

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Any Mercedes Lucero Mafla<sup>1</sup>,  
Luis Alberto Peña Villamil<sup>2</sup> y Leonel Cultid<sup>3</sup>

ABSTRACT

**The effect of *Steinernema sp.* entomonematode on *Ancognatha scarabaeoides* grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in laboratory and greenhouse conditions**

Organisms such as parasitic insect nematodes have played a fundamental role as biological control tools in integrated pest management programmes (IPM) during the last decade due to their broad world-wide distribution, selectivity and effectiveness in controlling insects. The present work was aimed at evaluating the effect of *Steinernema sp.* on *Ancognatha scarabaeoides* grubs in laboratory and greenhouse conditions. The nematode was obtained from infected *A. scarabaeoides* grubs found in the municipalities of Yacuanquer and Ospina (Nariño department, Colombia), an important potato growing area. An *A. scarabaeoides* larva was placed on damp filter paper in a 3 ml nematode suspension at different potato inoculation concentrations (1, 5, 15, 30, 50 and 100 nematodes/ml) for evaluating in vitro efficacy in the laboratory. There was 100% and 90% accumulated *A. scarabaeoides* grub mortality 18 days after inoculation with 100 and 150 nematodes/ml concentrations, respectively, at 87 nematodes/ml lethal concentration 90 (CL<sub>90</sub>). The *Steinernema sp.* entomonematode was evaluated at 50 (CL<sub>50</sub>) and 90 (CL<sub>90</sub>) lethal concentrations in greenhouse conditions, presenting 33.33% and 79.3% grub mortality, respectively, after 15 days of applying the treatments. This result indicates that this native bio-controller could be included in white grub integrated management in the Nariño department of Colombia.

*Key words:* *Steinernema sp.*, entomonematode, *Ancognatha scarabaeoides*, biological pest control, bio-controller.

Recibido: noviembre 25 de 2005.  
Aceptado: junio 24 de 2006.

1. Bacterióloga, Ms.C., Docente universitaria, Facultad de Ingeniería Ambiental, Universidad Mariana, Pasto (Nariño). e-mail: alu2403@gmail.com

2. Investigador master asociado, I.A. Ms.C. Programa Agrícola. Estación Experimental Obonuco, CORPOICA, Pasto (Nariño). e-mail: lpena@corpoica.org.co

3. Ingeniero Agrónomo, Docente Colegio Mariscal Sucre. Fúnes (Nariño).

# Efecto de *Steinernema sp.* sobre larvas de *Ancognatha scarabaeoides* (Coleoptera: Scarabaeidae) en condiciones de laboratorio e invernadero

RESUMEN

En la última década, por su amplia distribución mundial, selectividad y efectividad en el control de insectos plaga, organismos como los nematodos que parasitan insectos (entomonematodos) han jugado un papel fundamental como herramientas del control biológico en programas de manejo integrado de plagas (MIP). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de *Steinernema sp.* sobre larvas de *Ancognatha scarabaeoides* en laboratorio e invernadero. El nematodo se obtuvo de larvas infectadas por *A. scarabaeoides* encontradas en campo en los municipios de Yacuanquer y Ospina (Nariño, Colombia) una importante zona productora de papa. Para la evaluación de eficacia in vitro, se colocó una larva de *A. scarabaeoides* en una suspensión de 3 ml de nematodos a diversas concentraciones (1, 5, 15, 30, 50, 100 y 150 nematodos/ml). El porcentaje acumulado de mortalidad de las larvas de *A. scarabaeoides* 18 días después de la inoculación fue de 100% y 90% con las concentraciones de 150 y 100 nematodos/ml respectivamente y a una concentración letal 90 (CL<sub>90</sub>) de 87 nematodos/ml. En invernadero *Steinernema sp.* se evaluó a las concentraciones letales 50 (CL<sub>50</sub>) y 90 (CL<sub>90</sub>), presentando a los 15 días de aplicados los tratamientos porcentajes de mortalidad de larvas de 33,3% y 79,3%, respectivamente. Este resultado abre la posibilidad de incluir este biocontrolador nativo en el manejo integrado de chisas en el departamento de Nariño.

*Palabras clave:* *Steinernema sp.*, entomonematodo, *Ancognatha scarabaeoides*, control biológico de plagas, biocontroladores.

INTRODUCCIÓN

**A**NCOGNATHA SCARABAEOIDES (Coleoptera: Scarabaeidae) se considera una de las plagas más importantes de los cultivos de papa y trigo en Colombia, si se tiene en cuenta su amplia distribución en las zonas productoras de Nariño, Cundinamarca y Boyacá y el costo que su control implica; en efecto, las 'chisas' ocasionan pérdidas en las áreas cultivadas que oscilan entre 75% y 100% (Parada, 2001; Pumalpa, 1987; Yépez, 1994).

