

**Susceptibilidad del nematodo  
entomopatógeno (*Heterorhabditis  
bacteriophora*) a nueve plaguicidas**

**Víctor Hugo Diéguez Gonzales**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2010

ZAMORANO  
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Susceptibilidad del nematodo  
entomopatógeno (*Heterorhabditis  
bacteriophora*) a nueve plaguicidas**

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

Presentado por

**Víctor Hugo Diéguez Gonzales**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2010

# Susceptibilidad del nematodo entomopatógeno (*Heterorhabditis bacteriophora*) a nueve plaguicidas

Presentado por:

Víctor Hugo Diéguez Gonzales

Aprobado:

---

Rogelio Trabanino, M.Sc.  
Asesor principal

---

Abel Gernat, Ph.D.  
Director  
Carrera de Ciencia y Producción  
Agropecuaria

---

Alfredo Rueda, Ph.D.  
Asesor

---

Raúl Espinal, Ph.D.  
Decano Académico

---

Miguel E. Cocom, Ing.  
Asesor

---

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

---

Abelino Pitty, Ph.D.  
Coordinador de Fitotecnia

## RESUMEN

Diéguez, V. 2010. Susceptibilidad del nematodo entomopatógeno (*Heterorhabditis bacteriophora*), a nueve plaguicidas. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 10p.

Los nematodos entomopatógenos son organismos que se usan para el control de plagas, estos organismos se caracterizan por ser específicos y compatibles con la mayoría de las prácticas de manejo integrado de plagas. El objetivo del experimento fue determinar la susceptibilidad del nematodo entomopatógeno *H. bacteriophora*, a nueve plaguicidas registrados y utilizados en el control de plagas para la producción de hortalizas en Honduras, en condiciones de laboratorio. Los nematodos *H. bacteriophora* fueron expuestos durante 4 días a nueve plaguicidas y un testigo (agua purificada), se preparo 1 L de solución de cada plaguicida en concentraciones de 50 y 100% de la dosis recomendada por el fabricante. Se utilizaron vasos plásticos transparentes a los cuales fueron vertidos 5 ml de solución, adicionando 1 ml de agua purificada con 100 juveniles infectivos (JIs). La mortalidad fue evaluada a 24 y 96 horas. Se utilizaron larvas de *G. mellonella* para determinar la capacidad infectiva de los JIs de *H. bacteriophora* que se expusieron a nueve plaguicidas al 100% de la dosis recomendada durante 24 horas. Se uso un diseño completamente al azar, cuatro repeticiones por tratamiento, las medias se separaron utilizando la prueba TUKEY al 5%. En las evaluaciones a 50% de la dosis recomendada, se observo que el insecticida Spinosad no presento diferencia significativa en cuanto la mortalidad de nematodos en comparación al testigo tomadas 24 horas después de la aplicación, los productos Imidacloprid, Rynaxypyr y Chlorpyrifos, presentaron porcentajes de mortalidad menores al 30%, seguidos por Fipronil con 46% de mortalidad. Los plaguicidas Carbofuran, Abamectina, Bifentrina y Oxamilo, presentaron los porcentajes más altos de mortalidad hasta 94% en las primeras 24 horas de exposición. A 100% de la dosis, Imidacloprid, Rynaxypyr y Spinosad, presentaron los porcentajes más bajos de mortalidad seguidos por Abamectina, Chlorpyrifos y Bifentrina menores a 60% a 24 horas después de la exposición. Los tratamientos Carbofuran, Fipronil y Oxamilo, presentaron los porcentajes más altos de mortalidad, no existiendo diferencia significativa durante las 96 horas de exposición con un 100% de mortalidad.

