

5.3.2. Familia Heterorhabditidae.

En los muestreos realizados en Cataluña se han obtenido un total de 9 cepas de nematodos entomopatógenos de la familia Heterorhabditidae.

Todas las cepas encontradas pertenecen a una única especie: *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975.

En dos ocasiones (P4 y P11) se han encontrado individuos que manifestaban grandes diferencias cromáticas en los insectos que parasitaban. Unos nematodos daban una tonalidad intensamente roja a las larvas de *Galleria mellonella* (tonalidad más típica de los insectos parasitados por heterorhabdítidos), mientras que otros individuos provocaban una tonalidad amarilla verdosa. Para los estudios morfológicos realizados posteriormente fueron considerados como dos variedades diferentes (P4 no rojo y P11 no rojo) de las cepas originales P4 y P11. Los resultados de los estudios morfológicos que seguidamente expondremos nos indicaron que se trataban de la misma especie; *H. bacteriophora*. Esta diferente coloración de las larvas de insectos parasitadas por heterorhabdítidos ya ha sido observada por otros autores (Wouts, 1979) entre cepas de una misma especie aislada en lugares diferentes. La explicación dada es que no se tratan de nematodos diferentes, sino que indicaría la existencia de diferencias en las cepas de la bacteria bioluminiscente asociada a estos nematodos. En nuestro estudio hemos comprobado como las bacterias de ambas cepas con diferencias cromáticas producen bioluminiscencia, por lo que corresponderían a diferencias intraespecífica de la bacteria *Photobacterium luminescens*.

Es de destacar que en el presente estudio, ambas formas cromáticas no se encontraban separadas espacialmente sino que compartían un mismo hábitat, ya que fueron recogidas en una misma muestra de suelo.

Al parasitar larvas de *Galleria* conjuntamente con formas infectivas que producen ambas coloraciones, en ningún caso se obtuvo una mezcla de coloración, sino que en todos los casos se manifestaba una sola, con un mayor predominio de la coloración amarillo verdosa frente a la roja.

1) Descripción de *Heterorhabditis bacteriophora*.

A.- Machos:

Aunque, como hemos comentado anteriormente, no hemos utilizado la morfometría de los machos para la determinación específica de las cepas, si que hemos observado sus características más destacadas.

Los machos de *H. bacteriophora* presentan la cutícula lisa, poseen un testículo único, anterior y retroflexo. Las espículas son pares, separadas y muy poco curvadas, casi rectas, con un pequeño capítulo con formas variadas (desde en punta hasta aplanado) muy poco diferenciado del resto de la espícula (fig. 5.70). Gubernáculo estrecho, en ocasiones la parte proximal se encuentra curvada ventralmente entre las espículas. La bursa es pelodera abierta, sustentada normalmente por nueve pares de papilas (costillas); un pequeño par anterior, dos pares adyacentes a las espículas y seis pares (dos grupos de tres pares de papilas cada uno) en posición posterior a la cloaca (fig. 5.70).

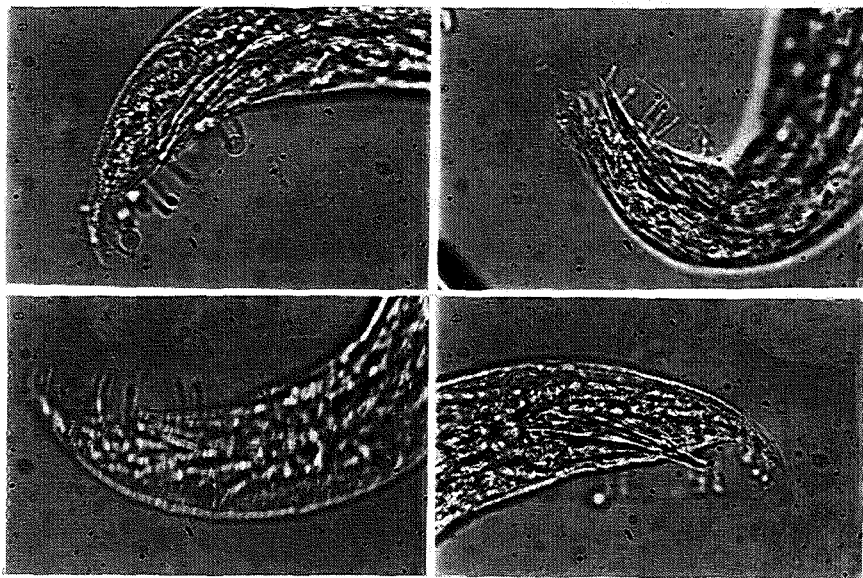


Figura 5.70. Región caudal de los machos de *Heterorhabditis bacteriophora*.

B.- Formas infectivas:

Son formas juveniles de segundo estadio (J2) en el interior del cual se encuentra el tercer estadio juvenil (J3). Presentan un cuerpo delgado y alargado (fig. 5.71A).

La región cefálica de la cutícula del segundo estadio (J2), se diferencia de los demás estadios larvarios por poseer un anillado muy poco conspicuo (fig. 5.71B). Presenta la boca cerrada rodeada por seis papilas labiales, no observándose las papilas cefálicas. Los anfidios son aparentes situados en la primera mitad de la región cefálica (fig. 5.71C). Posterior a la región cefálica la cutícula presenta una zona con una densa estriación longitudinal y transversal que le da un aspecto de mazorca de maíz. Esta región que rodea por completo al nematodo, se prolonga únicamente por su parte dorsal y ventral en dos bandas (figs. 5.72 y 5.73A). En su parte ventral, esta banda de estriaciones finaliza en la posición en la que se encuentra el poro excretor (figs. 5.73A y B). A lo largo del resto del nematodo únicamente se encuentran numerosas estriaciones longitudinales (fig. 5.73C) que atraviesan la región anal (fig. 5.73D) hasta el extremo de la cola.

La cutícula del tercer estadio larvario (J3), que se encuentra en el interior de la cutícula del segundo estadio, presenta una apariencia muy diferente a la descrita anteriormente. En la región cefálica presenta una estructura cuticular en forma de diente, ya descrita por Wouts (1979) y posteriormente estudiada por Bedding y Molyneux (1982). Toda la superficie del cuerpo está muy finamente anillada y presentan un campo lateral con dos bandas longitudinales claramente diferenciadas (fig. 5.74) que discurren paralelamente por toda la longitud del nematodo hasta unirse en el extremo de la cola (fig. 5.74).

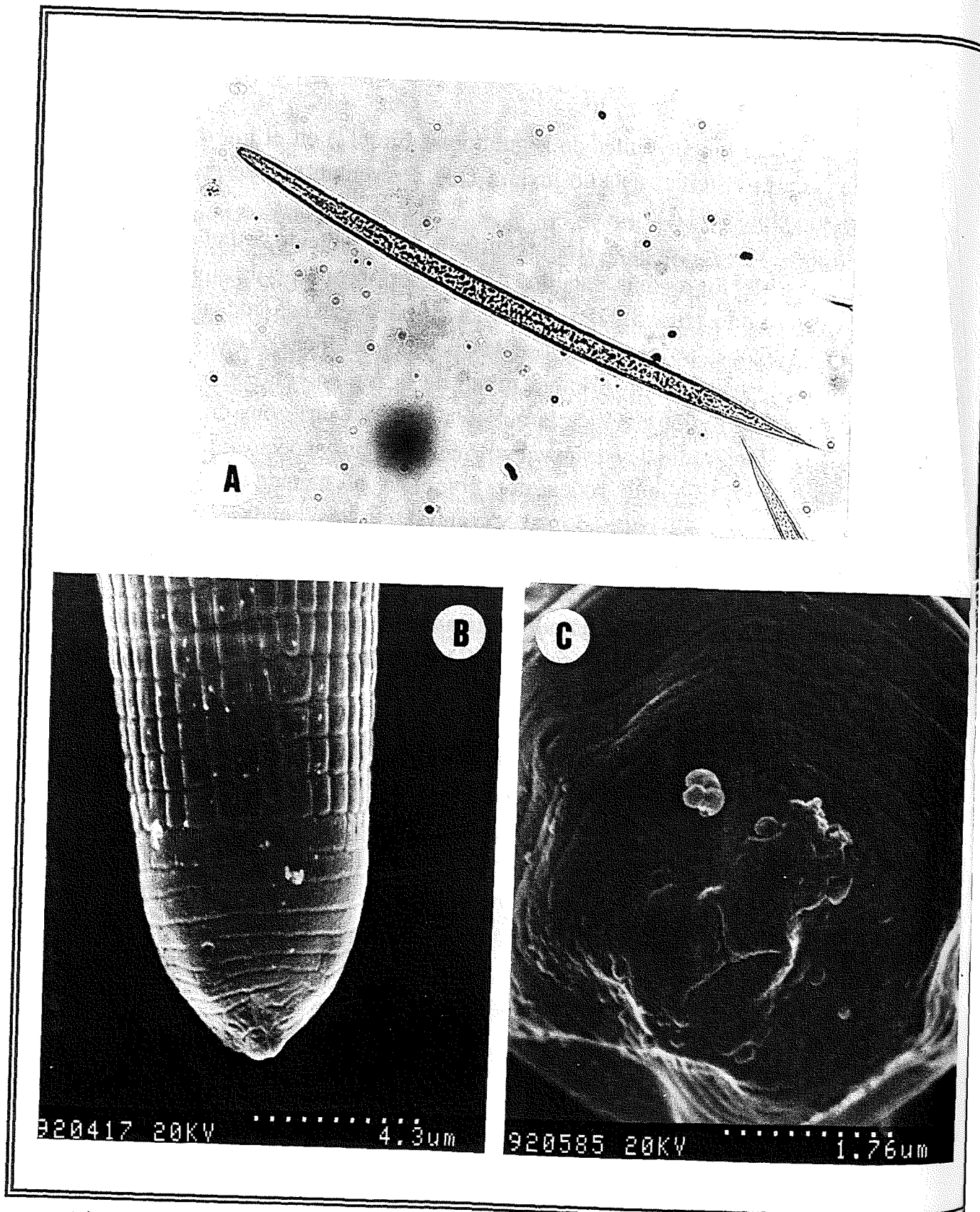


Figura 5.71. A. Formas infectivas de *Heterorhabditis bacteriophora*. B. Región cefálica. C. Abertura bucal, papilas cefálicas y anfídios.

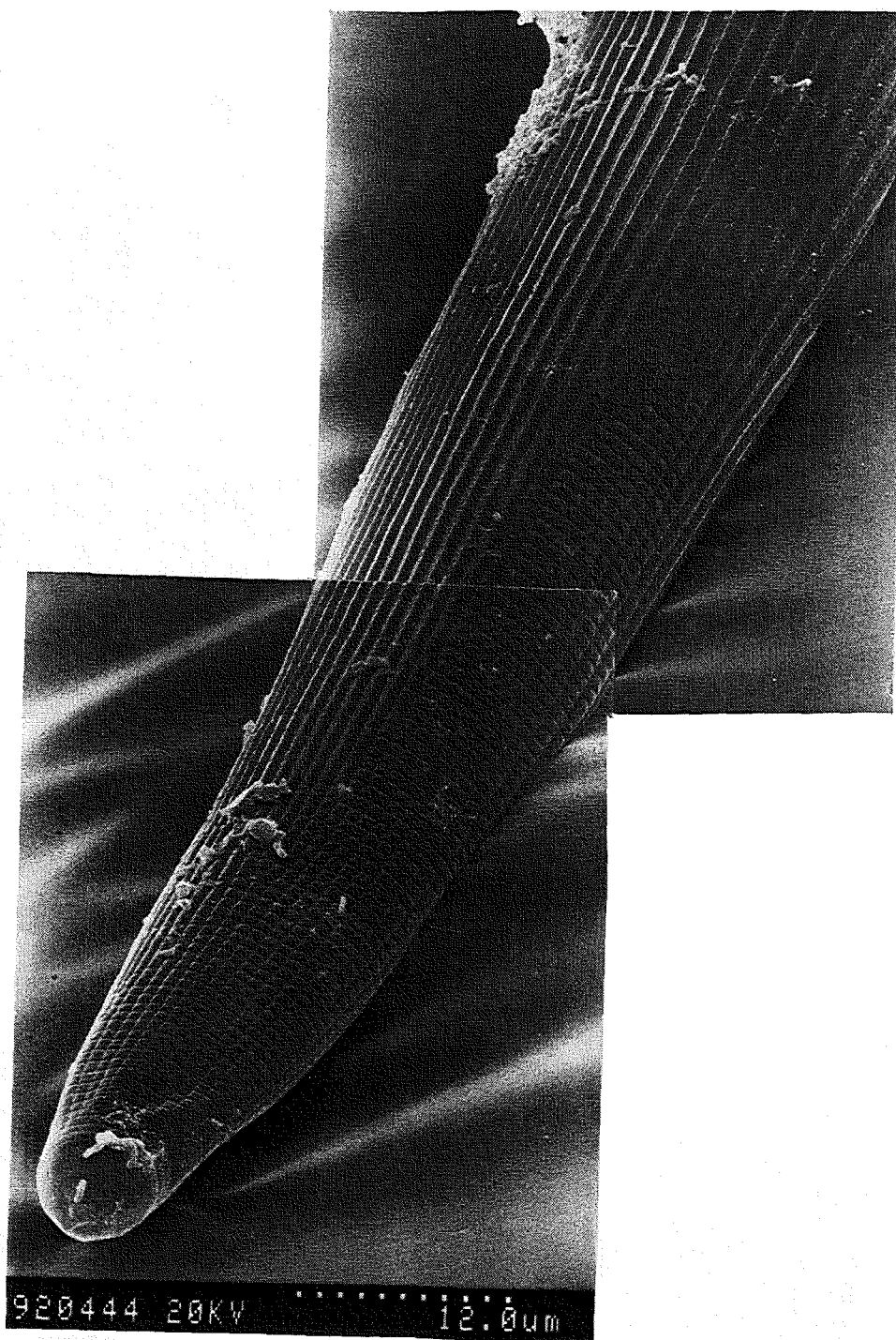


Figura 5.72. Región cefálica y faríngea de las formas infectivas de *Heterorhabditis bacteriophora*.

