

EFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DE CEPAS DE *Heterorhabditis bacteriophora* (POINAR, 1990) SOBRE LA MORTALIDAD DE LARVAS III DE *Ceratitis capitata* (WIEDMANN, 1824) SILVESTRES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

Yesika Velarde Zarate¹, Whilly Soberanis Ramirez¹, Hilda Gamarra Soto¹, Yuliana Chavez García¹ y Luis Jara Rivera¹

¹ Subdirección de Control Biológico – Sede Central, SENASA
Correspondiente al Autor: yvelarde@senasa.gob.pe

INTRODUCCIÓN

En el Perú, los dos principales géneros de moscas de la fruta que causan daño son: *Ceratitis capitata* y el complejo de *Anastrepha* ocasionando pérdidas estimadas en 100 millones de dólares anuales limitando las exportaciones y ocasionando sobrecostos por tratamiento postcosecha. El Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), ejecuta acciones para el control mediante, liberaciones de insectos estériles (TIE) y la aplicación de producto GF 120, sin embargo, según la FAO/OIEA 2019, este producto no se aplica en todas las áreas, por lo que se convierten en reservorios potenciales de la plaga de donde se originaran las infestaciones de la fruta, reduciendo la efectividad de la TIE. En tal sentido hay una necesidad de desarrollar nuevas alternativas de control complementarias, especialmente aquellas que tengan un menor impacto en el ambiente y que sea inocuo para los humanos. El uso de nematodos entomopatógenos (NEPs) representa una opción eficaz para el control sostenible de moscas de la fruta, por lo que en el presente estudio se plantea evaluar el efecto de cuatro concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* sobre la mortalidad de larvas III de *Ceratitis capitata* silvestres bajo condiciones de laboratorio

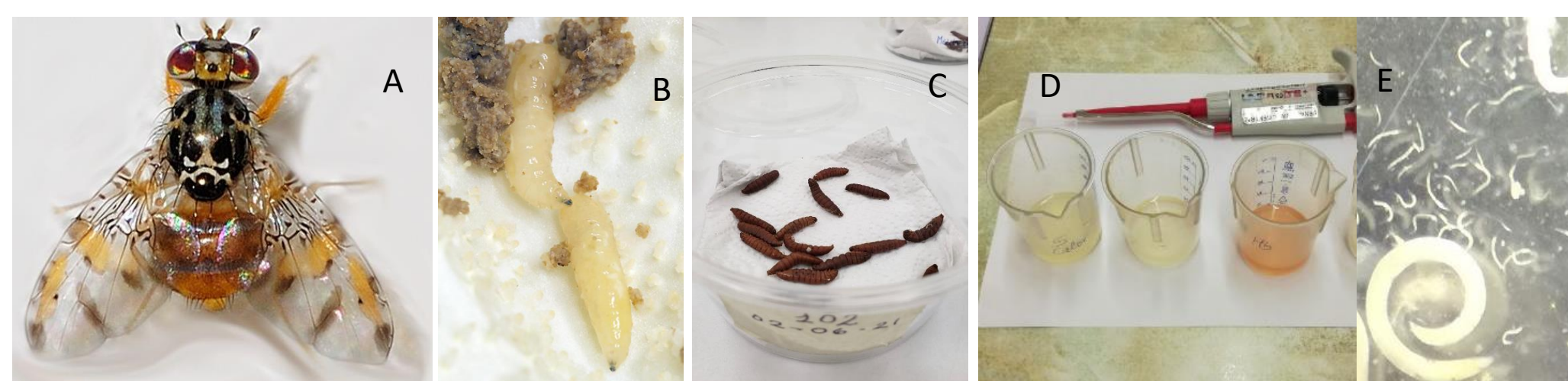


Figura 1. A. Adulto de *C. capitata* B. Larvas de *C. capitata* C. Larvas infectadas de *G. melonella* infectada con NEPs D. Inóculos de las tres cepas de nematodos entomopatógenos E. Juveniles y adultos de NEPs

OBJETIVOS

- Determinar la cepa que causa mayor porcentaje de mortalidad en larvas III de *C. capitata* silvestre.
- Determinar la concentración que causa el mayor porcentaje de mortalidad en las larvas III de *C. capitata* silvestre.
- Determinar la concentración letal media (CL 50) de *Heterorhabditis bacteriophora* sobre larvas III de *C. capitata* silvestre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla 1. Cepas de NEPS empleadas en el ensayo

cepas de NEPs	DOSIS	LARVAS III	REP	TOTAL DE LARVAS
SCB_LN1001	50	20	5	100
	100	20	5	100
	200	20	5	100
	300	20	5	100
SCB_LN1002	50	20	5	100
	100	20	5	100
	200	20	5	100
	300	20	5	100
SCB_LN1007	50	20	5	100
	100	20	5	100
	200	20	5	100
	300	20	5	100
TESTIGO	0	20	5	100
	0	20	5	100
	0	20	5	100
	0	20	5	100
TOTAL				1600