**Palabras clave:** Control biológico, Nematodo entomopatógeno, susceptibilidad a plaguicidas.

## CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos .....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>2</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>5</b>
<b>4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>8</b>
<b>5. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>9</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>10</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Nombre técnico y comercial de los plaguicidas utilizados para evaluar la susceptibilidad del nematodo entomopatógeno <i>H. bacteriphora</i> en laboratorio de control biológico de septiembre a octubre, Zamorano. Honduras. 2010.....	3
2.	Porcentaje de mortalidad de JIs expuestos a 50% y 100% de la dosis recomendada por el fabricante de cada plaguicida, evaluados a 24 y 96 horas. Zamorano. Honduras. 2010. <sup>1</sup> .....	6
3.	Porcentaje de mortalidad y de infectividad de larvas de <i>G. mellonella</i> expuestas a JIs de <i>H. bacteriophora</i> expuestos al 100% de la dosis por 24 horas, Zamorano. Honduras. 2010. <sup>1</sup> .....	7

## 1. INTRODUCCIÓN

Para contrarrestar el daño de las plagas, reducir el uso de plaguicidas químicos y aumentar el rendimiento de los cultivos se ha propuesto diferentes medidas de control, una de ellas es la utilización de medios biológicos a partir de parasitoides y entomopatógenos ya que ofrecen ventajas cuando son incluidos en los programas de manejo integrado de plagas (MIP) (Odindo, 1992).

*Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditidae) es un nematodo entomopatógeno obligado, presenta un estadio infectivo (3<sup>o</sup>) el cual tiene doble cutícula y en la región de la cabeza tiene una especie de armadura (diente, protuberancia o espina). Las primeras generaciones pueden ser hermafroditas o normales, los machos sólo se producen en la generación de fertilización cruzada. Tienen una generación hermafrodita inicial, seguida por otra de fertilización normal dentro del hospedero (Fernandez *et al.* s.f.).

El nematodo *H. bacteriophora* al localizar a su hospedero ingresa al cuerpo a través de las aperturas naturales (boca, ano y espiráculos) o áreas de cutícula delgada, una vez dentro del hospedero, la bacteria simbiótica (*Photorhabdus luminiscences*) se libera del intestino del nematodo, la cual se multiplica rápidamente y provoca la muerte del hospedero por septicemia en 48 horas, mediante la producción de toxinas y la segregación de enzimas que descomponen el cuerpo del huésped. Los nematodos se alimentan de las bacterias que se reproducen en el cuerpo del hospedero y del hospedero mismo. El ciclo del nematodo se completa en pocos días y cientos de miles de juveniles infectivos emergen en busca de nuevos hospederos (Weeden *et al.* s.f.).

*H. bacteriophora* en combinación con algunos plaguicidas puede aumentar o disminuir su eficiencia de matar una plaga de insecto, se debe tomar en cuenta la dosis recomendada por el fabricante a la hora de las aplicaciones conjuntas con plaguicidas (Rosvesti *et al.* 1989). *H. bacteriophora* presenta resistencia al Oxamilo en concentraciones de 10,000 ppm, con un 80% de supervivencia pasadas 96 horas de exposición pero es afectada la capacidad infectiva (Palomo y García, 2000).

El objetivo del experimento fue la determinación de la susceptibilidad y capacidad infectiva del nematodo entomopatógeno *H. bacteriophora*, expuestos a nueve plaguicidas registrados y utilizados para el control de plagas en la producción de hortalizas en Honduras, en condiciones de laboratorio.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **LOCALIZACIÓN**

El estudio se realizó de Septiembre a Octubre de 2010 en el laboratorio de control biológico de la Escuela Agrícola Panamericana, localizada a 30 km de Tegucigalpa, Honduras, a una altitud de 800 msnm y con una temperatura promedio de 24 °C. Para el estudio se utilizaron los plaguicidas Abamectina (Proclaim), Bifentrina (Talstar), Carbofuran (Furandan), Chlorpyrifos (Lorsban), Fipronil (Regent), Imidacloprid (Confidor), Oxamilo (Vydate), Spinosad (Spintor) y Rynaxypir (Coragen) a 50% y 100% de la dosis recomendada, utilizados en la producción de hortalizas en Honduras.