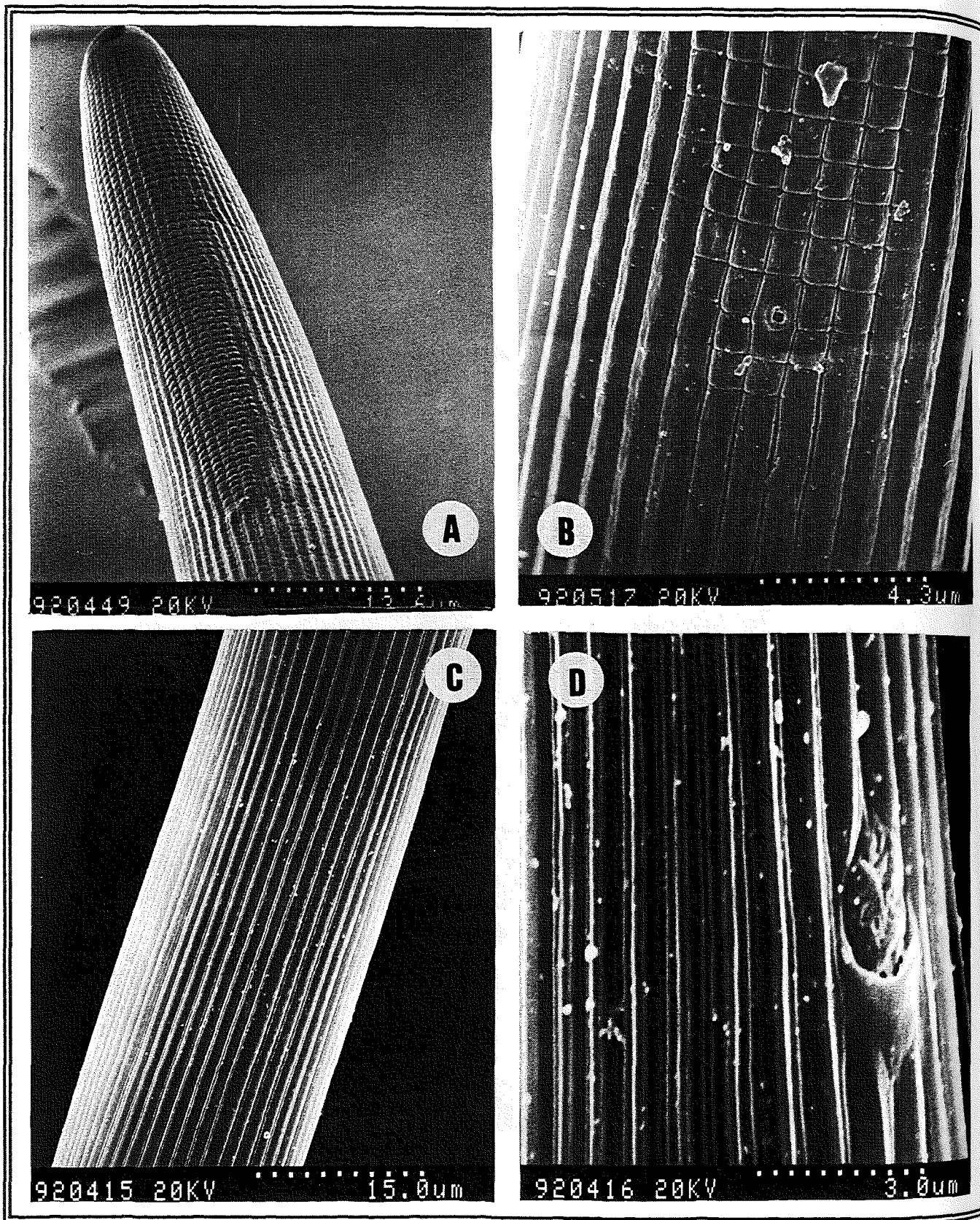


Figura 5.73. Formas infectivas de *Heterorhabditis bacteriophora*. A. Región faríngea. B. Poro excretor. C. Estriación cuticular. D. Región anal.

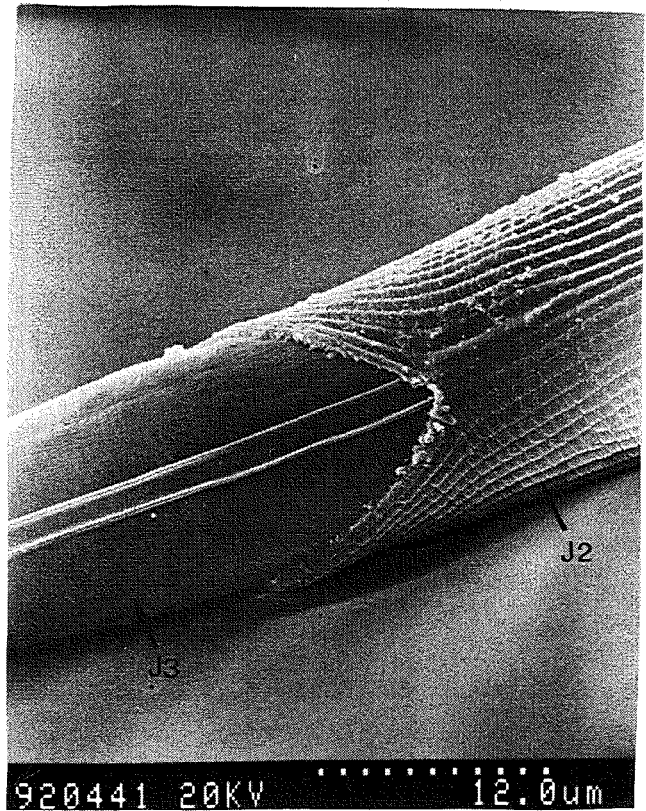
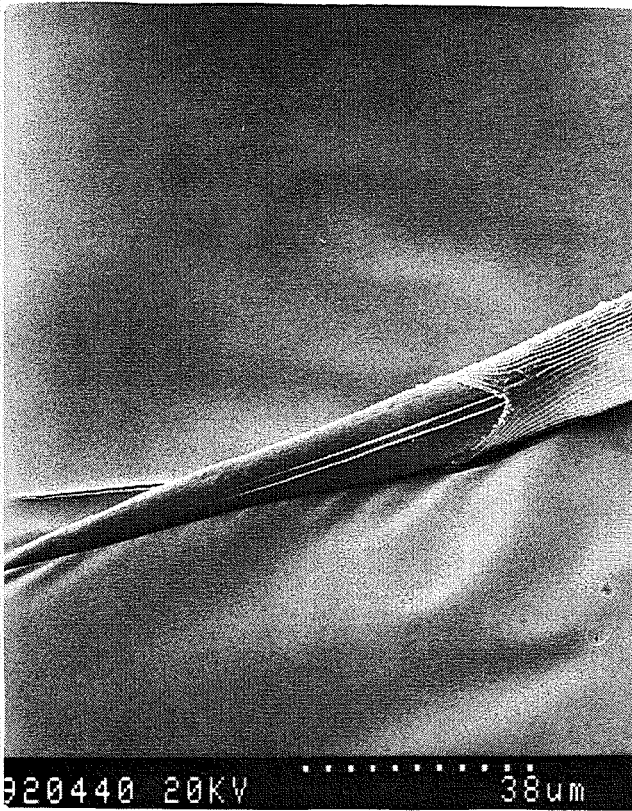


Figura 5.74. Formas infectivas de *Heterorhabditis bacteriophora* Cutícula del tercer estadio juvenil (J3) en el interior de la cutícula del segundo estadio juvenil (J2).

2) Estudio de las cepas aisladas.

Para la determinación taxonómica de las cepas de los nematodos heterorhabdítidos hemos llevado a cabo dos tipos de estudios.

Por una lado hemos realizado un detallado análisis morfométrico de las formas infectivas de todas las cepas, ya que debido a la gran estabilidad de los caracteres utilizados en su determinación, no es necesario el estudio morfométrico de los machos, que son muy frágiles y en muchas ocasiones aparecen únicamente de forma esporádica.

Por otro lado hemos realizado una confirmación de dos de las cepas representativas de dicha especie, a través de su caracterización mediante el análisis de polimorfismo de los fragmentos de restricción de ADN (RLFP "Restriction fragment length polymorphism").

La situación geográfica y características del hábitat de todas las cepas de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975, encontradas en Cataluña se muestran en la tabla 5.76, mientras que las características morfométricas de esas mismas cepas se pueden observar en la tabla 5.77.

Tabla 5.76. Situación y características del hábitat de las cepas de *Heterorhabditis bacteriophora*.

CEPA	Localidad (Comarca)	Altitud (m)	Temp. (°C)	Pluvio. (mm)	Hábitat
HSP1 (M147)	Gavá (Baix Llobregat)	0-25	16-18	500-600	Hortícola
HSP2 (M40)	St. Quintí Mediona (Alt Panedés)	400-600	14-16	600-700	Pineda
P4	Prat de Llobregat (Baix Llobregat)	0-25	16-18	500-600	Hortícola
P11	Sant Boi de Ll. (Baix Llobregat)	0-25	16-18	500-600	Hortícola
P29	Viladecans (Baix Llobregat)	0-25	16-18	500-600	Hortícola
P29B	Viladecans (Baix Llobregat)	0-25	16-18	500-600	Hortícola
P42	Viladecans (Baix Llobregat)	0-25	16-18	500-600	Hortícola
MA9	Cabrera de Mar (Maresme)	0-25	16-18	500-600	Hortícola
MA44	Cabrera de Mar (Maresme)	0-25	16-18	500-600	Hortícola

A.- Estudio morfométrico.

Las características biométricas de las cepas aisladas de *H. bacteriophora* se muestran en la tabla 5.77.

Tabla 5.77. Biometría de las cepas de *H. bacteriophora* aisladas.

CEPA:	HSP1 (M147)		HSP2 (M40)		P4 ROJO		P4 NO ROJO	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
Longitud total	612,73	(585,8-646,4)	604,31	(555,5-626,2)	601,88	(595,5-606)	609,79	(595,9-626,2)
Anchura máxima	24,17	(23-25)	24,16	(23-25)	24,40	(22-25)	24,37	(24-25)
Anchura a nivel del ano	15,00	(14-16)	15,16	(15-16)	15,00	-	15,12	(15-16)
Distancia: cabeza-poro excretor	109,66	(108-111)	111,16	(110-113)	104,60	(101-107)	111,87	(110-114)
Distancia: cabeza-hemizonidio	101,83	(100-103)	102,16	(100-104)	97,20	(93-100)	101,62	(100-103)
Distancia: cabeza-anillo nervioso	90,83	(90-93)	91,00	(90-93)	85,60	(80-90)	91,50	(90-93)
Distancia: cabeza-base faringe	129,33	(128-131)	129,00	(128-130)	124,80	(120-130)	129,75	(129-131)
Longitud cola	96,33	(91-102)	93,5	(90-99)	91,80	(85-100)	96,25	(92-100)
Índice A	25,36	(24,24-25,86)	25,01	(24,15-26,09)	24,74	(23,82-27,54)	25,02	(24,24-26,09)
Índice B	4,74	(4,51-5,01)	4,68	(4,34-4,82)	4,83	(4,62-5,05)	4,70	(4,55-4,85)
Índice C	6,37	(5,94-7,03)	6,47	(6,10-6,84)	6,57	(6,06-7,13)	6,34	(5,96-6,59)
Índice D	0,85	(0,84-0,85)	0,86	(0,85-0,88)	0,84	(0,82-0,86)	0,86	(0,85-0,88)
Índice E	1,14	(1,07-1,19)	1,19	(1,11-1,23)	1,14	(1,07-1,20)	1,16	(1,10-1,21)
Índice F	0,25	(0,23-0,27)	0,26	(0,24-0,28)	0,27	(0,24-0,29)	0,25	(0,24-0,27)

Índice A: Longitud total / Anchura máxima. Índice B: Longitud total / Distancia cabeza-base faringe. Índice C: Longitud total / Longitud cola. Índice D: Distancia cabeza-poro excretor / Distancia cabeza-base faringe. Índice E: Distancia cabeza-poro excretor / Longitud cola. Índice F: Anchura / Longitud cola.