En la actualidad el control de las chisas se lleva a cabo por medio de la aplicación de diferentes insecticidas químicos, como el clorpirifos (Lorsban®: 250 cm<sup>3</sup>·200 L<sup>-1</sup> de agua) del cual se realizan tres aplicaciones en el transcurso del ciclo vegetativo de la planta de papa (Panesso, 2006). También se realizan prácticas culturales como la recolección manual de larvas y el uso de trampas de luz, las cuales se colocan en los lotes infestados en las épocas de mayor precipitación; las trampas se ubican sobre una fosa donde previamente se ha colocado

tamo de trigo o residuos de cosecha y con la ayuda de una malla se cubre la fosa para evitar que los adultos de chisa vuelen. Posteriormente, la materia orgánica junto con los insectos capturados se aplican a los cultivos (Peña y Lucero, 2003).

Debido al incremento de la infestación por *Ancognatha scarabaeoides* la frecuencia en la aplicación de los insecticidas se ha intensificado, llegando incluso a cinco aplicaciones, lo cual ocasiona el aumento en los costos de producción hasta en un 30%, contaminación ambiental y en general un desequilibrio en el agroecosistema (Londoño y Pérez, 1994; Sañudo y Guzmán, 1995). En la búsqueda de alternativas para controlar la plaga, se plantea el uso del nematodo entomopatógeno *Steinernema sp.*, el cual ha mostrado buenos resultados en otras plagas tropicales (Garzón *et al.*, 1996). Este agente de control biológico habita y se reproduce, tanto en campos cultivados como en áreas boscosas naturales, lo cual demuestra que, simultáneamente con las cuidadosas prácticas de cultivo

realizadas en la producción de papa, las poblaciones de nematodos entomopatógenos se mantienen en el suelo e infectan insectos dañinos de importancia económica (Parada, 2001). *Steinernema* sp. puede utilizarse en forma inundativa como insecticida biológico o en aplicaciones inoculativas, ambas formas de aplicación pueden asegurar el establecimiento del nematodo y contribuyen a reducir así las poblaciones de la plaga (Kaya y Gaugler, 1993).

El presente trabajo se realizó con el propósito de evaluar bajo condiciones de laboratorio e invernadero, el control de larvas de *Ancognatha scarabaeoides*, mediante el uso del entomonemátodo (EN) *Steinernema* sp., como una alternativa eficaz y económica para el beneficio del sector productivo y el ecosistema en general.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en el Centro de Investigación Obonuco, de CORPOICA, ubicado en el municipio de San Juan de Pasto, departamento de Nariño, a una altura de 2.710 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 13°C.

#### Obtención de *Steinernema* sp.

El entomonemátodo *Steinernema* sp. fue aislado de larvas de *Ancognatha scarabaeoides* con síntomas de ataque de nematodos que se hallaron en campos de los municipios de Ospina y Yacuanquer (Nariño). En el laboratorio las larvas se colocaron en cámaras White con una solución de formaldehído al 0,3% (Bustillo, 1976); al cabo de 48 horas se recogieron los nematodos y se colocaron en cajas plásticas de 15 x 20 cm que contenían un sustrato estéril conformado por tierra, lombricompuesto y tamo de trigo descompuesto, agregando continuamente larvas de 'chisas' recolectadas en campo (Sañudo y Castillo, 1994). Posteriormente, se siguió la metodología empleada por España y Quiñónez (1996) y Garzón et al. (1996) que consiste en obtener una solución de 100 nematodos para colocar en cada caja de Petri; para ello se debe individualizar dicha población mediante el uso de una tapa siracusina de fondo dividido que facilita el conteo.

#### Inoculación de larvas de *A. scarabaeoides*

En el fondo de la caja de Petri se dispuso un papel filtro humedecido uniformemente

con la solución de nematodos, se colocó una larva de chisa y se le cubrió con otro papel filtro; las cajas se taparon y colocaron en total oscuridad tapándolas con tela negra.

Se realizaron observaciones periódicas hasta que se manifestaron los primeros síntomas del ataque de nematodos: pérdida de la actividad y oscurecimiento de la parte dorsal del metatórax. Las larvas muertas se sometieron a desinfección durante 10 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 2%, luego se lavaron tres veces con agua destilada estéril; enseguida las larvas se colocaron en embudos de Baerman con una solución de formaldehído al 0,5% y después de 48 horas se determinó la presencia de nematodos mediante observaciones con el estereoscopio; posteriormente se almacenaron en un recipiente de vidrio de color ámbar que contenía una solución de formaldehído al 0,3% y una gota de Tritón AC para lubricar las paredes del recipiente y evitar que los nematodos se adhieran a éstas. La suspensión de nematodos se mantuvo en agitación durante tres meses.