### **ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD**

Los nematodos entomopatógenos *H. bacteriophora* producidos en el laboratorio de control biológico, fueron expuestos durante cuatro días a nueve plaguicidas y un testigo (agua purificada), en condiciones de laboratorio a una temperatura ambiente promedio de 25 °C, 60% HR (Cuadro 1). Para evaluar la susceptibilidad del nematodo a los plaguicidas se preparó 1 litro de solución de cada plaguicida en concentraciones de 50% y 100% de la dosis recomendada por el fabricante. Para este estudio se utilizaron vasos plásticos de 29.1 ml transparentes a los cuales fueron vertidos 5 ml de la solución y adicionado 1 ml de agua purificada con 100 juveniles infectivos (JIs), los cuales fueron dejados en cada vaso hasta el momento del muestreo. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento, para un total de 76 unidades experimentales, donde se evaluó la mortalidad de los nematodos a 24 y 96 horas después de su exposición a los plaguicidas. Los 100 JIs fueron observados con la ayuda de un estereoscopio para determinar mediante un conteo el número de nematodos muertos. El criterio utilizado para determinar si los nematodos estaban muertos, que estén completamente rectos, los latentes con una porción del cuerpo curvada y sin movimiento, los vivos en movimiento constante.

Cuadro 1. Nombre técnico, comercial, formulación y grupo químico de los plaguicidas utilizados para evaluar la susceptibilidad del nematodo entomopatógeno *H. bacteriophora* en laboratorio de control biológico de septiembre a octubre, Zamorano, Honduras. 2010.

Nombre		Formulacion	Grupo químico	Dosis
Tecnico	Comercial			
Benzoato de amamectina	Proclaim	SC	Avermectinas	300 g/ha
Bifentrina	Talstar	EC	Piretroides	40 ml/ha
Carbofuran	Furadan	SC	Carbamatos	4 L/ha
Chlorpyrifos	Lorsban	EC	Organofosforados	5 L/ha
Fipronil	Regent	SC	Fiproles	0.5 L/ha
Imidacloprid	Confidor	WG	Nicotinoides	1 g/L
Oxamilo	Vydate	SL	Carbamatos	5 L/ha
Rynaxypyr	Coragen	SC	Diamidas Antranilicas	25 ml/ha
Spinosad	Spintor	EC	Spinosyns	25 ml/ha

## ESTUDIO DE INFECTIVIDAD

Para este estudio se utilizaron larvas de *G. mellonella* de quinto instar, reproducidas en el laboratorio de control biológico, para determinar la capacidad infectiva de los JIs de *H. bacteriophora* una vez expuestos a los nueve plaguicidas, a su concentración máxima recomendada durante 24 horas. Los nematodos que sobrevivieron fueron enjuagados tres veces, se les adiciono agua, se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 min, quitando el sobrenadante, posteriormente los nematodos se colocaron en 10 ml de agua. Se inocularon 40 larvas de *G. mellonella* por tratamiento con 2000 JIs de *H. bacteriophora*. En el proceso de inoculación se utilizaron bandejas de 26 × 14.5 × 9 cm, a donde se coloco papel toalla humedecido para favorecer el desplazamiento de los nematodos en busca de larvas de *G. mellonella*. Las larvas inoculadas fueron conservadas en un cuarto de producción de nematodos del laboratorio de control biológico, con una temperatura ambiente promedio de 25 °C, 60% HR, durante 10 días. Las larvas muertas que presentaron coloración rojo ladrillo, en las primeras 48 horas, fueron colocadas en platos petri, con papel toalla seco, para mantener seca a la larva. Los muestreos se realizaron a los 5 y 10 días, se tomaron 10 larvas para ser disectadas y obsevar la presencia de nematodos y evaluar el número de nematodos Juveniles vivos. Las observaciones se realizaron con un estereoscopio para determinar el número total de nematodos reproducidos por larvas de *G. mellonella*.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 19 tratamientos y un testigo, se realizaron cuatro repeticiones con un total de 76 unidades experimentales. Se usó el programa de Analisis Estadístico SAS (Statistical Analysis System), se realizó un ANDEVA (análisis de varianza) usando un GLM (Modelo Lineal General) y una separación de medias TUKEY con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ .

