

## ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

APPLICATION TO SMALL-SCALE FIELD OF *STEINERNEMA RIOBRAVIS* CABANILLAS, POINAR & RAULSTON, 1994 (NEMATODA, STEINERNEMATIDAE), THERMO TRILOGY STRAIN AGAINST *NEOCURTILLA CLARAZIANA* (SAUSSURE, 1874) (ORTHOPTERA, GRYLLOTALPIDAE) IN GARDENS OF LA PLATA, ARGENTINA

APLICACIÓN A CAMPO A PEQUEÑA ESCALA DE *STEINERNEMA RIOBRAVIS* CABANILLAS, POINAR & RAULSTON, 1994 (NEMATODA, STEINERNEMATIDAE), CEPA THERMO TRILOGY CONTRA *NEOCURTILLA CLARAZIANA* (SAUSSURE, 1874) (ORTHOPTERA, GRYLLOTALPIDAE) EN JARDINES DE LA PLATA, ARGENTINA

Guillermo R. Reboredo<sup>2,3</sup>; Nora B. Camino<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Investigador CIC. <sup>2</sup>Profesional de Apoyo CONICET. <sup>3</sup>Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, CEPAVE, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y tecnológicas, CONICET - Universidad Nacional de La Plata, UNLP - Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires, CIC. Calle 122 y 60, 1900 La Plata  
nemainst@cepave.edu.ar

Suggested citation: Reboredo, GR & Camino, NB. 2014. Application to small-scale field of *Steinernema riobravus* Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994 (Nematoda, Steinernematidae), thermo trilogy strain against *Neocurtilla claraziana* (Saussure, 1874) (Orthoptera, Gryllotalpidae) in gardens of La Plata, Argentina. *Neotropical Helminthology*, vol. 8, n°1, jan-jun, pp. 77 - 83.

### Abstract

*Steinernema riobravus* Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994, Thermo Trilogy strain (Nematoda, Steinernematidae) was the nematode species used for application to small-scale field against *Neocurtilla claraziana* (Saussure, 1874) (Orthoptera, Gryllotalpidae), a pest of soil in three gardens of Gran La Plata, Argentina. Assays were performed with dosages of 6,000, 10,000, 20,000, 40,000 and 80,000 nematodes per 3 m<sup>2</sup>, with a density of 32 ± 7 mole crickets/3 m<sup>2</sup>. The application was performed with hand sprayer. The percentages of effectiveness varied in different gardens, the first lower dose was 65% ± 15.67 and the highest dose was 83% ± 22.25, with ± 80% being the average dose 18.56. For the second garden 50% ± 8.31 for the low dose and 76% ± 21.15 for medium and higher, and for the third garden the lower dose was 42 ± 15.87%, the highest dose of 66% ± 18.32 and the mean dose of 60 ± 17.92%. We observed in the first three days post-treatment the highest percentages of infection for all doses, on day seven effectiveness for different doses significantly decreased nearing the end of post-treatment (day 31) with 0% for the three trials. This study demonstrated the potential of entomopathogenic nematodes as biological control agents, resulting in the introduced entomonematodo as an effective biological control agent for mole crickets.

**Keywords:** Argentina - biocontrol assays - mole cricket - *Steinernema riobravus*.

## Resumen

*Steinernema riobris* Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994, cepa Thermo Trilogy (Nematoda, Steinernematidae) fue la especie de nemátodo utilizada para la aplicación en campo a pequeña escala contra *Neocurtilla claraziana* (Saussure, 1874) (Orthoptera, Gryllotalpidae), una plaga del suelo en tres jardines del Gran La Plata, Argentina. Los ensayos se realizaron con las dosis de 6.000, 10.000, 20.000, 40.000 y 80.000 nemátodos por 3 m<sup>2</sup>, con una densidad de 32 ± 7 grillotopos/3 m<sup>2</sup>. La aplicación fue realizada con un pulverizador manual. Los porcentajes de efectividad registrados en los diferentes jardines variaron, entre 65% ± 15,67 para la dosis menor y 83% ± 22,25 para la mayor, con un 80% ± 18,56 para la dosis media. Para el segundo jardín 50% ± 8,31 para la dosis menor y 76% ± 21,15 para la media y mayor, y para el tercer jardín 42% ± 15,87 para la dosis menor, 66% ± 18,32 para la mayor y 60% ± 17,92 para la dosis media. Registrándose en los tres primeros días post-tratamiento los mayores porcentajes de infección para todas las dosis. En el día siete la efectividad para las diferentes dosis disminuyó significativamente llegando al final del post-tratamiento (día 31) con un 0% para los tres ensayos. Este estudio demostró el uso potencial de nemátodos entomopatógenos como agentes de control biológico, resultando este entomonemátodo introducido en un eficaz agente de control biológico para grillotopos.