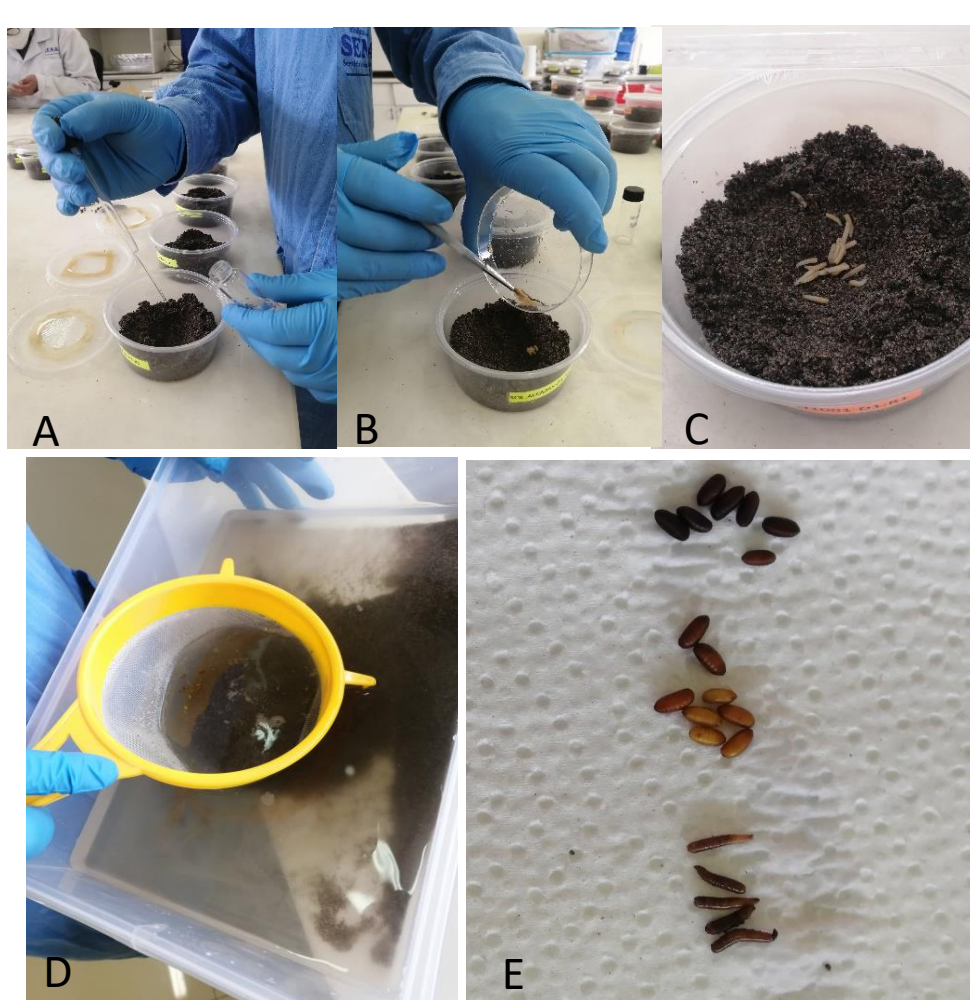


Figura 2. A. Inoculación de suspensión de NEPS en sustrato arena B. Incorporación de 20 LIII *C. capitata* D. Tamizado en agua para separar las pupas y larvas E. Pupas larvas recuperadas después de 6 días de infección.

A los 6 días después de la exposición de las larvas III de *C. capitata* a los nematodos se procedió a tamizar el suelo de cada taper, vaciando a un tamizador. El tamizador se expuso a una bandeja con agua, la cual permitió pasar la arena, pero impidió el paso de las pupas y/o larvas (Figura 2. D). Este material biológico con ayuda de un pincel se colocó en un papel toalla y se seleccionaron por grupos de infectadas y no infectadas (Figura 2. E). Se evaluó el número de pupas y/o larvas con cambio de coloración a rojo ocre, indicativo del parasitismo por nematodos. Se disecaron y observaron las pupas y/o larvas al estereomicroscopio para confirmar la presencia de NEPs, (Figura 3. A y B) determinando así el porcentaje de mortalidad.

