

**Evaluación del movimiento del nematodo  
*Heterorhabditis bacteriophora* y su capacidad  
infectiva bajo condiciones controladas de  
humedad y tres texturas de suelo**

**Edas Eduardo Turcios Rivas**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

ZAMORANO  
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Evaluación del movimiento del nematodo  
*Heterorhabditis bacteriophora* y su capacidad  
infectiva bajo condiciones controladas de  
humedad y tres texturas de suelo**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero Agrónomo en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Edas Eduardo Turcios Rivas**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

# **Evaluación del movimiento del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* y su capacidad infectiva bajo condiciones controladas de humedad y tres texturas de suelo**

Presentado por:

Edas Eduardo Turcios Rivas

Aprobado:

---

Rogelio Trabanino, M.Sc.  
Asesor principal

---

Alfredo Rueda, Ph.D.  
Asesor

---

Miguel Cocom, Ing. Agr.  
Asesor

---

Abelino Pitty, Ph.D.  
Coordinador del área de  
Fitotecnia

---

Miguel Vélez, Ph.D.  
Director  
Carrera de Ciencia y Producción  
Agropecuaria

---

Raúl Espinal, Ph.D.  
Decano Académico

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.  
Rector

## RESUMEN

Turcios, E. 2009. Evaluación del movimiento del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* y su capacidad infectiva bajo condiciones controladas de humedad y tres texturas de suelo. Proyecto especial de graduación para el programa de Ingeniero Agrónomo en Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano 16 p.

Los nematodos entomopatógenos son controladores biológicos de gran importancia debido a que se pueden producir en grandes cantidades, ser almacenados por un largo periodo de tiempo y son muy eficientes en control en diferentes condiciones de campo. Conocer sobre el comportamiento de los nematodos en el suelo bajo diferentes humedades y texturas de suelo es determinante para optimizar las aplicaciones en campo y poder obtener mayores beneficios en el control de plagas. El objetivo del estudio fue determinar bajo que humedad y en que textura, el nematodo presenta mayor movilidad y capacidad infectiva en el suelo. Se usaron 36 tubos de PVC llenos de suelo de textura franco arenosa, el cual estuvo bajo tres condiciones de humedad (capacidad de campo, saturado y seco). Se evaluó cada una de las humedades a las 24, 48, 72 y 96 h y a los 7, 14, 21, 28 y 35 cm para poder determinar en cuál de ellas presentaba más movilidad el nematodo. Para determinar la capacidad infectiva se utilizaron tres texturas de suelo (franco, franco arenoso y franco arcilloso). El suelo se colocó en tubos de PVC, todas las texturas estuvieron a capacidad de campo durante este experimento y se colocaron trampas de larvas de *Galleria mellonella* a 10, 20 y 30 cm de profundidad. El nematodo presentó su mejor movilidad en suelo franco-arenoso y a capacidad de campo.

**Palabras clave:** Capacidad infectiva, larvas de *Galleria mellonella*, nematodos, movilidad del nematodo

## CONTENIDO

Portadilla.....	I
Página de firmas.....	II
Resumen .....	III
Contenido .....	IV
Índice de Cuadros y Anexos.....	V
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	2
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
4. CONCLUSIONES .....	8
5. RECOMENDACIONES.....	9
6. BIBLIOGRAFÍA.....	10
7. ANEXOS .....	11

## ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

### Cuadro

1. Movimiento (%) del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* a las 24, 48, 72 y 96 h de aplicados a cinco profundidades de suelo en Zamorano, Honduras, 2009.....5
2. Movimiento (%) del nematodo en tres humedades evaluado a las 24, 48, 72 y 96 h después de aplicados en Zamorano, Honduras, 2009.....6
3. Infectividad (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* sobre larvas de *Galleria mellonella* en tres texturas de suelo evaluado a las 24, 48, 72 y 96 h después de aplicados en Zamorano, Honduras, 2009. ....7
4. Infectividad (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* sobre larvas de *Galleria mellonella* a las 24, 48, 72 y 96 h después de aplicados los nematodos en Zamorano, Honduras, 2009.....7

### Anexos

- Tubos de PVC perforados utilizados para los ensayos de movilidad e infectividad del nematodo *H. bacteriophora*..... 11

## 1. INTRODUCCIÓN

Los nematodos son gusanos cilíndricos no segmentados, que poseen una cutícula exterior acelular bajo la cual se encuentra la epidermis seguida por las fibras musculares longitudinales y carecen de peritoneo, razón por la cual se incluyen dentro de los pseudo celomados. Tienen sistema excretor, nervioso, digestivo, reproductivo y muscular, pero no sistema circulatorio ni respiratorio (Quintero 2003).