**Palabras clave:** Argentina - ensayos de biocontrol – grillotopo - *Steinernema riobris*.

## INTRODUCCIÓN

El daño que ocasionan los grillotopos en el suelo es de gran consideración, ya que destruyen gran parte de la cubierta herbácea y cultivos hortícolas (Singh Somvanshi *et al.*, 2006). El grillotopo es un insecto dañino del suelo, se alimenta de las raíces siendo su acción fácilmente visible en el terreno. Son insectos masticadores que construyen galerías subterráneas, con sus patas anteriores desarrolladas, desde donde atacan los tubérculos y raíces del césped y de todo tipo de plantas, llegando a ser una verdadera plaga en época estival. El grillotopo ocasiona severos problemas en jardines, sembradíos, canchas de golf, rugby, football, etc., manifestándose como si el suelo quedara sin vegetación, apareciendo sectores de césped amarillo al principio, luego manchones sin pasto y manifiestas áreas sin cubierta vegetal (Frank *et al.*, 1999).

La primera manifestación de su existencia son pequeños montículos de tierra floja, fáciles de apreciar fundamentalmente por la mañana, siendo confundidos como actividad de hormigas

o lombrices. Hasta el momento esta plaga generalmente es tratada sólo con productos químicos perjudiciales para el ambiente como son los insecticidas fosforados, carbamatos, piretroides o fipronil (Ware & Whitacre, 2004). Mediante este proceso, el grillotopo toma contacto con el insecticida y muere. El uso de un entomonemátodo patógeno para el control de esta plaga constituye una alternativa biológica, eficaz, sana y comprometida con el ambiente (Frank & Walker, 2006). Las especies del género *Steinernema* Travassos, 1927, corresponden a nemátodos entomopatógenos (EPN) mutuamente asociados con una bacteria entérica, que se utilizan a nivel mundial para el control biológico de insectos. Ellos controlan una amplia e importante lista de hospedadores (Travassos, 1927).

Los nemátodos constituyen un grupo de parásitos y patógenos comunes en insectos que pueden producir importantes epizootias naturales con elevadas prevalencias (Frank & Walker, 2006). Son capaces de regular las poblaciones de insectos y mantenerlas por debajo de los niveles de daño económico. La

familia Steinernematidae del orden Rhabditida posee características que los convierten en excelentes candidatos como agentes de biocontrol, entre ellas, su elevada patogenicidad y virulencia, persistencia en el medio, especificidad relativamente alta y factibilidad de cultivo y producción (García *et al.*, 2008). Por lo que el objetivo de este trabajo es demostrar la efectividad de este nemátodo contra grillotopos en la zona de Buenos Aires, Argentina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El entomonemátodo *Steinernema riobravivis* Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994, cepa Thermo Trilogy fue producido y mantenido *in vivo* en el laboratorio (Poinar, 1979; Cabanillas *et al.*, 1994) con *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) realizando infecciones directas. La colonia fue establecida en el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, CEPAVE, Argentina. Se realizaron primeramente bioensayos preliminares en el laboratorio, respetando las infecciones y el tiempo de cuarentena. Se utilizaron 10 larvas del 4<sup>to</sup> estadio del lepidóptero, poniéndose en contacto con 60 juveniles infectantes (JI) por larva del insecto (60 JI/larva). Los JI fueron almacenados en agua destilada a 10° C en frascos plásticos de cultivo de tejidos, teniendo una antigüedad no mayor de 2 meses.

Los tres jardines fueron seleccionados a raíz de consultas de particulares sobre el daño que estos insectos ocasionaban en el césped y el conocimiento sobre el uso de insecticidas domésticos (fosforados, carbamatos, piretroides o fipronil) con la posible intoxicación de niños y mascotas. Los jardines seleccionados en el Gran La Plata fueron tres: en City Bell (34° 52'1,41''S, 58° 02'48,27''O), Tolosa (34°53'40,63''S, 57°58'52,92''O) y Gonnet Bell (34°53'11,25''S, 58°02'08,41''O). En cada uno de los jardines se dividió el terreno a tratar en parcelas tomadas al azar de 3 m<sup>2</sup> (n = 5) separadas 1 m de las parcelas control (n = 5) que no tuvieron la aplicación del nemátodo.