Tabla 5.77. (continuación).

CEPA:	P11 ROJO		P11 NO ROJO		P29		P29B	
Medidas: (n=15)	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
Longitud total	579,84	(555,5-616,6)	613,07	(565,6-636,3)	639,66	(616,1-656,5)	580,03	(545,4-595,9)
Anchura máxima	21,00	(20-22)	24,20	(23-25)	25,00	(24-26)	21,43	(21-22)
Anchura a nivel del ano	14,00	(13-15)	15,40	(15-16)	16,11	(16-17)	14,00	(13-15)
Distancia: cabeza-poro excretor	104,20	(103-108)	107,40	(104-109)	112,77	(108-115)	104,86	(102-108)
Distancia: cabeza-hemizonidio	95,40	(94-98)	98,90	(95-102)	103,88	(100-107)	96,00	(94-98)
Distancia: cabeza-anillo nervioso	85,20	(83-88)	88,50	(85-90)	93,55	(90-97)	85,71	(84-89)
Distancia: cabeza-base faringe	121,60	(118-123)	123,70	(122-126)	132,77	(129-135)	122,71	(118-127)
Longitud cola	100,80	(99-103)	96,20	(93-101)	92,22	(86-100)	97,28	(92-100)
Índice A	27,62	(26,63-28,03)	25,33	(24,59-26,09)	25,59	(24,64-26,93)	27,07	(25,97-27,89)
Índice B	4,77	(4,51-5,09)	4,95	(4,60-5,17)	4,82	(4,56-5,01)	4,73	(4,43-4,96)
Índice C	5,75	(5,55-5,98)	6,37	(5,95-6,63)	6,95	(6,46-7,40)	5,97	(5,45-6,48)
Índice D	0,86	(0,84-0,89)	0,87	(0,84-0,89)	0,85	(0,84-0,86)	0,85	(0,84-0,87)
Índice E	1,03	(1,01-1,05)	1,12	(1,07-1,17)	1,22	(1,08-1,32)	1,08	(1,03-1,15)
Índice F	0,21	(0,20-0,22)	0,25	(0,24-0,26)	0,27	(0,25-0,29)	0,22	(0,21-0,24)

Tabla 5.77. (continuación).

CEPA:	P42		MA9		MA44	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
Medidas: (n=15)						
Longitud total	598,93	(565,6-626,2)	630,41	(595,9-666,6)	635,29	(585,8-676,7)
Anchura máxima	24,00	(22-25)	23,50	(21-26)	24,35	(21-27)
Anchura a nivel del ano	15,10	(14-16)	15,00	(14-16)	16,80	(15-19)
Distancia: cabeza-poro excretor	107,80	(104-112)	109,50	(104-114)	113,05	(107-120)
Distancia: cabeza-hemizonidio	100,10	(96-102)	100,66	(95-104)	104,70	(100-110)
Distancia: cabeza-anillo nervioso	89,30	(87-92)	89,83	(85-94)	91,15	(87-95)
Distancia: cabeza-base faringe	129,50	(127-133)	127,92	(121-131)	133,00	(120-139)
Longitud cola	93,10	(85-97)	92,00	(87-99)	97,70	(91-103)
Índice A	24,99	(23,43-27,54)	26,90	(25,05-29,38)	26,17	(24,31-29,82)
Índice B	4,62	(4,38-4,82)	4,93	(4,77-5,25)	4,78	(4,36-5,09)
Índice C	6,43	(6,17-6,65)	6,86	(6,59-7,31)	6,50	(5,74-6,73)
Índice D	0,83	(0,81-0,86)	0,86	(0,83-0,88)	0,85	(0,80-0,89)
Índice E	1,16	(1,13-1,26)	1,19	(1,06-1,27)	1,16	(1,05-1,27)
Índice F	0,26	(0,23-0,27)	0,25	(0,23-0,28)	0,25	(0,21-0,27)

B.- Análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción de ADN (RLFP "Restriction fragment length polymorphism").

Se ha realizado la digestión total de ADN con enzimas restrictivos de dos cepas autóctonas de *Heterorhabditis* (HSP1 y HSP2) para su comparación con dos cepas de especies conocidas (*H. bacteriophora* K, de Australia y *H. heliothidis* de Carolina del Norte, EEUU (sinonimia de *H. bacteriophora*).

En la figura 5.75 se muestran las bandas de ADN obtenidas en la digestión (EcoRI) de las cuatro cepas. Podemos observar como las dos cepas aisladas en Cataluña en el presente estudio, presentan un patrón idéntico a la especie *H. bacteriophora* (= *H. heliothidis*), con un tamaño de los fragmentos de ADN de 3,2 y 3,9 kb ("kilobasepair") (fig.5.75). Este patrón de bandas es común a todas las cepas de *H. bacteriophora* de USA, Australia, Nueva Zelanda, y dentro de Europa, presentan este patrón, las cepas de España, Italia, Moldavia y las de la mitad oeste de Alemania (Smits et al, 1991).

Estos resultados corroboran los que hemos obtenido en los estudios morfológicos realizados sobre la posición taxonómica de estas dos cepas de *Heterorhabditis*, confirmando su pertenencia a la especie *H. bacteriophora*. La comparación morfológica de estas dos cepas con las demás cepas de *Heterorhabditis* aisladas demuestran que todas las cepas de heterorhabdítidos que se han encontrado en Cataluña pertenecen a la especie *H. bacteriophora*.

El rango de distribución geográfica de esta especie abarca América del Norte y del Sur, Australia y Europa (Poinar, 1990). El encuentro de *H. bacteriophora* en Cataluña supone la primera cita de esta especie para la Península Ibérica.

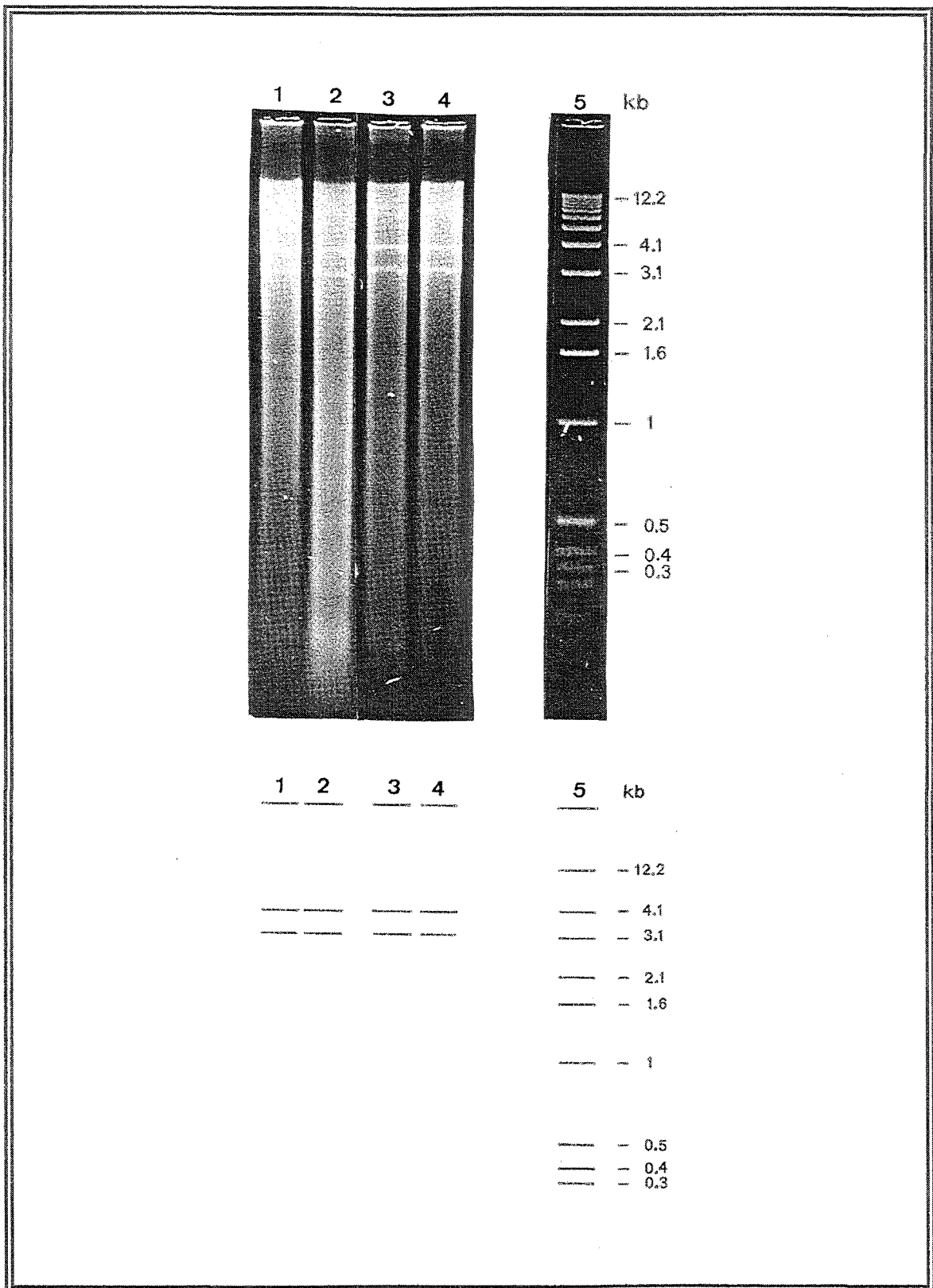


Figura 5.75. Patrón de bandas obtenido mediante digestión EcoR1 del total de ADN. (1) Ceba HSP1. (2) Ceba HSP2. (3) *H. bacteriophora* K, Aust, (4) *H. heliothidis*, USA. (5) Marcador de referencia.

**6.- APLICABILIDAD DE LOS NEMATODOS
ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE
PLAGAS DE INSECTOS.**

6.1. ANTECEDENTES

6.1.1. Introducción.

La creciente preocupación por el uso indiscriminado de insecticidas químicos inorgánicos, orgánicos o de síntesis en la lucha contra insectos de interés agrícola, forestal o médico-veterinario, debido principalmente a la aparición de razas de insectos resistentes, la acumulación de residuos tóxicos y en general la degradación del medio ambiente, ha impulsado la búsqueda de métodos alternativos para el control de estos insectos.

En este contexto se encuentra la utilización de los nematodos entomopatógenos como método de lucha biológico para el control de plagas de insectos. Estos nematodos presentan una combinación de características intermedias entre los depredadores y parásitos, y los patógenos de insectos. Por una parte poseen la capacidad de búsqueda del huésped de los depredadores y parásitos, pero además se pueden producir de forma masiva, almacenar y aplicar de forma semejante a los demás patógenos microbianos de insectos. Estas características, conjuntamente con la extrema virulencia para los insectos, el amplio rango de huéspedes y la seguridad para los mamíferos y en general para el resto de la fauna y flora, han suscitado un extraordinario interés por este método de control biológico. Este interés ha impulsado a varias empresas a desarrollar los nematodos steinernemátidos y heterorhabdítidos como insecticidas biológicos, y a su vez, esta disponibilidad comercial de los nematodos entomopatógenos ha creado inmensas oportunidades para ensayar su eficacia contra una amplia variedad de insectos que pueden constituir plagas.

Existen numerosos trabajos sobre la eficacia de estos nematodos contra diversas plagas, cuyos resultados están recogidos en Poinar (1986), Begley (1990), Klein (1990), y Georgis y Hague (1991). Todos los trabajos coinciden que las mayores eficacias se obtienen contra insectos que se encuentran en hábitats crípticos y en el suelo, mientras que en aplicaciones foliáceas y en otros hábitats extremos se reduce mucho su eficacia. En este capítulo examinaremos los estudios recientes sobre la eficacia de los nematodos entomopatógenos, en ensayos de campo, contra algunos insectos de diversos hábitats.

6.1.2. Eficacia de los nematodos contra insectos del suelo.

El suelo es el medio natural de los nematodos entomopatógenos y, debido a que más del 90% de las plagas de insectos pasan alguna parte de su ciclo biológico en contacto con el suelo, este medio ofrece unas condiciones excelentes para las interacciones insecto-nematodo (Klein, 1990).