#### Pruebas de patogenicidad *in vitro* de *Steinernema* sp. sobre larvas de *A. scarabaeoides*

Para determinar las concentraciones letales media (CL<sub>50</sub>) y 90 (CL<sub>90</sub>) se realizó un bioensayo con un diseño completamente al azar con ocho tratamientos, cuatro repeticiones por tratamiento y cinco unidades experimentales por repetición, para un total de 20 unidades experimentales por tratamiento. Se evaluaron concentraciones de 1, 5, 15, 30, 50, 100 y 150 nematodos/ml y se siguió la metodología empleada por Garzón et al. (1996) que consistió en colocar papel filtro de 90 mm de diámetro en cajas de Petri que se esterilizan por 15 minutos a 121°C y 15 lb de presión. Posteriormente, el papel filtro se humedeció con 3 ml de la suspensión de nematodos a cada una de las concentraciones en evaluación. Después se colocó una larva de *Ancognatha scarabaeoides* y se cubrieron con otro papel filtro. A cada caja de Petri se le colocó su respectiva tapa, se marcaron y se taparon con una tela negra durante 18 días; cada tres días se registró la mortalidad de las larvas, después de lo cual

se lavaron y se colocaron en cámaras White.

Los porcentajes de mortalidad acumulada al día 18 se evaluaron estadísticamente mediante análisis de varianza, pruebas de comparación múltiple de Duncan y por el método estadístico Probit se encontraron las concentraciones letales media (CL<sub>50</sub>) y 90 (CL<sub>90</sub>).

#### Pruebas de patogenicidad en invernadero de *Steinernema* sp. sobre larvas de *A. scarabaeoides*

Las pruebas de patogenicidad en invernadero se llevaron a cabo en materos con suelo estéril, cada uno con 15 larvas de *Ancognatha scarabaeoides* recolectadas en campo, y la aplicación líquida de las concentraciones letales media (CL<sub>50</sub>) y 90 (CL<sub>90</sub>) que contenían 38 nematodos/ml y 87 nematodos/ml, respectivamente.

Se montó un diseño completamente al azar, con dos tratamientos que correspondían a las concentraciones letales, tres repeticiones por tratamiento y cinco unidades experimentales por repetición, para un total de 15 unidades experimentales por tratamiento y un testigo.

La mortalidad de las larvas de *A. scarabaeoides* se determinó a los 5, 10 y 15 días de montada la prueba y los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de Duncan.

Las larvas que se encontraron muertas en el suelo se colocaron en trampas White con una solución de formaldehído al 0,3% y al cabo de 48 horas se recogieron los nematodos, siguiendo las recomendaciones de Bustillo (1976).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### Pruebas de patogenicidad de *Steinernema* sp. sobre larvas de *A. scarabaeoides* en laboratorio

En el laboratorio la toma de datos de mortalidad se realizó cada 72 horas (3 días) durante 18 días, tiempo en el cual se alcanzó el 100% de mortalidad de las larvas con el tratamiento correspondiente a la concentración de 150 nematodos/ml.

Se observó que a mayor concentración de nematodos aplicada a las larvas

## ARTÍCULO TÉCNICO

Any Mercedes Lucero<sup>1</sup>, Luis Alberto Peña<sup>2</sup>,  
Leonel Cultid<sup>3</sup> y Marco Aurelio Bolaños<sup>4</sup>

### ABSTRACT

#### Integrated management of white grubs on small farms in the Nariño department (Colombia)

White grubs (*Astaena sp.*) represent an economically important insect pest in the Nariño department, especially on farms which have become degraded due to the loss of organic matter. White grubs have caused up to 91% and 62% damage to total wheat and potato crop areas, respectively, in the municipalities of Ospina and Yacuanquer. To controlling the pest, farmers use only chemical pesticides which has led to negative impacts, such as increased production costs, reduced yields, need for greater amounts of seeds and fertilisers, farms losing their commercial value and a reduction in beneficial fauna which formerly kept white grubs at levels causing no damage to the crops over a long period of time. The native entomopathogen microorganisms *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Steinernema sp.* were established in rotting wheat husks in field tests. The entomopathogenic fungi led to 28.75% and 14.67% of pest mortality at Ospina and Yacuanquer localities respectively compared to 28.89% and 18.82% when applying the chemical insecticide (Clorpirifos). The nematode *Steinernema sp.* caused 17.26% and 12.74% of white grub mortality. This technology (mixing entomopathogens micro-organisms with rotting wheat husks) contributed towards reducing environmental human contamination and improving soil characteristics.