Para el análisis estadístico se utilizó el software estadístico The R-project for Statistical Computing v4.0.5 y The RStudio v1.4.1717. Se analizaron los datos de mortalidad usando el análisis de Varianza (ANVA), validando la prueba con los supuestos de Shapiro prueba de normalidad y Barlett Prueba de Homogeneidad de Varianzas. La concentración letal media CL50 fueron estimados utilizando un modelo Probit (Pc Probit, SAS Institute 1992).

Las tres cepas de nematodos entomopatógenos empleadas en el ensayo fueron proporcionadas por el banco de cepas de la subdirección de control biológico (SCB) del SENASA Perú (Tabla 1). Estas cepas corresponden al género *Heterorhabditis bacteriophora*. Las cepas CCB_LN 1001 Y CCB_LE 1002, se colectaron del espárrago en Lima y Cepa CCB_LE 1007 fue colectada de Papa en Junín.

La mosca *C. capitata* silvestre fue criada masivamente por el área de crianza de insecto benéficos (CIU-SCB).

Para el ensayo de las cepas de NEPS en larvas III de mosca de la fruta, se emplearon taper de plástico con capacidad de 250 ml. Las tapas se acondicionaron con tela tul para ventilación. A cada taper se incorporó 200 gr de arena esterilizada. Se ajustó la humedad del suelo a 15% (p / p) mediante la adición de agua destilada.

Se preparó el inóculo a partir de larvas de *G. melonella* infectadas con las tres cepas NEPS ensayadas (Figura 1. C, D, E). Cinco ml de la suspensión de Neps preparada a las dosis de 50, 100, 200 Y 300 JIS /Larva se añadieron a cada taper, con ayuda de una pipeta (Figura 2. A). La suspensión fue depositada en el centro del taper, donde se colocarían larvas. Treinta minutos después de depositar el inóculo en sustrato, se incorporó con ayuda de un pincel las 20 larvas III de *C. capitata* silvestre, (Figura 2. B y C).

Las larvas fueron depositadas en el centro del taper, al cabo de unos segundos se enterraron en la arena. (Figura 2. C). Las larvas que no se enterraron se cambiaron por otras.

Al tratamiento de control se aplicó solamente Agua Destilada Estéril (ADE). Una vez listos todos los tratamientos los tapers se pusieron a incubar en condiciones de temperatura de 27 ± 2 °C y una HR de 65 % ± 5.

RESULTADOS

Gráfico 1. % de Mortalidad de LIII de *C. capitata* expuesta a 50, 100, 200 y 300 JIS/larva

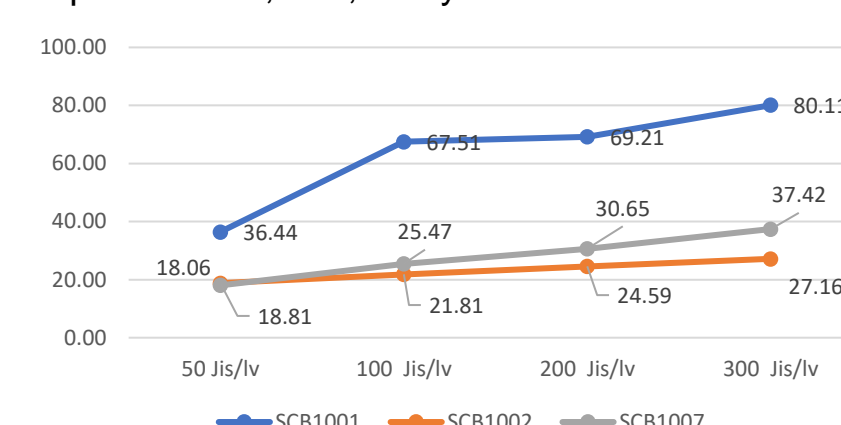


Tabla 2. Grupos diferenciales del efecto de cepa versus concentraciones

Cepa	Dosis JIS/LIII	Media	Desviación estándar	Letra asignada
SCB_LN 1001	300	80.11	13.14	a
SCB_LN 1001	200	69.21	14.58	ab
SCB_LN 1001	100	67.514	8.16	ab
SCB_LN 1007	300	37.422	11.69	bc
SCB_LN 1001	50	36.444	20.89	bc
SCB_LN 1007	200	30.654	7.38	c
SCB_LN 1002	300	27.158	18.11	c
SCB_LN 1007	100	25.474	5.94	c
SCB_LN 1002	200	24.586	9.42	c
Testigo	0	23.632	13.99	c
SCB_LN 1002	100	21.812	11.42	c
SCB_LN 1002	1000	18.81	12.44	c
SCB_LN 1007	50	18.056	21.51	c
Testigo	0	14.882	16.07	c
Testigo	0	12.526	14.76	c
Testigo	0	6.55	9.88	c



Figura 3. A. Larvas y pupas de 6 días conteniendo en su interior JIS y adultos de NEPs. B. Emergencia de JIS y adultos de NEPs de las larvas y pupas disecadas vistas al microscopio.