Históricamente el desarrollo de los nematodos entomopatógenos como insecticidas biológicos ha estado relacionado con la necesidad de buscar un método eficaz en el control de larvas de escarabeidos que se desarrollan en el suelo, causando graves problemas en el césped, pastos, caña de azúcar y bosques. Ya en la década de 1930 comenzaron los primeros programas de utilización a gran escala de estos nematodos contra el escarabeido *Popillia japonica* (Glaser, 1932, y Glaser y Farrell, 1935), sin embargo, el desconocimiento de la biología de los nematodos y su relación con la bacteria simbiote, impidieron que los ensayos en la lucha contra esta plaga fueran exitosos. En la actualidad, con un mayor conocimiento del complejo nematodo-bacteria, se han obtenido mejores resultados (Klein, 1993). Los trabajos realizados en el campo muestran que *Steinernema glaseri* y *Heterorhabditis bacteriophora* pueden obtener niveles aceptables de control de *P. japonica* (Wright et al. 1988, Villani y Wrigh 1988, Klein 1990, Klein y Georgis 1992, Alm et al. 1992, Selvan et al, 1993), mientras que otras especies como *Steinernema carpocapsae* son menos efectivas (Georgis y Gaugler, 1991). Sin embargo, la eficacia de cada especie de nematodo puede variar según los países (Klein, 1990). Esta variabilidad en la eficacia puede ser debida a diversas causas: a la utilización de diferentes cepas, a los parámetros ambientales que existen en cada país, a las técnicas de aplicación, a la susceptibilidad de la especie de insecto, o a la metodología empleada en la cría y almacenaje de los nematodos.

Posteriormente otros muchos coleópteros han sido el objetivo de la utilización de nematodos entomopatógenos, entre los que destacan los curculiónidos (Coleoptera; Curculionidae). Muchos curculiónidos se desarrollan en el suelo y provocan daños en prados, césped, y numerosos cultivos agrícolas y hortícolas, al alimentarse de las raíces de los vegetales (Domínguez, 1989). Estos insectos en ocasiones son muy difíciles de controlar con insecticidas químicos, pero son muy susceptibles

a los nematodos entomopatógenos (Klein, 1990), por ello han sido considerados como uno de los primeros candidatos para la utilización de nematodos entomopatógenos para su control biológico.

Excelentes resultados se han obtenido contra las larvas del otiorrinco de la vid, *Otiorrhynchus sulcatus*. Simons (1981) obtuvo entre 90-97% de mortalidad de las larvas de este insecto, con la aplicación de *Heterorhabditis* sp. en cultivo de fresa en invernadero, evitando totalmente los daños sobre el cultivo. Bedding y Miller (1981b), obtuvieron buenos resultados con el nematodo *Heterorhabditis heliothidis* en plantas de tejo, frambuesa y viña plantadas en maceta con un 100% de mortalidad de las larvas de *O. sulcatus*, y un 87% en plantas de ciclamen y fresas. Datos posteriores sobre los efectos beneficiosos de diferentes nematodos en el control de *O. sulcatus*, fueron publicados por Georgis y Poinar (1984).

Aunque en general los nematodos steinernemátidos están considerados menos eficaces que los heterorhabdítidos en el control de *O. sulcatus* (Bedding y Miller, 1981b, y Rutherford et al, 1987), Georgis y Poinar (1984) determinaron que ambos géneros son igualmente efectivos en el control de las larvas de este insecto. En este sentido, recientes trabajos (Mracek et al. 1993 y Kakouli et al. 1993) muestran que una cepa de *S. feltiae* aislada en la República Checa y una cepa aislada en U.K. de *S. carpocapsae* (Biosys 252) pueden provocar una mortalidad de las larvas de *O. sulcatus* del 88% y 90% respectivamente, lo que prueba, como hemos visto anteriormente, que diferencias en las cepas de los nematodos o en las influencias climáticas de la región donde se aplican, puede causar variaciones en la eficacia de cada especie de nematodo.

Los nematodos entomopatógenos han sido utilizados con éxito contra otros curculiónidos como *Diaprepes abbreviatus*, insecto que puede causar graves daños en los cultivos de cítricos en Florida. Los excelentes resultados obtenidos contra este insecto, pudiendo llegar a alcanzar el 100% de mortalidad en tratamientos de campo con *Steinernema carpocapsae* (Schroeder, 1987, 1990, 1992), hacen prever una utilización más generalizada contra otros curculiónidos que se desarrollan en el sistema radicular de frutales (Downing et al, 1991).

Estos nematodos también han sido ensayados con resultados prometedores contra el picudo de la platanera, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae), uno de los insectos más destructivo de la

platanera (Kermarrec y Mauleon 1989, Figueroa 1990, Treverrow et al. 1991, Schmitt et al. 1992, y Treverrow y Bedding 1993).

La utilización de nematodos entomopatógenos contra otros insectos que se desarrollan en el suelo, han dado resultados variables.

Ensayos contra *Scapteriscus* sp. (Orthoptera; Gryllotalpidae), cuyos resultados han sido recogidos en un trabajo de Georgis y Poinar (1989), arrojan una susceptibilidad a la infección por *Steinernema carpocapsae* del 62%. Recientes estudios de Parkman y Frank (1993) proponen una nueva y prometedora metodología inoculativa para la aplicación del nematodo *Steinernema scapterisci* mediante la infección de los adultos de este insecto que son atraídos por una trampa sonora que imita su canto, y la posterior liberación de los insectos parasitados que actuarán como agentes de distribución de los nematodos.

Los estudios sobre la utilización de nematodos entomopatógenos contra termitas y hormigas son más dispares. Poinar y Georgis (1989) determinaron que la utilización de *Steinernema carpocapsae* contra termitas (*Reticulitermes* spp.) puede llegar a obtener un éxito del 80-87%. Epsky y Capinera (1988) por contra determinaron que se necesitaba un elevadísimo número de nematodos para matar a las termitas ($LD_{50}=1,5 \times 10^4$ nematodos/termita), y que éstas evitaban áreas con gran número de nematodos. Wu et al (1991) observaron como las termitas, *Coptotermes formosanus* y *Reticulitermes speratus*, pueden detectar a los nematodos y evitar su ataque extendiendo sus túneles fuera del nido. Fujii (1975) comprobó como las termitas, *Coptotermes formosanus*, que habían sido parasitadas por nematodos eran separadas de la colonia por las termitas sanas, impidiendo así la infección del resto de la colonia. Todos estos factores hacen que los nematodos no sean una alternativa viable para el control de termitas (Mauldin y Beal, 1989).

La utilización de nematodos en el control de hormigas también arroja unos resultados variables. Poole (1976) determinó mortalidades en los montículos de los hormigueros de *Solenopsis invicta* de 35-45% con tratamientos de *Neoaplectana dutkyi* (= *Steinernema carpocapsae*),

mientras que Quattlebaum (1980) determina mortalidades del 88,2-96,8% con la cepa DD-136 de *Steinernema carpocapsae* y un 75-86,3% usando *Heterorhabditis heliothidis*. Sin embargo, la tendencia de las colonias de formar nuevos hormigueros lejos del agente antagonista, hace que la aplicación de los nematodos no tenga la efectividad que cabría esperar (Jouvenaz et al. 1990).

Los nematodos entomopatógenos también pueden jugar un papel importante en el control biológico de plagas de insectos que únicamente entran en contacto con el suelo durante un breve periodo de su ciclo biológico.

Las pruebas de campo de utilización de *S. carpocapsae* contra larvas de la mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata*, dan un 85% de mortalidad en aplicaciones de los nematodos en el suelo (Lindegren, 1990).

En ensayos de campo contra el escarabajo de la patata, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), las aplicaciones de *H. heliothidis* y *S. feltiae* en el suelo provocan un 60-80% de reducción de las poblaciones de este insecto (Wright et al. 1987).

Sobre los lepidópteros que pasan algún estadio de su vida en el suelo, Lossbroek y Theunissen (1985) observaron una reducción significativa de la población de larvas de *Agrotis segetum* en un cultivo de lechuga, mediante una aplicación de suelo de *Neoplectana bibionis* (= *Steinernema feltiae*), comparable a la reducción provocada por la aplicación de un insecticida químico (endosulfan). Resultados similares han sido obtenidos por Levine y Oloumi-Sadeghi (1992), quienes observaron una eficacia del nematodo *S. carpocapsae* similar a la obtenida por varios insecticidas habitualmente utilizados para el control de *Agrotis ipsilon* (fonofós, teflutrín y clorpirifós).

Kaya y Hara (1981) determinaron el parasitismo de los nematodos entomopatógenos sobre pupas de varias especies de lepidópteros. Aunque la mayor parte de las especies ensayadas fueron parasitadas en algún grado, la mayor eficacia se obtuvo en aquellas especies que pupan en la superficie del suelo. Entre los lepidópteros que pupan enterrados en el

suelo, *Spodoptera exigua* fue la especie más susceptible con un 63% de mortalidad. Raulston et al (1992) también observaron en el campo una reducción natural del 50% de las pupas de *Heliothis zea* y *Spodoptera frugiperda* (Lep. Noctuidae) parasitadas por una cepa de *Steinernema* sp.

Kondo e Ishibashi (1986a) observaron en el caso de *Spodoptera litura* que aunque las pupas enterradas en el suelo pueden escapar a la infección del nematodo, los adultos que emergen de los suelos inoculados por nematodos son parasitados, ya que éstos son más sensibles a la infección que las larvas (Kondo e Ishibashi, 1986b).

6.1.3. Eficacia de los nematodos contra insectos de hábitats crípticos.

Los mejores resultados en la utilización de nematodos entomopatógenos en la lucha contra plagas de insectos se han registrado, como vimos anteriormente, sobre insectos que se encuentran en el suelo, pero también se han obtenido excelentes resultados sobre aquellos insectos que se encuentran en hábitats crípticos (grietas, galerías o túneles en el interior del vegetal). Estos hábitats, que generalmente presentan un elevado grado de humedad, son un excelente refugio para que los nematodos puedan defenderse de las extremas condiciones ambientales (temperatura, radiación solar, desecación, etc.) que limitan su persistencia y eficacia en otros medios. La aplicación de los nematodos en estos hábitats les permite desarrollar su capacidad de búsqueda del huésped a través de los túneles o galerías en el interior del vegetal, capacidad ésta que no pueden desarrollar los insecticidas químicos convencionales, los cuales se muestran ineficaces en la lucha contra los insectos que se desarrollan en estos hábitats.

Entre los **lepidópteros** que se desarrollan en hábitats crípticos, destacan por su importancia los taladros de la madera de la familia Cossidae. Deseo (1982), Deseo et al (1984a,b), Forchi y Deseo (1983), observaron como la aplicación del nematodo *Steinernema carpocapsae* sobre galerías que realizan estos taladros, provocaba hasta un 95% de mortalidad en el taladro de los frutales, *Zeuzera pyrina*, mientras que no alcanzaba el 40% sobre el taladro rojo, *Cossus cossus*. Lindegren et al. (1981), Lindegren y Barnett (1982) y Forschler y Nordin (1988), obtuvieron una mortalidad de 44-100% de larvas de *Prionoxystus robiniae* (Lep. Cossidae) mediante la aplicación de *S. carpocapsae* sobre las galerías que realiza este insecto en los troncos y ramas de las higueras. Quin et al. (1988) comprobaron como la aplicación de *S. carpocapsae* fue efectiva en el control del cócido *Holcocercus insularis* en China. Huaiwen et al (1993) comprobaron como los nematodos entomopatógenos pueden ser más eficaces y económicos que la aplicación de los insecticidas químicos convencionales (diclorvós y organofosforados) en la lucha contra los cócidos *Zeuzera multistrigata* y *Holcocercus insularis* en China.

Los sésidos, son otro grupo de lepidópteros que se encuentran debajo de la corteza o entre las grietas de los troncos y que presentan un

serio problema en el cultivo de árboles frutales. Bedding y Miller (1981a), Miller y Bedding (1982), Deseo y Miller (1985) observaron como la aplicación de *Steinernema bibionis* (= *S. feltiae*) y *S. carpocapsae* contra diversas especies de sésidos del género *Synanthedon* spp. alcanzaban hasta un 95% de mortalidad de las larvas de este insecto. Por lo que la utilización en el campo de nematodos del género *Steinernema*, en la lucha contra *Synanthedon* spp. es un sistema de lucha a considerar para su uso en los programas de lucha biológica y/o integrada contra esta especie (Nachtigall, 1991).

Existen otros lepidópteros que se desarrollan en hábitats crípticos contra los cuales se han utilizado los nematodos entomopatógenos con un mayor o menor éxito. Lindegren et al. (1978, 1987) observaron como la "barreneta" del naranjo, *Amyelois transitella*, que ocasiona graves daños en el cultivo del almendro al perforar sus frutos y alimentarse en su interior, era parasitada en un 100% después del tratamiento con *S. carpocapsae*. También el tortricido *Cydia pomonella*, que puede causar graves daños en manzanos y perales puede ser reducido en un 23-73% con una aplicación de *S. carpocapsae* en el momento de la pupación en el tronco (Kaya et al. 1984).