Algunas especies se encuentran asociadas a insectos, en relaciones que van desde fortuitas hasta parasíticas. Estas últimas, pueden ocasionar diferentes efectos deletéreos sobre sus hospederos, que pueden ir desde reducción en la fecundidad, esterilidad y longevidad, disminución en la actividad, retraso en el desarrollo, cambios fisiológicos, morfológicos y de comportamiento y hasta la muerte (Poinar 1979).

Los nematodos entomopatógenos son usados para el control biológico de plagas insectiles del suelo alrededor del mundo y son generalmente aplicados al suelo en una solución acuosa (Del Valle *et al.* 2008). Estos nematodos se mueven activamente en el suelo en busca de las larvas hospedantes. El comportamiento entomopatógeno se da por la simbiosis con una bacteria del género *Photorhabdus* que es depositada en el interior del hospedero, dicha bacteria se caracteriza por dar una coloración rojiza a las larvas cuando están infectadas, dando condiciones favorables para que el nematodo pueda desarrollarse. Una vez termina la infección, nuevas larvas infectivas dejan el cadáver en busca de otros hospederos. *H. bacteriophora* es un nematodo que se está produciendo en Zamorano y que está en etapa de desarrollo, por eso el estudio se realiza con el fin de conocer más sobre su comportamiento.

Este estudio constó de dos ensayos, el primer ensayo se realizó para determinar el movimiento de *H. bacteriophora* bajo tres humedades de suelo: capacidad de campo, seco y saturado, para ello se evaluaron a diferentes profundidades (7, 14, 21, 28 y 35 cm) en cuatro tiempos (24, 48, 72 y 96 h). El segundo ensayo se desarrolló con el objetivo de definir la capacidad infectiva del nematodo *H. bacteriophora* en tres texturas de suelo (franco, franco arenoso y franco arcilloso) a las 24, 48, 72 y 96 h a tres profundidades (10, 20 y 30 cm) usando trampas vivas de *G. mellonella*.

El objetivo fue evaluar la movilidad de *H. bacteriophora* en suelos con diferentes humedades y la capacidad infectiva en tres texturas de suelo para determinar condiciones óptimas para su aplicación.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 EVALUACIÓN DEL MOVIMIENTO DEL NEMATODO *H. bacteriophora* EN CINCO PROFUNDIDADES Y TRES HUMEDADES DEL SUELO**

#### **2.1.1 Localización**

El estudio se realizó de junio a julio de 2009 en el invernadero de control biológico y en las instalaciones de nematología de la Escuela Agrícola Panamericana, localizada a 30 kilómetros de Tegucigalpa, Honduras, con una altitud de 800 msnm y una temperatura promedio de 24 ° C.

#### **2.1.2 Material biológico**

Los nematodos fueron reproducidos en larvas de *Galleria mellonella*. Se usaron 84,000 nematodos por tratamiento, 7000 por tubo y se aplicaron en 3.5 mL de agua autoclavada. Todos los nematodos utilizados fueron juveniles infectivos.

#### **2.1.3 Materiales**

Se usaron tubos de PVC de 10 cm de diámetro y 40 cm de largo, a cada tubo se le hizo dos filas con cinco orificios separados cada uno a 7 cm entre ellos, se cortaron bolsas plásticas del mismo largo de los tubos para recubrirlos por dentro y evitar que al tomar la muestra de cada orificio, el suelo saliera del tubo.

#### **2.1.4 Suelo**

El suelo utilizado fue de textura franco arenoso (70% arena, 18% limo, 12% arcilla) que se determinó por análisis textural en el laboratorio de suelos de la Escuela Agrícola Panamericana. El suelo fue esterilizado para evitar alteraciones en los resultados por presencia de nematodos entomopatógenos u otros microorganismos propios del suelo.



### **2.1.5 Tratamientos**

Los tratamientos evaluados fueron tres humedades de suelo: capacidad de campo, seco y saturado. El porcentaje de humedad del suelo se determinó por diferencia de pesos, presentando suelo seco un 2% de humedad, capacidad de campo 18% de humedad y saturado un 22% de humedad. Los nematodos se aplicaron en horas de la tarde con ayuda de una micro pipeta, se aplicaron en una concentración de 7000 nematodos por cada 3.5 ml de agua en la parte superior de cada tubo. La aplicación de 7000 nematodos por tubo fue equivalente a una aplicación de 250,000 nematodos por hectárea.

### **2.1.6 Muestreos**

Se tomaron tres muestras de suelo de 50 g a los 7, 14, 21, 28 y 35 cm de profundidad y a las 24, 48, 72 y 96 h de aplicados los nematodos. Las muestras, se llevaron al laboratorio de nematología donde se colocaron en tubos Baerman por 48 h para la extracción de los nematodos. Después de las 48 horas de la recolección de los nematodos se prosiguió a centrifugar las muestras a 2000 rpm por dos minutos para concentrar los nematodos y tener mayor facilidad al evaluar la presencia o no de los nematodos utilizando un estereoscopio.