*Key words:* white grub, *Astaena sp.*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Steinernema sp.*, small farmer, biological control.

Recibido: noviembre 25 de 2005.  
Aceptado: junio 24 de 2006.

1. Bacterióloga Ms.C., Docente universitaria, Facultad de Ingeniería Ambiental, Universidad Mariana, Pasto (Nariño). e-mail: alu2403@gmail.com
2. Investigador master asociado, I.A. Ms.C. Programa Agrícola. Estación Experimental Obonuco, CORPOICA, Pasto (Nariño). e-mail: lpena@corpoica.org.co
3. Ingeniero Agrónomo, Docente Colegio Mariscal Sucre. Fúnes (Nariño).
4. Economista. Investigador profesional asociado. Programa Agrícola. Estación Experimental Obonuco, CORPOICA, Pasto (Nariño).

## Manejo integrado de chisas en fincas de minifundio del departamento de Nariño (Colombia)

### RESUMEN

La 'chiza' o 'cuzo' (*Astaena sp.*) constituye un problema insectil de importancia económica en el departamento de Nariño, especialmente en los suelos que han sufrido procesos de degradación con pérdida de materia orgánica. En los municipios de Ospina y Yacuanquer las chisas ocasionan daños de 91% y 62% en cultivos de trigo y papa, respectivamente. Para su control, los agricultores utilizan productos químicos como única alternativa, lo que ha generado impactos negativos: incremento de los costos de producción, reducción de los rendimientos agrícolas, necesidad de mayor cantidad de semilla y fertilizante, pérdida del valor comercial de los predios y disminución de la fauna benéfica que controlaban las chisas en niveles inocuos a los cultivos. En los ensayos de campo se aplicaron microorganismos entomopatógenos nativos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Steinernema sp.*), utilizando tamo de trigo descompuesto para su establecimiento. Con la aplicación de los hongos se logró un porcentaje de mortalidad de la plaga de 28,75% en el municipio de Ospina y de 14,67% en el municipio de Yacuanquer, frente a la aplicación de clorpirifos cuyo porcentaje de mortalidad fue de 28,89% en el municipio de Ospina y 18,82% en el municipio de Yacuanquer. Con el nematodo (*Steinernema sp.*) se alcanzó una mortalidad de 17,27% en Ospina y 12,74% en Yacuanquer. La aplicación de una mezcla de microorganismos entomopatógenos y tamo de trigo descompuesto a los cultivos contribuye a disminuir la contaminación ambiental y a mejorar las características de los suelos.

*Palabras clave:* Chizas, *Astaena sp.*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Steinernema sp.*, minifundio, control biológico.

### INTRODUCCIÓN

LA CHIZA O CUZO (*Astaena sp.*) es uno de los insectos plaga de mayor importancia económica en los sistemas de producción (papa – trigo y pastos) del departamento de Nariño, especialmente en los suelos que han sufrido un proceso de degradación por la pérdida de la materia orgánica (Peña *et al.*, 2003).

En los municipios de Ospina y Yacuanquer las chisas han causado daños de 91% y 62% en áreas totales de los cultivos de trigo y papa, respectivamente (Peña y Lucero, 2003). Para su control los agricultores utilizan productos químicos como única alternativa, lo que ha generado impactos negativos como incremento de los costos de producción, reducción de los rendimientos agrícolas, necesidad de mayor cantidad de semilla y fertilizante, pérdida del valor comercial de los predios y reducción de la fauna benéfica que mantuvo por mucho tiempo a las chisas en niveles que no causaban daño a los cultivos (Peña y Lucero, 2003).

Actualmente para el manejo de las plagas se está utilizando el control biológico, que es una herramienta esencial para el desarrollo tecnológico agropecuario del país, pues se ha probado que contribuye a disminuir la dependencia de los plaguicidas comerciales y hace de la agricultura una actividad sostenible y competitiva disminuyendo los riesgos de desequilibrio ecológico; finalmente, mejora la calidad de vida del consumidor al disminuir los residuos de agrotóxicos en los productos alimenticios (Vallejo, 1989).

Los hongos y los nematodos entomopatógenos son los microorganismos más promisorios para disminuir las poblaciones de chisas en el departamento de Nariño mediante sencillos procesos de manejo (Sañudo y Campuzano, 1994). Así mismo, en los principales municipios productores de papa de Cundinamarca y Boyacá se encuentran poblaciones de microorganismos entomopatógenos en hábitats cultivados y naturales que se mantienen en el suelo y parasitan insectos.