Dentro de los pirálidos, también existen representantes barrenadores sobre los cuales se han ensayado los nematodos entomopatógenos. Mediante la aplicación de *Heterorhabditis* sp. y *Steinernema* sp., Spaul (1988, 1990, 1991) obtuvo una reducción del 40-56% de larvas del pirálido *Eldana saccharina*, importante taladro de los cultivos de caña de azúcar en Sudáfrica. Ring y Browning (1990) observaron como los nematodos *S. carpocapsae* y *S. feltiae* son potencialmente un buen agente para el control biológico del taladro mejicano del arroz, *Eoreuma loftini*, que causa graves daños en la caña de azúcar en Texas.

Las aplicaciones de campo del nematodo *S. carpocapsae* mostraron ser eficaces contra las larvas del taladro de la alcachofa, *Platyptilia carduidactyla* (Lep. Pterophoridae), siendo su eficacia mayor a la obtenida por el pesticida químico (metidation) utilizado habitualmente contra esta plaga (Bari y Kaya, 1984).

Existen muchas plagas de **coleópteros** que se desarrollan en hábitats crípticos como galerías en el interior de troncos o ramas de los árboles. Entre ellos cabe destacar por la importancia de sus daños el grupo de los escolítidos y el de los cerambícidos.

Los escolítidos son susceptibles a los nematodos entomopatógenos, y varios trabajos han demostrado que al aplicar steinernemátidos o heterorhabdítidos sobre troncos parasitados por escolítidos, los nematodos pueden penetrar por las galerías y parasitar larvas y adultos (Moore 1970, Finney y Mordue 1976, Finney y Walker 1977, 1979, MacVean y Brewer 1981, Poinar y Deschamps 1981). Sin embargo, los nematodos entomopatógenos no parecen ser un método prometedor para la lucha contra los escolítidos (Begley 1990). Estos insectos generalmente infestan árboles forestales muertos o enfermos que tienen poco valor económico, y cuando son atacados árboles de gran valor, un ataque masivo de escolítidos requiere un control rápido para evitar la muerte del árbol, control que no pueden dar los nematodos entomopatógenos.

Los nematodos entomopatógenos también han resultado ser eficaces en el control de ciertos cerambícidos como *Monochamus alternatus* (Mamiya, 1987) con un 50-80% de mortalidad de larvas y adultos en el interior del tronco de los pinos. Sin embargo, en el caso de *Migdolus* spp. (Col. Cerambycidae) en caña de azúcar, los bajos índices de infección, menores al 9,2%, hacen inviable su utilización contra este insecto (Arrigoni et al. 1986).

Dentro de los **dípteros** que se encuentran en hábitats crípticos, tienen una gran importancia el grupo de las minadoras y más concretamente *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae). La larva de estos insectos se alimentan en el interior del tejido de la hoja realizando las conocidas minas, donde se encuentran protegidas de la mayor parte de los productos insecticidas.

Aunque Parrella et al. (1982) opinan que la utilización de nematodos entomopatógenos contra *Liriomyza trifolii* debe ir encaminada a tratamientos de suelo para lograr parasitar las larvas que caen al suelo antes de la pupación y los adultos que emergen de las pupas enterradas. Harris et al. (1990) y LeBeck et al. (1993) han observado que si bien el nematodo *S. carpocapsae*, no puede penetrar en el interior de las minas

de *L. trifolii* a través del tejido de la hoja, si que pueden penetrar a través del orificio realizado por la hembra durante la oviposición o bien por alguna rotura accidental de la superficie de la hoja. En este sentido, Harris et al. (1990) obtuvieron una mortalidad del 64,2% en aplicaciones de *Steinernema carpocapsae* sobre hojas de crisantemo infectadas por *L. trifolii*, siendo el nivel de control equivalente al obtenido por la aplicación del insecticida abamectin, insecticida que ha mostrado ser muy efectivo contra este minador (Parrera, 1983).

6.1.4. Eficacia contra insectos en la superficie de las hojas.

El principal factor que afecta las bajas eficacias obtenidas en las aplicaciones de campo contra insectos que se encuentran en la superficie de las hojas, es la persistencia de los nematodos en este medio. La superficie de las hojas frecuentemente expone a los nematodos a unas condiciones de humedad inadecuadas que provocan su rápida desecación y muerte (Kaya, 1986, y Kamionek et al 1974). Igualmente las altas temperaturas (Kamionek et al 1974) y la radiación solar (Gaugler y Boush 1978) producen la muerte de los nematodos expuestos en la superficie de las hojas, por lo que en muchas ocasiones la aplicación foliácea de los nematodos, no produce una reducción de la población de las plagas a un nivel económicamente aceptable (Jaques, 1967, Kaya et al. 1981). La adición de antidesecantes y protectores de radiación ultravioleta en la formulación de los nematodos (Glazer, 1991, y Glazer et al. 1992)) puede incrementar la eficacia de estos nematodos aumentando su persistencia en el medio. MacVean et al. (1982) observaron como la adición de antidesecantes a la suspensión de nematodos aumentaba la mortalidad de las larvas del escarabajo de la patata, *Leptinotarsa decemlineata*, que se alimentaban en las hojas, pasando de un 10% sin agentes antidesecantes a un 30-60% con su adición, sin embargo el incremento de mortalidad no fue suficiente para alcanzar un nivel de control económicamente aceptable. A pesar de estos inconvenientes se han registrado algunos éxitos en aplicaciones de nematodos en condiciones de elevada humedad sobre insectos que se encontraban en la superficie de las hojas. Yamanaka et al. (1986) obtuvieron entre 43-100% de mortalidad del lepidóptero *Hyphantria cunea* con aplicaciones de *S. carpocapsae* (Mexican strain) sobre hojas. Wang y Li (1987) obtuvieron una mortalidad superior al 80% de larvas del lepidóptero *Mythimna separata* cuando se mantenía húmedas las hojas durante 24 h., y una reducción del 100% de *Pieris rapae* si existía humedad en las hojas 15 horas después de la aplicación de los nematodos. Sin embargo, la eficacia de los nematodos en estas condiciones, tan expuestas a las fluctuaciones ambientales, suele provocar resultados muy variables y casi siempre imprevisibles.

6.1.5. Eficacia contra insectos que se desarrollan en otros hábitats.

Existen otros hábitats diferentes a los referenciados anteriormente donde también se desarrollan insectos que pueden llegar a constituir plagas y contra los cuales también se han utilizado los nematodos entomopatógenos para su control. Principalmente nos centraremos en dos de estos hábitats: **el estiércol** y **el medio acuático**.

Diversos dípteros que causan problemas sanitarios se desarrollan en el **estiércol**. Como muchos de estos insectos han creado resistencias a los insecticidas químicos, los nematodos entomopatógenos han sido considerados como posibles agentes de control biológico. A este hecho hay que añadir que el estiércol ofrece unos factores ambientales en principio favorables para la presencia de nematodos (elevada humedad y temperatura, protección de la radiación ultravioleta). Del mismo modo las pruebas realizadas en el laboratorio sobre la susceptibilidad de estos dípteros a los nematodos arrojaban unos resultados prometedores para su utilización contra estas plagas (Renn et al. 1985, 1986, y Mullens et al. 1987a). Sin embargo en las pruebas de campo realizadas en presencia de estiércol los resultados son decepcionantes, existiendo una total ineficacia de los nematodos en este hábitat (Mullens et al. 1987b). Estos resultados son atribuibles a la baja supervivencia de los nematodos en el estiércol, probablemente por diversos factores entre los que destacan la elevada concentración de amonio y diversas sales que son tóxicas para los nematodos (Mullens et al. 1987b), la posible depredación de ácaros depredadores (Wicht y Rodriguez, 1970), o las temperaturas máximas que se registran en el estiércol que podría inactivar a los nematodos.

Mejores resultados se han obtenido en el control de los adultos de estos dípteros mediante cebos-trampa con nematodos entomopatógenos. Geden et al. (1986) obtuvieron una mortalidad del 53-67% de adultos de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) mediante la aplicación de *S. feltiae* en cebos alimenticios (5% sacarosa). La utilización de feromonas sexuales en los cebos-trampa aumenta la eficacia de este tipo de control, alcanzando unos porcentajes de mortalidad de adultos de *M. domestica* del 81-100% (Renn, 1990).

Un hábitat similar al descrito anteriormente, en cuanto a las condiciones ambientales favorables para la presencia de nematodos (cámaras oscuras con elevada humedad y temperatura), es el que existe en la producción de los champiñones. Las mayores plagas en este cultivo son debidas a dípteros (fóridos, esciáridos y cecidómidos) que han resultado ser susceptibles a los nematodos steinernemátidos y heterorhabdítidos (Richardson, 1987). En ensayos de campo con una cepa de U.K. de *S. feltiae*, se ha comprobado que la incorporación de los nematodos en el sustrato de cría de los champiñones (mezcla de turba y creta) no sólo controlaba el esciárido, *Lycoriella auripila*, sino que también producía un inesperado aumento de la producción de champiñones (Richardson y Grewal, 1991, Grewal et al. 1992, Grewal y Richardson, 1993).

Finalmente el **medio acuático** parecería ofrecer un ambiente excelente para la supervivencia de los nematodos, y por lo tanto, ser un buen agente biológico de control de las plagas de insectos de este hábitat. Ensayos de laboratorio han demostrado la gran susceptibilidad de las larvas de diversas especies de simúlidos con un 75-100% de mortalidad de los últimos estadios en *Simulium* spp. (Molloy et al. 1980, y Gaugler y Molloy, 1981a) y algunos ensayos han determinado la susceptibilidad de las larvas de diversas especies de mosquitos culícidos (*Culex pipiens* y *Aedes aegypti*) tanto a nematodos steinernemátidos como a heterorhabdítidos (Poinar y Kaul, 1982, y Molta y Hominick, 1989). Sin embargo, los nematodos entomopatógenos son organismos del suelo por lo que no están adaptados a moverse en el hábitat acuático (Begley, 1990). Por este motivo y salvo escasas excepciones, estos nematodos no han resultado eficaces contra insectos que se desarrollan en este medio (Finney y Harding, 1981, Gaugler y Molloy, 1981b, y Gaugler et al 1983).

6.2. ENSAYOS REALIZADOS PARA LA UTILIZACIÓN DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE ALGUNOS INSECTOS QUE OCASIONAN PLAGAS.

Como se ha visto en el apartado anterior, en la bibliografía existen numerosos ensayos que determinan la eficacia de los nematodos entomopatógenos contra diversas especies de insectos que pueden constituir plagas. En el presente apartado pretendemos completar esta relación con los ensayos que hemos realizado para la utilización de nematodos entomopatógenos contra cuatro insectos que ocasionan plagas en nuestros cultivos (*Zeuzera pyrina*, *Gortyna xanthenes*, *Acrolepiopsis assectella* y *Capnodis tenebrionis*).

Tres de estos insectos son lepidópteros que se desarrollan en el interior de las galerías que realizan en la planta huésped (*Zeuzera pyrina*, *Gortyna xanthenes* y *Acrolepiopsis assectella*), mientras que la cuarta especie, *Capnodis tenebrionis*, es un coleóptero que sus larvas neonatas se encuentran en el suelo, y los demás estadios se desarrollan en un hábitat críptico en el interior del tronco de los frutales que parasita.

Si bien existen referencias bibliográficas sobre la susceptibilidad o la aplicación de nematodos entomopatógenos contra algunos de estos insectos (*Gortyna xanthenes* y *Acrolepiopsis assectella*), los trabajos de laboratorio existentes (Laumond, 1972, Laumond et al. 1979) son muy poco concretos, ya que no se especifican las concentraciones de nematodos utilizadas, y reflejan los resultados de forma no cuantitativa como "fuerte infección" o "mortalidad muy elevada".

Los ensayos existentes en la bibliografía sobre la utilización de nematodos contra *Zeuzera pyrina*, son mucho más exhaustivos, sin embargo con el presente trabajo pretendemos comparar estos resultados con la eficacia de nuestras cepas autóctonas de nematodos entomopatógenos sobre nuestras poblaciones de *Zeuzera pyrina*.

Sobre la susceptibilidad del coleóptero bupréstido, *Capnodis tenebrionis*, a los nematodos entomopatógenos, no existe en la bibliografía ningún ensayo de laboratorio ni de campo, por lo que los resultados de este trabajo pretenden ser los primeros datos sobre la utilización de los nematodos entomopatógenos en la lucha contra este insecto.

6.2.1. UTILIZACIÓN DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DEL TALADRO DE LA MADERA, *Zeuzera pyrina* L. (Lepidoptera: Cossidae).

1) Introducción

El taladro de la madera, *Zeuzera pyrina* L. es un lepidóptero de la familia Cossidae cuyas larvas se alimentan de la madera viva, perforando grandes galerías en diversas clases de árboles frutales (manzano, peral y avellano principalmente), forestales y ornamentales, produciendo la muerte de brotes, ramas e incluso del árbol entero (Domínguez, 1989; García del Pino. 1986).