### **2.1.7 Variables Medidas**

Presencia o no presencia de los nematodos

### **2.1.8 Diseño Experimental**

Se utilizó un arreglo factorial, 3 humedades por 5 profundidades por 4 tiempos, con tres repeticiones para un total de 180 unidades experimentales.

### **2.1.9 Análisis Estadístico**

Se usó el programa de Análisis Estadístico SAS (Statistical Analysis System) (SAS® 2006). Se hizo un ANDEVA (Análisis de varianza) usando GLM (Modelo Lineal General) y una separación de medias TUKEY con un nivel de significancia  $< 0.001$ , para la variable presencia para cada tiempo de muestreo.

## **2.2 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD INFECTIVA DEL NEMATODO *H. bacteriophora* EN TRES TEXTURAS DE SUELO A TRES PROFUNDIDADES**

### **2.2.1 Tratamientos**

Se usaron tres texturas de suelo: franco (36% arena, 44% limo y 20% arcilla), franco arenoso (70% arena, 18% limo y 12% arcilla) y franco arcilloso (48% arena, 20% limo y 32% arcilla). A cada tubo se colocaron sin considerar el agua, 3 kg de suelo y se aplicaron 3500 nematodos lo que equivale a una aplicación de una hectárea de maíz para ensilaje y se evaluaron a las 24, 48, 72 y 96 h a tres profundidades: 10, 20 y 30 cm.

### **2.2.2 Muestreos**

Se tomaron tres muestras cada una de cinco larvas de *G. mellonella* por cada profundidad (10 cm, 20 cm y 30 cm) a las 24, 48, 72 y 96 h. Luego de recolectadas las larvas, se colocaron en pequeños vasos plásticos y se dejaron ahí por 48 horas para darle al nematodo tiempo de manifestar en las larvas los síntomas de infección. Se tomaron como indicadores de infectividad la coloración rojiza de las larvas y la presencia de los nematodos dentro de la larva, para lo cual se llevaron las larvas de *G. mellonella* al laboratorio de control biológico y se observaron con ayuda de un estereoscopio.

### **2.2.3 Variables Medidas**

Porcentaje de larvas infectadas en tres texturas de suelo a tres profundidades, evaluando a las 24, 48, 72 y 96 h de haber sido aplicados los nematodos en el suelo.

### **2.2.4 Diseño Experimental**

Se usó un arreglo factorial tres texturas a tres profundidades, con tres repeticiones para un total de 27 unidades experimentales.

### **2.2.5 Análisis Estadístico**

Se usó el programa de Análisis Estadístico SAS (Statistical Analysis System) (SAS® 2006). Se hizo un ANDEVA (Análisis de varianza) usando GLM (Modelo Lineal General) y una separación de medias TUKEY con un nivel de significancia de  $< 0.001$ , para la variable porcentaje de infectividad para cada tiempo de muestreo.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 EVALUACIÓN DEL MOVIMIENTO DEL NEMATODO *H. bacteriophora* EN CINCO PROFUNDIDADES Y TRES HUMEDADES DEL SUELO

Independientemente de la humedad del suelo a las 24 h se encontró presencia de *H. bacteriophora*, 33% a 7 cm y 11% a 14 cm, en las demás profundidades no se observó el nematodo. A las 72 h se logró observar en todo el perfil de profundidad presencia de nematodos, encontrando un 33% de presencia a 35cm (Cuadro 1). Se observa una tendencia de mayor presencia de nematodos a mayor hora transcurrida y a menor profundidad se tomaba la muestra en el perfil.

Cuadro 1. Movimiento (%) del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* a las 24, 48, 72 y 96 h de aplicados a cinco profundidades de suelo en Zamorano, Honduras, 2009\*.

Profundidad (cm)	Horas (h)			
	24	48	72	96
7	33 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	11 <sup>a</sup>
14	11 <sup>b</sup>	55 <sup>b</sup>	100 <sup>ab</sup>	55 <sup>ab</sup>
21	0 <sup>b</sup>	22 <sup>bc</sup>	67 <sup>abc</sup>	100 <sup>b</sup>
28	0 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	56 <sup>c</sup>	88 <sup>b</sup>
35	0 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	33 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>

\*Los promedios seguidos con diferente letra en la misma columna no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba TUKEY (P< 0.001).

Independientemente de la profundidad muestreada, se observó una mayor facilidad de dispersión en suelo a capacidad de campo en comparación con suelo seco y saturado, encontrando nematodos en todas las horas, con el máximo de presencia a las 72 h después de la aplicación con un 100% de presencia (Cuadro 2). No se encontró diferencia significativa entre suelo seco y saturado, pero sí entre ellos con capacidad de campo.