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Estudio de Mortalidad

En los plaguicidas evaluados al 50% de la dosis recomendada por el fabricante (Cuadro 2), se observó que no existió diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en la mortalidad de los nematodos, entre el Spinosad y el testigo, en las primeras 24 horas de exposición. Imidacloprid, Rynaxypyr y Chlorpyrifos, presentaron porcentajes de mortalidad de 24, 23 y 28% respectivamente, seguidos por Fipronil que alcanzó 46% de mortalidad en 24 horas de exposición. Abamectina y Bifentrina, presentaron porcentajes de mortalidad de 50 y 61% respectivamente. Carbofuran y Oxamilo presentaron los porcentajes más altos de mortalidad 89 y 94% respectivamente, en las primeras 24 horas de exposición debido a que estos productos son recomendados para el control de nematodos. Al evaluar Imidacloprid, Rynaxypyr y Spinosad a las 96 horas aunque presentaron 30%, 37% y 24% de mortalidad, se atribuye a la muerte natural que sufren los nematodos a excepción de Spinosad que tuvo un incremento de 5% más del porcentaje de mortalidad normal en comparación al testigo. Significativamente superiores al testigo fueron los tratamientos Abamectina, Carbofura, Chlorpyrifos, Fipronil y Oxamilo, presentaron los porcentajes más altos de mortalidad (100%) los cuales fueron significativamente diferentes a los demás tratamientos.

Cuando se evaluaron los plaguicidas utilizando la máxima concentración recomendada por el fabricante (Cuadro 2), se observó que no existió diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en 24 horas de exposición entre los tratamientos Imidacloprid, Rynaxypyr y Spinosad, los cuales presentaron una mortalidad de 22, 35 y 30% respectivamente, seguidos por los tratamientos con Abamectina, Chlorpyrifos y Bifentrina que presentaron mayor mortalidad que Imidacloprid, Rynaxypyr y Spinosad con 66%, 59.8% y 60% de mortalidad respectivamente y no existió diferencia significativa entre ellos. Los tratamientos Carbofuran, Fipronil y Oxamilo, presentaron los porcentajes más altos de mortalidad, a las 24 y 96 horas de exposición. Los tratamientos con Imidacloprid y Spinosad obtuvieron porcentajes menores al 50% de mortalidad después de 96 horas de exposición, seguido por Rynaxypyr con 61% de mortalidad a las 96 horas. No hubo diferencia significativa entre los demás tratamientos ya que alcanzaron el 100% de mortalidad a las 96 horas de exposición.

En el presente estudio se observó que el Oxamilo produjo el 100% de mortalidad en las dos concentraciones evaluadas (dosis recomendada al 50% y 100%), obteniendo porcentajes mayores a 90% en las primeras 24 horas y el 100% de mortalidad de los

nematodos en 96 horas. Este efecto es contrario a los resultados de Palomo y García (2000). que observaron en estudios sobre la compatibilidad entre el Oxamilo y el nematodo entomopatógeno *H. bacteriophora* que alcanzaron un 80% de supervivencia en las concentraciones más altas 10,000 ppm.

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de JIs expuestos a 50% y 100% de la dosis recomendada por el fabricante de cada plaguicida, evaluados a 24 y 96 horas. Zamorano. Honduras. 2010.<sup>1</sup>

Tratamiento	Mortalidad (%) (horas)			
	Dosis (50%)		Dosis (100%)	
	24	96	24	96
Imidacloprid	24.4g	30.0d	22.0d	30.0e
Rynaxypyr	23.0g	37.0c	35.0d	61.0c
Carbofuran	89.0b	100.0a	100.0a	100.0a
Chlorpyrifos	28.8f	100.0a	59.8bc	100.0a
Abamectina	50.0d	100.0a	66.0b	100.0a
Fipronil	46.0e	100.0a	99.0a	100.0a
Spinosad	5.0h	24.0e	30.0d	48.0d
Bifentrina	61.0c	75.0b	60.0b	86.8b
Testigo	4.0h	14.8f	4.0e	14.8f
Oxamilo	94.0a	100.0a	99.0a	100.0a

<sup>1</sup>Valores en la misma columna con distinta letra, difieren estadísticamente entre si ( $P \leq 0.05$ ).

### Estudio de Infektividad

Se observó que el nematodo entomopatógeno *H. bacteriophora* expuesto a Rynaxypyr, Imidacloprid y Spinosad, no afecta la capacidad infectiva de las larvas de *G. mellonella* significativamente. Los tratamientos con Chlorpyrifos y Bifentrina, se observó diferencias significativas con porcentajes de infectividad más bajos en comparación a los demás tratamientos.

