

POTENTIAL OF BIOCONTROL OF SIX ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES SPECIES AGAINST *Cyrtomenus bergi* IN THE LABORATORY

A.M CAICEDO^a, P. A. CALATAYUD^{ab} & A.C. BELLOTTI^b



^aCentro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), A.A. 6713, Cali, Colombia

^{ab}Institut de Recherche pour le Développement (IRD)/International Center for Insect Physiology and Ecology (ICIPE) PO Box 30772, Nairobi, Kenya



INTRODUCTION

Entomopathogenic nematodes of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis* together with their symbiotic bacteria, *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* respectively (Fig 1A), represent a unique insect biological control "system". Laboratory and field studies have shown that insects from over 17 orders and 135 families are susceptible to some degree to them (Akhurst & Smith, 2002).



Figure 1 A. *Heterorhabditis* sp infective juvenile



Figure 1 B: *C. bergi* adult infected with nematodes

C. bergi Froeschner (Hem: Cydidae) is a polyphagous pest and has been reported on cassava, maize, peanuts, potatoes, sorghum, onions, African oil palm, coffee, sugarcane, beans, peas, coriander, asparagus, pasture and weeds. Since its first description as a pest on cassava in Colombia in 1980, it has been considered a serious problem throughout the neotropics. The potential of entomopathogenic nematodes to control pests has been evaluated under laboratory and greenhouse conditions with commercially available and native nematodes (Belotti, 2002).

MATERIALS AND METHODS

Nematodes and *C. bergi* insects

The nematodes used in the present work are listed in Table 1. All nematodes were cultured in the final instar larvae of the greater wax moth, *Galleria mellonella* L. at 23°C according Kaya & Stock's (1997) methodology. Infective juveniles were stored in 0.01% formaldehyde solution at 10°C for 5-7 days and one day before use they were acclimatised to room temperature for at least 24 h before inoculation.

C. bergi fifth and adult stages were selected from the colony that has been established in the entomology laboratory of the cassava program at CIAT, Cali-Colombia.

Table 1. Entomopathogenic nematodes species and origin

Species	Origin
<i>Steinernema riobrave</i> (Sr)	United States
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Hb)	United Kingdom
<i>Steinernema</i> sp SNI-0100 (SNI)	Colombia
<i>Heterorhabditis</i> sp HNI-0198 (HNI)	Colombia
<i>Steinernema feltiae</i> strain Villapinzon (Sf)	Colombia
<i>Heterorhabditis</i> sp- CIAT 2003(HCIAT)	Colombia

Assays: Fifth and adult stages of *C. bergi* were exposed to 5000 infective juveniles per millilitre of each nematode species in plastic cups containing 10 grams of sand (4% w/w) with one insect and one germinated corn seed (Caicedo & Bellotti, 1994). The experiment was replicated five times in randomised complete blocks with twelve replications. The control groups were exposed to one millilitre of distilled water. Parasitism and mortality were recorded after 10 days and all insects were dissected under a stereoscope microscope.

In a second test, three species of nematodes were applied in lots of 2000, 4000, 6000, 8000 and 10,000 nematodes per millilitre against the adult stage of *C. bergi*. The experiment was replicated four times in randomised complete blocks. The evaluation period and method were the same as described previously.

Statistical analysis

The data were statistically analysed by ANOVA (GLM) for mean separation by the Duncan test and Probit analyses respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained in this evaluation showed that both *C. bergi* stages were parasitised by all entomopathogenic nematode species. *Steinernema* sp-SNI 0100 was the species that showed the highest parasitism in the fifth and adult stage of *C. bergi* with 77 and 100% parasitism respectively and the lowest percentage was showed by *Heterorhabditis* sp HNI with 28 and 49% parasitism in the fifth and adult stages respectively (Figure 2) after 10 days of inoculation.

Although higher percentage parasitism was shown in the fifth stage, no correlation was observed with mortality, only 22% mortality compared with 77% parasitism. The lowest mortality was observed with *Heterorhabditis* sp HNI with only 4% (Figure 3).

This low mortality observed in both *C. bergi* stages with all the entomopathogenic nematodes, could be because *C. bergi* shows a very strong immune response to all the entomopathogenic nematodes species evaluated.

Koppenhöfer et al. (2003) mentioned that different species/strains of nematode differ in their efficacy significantly in controlling the same insect pest. This can be influenced by the penetration rate of the infective juveniles into the host, the release time of the bacteria, and the virulence degree of killing the insect.

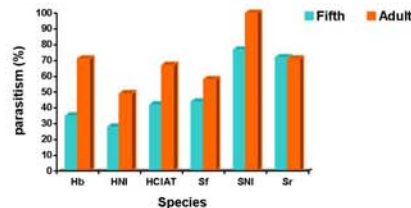


Figure 2. Parasitism of two *C. bergi* stages with six nematodes species

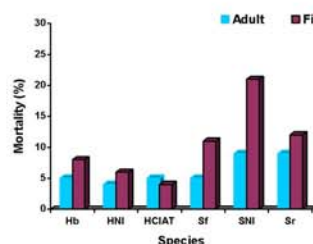


Figure 3. Mortality of two *C. bergi* stages with six nematodes species

When *C. bergi* adults were exposed to different dosages of three nematode species, no significant differences were observed between the lowest and the highest dosages. The results obtained were similar to the above-mentioned, all three nematode species causing parasitism of 65-100% in the adult stage but only able to cause low mortality of 3-40%.

This confirms the results obtained by Caicedo & Bellotti (1994) with *Steinernema carpocapsae* in all the *C. bergi* stages, the adult was the most susceptible to being parasitised with 60%, but very low mortality, 3% after 10 days of inoculation and the youngest instars were least susceptible with 3-17% parasitism. These results are also comparable with those obtained by Barberena & Bellotti (1998).

At this point we can only speculate about the factors responsible for the interactions among nematode species and *C. bergi* stages. It could be that *C. bergi* has coevolved with entomopathogenic nematodes and other pathogens in the soil but at this time we do not know whether the defence mechanisms reported in other species, such as white grubs which present infrequent CO₂ output, sieve plates covering the spiracles, frequent defecation, other defensive and evasive behaviours and strong immune response, operate here.