El ciclo biológico de *Zeuzera pyrina* dura de 1 a 2 años. Las orugas pasan el invierno en el interior de sus galerías con poca actividad. En la primavera con el aumento de la temperatura se acelera su desarrollo, alcanzando de forma escalonada el estado de crisálida. Los adultos aparecen de mayo a septiembre. Después del acoplamiento, las hembras comienzan a poner los huevos en las antiguas galerías larvarias o debajo de la corteza. Las pequeñas orugas nacen al cabo de dos o tres semanas y se dirigen hacia los brotes más jóvenes del árbol donde inicial las perforaciones, normalmente en sentido ascendente, en las axilas de las hojas. A partir de esta primera penetración, las orugas emigran en varias ocasiones por el exterior del árbol, y penetran nuevamente en ramas más inferiores del árbol buscando madera cada vez más gruesa, para terminar excavando sus últimas galerías en ramas de formación o troncos.

Los daños producidos por este insecto son variables dependiendo de la edad de las orugas y la de la plantación. Los ataques iniciales de los brotes suelen presentar escasa importancia, limitándose al secado de algunas hojas de la parte terminal del brote situadas por encima del punto de penetración. Los ataques posteriores, cuando las larvas son mayores, localizados en ramas secundarias, primarias y tronco, debilitan la planta y pueden ocasionar la muerte de la madera afectada, e incluso del árbol entero.

Debido al hábitat críptico, en el interior de las galerías, que ocupan las larvas durante todo su desarrollo, la lucha contra este insecto con métodos químicos tradicionales es muy difícil. Esta lucha química se basa en mantener protegida la plantación con insecticidas durante todo el periodo de eclosión de los huevos, para combatir las orugas de primeros estadios antes de que penetren en el interior de las galerías. Una vez las orugas han penetrado, se suele recomendar la introducción de un alambre en las galerías detectadas por la presencia de excrementos, y la realización de tratamientos localizados (mediante la inyección en las galerías de productos de acción penetrante y dosis elevadas), que además de ser un método no totalmente efectivo y de elevada toxicidad para el aplicador, solamente es aplicable en casos de ataques iniciales y plantaciones pequeñas por la laboriosidad de su aplicación.

La dificultad en la lucha química tradicional contra este insecto ha hecho dirigir los esfuerzos hacia métodos biológicos alternativos. En este marco se encuentran los estudios realizados sobre la utilización de nematodos entomopatógenos contra *Zeuzera pyrina*.

2) Antecedentes

Como hemos visto en un apartado anterior, se han realizado diversos trabajos sobre la utilización de nematodos entomopatógenos en el control de plagas de lepidópteros que pasan la mayor parte de su vida en el interior del tronco de árboles, principalmente contra insectos pertenecientes a la familia Sesiidae (Bedding y Miller. 1981, Miller y Bedding. 1982, Deseo y Miller. 1985) y a la familia Cossidae.

Dentro de la familia Cossidae, los nematodos entomopatógenos se han utilizado con bastante éxito contra diversas especies: *Prionoxystus robiniae* (Lindegren et al. 1981, Lindegren y Barnett 1982, Forschler y Nordin. 1988), *Holcocercus insularis* (Qin et al. 1988, Huaiwen et al. 1993), *Zeuzera multistrigata* (Huaiwen et al. 1993), *Cossus cossus* (Deseo. 1982, Deseo y Flori. 1983) y principalmente contra *Zeuzera pyrina* (tabla 6.1)

Tabla 6.1. Ensayos de utilización de nematodos entomopatógenos contra *Zeuzera pyrina* L.

REFERENCIAS	NEMATODOS (1)	FORMA DE APLICACIÓN	DOSIS	RESULTADOS (% mortalidad)
Deseo, 1982	<i>S. feltiae</i>	Pulverización de la entrada de la galería	5.000-7.000 nem./entrada	85
Deseo et al. 1984a,b	<i>S. feltiae</i> (varias)	Con algodón en interior de las galerías	2.000 nem./galería	90-95
	<i>S. feltiae</i> "I95, I100"	Pulverización de todo el árbol	1-3.000.000 nem./árbol	64-88
	<i>S. feltiae</i> "I95"	Pulverización de todo el árbol tres veces	1-3.000.000 nem./árbol	74-95
	<i>S. bibionis</i> "T335"	Pulverización de todo el árbol	1-3.000.000 nem./árbol	61-76
	<i>S. bibionis</i> "T335"	Pulverización de todo el árbol tres veces	1-3.000.000 nem./árbol	87-91
Deseo y Docci, 1985	<i>Heterorhabditis</i> "HW"	Con algodón en interior de las galerías	2.000 nem./galería	47-81
Foschi y Deseo, 1983	<i>N. carpocapsae</i> "I"	Con algodón en interior de las galerías	2.000 nem./galería	90
	<i>Heterorhabditis</i> spp "H"	Con algodón en interior de las galerías	2.000 nem./galería	90
Tartaglia y Bartocci, 1984	<i>S. bibionis</i>	En interior de las galerías	± 10.000 nem./galería	70-90

(1) Sinonimias: *Steinernema carpocapsae* (sin. *Steinernema feltiae*, *Neoaplectana carpocapsae*).
Steinernema feltiae (sin. *Steinernema bibionis*)

Los alentadores resultados reflejados en la bibliografía nos animaron a realizar unas pruebas preliminares para evaluar la eficacia de una cepa de nematodo entomopatógeno aislada en nuestro país, contra el taladro de la madera, *Zeuzera pyrina*, de nuestros cultivos.

3) Material y Métodos

El nematodo entomopatógeno utilizado en estos ensayos, es a una cepa de *Steinernema feltiae* aislada en el suelo de un cultivo de viña en el término municipal de Vilafranca del Penedès (Barcelona). Dicho nematodo fue reproducido en el laboratorio sobre larvas del lepidóptero *Galleria mellonella* siguiendo la técnica de Dutky et al (1964). Las formas infectivas del nematodo se guardaron a una temperatura entre 7 y 10°C en disolución de 0,1% de formol hasta el momento de su utilización. La viabilidad de los nematodos después de su almacenamiento fue comprobada antes de su aplicación.

Para las pruebas de susceptibilidad en el laboratorio se utilizaron larvas de últimos estadios de *Zeuzera pyrina* criadas en el laboratorio mediante dieta artificial (García del Pino y De Haro. 1986).

Las cámaras utilizadas para la infección de las larvas, consistían en placas de Petri de 7 cm de diámetro con dos piezas de papel de filtro esterilizado donde se pipeteaba 1,5 ml de suspensión acuosa de nematodos. Todas las placas se guardaron en una cámara climatizada que mantenía una temperatura de $25 \pm 3^\circ\text{C}$, una humedad relativa del aire entre 60-70% y un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. A los cinco días de la aplicación de los nematodos se disecaban las larvas para comprobar la presencia de nematodos en su interior.

Los ensayos de campo se llevaron a cabo, durante el mes de noviembre, en una plantación comercial de manzanos situada en el término municipal de Sant Sadurní d'Anoia. Se eligieron 10 árboles con síntomas claros de estar atacados por *Z. pyrina* donde se realizaron las aplicaciones del nematodo. En ocho de los árboles se realizó una única aplicación mediante pulverización total del árbol con una concentración de 3,5 millones de nematodos y 1,75 litros de agua por árbol. En los dos árboles restantes se realizó una aplicación de nematodos en el interior de las galerías mediante algodones humedecidos con nematodos a una concentración aproximada de unos 2.000 nematodos por galería. A los 20 días de la aplicación se analizaron los árboles tratados determinando el número de larvas vivas y muertas encontradas.

4) Resultados y Discusión

Los ensayos de laboratorio realizados en placas de Petri nos dan un 100% de mortalidad lo que nos confirma la gran susceptibilidad de las larvas de *Z. pyrina* al nematodo *S. feltiae*. Este hecho era presumible dado el elevado grado de mortalidad de las larvas de *Z. pyrina* observado con esta misma especie de nematodo en las pruebas de campo realizadas en Italia (tabla 6.1).

En las pruebas de campo, con la aplicación de los nematodos en el interior de las galerías mediante algodón, hemos obtenido un 100 % de mortalidad de las larvas de *Z. pyrina* (tabla 6.2), siendo estos resultados superiores a los obtenidos por Deseo et al. (1984b) y Tartaglia y Bartocci (1984) en Italia (70-90 % de mortalidad).

Tabla 6.2. Resultados de las aplicaciones de campo de nematodos entomopatógenos contra *Zeuzera pyrina* L.

MÉTODO DE APLICACIÓN	Nº ARBOLES TRATADOS	DOSIS	Nº LARVAS/ÁRBOL (Min-Max)	% MORTALIDAD (Min-Max)
Algodón en el interior de la galería	2	2.000 nem./galería	6,5 ± 4,9 (3-10)	100
Pulverización total del árbol	8	3,5 mill. nem./árbol	17,6 ± 11,3 (5-39)	19,5 ± 13,7 (0-46,2)

Los ensayos de campo con la aplicación de los nematodos mediante una única pulverización total del árbol nos arrojan unos resultados menos prometedores. La mortalidad media obtenida en estas pruebas alcanza únicamente el 19,5 %, siendo además una infectabilidad muy poco homogénea, ya que el porcentaje de mortalidad encontrado puede variar del 0 al 46 %. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Deseo et al (1984b) con un porcentaje de mortalidad entre el 61- 76% con una metodología de aplicación similar. Deseo y Docci (1985) señalaron que la eficacia de una aplicación mediante pulverización global del árbol, está

muy influenciada tanto por el momento de aplicación del tratamiento (condiciones meteorológicas, estado fenológico del árbol, etc.) como por el índice de parasitismo que presente el árbol. Estos autores comprobaron como árboles con un índice de infestación menor de 5 larvas por árbol podía ser controlado por los nematodos, sin embargo si el índice de infestación era mayor de 5 larvas de *Zeuzera* por árbol, como ocurre en nuestro caso, la tasa de parasitismo de los nematodos no era suficiente para controlar la plaga.

A la vista de estos resultados creemos necesario profundizar más en este estudio, ensayando diversas cepas y especies de nematodos, así como diferentes momentos y metodologías de aplicación para determinar el sistema más eficaz para la lucha contra este insecto.

La introducción de los nematodos en el interior de las galerías mediante un algodón es un método laborioso, y en ocasiones es muy difícil encontrar las pequeñas galerías de los primeros estadios. Sin embargo, dada su elevada eficacia, creemos que este sistema es una alternativa a la introducción de alambres o insecticidas de elevada toxicidad en el interior de las galerías. Huaiwen et al. (1993) afirman que la introducción de estos nematodos en el interior de las galerías contra dos especies de cósidos (*Zeuzera multistrigata* y *Holococerus insularis*) es un método más eficaz y económico, por ser menos laborioso, que la utilización de insecticidas químicos convencionales (diclorvós y organofosforados).

Para finalizar consideramos que el uso de nematodos entomopatógenos en la lucha contra *Zeuzera pyrina*, aunque no está enteramente resuelto, puede ser un método de lucha biológica importante para su introducción, como un componente más, dentro de los programas de lucha integrada en peral o manzano, donde en muchas ocasiones la aparición de este insecto obliga a tomar medidas que se salen de la utilización racional de pesticidas propugnada por la lucha integral.

6.2.2. UTILIZACIÓN DE LOS NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DEL TALADRO DE LA ALCACHOFA, *Gortyna xanthenes* (Germar.) (Lepidoptera: Noctuidae).

1) Introducción

Gortyna (Hydroecia) xanthenes (Germar), es un lepidóptero noctúido que causa graves daños a las plantaciones de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) del Bajo Llobregat y Bajo Ebro (Isart, 1970). Los adultos aparecen de agosto a septiembre; a principios de otoño las hembras depositan los huevos en el cuello de las plantas de la alcachofa. Las larvas neonatas comienzan su alimentación en las hojas superiores de la planta, y penetran rápidamente por la nervadura principal hasta alcanzar la médula del tallo, donde realizan una gran galería que debilita la planta (Bonnemaison, 1976). Cuando la larva alcanza un mayor tamaño, tiende a descender por el interior de la galería hasta la parte inferior de la planta donde continúa su alimentación hasta el momento de crisalidar. Es por este motivo que los daños que ocasionan estos insectos presentan una mayor importancia en las plantaciones bianuales donde después de la cosecha de los capítulos se corta la planta para su rebrote, quedando las orugas en la parte inferior de la misma (Domínguez, 1989).

Dada la importancia económica de los daños que provoca este insecto y las dificultades que presenta su lucha con insecticidas químicos tradicionales (debido al hábitat inaccesible que ocupa), es preciso buscar métodos alternativos de lucha, entre los que se encuentran los nematodos entomopatógenos.

Laumond et al (1979) determinaron que las larvas de *Gortyna xanthenes* eran susceptibles de ser parasitadas en condiciones de laboratorio por el nematodo *Steinernema carpocapsae*.