DISCUSIONES

La mayoría de las larvas de *C. capitata* expuestas al nematodo murieron durante la etapa de pupa. Este hecho también fue observado por Rohde et al. (2010) mientras estudiaban la susceptibilidad de larvas de *C. capitata*, a los nematodos entomopatógenos.

Rohde, et al 2012, al estudiar el efecto de concentraciones de *Steinernema* y *Heterorhabditis* en *C. capitata*, determinaron que la curva de mortalidad de larvas causadas por *S. carpocapsae*, obtuvo una mortalidad máxima del 99,49% a una concentración de 274 Ji / insecto, mientras que para *Heterorhabditis* sp. RSC01 el máximo fue 69,88% a una concentración de 293 Ji / insecto. Para ambos nematodos la mortalidad fue directamente proporcional al aumento de la concentración. En nuestro caso se obtuvo similar comportamiento en la curva de mortalidad de *Heterorhabditis*, al incrementar la dosis de 50, 100, 200 y 300 Jis /larva la mortalidad se incrementa desde 36.44 al 80.11% en la cepa SCB_LE 1001 (Gráfico 1) (Tabla 2). En contraste Minas, et al. 2016, encontró que a dosis más bajas de 45 a 105 Jis/ 3larvas de *C. capitata* obtuvieron mortalidades altas de 80 al 100%. Sin embargo, al probar concentraciones mayores a 105 Jis/larva obtuvieron una tendencia de la curva a disminuir el porcentaje de mortalidad, debido a que una alta concentración de Jis provocó una competencia intraespecífica. Yağcı et al. 2021, probaron cuatro concentraciones (0, 50, 100, 200 Jis / cada estadio de *C. capitata*) encontrando una alta mortalidad de 91 y 94 % para dos cepas de *H. bacteriophora* a una dosis de 200 Jis/Larva.

Foelkel, et al. (2016), al estimar DL50 y DL90, de *S. carpocapsae* en larvas de *A. fraterculus*, estimaron 96.3 Jis /larva. Similares resultados se hallaron para nuestro ensayo donde el DL50 fue de 97 JIS /LIII de *C. capitata* para la cepa SCB-LN1001. (Gráfico 2.)

CONCLUSIONES

- La cepa que causó mayor mortalidad en larvas III de *C. capitata* silvestre corresponden a la cepa SCB_LN 1001 con 80.11 %.
- La concentración más alta 300 JIS/larva de *C. capitata* causa el mayor porcentaje de mortalidad.
- La cepa SCB_LN 1001 requiere menor cantidad de inoculo, 97 Jis/LIII para infectar y matar al 50 % de larvas de *C. capitata*, en tanto que las cepas SCB_LN 1002 y SCB_LN 1007 requiere mayor cantidad de inoculo 19,600 y 3,990 Jis/LIII para matar al 50 % de larvas de *C. capitata*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FAO/IAEA. (2019). Uso de Hongos Entomopatógenos para el Control de Moscas de la Fruta en Programas TIE en Área Amplia. A. Villaseñor, S. Flores, S. E. Campos, J. Toledo, P. Montoya, P. Liedo y W. Enkerlin (eds.), Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación/Organismo Internacional de Energía Atómica. Viena, Austria. 46 pp. (en línea). <http://www-naweb.iaea.org/nafa/ipc/10072019-esp.pdf>
- Foelkel, E.; Bittencourt, E.; Marcio Voss, M. (2016). Ciência Rural, Santa Maria, v.46, n.3, p.405-410. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150370>.
- Minas RS, Souza RM, Dolinski C, Carvalho RS, Burla RS. (2016). Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) to control Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) soil stages. Nematoda, 3: ed. <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.02016>.
- Rohde, C.; Ramos; N.; Alcides Moino, A. (2012). Entomopathogenic Nematodes on Control of Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). Rev. Caatinga, Mossoró, v. 33, n. 4, p. 974 – 984. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n412rc>.
- Yağcı, M.; Akdeniz, T.; Erdoğan M.; and Şahin, M. (2021). Virulence of four entomopathogenic nematode against different stages of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). Egypt J Biol Pest Control 31:126. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00472-9>.