For this reason we consider that is very important to understand the innate immune response of *C. bergi* and to determine if a correlation exists in the insect species between levels of cellular and humoral response of the different species/strains used as a challenge for the ultimate choice of effective species/strains for its control (CIAT, 2003).

CONCLUSIONS

All the entomopathogenic species parasitised both *C. bergi* stages, fifth and adult.

Steinernema sp SNI 0100 showed the highest parasitism in both stages, fifth and adult, 77 and 100% respectively, but this high parasitism was not correlated with the mortality, only 9 and 21% mortality respectively was observed.

It is a priority to initiate basic studies into understanding the innate immune response of *C. bergi* and to determine if a correlation exists in the insect species between levels of cellular and humoral response of the different species/strains used as a challenge for the ultimate choice of effective species/strains for its control.

REFERENCES

- Akhurst, R. and Smith, K. 2002. Regulation and Safety. In: Entomopathogenic nematology. Ed: R. Gaugler. CAB International 2002, pp 311-326.
- Barberena, M.F. & Bellotti, A.C. 1998. Parasitismo de dos razas del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* sobre la chinche *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydidae) en laboratorio. Rev. Colomb. Entomol. 24, 7-11.
- Bellotti, A.C. 2002. Arthropod pests. In: Cassava: Biology, Production and Utilization. Eds: R.J. Hillocks, J.M. Thresh and A.C. Bellotti. CAB International 2002, pp 209-235.
- Caicedo, A.M. & Bellotti, A.C. 1994. Evaluación del potencial del nematodo entomogeno *Steinernema carpocapsae* para el control de *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydidae) en condiciones de laboratorio. Rev. Colomb. Entomol., Vol. 20 No. 4, pp.241-246.
- CIAT 2003. Annual Report. Integrated Pest and Disease Management - Cassava Entomology. International Center of Tropical Agriculture (CIAT), Cali, Colombia.
- Kaya, H. & Stock, S.P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Techniques in insect pathology. Ed: L.A. Lacey. London. Academic Press, pp 281-324.
- Koppenhöfer, A.M. & Fuz, E.M. 2003. *Steinernema scarabei* for the control of white grubs. Biological Control, 28:47-59.

RECONOCIMIENTO DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS ASOCIADOS A *Cyrtomenus bergi* EN TRES LOCALIDADES DE COLOMBIA



A.M CAICEDO^a, H. TRUJILLO^a, M.P. QUINTERO^a, P.-A. CALATAYUD^{ab}, A.C. BELLOTTI^a

^aCentro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), A.A. 6713, Cali, Colombia/Universidad del Valle, Cali, Colombia
^bInstitut de Recherche pour le Développement (IRD)/International Center for Insect Physiology and Ecology (ICIPE), PO Box 30772, Nairobi, Kenya



INTRODUCCIÓN

Yuca, *Manihot esculenta* Crantz, ocupa el cuarto lugar a nivel mundial como una de las principales fuentes de carbohidratos. Este importante cultivo es atacado por un gran complejo de insectos-plaga incluyendo a *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) como uno de los más destructivos (Fig. 1). *C. bergi* se alimenta directamente del producto comercial, deteriorando su calidad (Fig. 2). Además de la yuca, ataca diversos cultivos de importancia económica como cebolla, maní, espárragos, caña de azúcar, maíz y pastos entre otros, en diferentes países del Neotrópico (Bellotti, 2002).



Figura 1. Adultos de *C. bergi* alimentándose de semillas de maní

El control microbiano es una alternativa al uso indiscriminado de plaguicidas para su control. Las estrategias para el uso de patógenos en control biológico de insectos-plaga está determinado principalmente por las interacciones entre patógenos, insecto-plaga, medio ambiente y planta hospedera. Por lo tanto, el primer paso para desarrollar un programa de control microbiano es el conocimiento de la ocurrencia natural de los patógenos para ser utilizados como un componente en programas de manejo integrado de plagas (Hominick et al. 1996).



Figura 2. Raíces de Yuca con daño de *C. bergi*

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras: Se tomaron muestras de suelo de Santander de Quilichao (Cauca), Santafué (Caldas) y La Florida (Risaralda) durante el período comprendido entre septiembre y diciembre del 2002. De acuerdo a la metodología de Bedding & Akhurst (1975) y Kaya & Stock (1997). De cada sitio se tomaron en promedio tres submuestras a dos profundidades 1-10 cm y 10-25 cm en un área de 10 m². Cada muestra se tomó con un barreno cilíndrico de 10 cm de diámetro. Las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas debidamente rotuladas y transportadas al laboratorio en una termonevera. De cada sitio se registró la altitud, temperatura y el tipo de vegetación.

Recuperación de nematodos: Se realizó utilizando larvas de *Galleria mellonella* L. como insecto trampa (Bedding & Akhurst, 1975). Las muestras fueron procesadas dentro de los tres días siguientes de su colección. Un Kg de suelo por cada sitio fue completamente mezclado y submuestras de 250 cc fueron puestas en recipientes plásticos de 300 cc con 10 larvas de *G. mellonella*. Los recipientes fueron guardados en bolsas plásticas en un cuarto con temperatura 21-23°C durante un período de 5-7 días. Este proceso se repitió tres veces en el tiempo. Las larvas muertas fueron puestas en cámara húmeda durante una semana y después transferidas a trampa White para la colección de los infectivos juveniles (Kaya & Stock, 1997).

Los infectivos juveniles recuperados de cada muestra fueron usados para la infección de larvas sanas de *G. mellonella* para verificar su patogenicidad y obtener progenie para su identificación. Las muestras de suelo positivas para nematodos fueron sometidas a análisis físico, MO y pH en el laboratorio de suelos del CIAT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 193 muestras de suelo colectadas y procesadas de las 11 localidades en los departamentos de Cauca, Risaralda y Caldas, sólo 10 muestras de dos sitios diferentes presentaron 45 y 33% de larvas de *G. mellonella* infectadas con nematodos entomopatógenos (Tabla 1).