En este estudio evaluaremos la potencialidad de los nematodos entomopatógenos como agentes de control biológico de *G.xanthenes*. Concretamente determinaremos la virulencia de estos nematodos en el laboratorio y la eficacia en el control de las larvas que se encuentran en el interior de la planta de alcachofa.

2) Material y Métodos

A.- Estudios de laboratorio.

La cepa D136 del nematodo *Steinernema carpocapsae*, fue facilitada por el Dr. G.O.Poinar de la Universidad de California, Berkeley, y reproducida en el laboratorio sobre larvas del lepidóptero *Galleria mellonella* siguiendo la técnica de Dutky et al (1964). Las formas infectivas del nematodo se guardaron a una temperatura entre 7 y 10°C en disolución de 0,1% de formol hasta el momento de su utilización. La viabilidad de los nematodos después de su almacenamiento fue comprobada antes de su aplicación.

Las larvas de *G.xanthenes* utilizadas en estas pruebas de laboratorio fueron recogidas en un campo de alcachofas del Prat de Llobregat. Cada larva fue pesada e inmediatamente colocadas de forma individual en las cámaras de infección para ser sometidas a la prueba de susceptibilidad.

Las cámaras de infección consistían en placas de Petri de 7 cm de diámetro con dos piezas de papel de filtro esterilizado donde se pipeteaba 1,5 ml de suspensión acuosa de nematodos a diferentes concentraciones: 10, 20, 50, 100, 250, 500 y 1000 nematodos. Cada serie de concentración contaba con cinco réplicas, al igual que la serie testigo, que sólo contenía 1,5 ml de disolución acuosa de formol al 0,1%. Las dos primeras dosis (10 y 20 nematodos por placa), se obtuvieron por cómputo individual de los nematodos, mientras que las demás concentraciones fueron obtenidas por métodos volumétricos (cámara de Mac Master).

Todas las placas se colocaron en una cámara climatizada que mantenía una temperatura de $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$, una humedad relativa del aire entre 60-70% y un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

A los cinco días de su muerte, las orugas fueron transferidas a una placa de extracción de nematodos donde se producía la salida de las formas infectivas, las cuales eran recogidas diariamente y guardadas para su cómputo final. El cálculo del número total de formas infectivas emergidas, se realizó mediante métodos volumétricos (mediante la cámara de Mac Master).

Para evaluar la susceptibilidad de las larvas de *G.xanthenes* a las diferentes concentraciones de nematodos se consideraron los siguiente parámetros:

- a) Mortalidad de las larvas.
- b) Tiempo transcurrido hasta la muerte de la larva.
- c) Tiempo transcurrido hasta la salida de las primeras formas infectivas.
- d) Número de formas infectivas producidas.

B.- Estudios de campo.

Los ensayos de campo realizados se centraron en evaluar la utilización de los nematodos entomopatógenos para combatir las orugas que quedan en el interior del tallo en la parte inferior de la planta después de la cosecha de los capítulos.

Como hemos comentado anteriormente es frecuente que en los cultivos bianuales de alcachofa, después de la cosecha, se corte la planta a pocos centímetros del suelo para su posterior rebrote, continuando la planta en producción al año siguiente. En el interior de estos tallos se encuentran, en su parte inferior, las larvas de últimos estadios que crisalidarán y darán lugar a la generación de adultos.

El nematodo entomopatógeno utilizado para la realización de este ensayo de campo corresponde a una cepa de *Steinernema feltiae* aislada en el suelo de un cultivo de viña en el término municipal de Vilafranca del Penedès (Barcelona). Dicho nematodo fue reproducido en el laboratorio sobre larvas del lepidóptero *Galleria mellonella* siguiendo la técnica de Dutky et al (1964). Las formas infectivas del nematodo se guardaron a una temperatura entre 7 y 10°C en disolución de 0,1% de formol hasta el momento de su utilización. La viabilidad de los nematodos después de su almacenamiento fue comprobada antes de su aplicación.

La realización de este ensayo se llevó a cabo en cuatro parcelas experimentales de 2m², en cada una de las cuales se transplantaron 10 plantas de alcachofa cortadas para su rebrote. En cada planta trasplantada fueron detectados al menos tres tallos perforados por *G.xanthenes*, en el interior de los cuales presumiblemente se encontraban las larvas del taladro.

Previamente a la aplicación de los nematodos en las parcelas, se muestreó el suelo para comprobar la ausencia de nematodos entomopatógenos en las mismas.

En cada parcela se ensayó una concentración diferente de nematodos: 50.000, 200.000 y 400.000 nematodos en 50 ml de agua por planta con un 0,05% de humectante "Bayer" para mejorar el recubrimiento y evitar la rápida desecación de los nematodos. Una de las parcelas fue tratada únicamente con agua y agente humectante, siendo utilizada como la parcela testigo del ensayo.

La aplicación de los nematodos se realizó mediante una pulverización total de la planta con un atomizador manual de mochila. Los tratamientos se realizaron a principios de junio a la puesta del sol para evitar los efectos perjudiciales de la radiación solar.

A los siete días de la aplicación se procedió a desenterrar y analizar cinco plantas de cada parcela para determinar la presencia de larvas vivas o parasitadas. Diecisiete días después del tratamiento se revisaron las restantes cinco plantas de cada parcela.

En ambas revisiones se realizaron sondeos del suelo de cada parcela para determinar la supervivencia de los nematodos entomopatógenos aplicados. Los sondeos consistían en la extracción de una muestra de tierra de 2,5 cm de diámetro y 40 cm de profundidad, que era analizada por fragmentos de 5 cm para detectar, mediante el método de "trampa de *Galleria*", la presencia de nematodos entomopatógenos a diferentes profundidades.

C.- Análisis estadísticos.

Las diferencias entre las medias de los parámetros estudiados en los estudios de laboratorio para cada concentración de nematodos ensayada se contrastó con un Análisis de la Varianza (ONEWAY. SPSS-PC) y sus medias fueron separadas por el test de rango múltiple de Duncan.

Las diferencias entre el porcentaje de parasitismo en función de la dosis de nematodos utilizada en los ensayos de campo fueron analizadas mediante la prueba X^2 (CROSSTABS, SPSS-PC).

3) Resultados

A.- Estudios de laboratorio.

- **Mortalidad de las larvas.**

Todas la concentraciones de nematodos ensayadas, incluso las más pequeñas (10 nematodos por placa), producen un 100% de mortalidad de las larvas de *G.xanthenes* (Tabla 6.3). Sin embargo, todas las larvas del testigo permanecieron vivas durante varias semanas.

- **Tiempo transcurrido hasta la muerte de la larva.**

La muerte de las larvas de *G.xanthenes* sometidas al parasitismo con nematodos se produce entre 42 y 65 horas después de ser colocadas en la cámara de infección. Hay que tener en cuenta que en este período se incluye tanto el tiempo que tardan los nematodos en encontrar al insecto e introducirse en su interior, como el periodo de tiempo que transcurre desde que entran los nematodos hasta que se produce la muerte de la larva. No se han encontrado diferencias significativas (Análisis de la varianza $p > 0,05$) en el tiempo que tardan en morir las larvas en función de la dosis de infección (fig. 6.1).

- **Tiempo transcurrido hasta la salida de las primeras formas infectivas.**

Hemos comprobado que se ha producido la salida de formas infectivas a todos los niveles de infección, lo que nos demuestra que las larvas de *G.xanthenes* son un buen hospedador para la reproducción y el desarrollo *S.carpocapsae*.

El período de tiempo medio que transcurre desde la colocación de las larvas en la cámara de infección hasta la salida de las formas infectivas oscila entre 7 y 12 días (Tabla 6.3). Este período difiere significativamente (Análisis de la varianza, $p < 0,01$) entre las diferentes dosis de infección, siendo menor cuanto mayor es el número de nematodos inoculados (fig. 6.2).

Tabla 6.3. Evaluación de la susceptibilidad de las larvas de *Gortyna* a diferentes concentraciones del nematodo.

DOSIS Nem./larva	DOSIS Nem./cm ²	% MORTALIDAD	HORAS MUERTE	DIAS SALIDA(1)	Nº NEMAT. /LARVA(1)	Nº NEMAT./PESO LARVA (1 gr)(1)
CONTROL	0.00	0	-	-	-	-
10	0.26	100	65.6 ± 33.4	12.4 ± 1.9	300804 ± 98328	368334 ± 134496
20	0.52	100	42	10.0 ± 1.2	325398 ± 362826	368934 ± 323580
50	1.30	100	51.4 ± 21.0	9.0 ± 1.4	359544 ± 359238	456846 ± 434700
100	2.60	100	42	8.2 ± 1.2	455250 ± 274752	520896 ± 291468
250	6.50	100	42	7.2 ± 0.6	524448 ± 250062	1705168 ± 134736
500	13.00	100	42	7.7 ± 0.5	534498 ± 235626	588564 ± 276768
1000	26.00	100	60.8 ± 25.74	8.6 ± 1.3	583998 ± 401388	1616554 ± 371616

(1) Media ± Desviación típica.

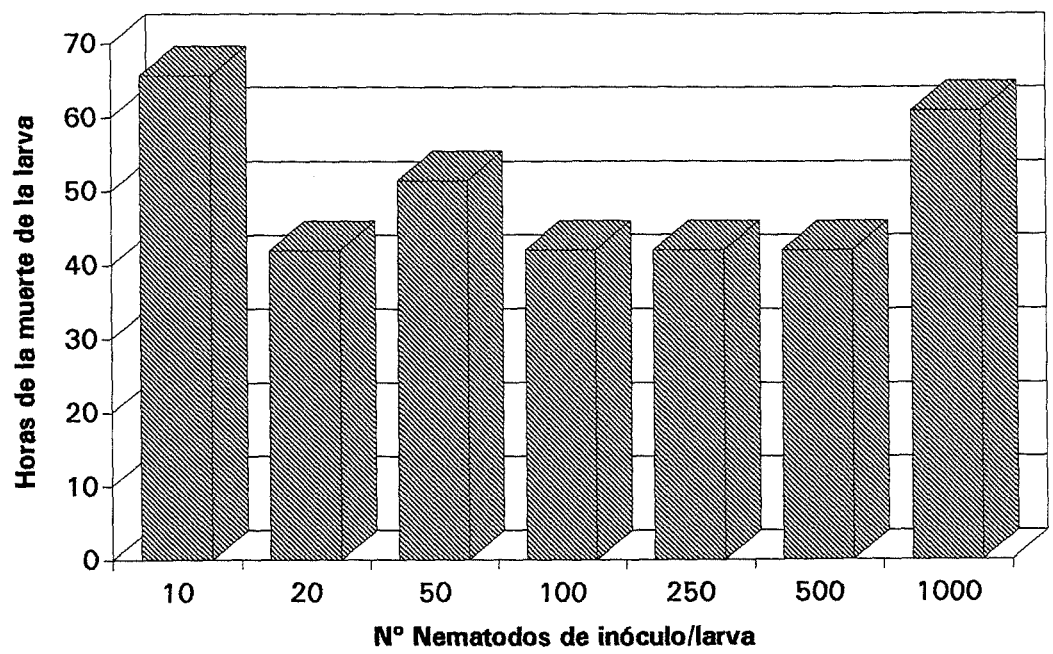


Figura 6.1. Tiempo transcurrido hasta la muerte de la larva.

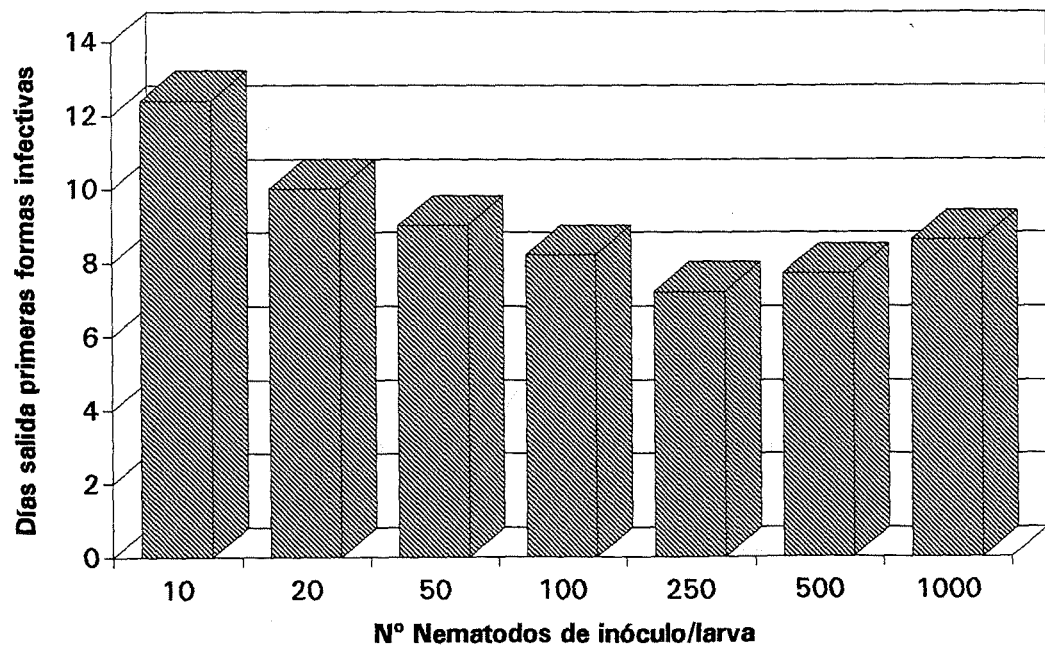


Figura 6.2. Tiempo transcurrido hasta la salida de las primeras formas infectivas.