Los ensayos se realizaron en cuatro oportunidades con un espacio de tiempo de 32 días en cada uno de los predios seleccionados, utilizando para cada uno las siguientes dosis, obtenidas por el método volumétrico, en una relación de 6.000 (dosis menor), 10.000, 20.000, 40.000 y 80.000 (dosis mayor) nemátodos para la unidad de 3 m<sup>2</sup>, con una densidad de 32 ± 7 grillotopos/3 m<sup>2</sup> (dato obtenido con muestreos al azar 24 h antes del ensayo). La aplicación fue realizada en suspensión con pulverizador manual de 1 L de capacidad en agua destilada esterilizada (dureza suave: 70mg/L, conductividad: máx. 2 µs, pH 25°C: 7.00).

La experiencia se realizó en la primavera de octubre-noviembre de 2010, fecha de mayor actividad de la plaga que coincide con el inicio del período estival con humedad relativa del 60%. Las aplicaciones se efectuaron en las primeras h de la mañana para evitar los rayos ultravioleta y la evaporación del agua que dañarían el accionar de los nemátodos. El protocolo de las experiencias requirió un riego de 1,7 mL·m<sup>-2</sup> previo y posterior a la aplicación del nemátodo, para que estos se dispersen atravesando el mantillo herbáceo (altura de 5 cm). La temperatura del suelo a cm de profundidad fue de 16°C ± 2, pH de 6,8-7,2 y la humedad del suelo entre 18 y 23%, para cada jardín. *S. riobravivis* se aplicó con pulverizador, evitando las unidades testigos. Luego de la aplicación se tomaron muestras en cada parcela de aplicación y en las control (n = 5), tarea que se llevó a cabo manualmente con pala (10 x 10 x 10 cm) a las 24, 48 y 72 h y luego cada 4 días hasta completar el mes de post-aplicación sumando un total de nueve muestras. Los grillotopos capturados eran colocados en cápsulas de Petri para determinar la infección y aquellos que mostraban síntomas de estar parasitados (ninfas momificadas) se colocaron en trampas de White (25°C ± 2) para recuperar los nemátodos (Woodring & Kaya, 1988).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los porcentajes de efectividad hallados en los diferentes jardines (promedio ± desviación

estándar) variaron, para el de City Bell (Fig. 1) entre  $65\% \pm 15,67$  para la dosis menor y  $83\% \pm 22,25$  para la mayor, con un  $80\% \pm 18,56$  para la dosis media. Para el jardín de Tolosa (Fig. 2)  $50\% \pm 8,31$  para la dosis menor y  $76\% \pm 21,15$  para la media y mayor, y para el jardín de Gonnet Bell (Fig. 3)  $42\% \pm 15,87$  para la dosis menor,  $66\% \pm 18,32$  para la mayor y  $60\% \pm 17,92$  para la dosis media. No se observó diferencias significativas entre los tres jardines, ni diferencias en la mortalidad del insecto en las parcelas control de cada uno de los mismos, pero se evidenció el accionar del grillo topo que provocó daños significativos en el suelo, evidenciándose por los clásicos manchones de ausencia de césped.

Como se observa en las tres gráficas (Figs. 1, 2 y 3) el comportamiento del nemátodo sobre el grillo topo fue semejante, registrándose en los tres primeros días post-tratamiento los mayores porcentajes de infección para todas las dosis, siendo para el primer jardín  $75,8\% \pm 9,87$ , para el segundo  $66,2\% \pm 10,07$  y para el tercer jardín  $55,47\% \pm 8,89$ . En el día 7 la efectividad para las diferentes dosis disminuyó significativamente; en el primero disminuyó a  $40,4\% \pm 6,80$  la infección, en el segundo a  $37,6\% \pm 7,19$  y en el tercero a  $28\% \pm 5,83$ , llegando al final del post-tratamiento (días 11 al 31) con los siguientes porcentajes de infección, para el día 11 en el primer jardín mostró un  $28\% \pm 9,77$ , para el segundo  $23,6\% \pm 8,73$  y para el tercero  $17\% \pm 9,30$ , terminando el día 31 con un 0% para los tres ensayos.