Tabla 1. Características de las localidades muestreadas, en los departamentos de Cauca (SQ), Risaralda (R) y Caldas (C).

Código	Sitio	Fecha	Vegetación	Altitud msnm	% infección
SQ 1	Lagos Brasilia	12-09-02	Yuca	990	0%
SQ 2	Finca Brasilia	12-09-02	Yuca	990	0%
SQ 3	La Agustina	12-09-02	Yuca	990	0%
SQ 4	La Chapa	12-09-02	Yuca	990	0%
SQ 5	La Agustina	1-12-02	Yuca	1340	0%
SQ 6	El Pital	1-12-02	Yuca	1500	0%
SQ 7	La Independencia	1-12-02	Yuca	1700	0%
SQ 8	Cachimbal	1-12-02	Yuca	1370	0%
SQ 9	Caloteño	1-12-02	Yuca	1500	0%
R 10	La Colonia	3-10-02	Cebolla Medicinales Mora	1900	45%
R 11	La Florida	3-10-02	Cebolla Cilantro Maíz	1740	0% 33% 0%
C 12	Granja Motelindo	1-10-02	Naranja Brevo Plátano	1050	0% 0% 0%

Sólo un género de nematodos entomopatógenos fue recuperado, *Heterorhabditis* sp. CIAT-2003 de las localidades de La Colonia y La Florida. La identificación hasta nivel de especie se encuentra en proceso por parte del taxónomo P. Stock de la Universidad de Tucson, Arizona USA.

Las características generales de sintomatología de infección y morfología de la especie *Heterorhabditis* sp.-CIAT2003 son:

- Coloración rojiza en larvas de *G. mellonella* infectadas (Fig. 3A).
- Ciclo biológico sobre larvas de *G. mellonella* de 13-14 días a 23°C y 70% HR.
- Recuperación de juveniles infectivos en trampa white (Fig. 3B).



Figura 3A. Larvas de *G. mellonella* sanas e infectadas



Figura 3B. Recuperación de infectivos en Trampa White

- Primera generación de adultos hermafroditas con el estoma corto característico del género (Fig. 4A), vulva bien desarrollada y desarrollo ovovivíparo (Fig. 4B) y cola terminada en punta (Fig. 4C).
- Adultos machos en la segunda generación también con el estoma corto (Fig. 5A).
- Cola con la bursa del tipo peloderan (Fig. 5B).
- Juveniles infectivos conservando la cutícula del estado anterior y estoma cerrado.



Figura 4A. Estoma hembra primera generación



Figura 4B. Vulva hembra primera generación



Figura 4C. Cola hembra primera generación



Figure 5A. Estoma macho segunda generación

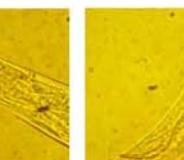


Figure 5B. Cola macho segunda generación

El hallazgo y la identificación de especies de *Heterorhabditis* es considerada una tarea difícil comparada con especies de *Steinernematid* y esto se refleja en la cantidad de especies identificadas hasta el momento.

Las especies de este género se consideran como especies morfológicamente conservativas las cuales requieren mucha experiencia y trabajo para la obtención de una adecuada identificación.

Además, la gran confusión que ha generado el hallazgo de razas que difieren biológicamente hace que este proceso sea mucho más dispendioso. Por lo tanto, aún están sin resolver preguntas como si se tienen diferentes especies o razas y cuál es la relación con su origen.

CONCLUSIONES

El hallazgo de *Heterorhabditis* sp.-CIAT 2003 en el mismo habitat de *C. bergi* es muy importante al considerarse este género menos diverso que los nematodos del género *Steinernematid*.

Además el porcentaje de recuperación de 33 y 45% en cada sitio es muy alto comparado con lo reportado en la literatura, el cual no supera el 10-15% de recuperación en diferentes partes del mundo.

REFERENCIAS

- Bedding, R.A. & Akhurst, R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21:109-110.
- Bellotti, A.C. 2002. Arthropod pests. In: "Cassava: Biology, Production and Utilization", Eds: R.J. Hillocks, J.M. Tresh and A.C. Bellotti. CAB International 2002. 209-235.
- Hominick, W.M.; Reid, A.P.; Bohan, D.A. and Briscoe, B.R. 1996. Entomopathogenic nematodes: Biodiversity, Geographical distribution and the Convention on Biological Diversity. *Biocontrol Science and Technology*, 6:317-331.
- Kaya, H. & Stock, S.P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L.A.(Ed.) *Techniques in insect pathology*. London:Academic Press. 281-324.

Julio 28-30, 2004 - Socolen XXXI

Claudia M. Holguin* ; Carmen E. Mendoza* ; Catherine A. Tauber** ; Anthony C. Bellotti*
 *I.A. Asistente de Investigación, Técnico de Laboratorio y Entomólogo PhD, MIPE-Proyecto Yuca, CIAT, Cali, Colombia
 **Sistemática, Departamento de Entomología, Cornell University, Ithaca, NY

INTRODUCCIÓN

Dentro del control biológico, los predadores son los menos estudiados por la dificultad en establecer con precisión su impacto en la población de una plaga dada. Sin embargo, las especies de la familia Chrysopidae han sido estudiadas como controladores de áfidos y lepidópteros a nivel mundial con óptimos resultados, siendo en la actualidad comercializados para el control de plagas de diversos cultivos. En yuca, específicamente sobre especies de mosca blanca, se carece de investigaciones sobre este grupo de predadores.

Por esta razón, los objetivos de este trabajo son:

- Determinar las especies de la familia Chrysopidae presentes en cultivos de yuca de diferentes zonas de Colombia con y sin presencia de mosca blanca.

- Establecer colonias en laboratorio de las especies de *Crysopa* más frecuentes, para futuros bioensayos de predación con mosca blanca.

METODOLOGÍA

Se realizaron exploraciones de crisópidos en cultivos de yuca con y sin presencia de mosca blanca, en los departamentos del Tolima, Cauca, Valle del Cauca y parte de la zona cafetera colombiana (Risaralda y Quindío).

Los muestreos y las colectas se realizaron en lotes comerciales de yuca entre 3 y 6 meses de edad.