Cuadro 2. Movimiento (%) del nematodo en tres humedades evaluado a las 24, 48, 72 y 96 h después de aplicados en Zamorano, Honduras, 2009\*.

Humedad	Horas (h)			
	24	48	72	96
Capacidad de campo	26	53 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	73
Saturado	0	26 <sup>b</sup>	46 <sup>b</sup>	66
Seco	0	26 <sup>b</sup>	66 <sup>b</sup>	73

\*Los promedios seguidos con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba TUKEY ( $P < 0.001$ ).

### 3.2 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD INFECTIVA DEL NEMATODO *H. bacteriophora* EN TRES TEXTURAS DE SUELO A TRES PROFUNDIDADES

Independientemente de la profundidad, en el suelo franco arenoso se encontraron larvas de *G. mellonella* infectadas con *H. bacteriophora* en todos los tiempos de muestreo, con 43% de infectividad a las 24 h y un máximo a las 96 h con un 100% de larvas infectadas. (Cuadro 3). No se encontró diferencia ( $P < 0.001$ ) entre el suelo franco y franco arcilloso, pero sí entre estos dos y el suelo franco arenoso.

Cuadro 3. Infectividad (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* sobre larvas de *Galleria mellonella* en tres texturas de suelo evaluado a las 24, 48, 72 y 96 h después de aplicados en Zamorano, Honduras, 2009\*.

Textura	Horas (h)			
	24	48	72	96
franco arenoso	43 <sup>a</sup>	49 <sup>a</sup>	88 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
franco	38 <sup>b</sup>	38 <sup>b</sup>	72 <sup>b</sup>	80 <sup>b</sup>
franco arcilloso	26 <sup>b</sup>	34 <sup>b</sup>	63 <sup>b</sup>	71 <sup>b</sup>

\*Los promedios seguidos con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba TUKEY ( $P < 0.001$ ).

Independientemente del tipo de suelo, las larvas bajan el perfil de suelo e infectan las larvas de *G. mellonella* a las 24 h con un 74% a 10 cm y un 34% a 20 cm de profundidad. En 72 y 96 h en todo el perfil se encontraron larvas de *G. mellonella* infectadas, encontrándose a las 72 horas un 92% de infectividad a 10 cm de profundidad (Cuadro 4).

Cuadro 4. Infectividad (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* sobre larvas de *Galleria mellonella* a las 24, 48, 72 y 96 h después de aplicados los nematodos en Zamorano, Honduras, 2009\*.

Profundidad (cm)	Horas(h)			
	24	48	72	96
10	74 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	92 <sup>a</sup>	83 <sup>a</sup>
20	34 <sup>b</sup>	51 <sup>b</sup>	71 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>
30	0 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	61 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>

\*Los promedios seguidos con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba TUKEY ( $P < 0.001$ ).

#### **4. CONCLUSIONES**

- El nematodo *H. bacteriophora* se mueve bien en suelo seco y saturado, pero el mejor movimiento lo presenta cuando el suelo está a capacidad de campo.
- El nematodo *H. bacteriophora* presenta el máximo porcentaje de infectividad en suelo de textura franco arenosa, aunque en los tres tipos de texturas se encontró hasta un 100% de infectividad.

## **5. RECOMENDACIONES**

- Aplicar nematodos en suelo a capacidad de campo dado que presenta una mayor facilidad de dispersión.
- Hacer análisis textural de suelo para considerar el movimiento del nematodo, dado que los nematodos tienen un mejor desplazamiento en suelo con mayor porcentaje de arena.
- Antes de aplicar los nematodos llevar el suelo a capacidad de campo para tener una mejor dispersión del nematodo en el suelo y mejorar el área de acción del nematodo.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Del Valle, E; Dolinski, C; Barreto, E; Souza, R. 2008. Effect of cadaver coatings on emergence and infectivity of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Rhabditida: Heterorhabditidae) and the removal of cadavers by ants. Biological control p. 21-24

Quintero, M. 2003. Comparacion en laboratorio de la patogenicidad de tres especies nativas de nematodos entomopatogenos ( *Rhabditida*) sobre larvas de tercer instar de *Phyllophaga menetriesi*( Blanchard)( Coleptera: Scarabaeidae). Tesis Biologa Cali, Colombia, Universidad del Valle. 8 p.

Poinar, G. 1979. Nematodes for biological control of insects. CRC Inc. Boca Raton, Florida, Estados Unidos. 277 p.



## 7. ANEXOS

Anexo 1. Tubos de PVC perforados utilizados para los ensayos de movilidad e infectividad del nematodo *H. bacteriophora*.

