sep.-dic. 2012. pp: 137-146.
- Rosales LC, Rodríguez M, Enrique R, Puente L, García J. 2009. Cría Masiva de nematodos entomopatógenos para el control de insectos plagas. *Revista INIA DIVULGA*, 12:19-22.
- Rosales, L.C. 2014. Evaluación de nematodos entomopatógenos como biorreguladores de algunas plagas agrícolas. Tesis Doctoral. Maracay, Venezuela. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, 157 p.
- San Blas E, Rosales LC, Torres A. 2015 Entomopathogenic nematodes in tropical agriculture. *Current uses and their future in Venezuela.* Chapter 15 *In: Nematode pathogenesis of insects and other pest.* Springer International Publishing. Pp: 373-400.