Los especímenes (larvas y adultos) se enviaron al Departamento de Entomología de la Universidad de Cornell (USA) para identificación.

Establecimiento de las colonias

Veinte adultos de las especies *Ceraeochrysa cubana*, *Ceraeochrysa claveri* y *Chrysoperla externa*, procedentes de la zona cafetera, Valle del Cauca y Cauca, fueron introducidos en unidades de pvc (Fig. 1a) revestidas con cartulina negra para obtener posturas (Fig. 1b). Dos veces por semana los huevos fueron extraídos y se trasladaron a cajas petri (Fig. 1c).

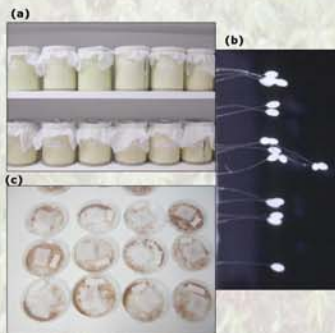


Figura 1. (a) Unidades de cría de adultos de *Crysopa* (b) Posturas de *Crysopa* extraídas de las unidades de pvc (c) Cajas petri con posturas de *Stitotroga cerealella* para alimentación de larvas de *Crysopa*.

Inicialmente los adultos se alimentaban con una dieta tradicional de levadura, germen de trigo, miel, azúcar y agua.

Las larvas emergidas se alimentaban con huevos de *Stitotroga cerealella* hasta el estado de pupa. Al emerger los adultos se introducían nuevamente en las unidades de cría.

Con estas mismas condiciones se estableció la cría de *Chrysoperla carnea* (Stephens) obtenida de un laboratorio comercial.

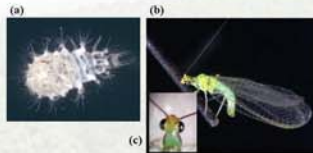


Figura 2. *Ceraeochrysa claveri* (Hagen) (a) larva (b) adulto (c) características: Mancha lateral pardorolizas en el pronoto, mancha en el escapo prolongada casi siempre sobre el vertex, palpos claros.

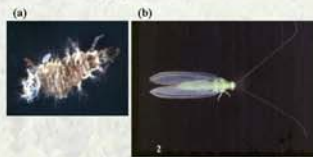


Figura 3. *Ceraeochrysa* sp. #2 (a) larva (b) adulto, características: Manchas laterales pardorolizas en el pronoto, dorso del escapo sin manchas, 10 primeros segmentos antenales más oscuros.

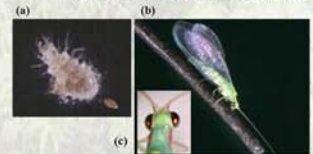


Figura 4. *Ceraeochrysa cubana* (Hagen) (a) larva (b) adulto (c) características: Antenas claras, manchas del escapo delgadas, manchas laterales en el pronoto con bordes difusos, palpos claros.

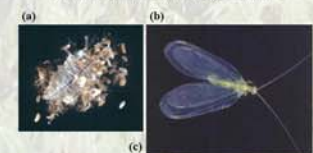


Figura 5. *Leucochrysa* sp. #2 (a) larva (b) adulto, características: Mancha oscura en el tercio distal de las alas, cuatro manchas sobre el pronoto que pueden unirse para formar dos líneas alargadas.

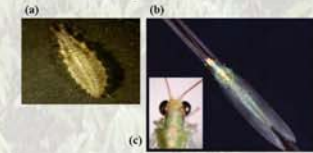


Figura 6. *Chrysoperla externa* (Hagen) (a) larva (b) adulto (c) características: Banda amarilla en el dorso del tórax y el abdomen, mancha genal oscura, pronoto con setas claras saliendo de una base oscura, manchas cerca a los cautos oculares.

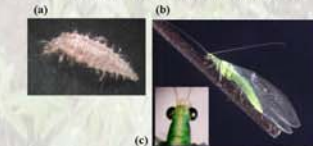


Figura 7. *Chrysoperla carnea* (Stephens) (a) larva (b) adulto (c) características: Banda amarilla en el dorso del tórax y el abdomen, mancha genal marrón oscuro, setas del pronoto gruesas y negras en su base.

RESULTADOS

Se encontraron diez especies de *Crysopa* en cultivos de yuca. De las cuales cinco aún no han sido determinadas y tres son las más frecuentemente encontradas en todas las zonas del país muestreadas (Tabla 1).

Tabla 1. Especies de *Crysopa* Encontradas en Cultivos de Yuca de Colombia.

Zona de Muestreo	Especie de <i>Crysopa</i>
Cauca	<i>Ceraeochrysa cubana</i> (Hagen)
	<i>Ceraeochrysa claveri</i> (Navás)
	<i>Chrysoperla externa</i> (Hagen)
Valle del Cauca	<i>Ceraeochrysa cubana</i> (Hagen)
	<i>Ceraeochrysa</i> sp. #1
	<i>Ceraeochrysa claveri</i> (Navás)
	<i>Leucochrysa (Nodita)</i> sp. #4
	<i>Chrysoperla externa</i> (Hagen)
Tolima	<i>Leucochrysa</i> sp.
	<i>Ceraeochrysa cubana</i> (Hagen)
	<i>Ceraeochrysa claveri</i> (Navás)
Risaralda	<i>Ceraeochrysa valida</i> (Banks)
	<i>Ceraeochrysa</i> sp. #2
	<i>Chrysoperla externa</i> (Hagen)
	<i>Ceraeochrysa</i> sp. #1
Quindío	<i>Ceraeochrysa claveri</i> (Navás)
	<i>Ceraeochrysa cubana</i> (Hagen)
	<i>Leucochrysa (Nodita)</i> sp. #2
	<i>Chrysoperla externa</i> (Hagen)
	<i>Chrysoperla externa</i> (Hagen)
	<i>Ceraeochrysa cubana</i> (Hagen)
Quindío	<i>Chrysopodes</i> prob. <i>Lineafrons</i> Adams & Penny
	<i>Leucochrysa (Nodita)</i> sp. #4
	<i>Ceraeochrysa valida</i> (Banks)

Múltiples características diferencian las especies de *Crysopidae*, algunas generales son: tamaño de las antenas respecto a la extensión alar, manchas en las alas, bandas en el dorso del tórax y abdomen, mancha genal, setas y manchas en el pronoto, color y presencia de manchas en el vertex, manchas en el escapo, entre otras (Fig. 2 a 7).