Las dosis óptimas registradas fueron las de 10.000 y 20.000 nemátodos para la unidad de 3 m<sup>2</sup>; con estas dosis se obtiene un resultado satisfactorio de infección durante los primeros tres días de aplicación, disminuyendo la población de grillo topos a un 20% aproximadamente, cantidad cuyo accionar no provoca daño significativo. Las dosis superiores (40.000 y 80.000) si bien mostraron un resultado parecido a las menores, económicamente no son eficaces ya que demandarían más cantidad de nemátodos por hospedador para obtener el mismo resultado, es decir aumentaría el costo de su producción.

La utilización de este enemigo natural podría constituir un elemento más del manejo integrado de plagas, ya que reduce la población de la misma. La finalidad de la introducción y colonización de este patógeno, liberado en un ambiente en el que no se encuentra presente, fue la de establecerse en el espacio y el tiempo (Frank & Walker, 2006).

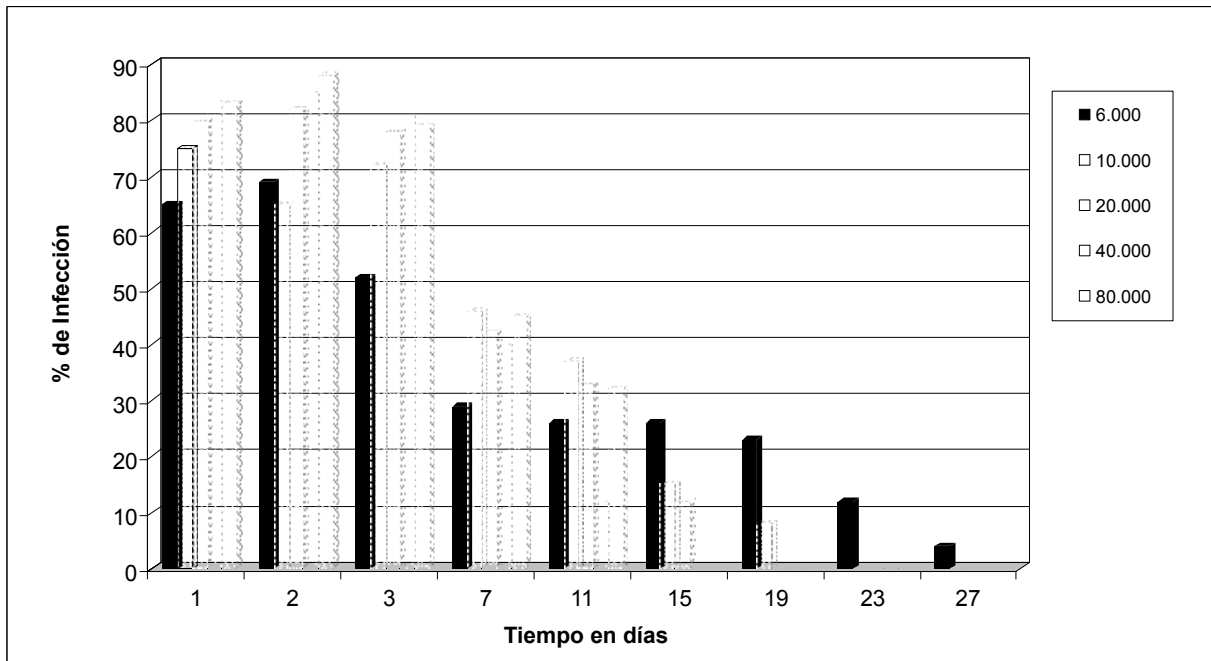
Además es importante el manejo del agroecosistema y del patógeno, los cuales se refieren a aquellas prácticas que favorezcan la permanencia del entomonemátodo en la población hospedadora. Los factores involucrados en los procesos epizooticos son muy variados y pueden relacionarse con la susceptibilidad del hospedador al patógeno (comportamiento, fisiología) factores relacionados con la población del patógeno (patogenicidad, infección, virulencia) y factores ambientales tales como temperatura, humedad, suelo, agroquímicos, etc.

Para nuestra experiencia, la técnica de aplicación por pulverización fue el método seleccionado más eficaz para las evaluaciones a pequeña escala de nemátodos en jardines contra grillo topos, insectos plaga del suelo. Hubo control, reduciendo la población y los niveles de daños de la plaga a valores no significativos, lo que se vio reflejado en la evidente mejora del césped.