- Número de formas infectivas producidas.

El número total de formas infectivas producidas está expresado por larva y por peso de la larva en gramos (Tabla 6.3). La producción media de nematodos por larva de *G.xanthenes* oscila entre 300.804 y 583.998, mientras que si se considera por peso de larva este número oscila entre 368.334 y 705.168 nematodos por gramo de larva.

Esta producción de formas infectivas del nematodo, tanto por larva como por peso de larva, no difiere significativamente (Análisis de la varianza, $p > 0,05$) en las diferentes concentraciones de infección, sin embargo existe una tendencia a obtener un mayor número de formas infectivas por larva cuanto mayor es la dosis de inoculación (figs. 6.3 y 6.4). La alta variabilidad en el número de formas juveniles producidas por larva viene reflejada en la elevada variabilidad de los valores de la desviación típica. (Tabla 6.3).

B.- Estudios de campo.

Los análisis de suelo, previos a la prueba de campo, efectuados para evaluar la presencia de nematodos entomopatógenos en las parcelas experimentales fueron negativos, por lo que el parasitismo por nematodos evaluado en el ensayo fue debido únicamente a los nematodos aplicados en la prueba. Este hecho viene confirmado por el nulo parasitismo por nematodos encontrado en las larvas de la parcela testigo del ensayo.

El porcentaje de parasitismo de las larvas de *Gortyna* a los siete días después de la aplicación de los nematodos, varía del 23.5% al 70.6%. Este grado de parasitismo difiere significativamente en función de la dosis de nematodos empleada ($X^2 = 10.06$, g.l. = 2, $p < 0,01$). A mayor número de nematodos aplicados (400.000 nematodos /planta) obtenemos un mayor porcentaje de parasitismo (70.6 %) (Tabla 6.4).

Los sondeos realizados en este primer período de siete días después de la aplicación nos indican que sólo existe presencia de nematodos en la parcela de menor concentración de nematodos (50.000 nem./planta) a una profundidad de 10-15 cm., y en la parcela de máxima concentración de nematodos (400.000 nem./planta) en su superficie (0-5 cm.).

A los 17 días de la aplicación de los nematodos encontramos un menor porcentaje de infección (20%-50%) no existiendo diferencias significativas entre las diferentes concentraciones ensayadas ($X^2 = 1.97$, g.l. = 2, $p > 0,05$).

No hemos detectado la presencia de nematodos en los sondeos realizados en los suelos de las parcelas del ensayo a los 17 días de la aplicación de los nematodos, lo que nos muestra la escasa acción residual de esta aplicación.

Tabla 6.4. Resultados de la aplicación de los nematodos en la prueba de campo.

CONCENTRACIÓN (Nem./planta)	7 DIAS DE LA APLICACIÓN		17 DIAS DE LA APLICACIÓN	
	Nº Larvas Parasitadas (no parasit.)	% Parasitismo	Nº Larvas Parasitadas (no parasit.)	% Parasitismo
TESTIGO	0 (18)	-	0 (12)	-
50.000	4 (13)	23.5	2 (8)	20
200.000	5 (14)	29.4	5 (5)	50
400.000	12 (5)	70.6	4 (7)	36.4

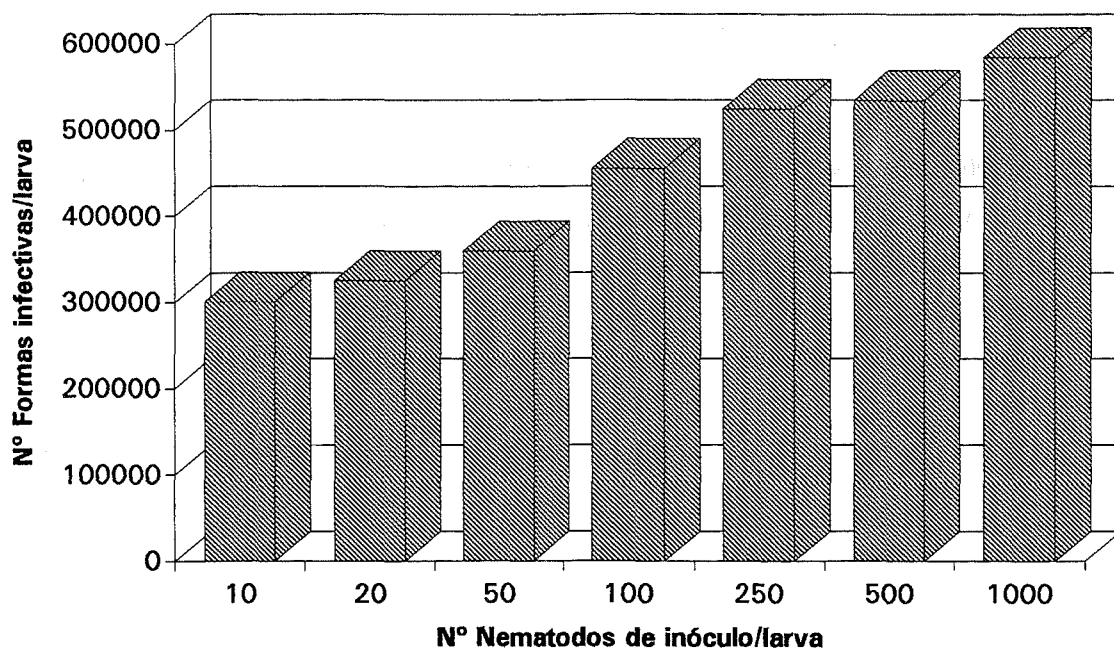


Figura 6.3. Producción de formas infectivas del nematodo por larva.

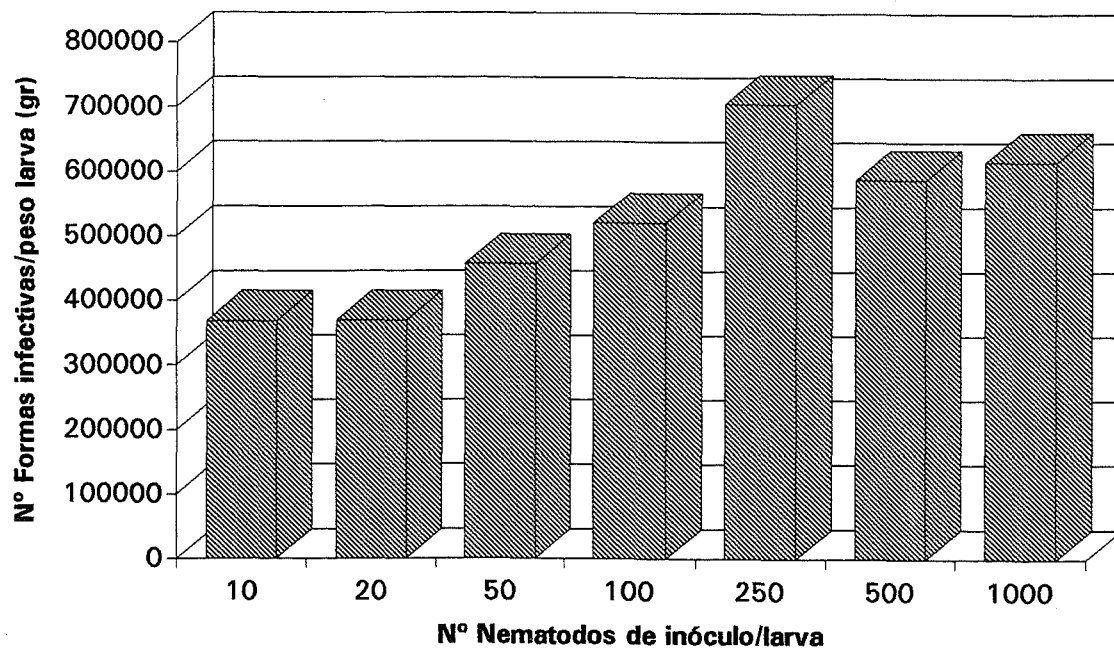


Figura 6.4. Producción de formas infectivas del nematodo por peso de la larva (1gr)

4) Discusión

La alta susceptibilidad observada en las larvas de *Gortyna xanthenes* al nematodo entomopatógeno *Steinernema carpocapsae*, con un 100% de mortalidad incluso en las concentraciones más pequeñas (10 nematodos por larva), coincide con los estudios de laboratorio realizados por Laumond et al (1979) donde detecta una "fuerte infección" de las larvas de este insecto por parte de la cepa DD136 de *S. carpocapsae*.

El tiempo que tardan los nematodos en provocar la muerte del insecto, está determinado por dos factores: el periodo que tarda el nematodo en encontrar al insecto e introducirse en el hemocèle, y el periodo que tarda en provocar la septicemia una vez dentro del insecto. Glazer et al. (1991) determinaron en larvas de *Spodoptera littoralis* que el tiempo que tardan los nematodos en matar al insecto en cámaras de infección era de 48-72 horas , mientras que si estos nematodos se inyectaban directamente en la hemolinfa del insecto este tiempo se reducía a 24 horas.

El hecho de no haber encontrado diferencias significativas en la velocidad en que los nematodos provocan la muerte de la larva en función de la dosis de infección, puede venir influenciado por estos dos factores.

Por un lado que el nematodo encuentre a la larva y se introduzca en su interior, sí que puede venir determinado por el número de nematodos existentes en el medio donde se encuentran las larvas, ya que a un mayor número de nematodos aumentaría la probabilidad del encuentro. Sin embargo la capacidad de búsqueda del nematodo reduciría este efecto, ya que pequeñas concentraciones de nematodos son capaces de encontrar a la larva del insecto.

Por el otro lado, el tiempo que tarda en morir el insecto, una vez los nematodos han entrado en su interior, no viene influenciado por el número de nematodos que penetran. Debido a la virulencia y rapidez de propagación de la bacteria que transporta el nematodo, un único nematodo que libere esta bacteria en la hemolinfa del insecto es suficiente para producir su rápida muerte por septicemia (Kaya y Gaugler, 1993).

La primera emergencia de las formas infectivas del nematodo de las larvas de *Gortyna* está significativamente influenciada por el número

de nematodos del inoculo, a mayor número de nematodos se produce una emergencia más rápida. Este hecho corrobora las observaciones efectuadas por Zervos et al. (1990) en *H. heliothidis* y *S. glaseri* sobre larvas de *Galleria mellonella*, donde comprueban que la salida de las primeras formas infectivas viene significativamente afectada por la temperatura en que se desarrollan los nematodos y el número de formas infectivas del inoculo.

Fan (1989) observó una relación lineal entre la dosis de nematodos entomopatógenos aplicada y el número de adultos de primera generación que se desarrollaban en el cadáver de *Galleria mellonella*. Igualmente Glazer et al. (1991) encontraron esta misma relación en larvas de *Spodoptera littoralis*, analizando el número de formas infectivas que penetraban en el insecto, no el número de formas infectivas que se desarrollaban en adultos.

Estos hechos nos indican que la influencia de la dosis inicial del inoculo en la emergencia de las primeras formas infectivas está directamente relacionado con el número de formas infectivas que penetran en el insecto y por el número de generaciones de nematodos que se dan en su interior hasta la salida de las nuevas formas infectivas. Esta salida se produce cuando se han consumido los recursos alimenticios, y para el consumo de los mismos los nematodos entomopatógenos pueden dar lugar a una, dos o más generaciones en el interior del cadaver del insecto (Wouts, 1980). Por lo tanto, un mayor número de nematodos que invadan el insecto supondrá un consumo más rápido del alimento, un menor número de generaciones del nematodo y consecuentemente una salida más rápida de las primeras formas infectivas. Esta capacidad de modular el desarrollo en respuesta a la variación del aporte nutricional, que ya ha sido observada en otras especies animales, puede tener la función de maximizar el éxito reproductivo de la especie (Popiel et al, 1989).

La producción media de formas infectivas del nematodo en larvas de *Gortyna xanthenes* (518 nematodos por miligramo) es similar a la obtenida por MacVean y Brewer (1981) en larvas de *Galleria mellonella* (700 nematodos por mg.) y muy superior a la obtenida por Dutky et al. (1964) con una producción de 110 nematodos/mg en *Galleria mellonella*. Este hecho nos indica que las larvas de *Gortyna* son un hospedador tan adecuado como *Galleria mellonella* para la reproducción del nematodo,