Establecimiento de colonias

Con la metodología utilizada se logró establecer la cría de las diferentes especies de *Chrysopidae*. Respecto a la alimentación, con la dieta inicial la oviposición fue baja o nula para las especies *C. cubana*, *C. claveri* y *C. carnea*. Por esta razón se modificó la dieta tradicional reemplazando la levadura por proteína hidrolizada de levadura. Con esta nueva dieta se logró establecer la colonia de las especies nativas eficientemente. Para *C. carnea* ambas dietas fueron efectivas en la cría de la especie, siendo mejor la tradicional que la modificada.

CONCLUSIONES

- Las especies *Ceraeochrysa* sp. #1, *Ceraeochrysa* sp. #2, *Leucochrysa* sp., *Leucochrysa (Nodita)* sp. #2 y *Leucochrysa (Nodita)* sp. #4, se encuentran en proceso de descripción.
- La metodología de cría permitió multiplicar las especies fácilmente a nivel de laboratorio.
- La dieta de levadura, germen de trigo, miel, azúcar y agua, permitió multiplicar la especie *C. carnea* fácilmente en laboratorio.
- La dieta modificada con proteína hidrolizada de levadura permitió establecer fácilmente las colonias de las especies nativas *C. cubana*, *C. claveri* y *C. externa* a nivel de laboratorio.

REFERENCIAS

- López-Arroyo, J.I., Tauber, C.A., Tauber, M.J. 1999. Comparative life histories of the predators *Ceraeochrysa cincta*, *C. cubana*, and *C. smithi* (Neuroptera: Chrysopidae). *Arthropod Biology* 92 (2): 208-217.
- Núñez, E. 1998. Ciclo biológico y crianza de *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera, Chrysopidae). *Rev. Per. Ent.* 31:76-82.
- Tauber, C.A., De León, T., Penny, N.D., and Tauber, M.J. 2000. The genus *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae) of America North of Mexico: Larvae, adults, and comparative biology. *Systematics* 93 (8):1195-1221.

Búsqueda de poblaciones nativas de nematodos entomopatógenos en regiones de Colombia y Panamá

Elsa Lilliana Melo-Molina¹, Carlos Alberto Ortega-Ojeda¹, Andreas Gaigl¹, Anthony C. Bellotti¹, Ralf-Udo Ehlers², Alper Susurluk²



¹Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT, AA 6713, Cali, Colombia, elmelo@hotmail.com, caoro2003@yahoo.com, a.gaigl@cgiar.org, a.bellotti@cgiar.org
²Department of Biotechnology, Ralsdorf, Christian-Albrechts-University Kiel, Alemania, ehlers@biotec.uni-kiel.de, alper.susurluk@biotec.uni-kiel.de



Introducción

Los nemátodos entomopatógenos (NEP's) Heterorhabditidos y Steinernematidos son usados como agentes potenciales de control de numerosas plagas de suelo. A través del mundo se han llevado muchas investigaciones partiendo de capturas de poblaciones nativas de estos organismos y estudiando su distribución, encontrándose en variedad de habitats como: pastos, forestales, hortalizas, frutales, flores, etc., los cuales presentan diferentes características de suelos (Rueda *et al.*, 1993).

Una de las formas de captura de estos nematodos es por medio del insecto trampa *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), la cual presenta mas susceptibilidad ante estos patógenos que los insectos hospederos comunes. Este insecto provee una excelente detección de nematodos *in situ*, o para muestras procesadas en laboratorio (Bedding y Akhurst, 1975).

Objetivo

Identificar las especies nativas presentes en determinadas regiones de Colombia y Panamá, asociadas a cultivos atacados por insectos rizófagos, como aporte al conocimiento de estos enemigos naturales en el manejo biológico de plagas de suelo.

Material y Métodos

Se toman muestras de diferentes sitios de Colombia y Panamá (Figura 1), eligiendo suelos agrícolas con cultivos afectados por rizófagos. En el país se muestrean los departamentos Quindío, Risaralda, Caldas y Cauca; y, en Panamá las provincias Coclé, Veraguas, Chiriquí.

La toma de muestras de suelo se realiza al azar en el campo (Figura 2), con un barreno (4,5 cm de diámetro), a una profundidad entre 15 a 20 cm, extrayendo 1000 cm³ por submuestra, las que se conservan en termonevera con hielo (8 a 15 °C). Se identifica el sitio muestreado y se toman datos de localización, humedad relativa, temperatura, cultivos y fitófagos asociados; y, rotaciones efectuadas. Estas muestras se mantienen en laboratorio a 15 °C, en incubadora y en oscuridad.

Adicionalmente se toman muestras de suelo (0.500 g), para su análisis fisicoquímico.

El proceso para la búsqueda, reactivación y almacenamiento de NEP's en laboratorio se explica en la Figura 3.



Figura 1. Sitios muestreados en Colombia (eje Cafetero y Cauca) y Panamá (Coclé, Veraguas y Chiriquí)

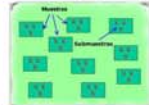


Figura 2. Esquemas para la toma de muestras en campo

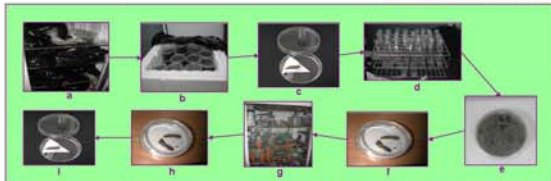


Figura 3. Extracción de NEP's en laboratorio (tres veces). a. suelos almacenados en incubadora; b. vasos plásticos con muestras; c. trampa *White* modificada; d. tubos con muestras de nematodos; e. cajas petri con arena con NEP's; f. larvas extraídas de la arena con síntomas; g. muestras almacenadas en incubadora; h. aplicación de postulados de Koch (reinfestación); i. recuperación de NEP's.