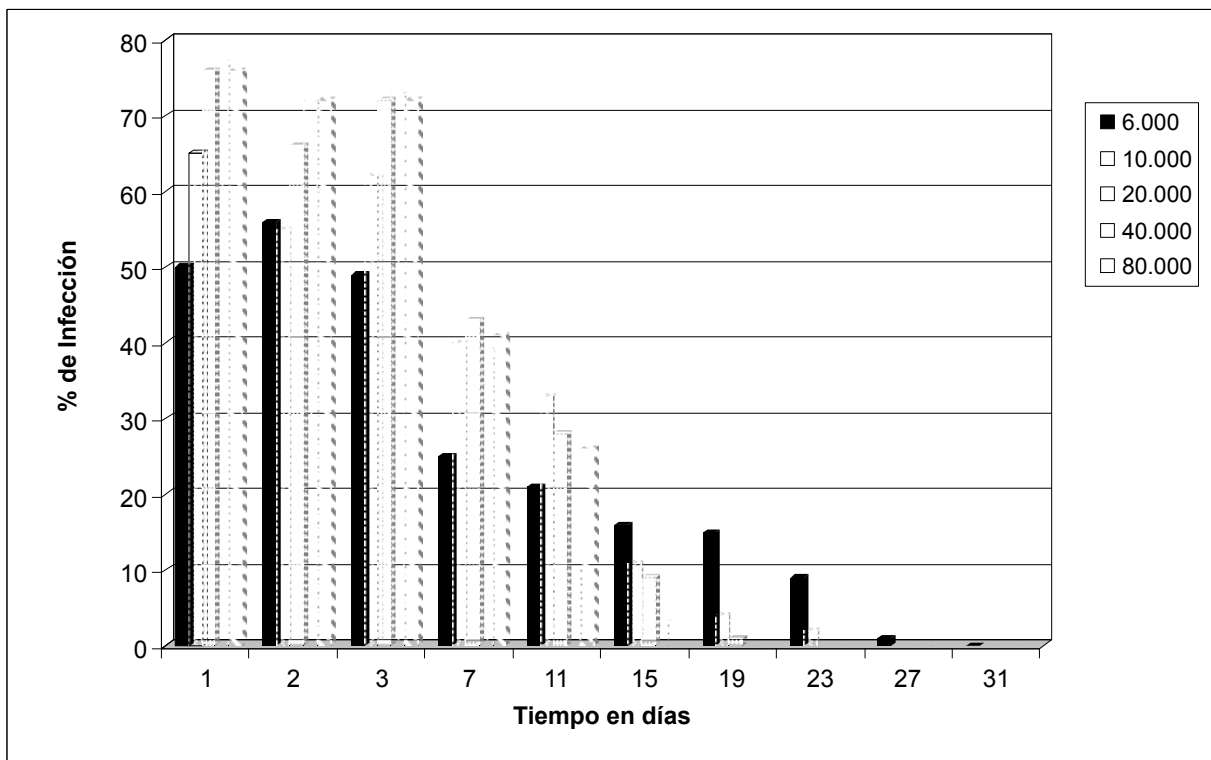
Este estudio demostró el uso potencial de nemátodos entomopatógenos como agentes de control biológico, resultando este entomonemátodo introducido un eficaz agente de control biológico para grillo topos.