En el caso de los nematodos expuestos a Abamectina no infectaron ni causaron la muerte de las larvas de *G. mellonella* en 48 horas de ser expuestas al nematodo esto es debido a que el insecticida actúa principalmente por ingestión atacando su sistema nervioso, provocando parálisis y la muerte en un corto tiempo, los nematodos no infectaron las larvas en 48 horas por que ya estaban muertos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de mortalidad y de infectividad de larvas de *G. mellonella* expuestas a JIs de *H. bacteriophora* expuestos al 100% de la dosis por 24 horas, Zamorano. Honduras. 2010.<sup>1</sup>

Tratamiento	Mortalidad (%)	Infectividad (%)
Imidacloprid	100a	100.0 a
Rynaxypyr	100a	88.0 a
Chlorpyrifos	92a	43.0 b
Abamectina	0b	0.0 c
Spinosad	100a	95.0 a
Bifentrina	100a	20.0 bc
Testigo	100a	98.0 a

<sup>1</sup>Valores en la misma columna con distinta letra, difieren estadísticamente entre si ( $P \leq 0.05$ ).

#### 4. CONCLUSIONES

- La susceptibilidad del nematodo entomatógeno *H. bacteriophora* a los tratamientos Abamectina, Carbofuran, Chlorpyrifos, Fipronil y Oxamilo, es la más alta provocando el mayor porcentaje de mortalidad en concentraciones de 50 y 100% de la dosis recomendada por el fabricante.
- La susceptibilidad del nematodo *H. bacteriophora* es menor a los productos Rynaxypyr, Imidacloprid y Spinosad, ocasiona los porcentajes de mortalidad hasta un 60%, no afectando la capacidad infectiva de los JIs sobrevivientes.
- La capacidad infectiva del nematodo *H. bacteriophora* se ve reducido cuando son expuestos a los plaguicidas Bifentrina y Chlorpyrifos. De igual forma los nematodos expuestos a Abamectina son los más afectados ya que no logran infectar ninguna larva *G. mellonella*, aunque existe un porcentaje de sobrevivencia al insecticida en periodos de 24 horas.

## 5. RECOMENDACIONES

- Evaluar la capacidad infectiva de los nematodos expuestos a las diferentes concentraciones de los plaguicidas usados en la producción de hortalizas.
- Realizar aplicaciones de *H. bacteriophora* en mayor cantidades cuando se han realizado aplicaciones con los plaguicidas Rynaxypir, Imidacloprid y Spinosad.
- Realizar aplicaciones de *H. bacteriophora* en mayor cantidad cuando se han realizados aplicaciones con plaguicidas del grupo químico, Nicotinoides, Spinosinas y Diamidas antranilicas, por tener menor efecto sobre los nematos.

## 6. LITERATURA CITADA

Fernández, E.; Arteaga, E.; Pérez, M. s.f. Utilización de los nematodos entomopatógenos en el control de plagas agrícolas. Laboratorio de nematología INISAV. Cuba; (en línea). Consultado 18 de octubre. 2010. Disponible en: <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/NEMA-ENT.htm>

Odindo, M. O. (1992). Future prospects for application of insect pathogens as component of Integrated Pest Management in tropical root crops. *Biocontrol, Sci-Technol* (en línea). Consultado el 15 de octubre. 2010. Disponible en: <http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all~content=a902524746>

Palomo Soriano, A.; García del Pino, F. 2000. Compatibilidad de los Nematodos Entomopatógenos (Rhabditida: Steinernematida y Heterorhabditidae) con el Oxamilo. *Bol. San. Veg. Plagas*: 26: 377-387.2000

Rosvesti, L.; Heinzpeter, E. W.; Tagliente, F.; Deseo, K. V. 1989. Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). *Nematologia*. 34(4), 462-476.

Weeden, C. R.; Shelton, A. M.; s.f. Hoffman, M. P. *Biological Control: Guide to natural enemies in North America* (en línea). Consultado 18 de octubre. 2010. Disponible en: <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/nematodes.html>