Resultados y Discusión

Los sitios se seleccionaron por encontrarse cultivos (cebolla, pastos, yuca y otros menos frecuentes como: Maracuyá, Mango, Árbol del pan) afectados por plagas rizófagas, en Colombia y Panamá.

En las muestras de Panamá, se identifican nematodos que por sus características morfológicas resultan ser saprófitos, estos se murieron en la solución de almacenamiento de formaldehído, imposibilitando su multiplicación por otros métodos. Las muestras de Colombia se procesan con la metodología propuesta, manteniéndose unas en solución fijadora TAF (Formol + Trietanolamina + agua destilada) y otras vivas en solución de formaldehído al 0.05 %. Todo este material es enviado a Alemania para su identificación por un especialista en técnicas moleculares.

Durante la evaluación se encontraron en las larvas de *G. mellonella* organismos que al parecer se estaban alimentando de ellas, identificando entre éstos a ácaros pertenecientes a las familias Acaridae y Histiomidae, que son conocidos por ser saprófitos y fungívoros.

También se observaron crecimientos de hongos, los cuales fueron identificados como *Fusarium* sp. y *Metarhizium* sp.

En casi todos los casos se encontraron nematodos sobre las larvas de *G. mellonella*. La separación entre saprófitos y patógenos se realizó aplicando los postulados de Koch, registrando síntomas en larvas así como comportamiento típicos. De las 320 muestras (300 g c/una) en 15 cultivos, se obtienen positivas para hongos (24), ácaros (16) y nematodos patógenos y saprófitos (21) (Tabla 1).

Tabla 1. Sitios de muestreo de NEP's en Colombia y Panamá y los organismos aislados.

País	Departamento o Provincia	Municipio	Cultivo	No. de muestras	Organismo presente		
					Ácaro	Hongo	Nematodo
Panamá	Coclé	El Valle de Antón	Cebolla	5	2	2	1
			Maní	5	0	2	1
	Veraguas	Ocu	Yuca	10	0	2	1
			Siogú	6	0	2	0
	Chiriquí	Cerro Punta	Cebolla	5	1	2	1
			Yuca	21	1	2	1
Colombia	Quindío	Quimbaya	Piñano	20	1	2	1
			Maz	20	0	1	1
			Cebolla	5	0	1	0
	Risaralda	Santa Rosa	Pastor	38	1	1	1
			Pereira	33	0	1	1
			La Florida	24	1	0	1
Caldas	Manizales	Guano	3	0	1	1*	
		Árbol del Pan	3	0	0	1	
		Maz	3	0	0	1	
		Frijol	3	1	0	1	
		Yuca	4	1	0	1	
		Aguaicá	2	0	0	0	
		Piñano	2	0	0	0	
		Mango	2	1	0	0	
		Maridarina	2	1	1	0	
		Limón	3	1	0	0	
		Maracuyá	3	0	1	0	
		Café	4	0	1	1	
Cebolla	6	0	1	1			
Cauca	Santander de Quilichao	Pastor	20	1	0	1	
		Yuca	31	1	1	1*	
		Maní	2	1	0	1	
TOTAL				320	16	24	21 (6.6%)

* Muestras positivas para entomonematodos, con la especie *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923)

De esta búsqueda (20 muestras aparentemente patógenas), se reporta por primera vez en Colombia, en Cauca (Yuca) y Caldas (Guano), la especie *Steinernema kraussei*, descrita por Steiner (1923). La identificación la realiza Susurluk (2004) con la técnica molecular de PCR (Figura 4).

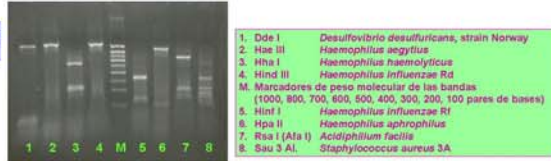


Figura 4. PCR de *Steinernema kraussei* de productos de la región ITS digerida con ocho enzimas de restricción.

Según el análisis de suelo de estas regiones, donde se identificó la especie, presentan un pH entre 6,4 (Cauca) y 5,2 (Caldas), con una textura entre franco-arcillosa y franco-arcillosa-limosa, respectivamente.

Conclusiones y Recomendaciones

Se colecta e identifica por primera vez en Colombia *Steinernema kraussei*, especie reportada en otros países como controladora de chisas.

Según algunos autores los suelos de textura franco-arcillosas presentan menos ocurrencia de NEP's (Parada, 2001), sin embargo, en este caso en uno de los sitios evaluados con esta textura se hallaron NEP's, mostrando esta especie un amplio rango. Los steinernematidos se hallaron dentro del rango de pH de 4 a 8 que reportan Koppenhofer *et al.* (1996).

Del total de las muestras evaluadas (320) solo el 6,6% presentan nematodos, lo que puede deberse a que el muestreo se realizó en suelos de cultivos bajo manejo químico (cultivados), lo que podría influenciar la presencia de estos organismos, por lo que es recomendable muestrear paralelamente sitios sin intervención química.

De las 20 muestras de nematodos enviadas a Alemania para su identificación, dos fueron positivas como entomopatógenos (*S. kraussei*), continuándose la identificación de las restantes.

Referencias

Rueda, L.M., Osawaru, S.; Georgi, L.; Harrinson, R. E. 1993. Natural Occurrence of Entomogenous Nematodes in Tennessee Nursery Solis. *Journal of Nematology* 26 (2): 181-188.
 Bedding, R.A.; Akhurst, R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-110.
 Koppenhofer, A.; Kaya, H. 1996. Coexistence of entomopathogenic nematode species (Steinernematidae and Heterorhabditidae) with foraging behavior. *Fundam. Appl. Nematology*, 19 (2): 175-183.
 Parada, J.C. 2001. Aislamiento e identificación de nematodos entomoparásitos. En: Seminario de nematodos entomoparásitos una alternativa en MIP: "Especies, Biología, Ecología, multiplicación masiva, Técnicas de aplicación, experiencias y perspectivas de uso". Facultad de Agronomía Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Agosto 24. p. 7-14.