## AGRADECIMIENTOS

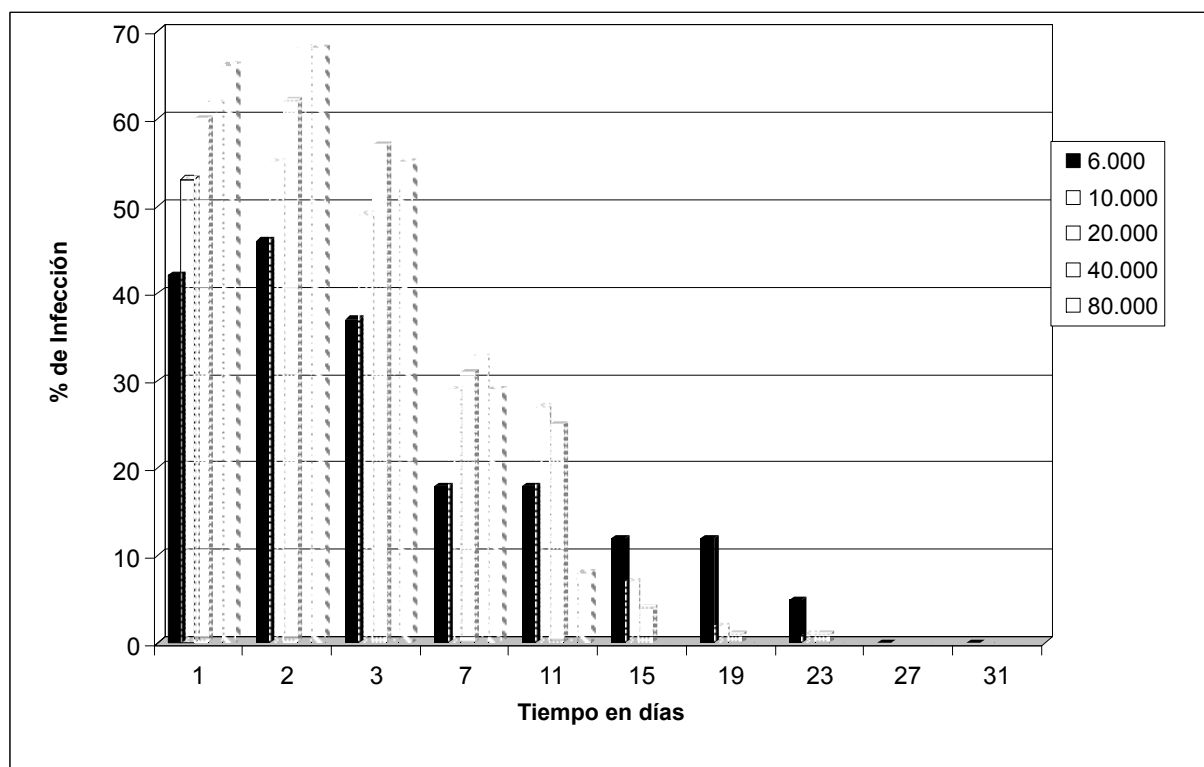
Los autores desean agradecer la inestimable colaboración brindada por los propietarios de los jardines donde se llevaron a cabo los ensayos



**Figura 1.** Porcentaje de parasitismo en diferentes dosis de *Steinerinema riobravis* en un jardín de de City Bell 30 días post-tratamiento.



**Figura 2.** Porcentaje de parasitismo en diferentes dosis de *Steinerinema riobravis* en un jardín de Tolosa 30 días post-tratamiento.



**Figura 3.** Porcentaje de parasitismo en diferentes dosis de *Steinernema riobravris* en un jardín de Gonnet Bell 30 días post-tratamiento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cabanillas, HE, Poinar, GO Jr & Raulston, JR. 1994. *Steinernema riobravris* n. sp. (*Rhabditida: Steinernematidae*) from Texas. *Fundamental and Applied Nematology*, vol. 17, pp.123-131.
- Frank, H, Grissom, C, Williams, C, Jennings, E, Lippi, C & Zerba, R. 1999. *A beneficial nematode is killing pest mole crickets in some Florida pastures and is spreading*. *Florida Cattleman*, vol. 63, pp. 31-32.
- Frank, JH & Walker, TJ. 2006. *Permanent control of pest mole crickets (Orthoptera: Gryllotalpidae: Scapteriscus) in Florida*. *American Entomologist*, vol. 52, pp. 138-144.
- García, LC, Raetano, C & Leite, LG 2008. *Application technology for the entomopathogenic nematodes Heterorhabditis indica and Steinernema sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) to control Spodoptera frugiperda (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn*. *Neotropical Entomology*, vol. 37, pp. 305-311.
- Poinar, GO Jr. 1979. *Nematodes for biological control of insects*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 277 pp.
- Singh Somvanshi, V, Ganguly, S & Paul, AVN. 2006. *Field efficacy of the entomopathogenic nematode Steinernema thermophilum Ganguly and Singh (Rhabditida: Steinernematidae) against diamondback moth (Plutella xylostella L.) infesting cabbage*. *Biological Control*, vol. 37, pp. 9-15.
- Travassos, L. 1927. *Sobre o genero Oxytrematum*. *Boletim Biologico*, vol. 5,



pp. 20-21.

Ware, GW & Whitacre, DM. 2004. *The Pesticide Book*. Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio. 6<sup>th</sup> Ed. 496 pp.

Woodring, LJ & Kaya, KH. 1988. *Steinernematid and Heterorhabditid nematodes. A Handbook of biology and techniques*. Southern Cooperative Series

Bulletin. A publication of the nematode subcommittee of the Southern Research Project S135- Entomopathogens for use in Pest Management Systems. Arkansas Agricultural Experimental Station , Fayetteville Arkansas. 30 pp.

Received February 28, 2014.  
Accepted April 13, 2014.