Conferences

- Bellotti, A.C. 2003. Integrated Management of Cassava Arthropod Pests. Success Stories: Present and Future Research. Annual Review, PE-1. 9-12 December 2003. CIAT, Cali, Colombia.
- Bellotti, A.C. 2004. Recent Advances in Whitefly (*Aleurotrachelus socialis* Bondar; Homoptera: Aleyrodidae) Resistance in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). SP-IPM Inter-Institutional Working Group (IIWG) Meeting, 22-26 February 2004, CIMMYT, Mexico.
- Bellotti, A.C. 2004. Integrated Management of Cassava Arthropod Pests. Success Stories: Present and Future Research. Sixth International Scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network-CBN. 8-14 March 2004, CIAT, Cali, Colombia.
- Bellotti, A.C. 2004. Control Biológico en los Neotrópicos. Una Revisión Selectiva con Énfasis en Yuca. I Seminario Internacional y II Nacional de Control Biológico de Plagas y Enfermedades en los Cultivos, April 28-30 2004, Sangolquí, Ecuador.
- Bellotti, A.C. 2004. Recent Advances in Whitefly (*Aleurotrachelus socialis*) Resistance in Cassava. 15th International Plant Protection Congress – Beijing International Convention Centre, May 11-16, 2004, Beijing, China.
- Bellotti, A.C. 2004. Integrated Management of Cassava Arthropod Pests. University of Florida, Gainesville, FL, USA. June 3, 2004.
- Bellotti, A.C. 2004. Integrated Management of Cassava Arthropod Pests. University of Florida, Homestead, FL, USA. June 4, 2004.
- Bellotti, A.C. 2004. Recent Advances in Whitefly Resistance in Cassava. Florida Entomology Society, Fort Lauderdale, FL, USA. July 25-27, 2004.
- Melo-Molina, E.L.; Ortega-Ojeda, C.A.; Gaigl, A.; Bellotti, A.C.; Ehlers, R. 2004. Evaluación bajo invernadero de dos cepas comerciales de *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* sobre dos estados de *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae). Resúmenes XXXI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN. July 28-30, Bogotá, Colombia. p. 98.
- Melo-Molina, E.L.; Ortega-Ojeda, C.A.; Gaigl, A.; Bellotti, A.C.; Ehlers, R.; Borgemeister, C. 2004. Evaluación de siete cepas de nematodos entomopatógenos para el manejo de la chisa rizófaga *Phyllophaga* sp. (Coleoptera: Melolonthidae). Resúmenes XXXI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN. July 28-30, Bogotá, Colombia. p. 99.
- Melo-Molina, E.L.; Ortega-Ojeda, C.A.; Gaigl, A.; Bellotti, A.C.; Ehlers, R-U. 2004. Diferencias en infección y supervivencia de tres especies de chisas fitófagas, *Phyllophaga menetriesi*, *Phyllophaga* sp. y *Anomala* sp. (Coleoptera: Melolonthidae), con cinco cepas de entomonematodos. Resúmenes XXXI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN. July 28-30, Bogotá, Colombia. p. 99.
- Valencia, Jiménez, A.; Frerot, B.; Guenego, H.; Múnera, D.F.; Calatayud, P-A. 2004. Toxicidad de extractos de hoja de *Jatropha gossypifolia* en tres especies de Lepidoptera. XXXI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología SOCOLEN. July 28-30, Bogotá, Colombia. p. 113.

Student in Practice

- Velásquez, Luz Paola, 2004. Estudio de la biología de *Ceraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada con dos tipos de presa en condiciones de laboratorio. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Agronomía, Manizales. CO. 35p.

Awards

The "Hernán Alcaez Viecco" an Honorable Mention to CIAT's Cassava Entomology team (Arturo Carabalí, Anthony C. Bellotti, James Montoya, and María Helena Cuéllar). Second place for their paper "Adaptación del biotipo B *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) a yuca *Manihot esculenta* (Crantz)". XXX Congress of the Colombian Entomological Society, SOCOLEN. July 28-30, Bogotá, Colombia.

Training Received

Cornell University, Training in Use of Feromonas and Rx, Sep. 15-Nov. 20, 2003. Ithaca, NY, USA. Anuar Morales. (CIAT Human Resource Development Fund).

CIAT, How to Design and Manage Successful Research Projects, 27-31 Oct. 2003. Cali. Arturo Carabalí (CIAT Human Resource Development Fund).

Harmonia. Corporación para el Desarrollo de Insumos y Servicios Agroecológicos. Cerrito-Valle, 14 April, 2004. Carlos Julio Herrera, Elsa Liliana Melo, Carlos A. Ortega.

XXXI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN. Bogotá, 28-30 July 2004. Students and Professionals of Integrated Pest and Disease Management Unit.

Sixth International Scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network-CBN. CIAT, Cali, 8-14 March 2004. Students and Professionals of Integrated Pest and Disease Management Unit IPM-Cassava Project.

Course "Taxonomía de Coleopteros: Scarabaeidae de Importancia Agrícola (Coleoptera: Scarabaeidae "Pleurosticti)." Twenty Technicians, Students and Professionals of Integrated Pest and Disease Management Unit. 6-10 Sep. 2004. (Professor: Jhon César Neita Moreno, Universidad Nacional, Bogotá).

Training and Consultancy Services offered during 2004.

Organizer	Place	Date	Participants	Received by	Service
CIAT-MADR	CIAT	12 Oct. 2004	28	Farmers, administrators	Management of Pests
CIAT/Biología	Vereda Alegrías Santander de Q.	25 Aug. 2004	70	Professionals, extensionists and farmers from Cauca-AMUC (Asoc. Municipal de Usuarios Campesinos del Cauca)	Conference and field day. MIP in whitefly and Cassava Frogskin (CFS)
Universidad Nacional (Medellin)	CIAT	13 May 2004	13	Agronomy Students	Cassava Pests and biological control
CLAYUCA	CIAT	31 May-12 Jun. 2004	40	Scientists, farmers, extensionists, administrators	Conference and field day (MIP on cassava whitefly) in an International Course about Modern Systems of Production, Processing and Utilization of Cassava

Organizer	Place	Date	Participants	Received by	Service
Universidad Nacional Abierta y a Distancia-Pereira	CIAT	30 April 2004	18	Students	Integrated Pest Management in Cassava
Colegio Tomás Cripriano Mosquera	CIAT	27 April 2004	32	Students	Workshop on Integrated Management of Soil Pests, with Emphasis on Microbiological Control
Universidad de Antioquia	CIAT	16 April 2004	13	Students of the University's Biology Institute	Workshop on Integrated Management of Soil Pests, with Emphasis on Microbiological Control
CIAT-MADR	Pereira	26 Feb. 2004	28	Farmers, Producers, Administrators, and Cassava Processors	Integrated Pest Management in Cassava in the Coffee-growing Region
CLAYUCA	CIAT	20 Feb. 2004	2	Ernesto Espinosa and José Ventura from INIVIT-Cuba	Integrated Management of the Whitefly <i>Aleurotrachelus socialis</i> with Emphasis on Varietal Resistance
CIAT-Subterranean Pests Project	Quimbaya	17 Feb. 2004	32	Farmers, Producers, Students, Administrators, and Cassava Processors	Workshop on IPM in Cassava in the Coffee-growing Region, with Emphasis on Soil Pests
Universidad de Medellín	CIAT	17 Feb. 2004	20	Students of Biological Control Course	Biological Control of Cassava Pests, Nematodes and Taxonomy of Parasitoids
CENICAÑA	CIAT	16-20 Feb. 2004	4	Luis A. Gómez, Germán Vargas (Cenicaña); María Marín (Fedepanela); Luis A. Hincapié (IcA, Risaralda)	Workshop on Bioecology and IPM of the Spittlebug
Inst. Nal. de Investigaciones Forestales y Agropecuarias-Yucatán, Mexico	CIAT	1-2 Dec. 2003	1	Raúl Díaz	Training in whitefly identification and mounting of specimens
Universidad Nacional, Palmira	CIAT	1-30 Nov. 2003	1	Sergio Prieto, Visiting Researcher	Evaluation of the level of mortality and body weight gain of the cassava hornworm (<i>E. ello</i>)
INIAP-Experiment Station in Portoviejo, Ecuador	CIAT	10-14 Nov. 2003	3	Oswaldo Valarezo, Ernesto Cañarte, Bernardo Navarrete	Mite taxonomy, preparation and mounting of mite specimens
PROINPA, Bolivia	CIAT	24 Oct. 2003	1	Oscar Barea, Coordinator of Integrated Crop Management	Whitefly taxonomy
ESPE (Escuela Superior Politécnica del Ejército) in Quito, Unit Ecuador; CIAT	CIAT-IPDM	17-19 Sep. 2003	3	ESPE (Escuela Superior Politécnica del Ejército) in Quito, Ecuador	Integrated management of the whitefly, the cassava hornworm, and entomopathogens and mites

Organizer	Place	Date	Participants	Received by	Service
CIAT	CIAT	27-28 Aug. 2003	1	Edwin Iquize, Visitor from Bolivia	Visit to the CIAT experiment station in Santander de Quilichao / Training in sampling techniques to analyze the incidence and population fluctuations of the spittlebug and soil arthropods

Collaborators:

Anthony C. Bellotti, Josefina Martínez, Bernardo Arias, José María Guerrero, María del Pilar Hernández, María Elena Cuéllar, Oscar Escobar, Elsa Liliana Melo, Adriana Bohórquez, Carlos Julio Herrera, Ana Milena Caicedo, Claudia María Holguín, Diego Fernando Múnera, Miller Gómez (Student, Universidad Nacional, Palmira), Arturo Carabalí (Student, Universidad del Valle, Cali), Luz Paola Velásquez (Student, Universidad de Caldas, Manizales), Carlos Ñaños, Gerardino Pérez, Rodrigo Zúñiga, Rómulo Riascos, Adriano Muñoz, Carmen Elisa Mendoza, Gustavo Trujillo.

Project staff - CIAT

IRD (formerly ORSTOM)

Paul-André Calatayud

Donor Institutions

USAID

USDA – United States Department of Agriculture

MFAT – New Zealand Ministry of Foreign Affairs

DFID

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural – MADR, Colombia

IRD - France

Federal Ministry for Economic Co-operation and Development ([BMZ](#))

DGIS - Holland

Collaborators: Other Institutions

CLAYUCA (Dr. Bernardo Ospina)

CENICAFE, Chinchiná, Colombia – Juan Carlos López, Alex Bustillo, Gabriel Cadena

Universidad de Caldas, Manizales, Colombia – Arubio J. Valencia

University of California Davis, Davis, USA – Patricia Stock

University of Florida, Gainesville, USA – Jorge Peña, Gregory Evans

Systematic laboratory in Livingston, Montana, USA – Mike Rose

BIOTROPICAL S.A., Medellín, Colombia – Guillermo León Hernández

FIAFOR – Panamá – José Antonio Aguilar

USDA - United States Department of Agriculture, USA - Stephen L. Lapointe

Collaborating Institutions

INRA-INSA, Laboratoire de Biologie Appliquée, Villeurbanne, France

IRD, France

CNPMF, EMBRAPA, Brazil
IAC, Sao Paulo, Brazil
USDA, Beltsville MD, Fort Pierce, FL - USA
Cornell University, USA
Crop and Food Research Institute, New Zealand
British Museum
INIA – Instituto Nacional de Investigación Agrícola – Anzoátegui, Venezuela
Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, MADR, Colombia
CORPOICA, Nataima, Colombia
Universidad Nacional, Bogotá, Colombia
Universidad Nacional, Palmira, Colombia
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Linkages with Other CIAT Projects and with CIAT's Partner Institutions

IPRA, based at CIAT, Colombia
Instituto Agronómico de Campinas (IAC), Brazil
Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales – INIVIT, Cuba
Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, Colombia
EMBRAPA, Cruz das Almas, Brazil
Escuela Politécnica del Ejército (ESPE), Ecuador
CLAYUCA
Conservation and Use of Tropical Genetic Resources SB-2
Improved Cassava for the Developing World IP-3
Tropical Fruits IP-6
GIS