

EFICIENCIA DE NUEVOS AISLAMIENTOS DE *Deladenus siricidicola* B. EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Sirex noctilio* F.

EFFICIENCY OF NEWS ISOLATIONS OF *Deladenus siricidicola* B. IN THE BIOLOGICAL CONTROL OF *Sirex noctilio* F.

Edgar R. Eskiviski¹

Olga de Coll¹

Gabriela S. Faraldo²

Mario A. Bennesch²

¹ Técnico Area de Protección vegetal. INTA E.E.A. Montecarlo. proteveg@ceel.com.ar

² Tec. de Laboratorio de Cría de nematodos. INTA E.E.A. Montecarlo.

SUMMARY

The installation of a laboratory for production of the nematode *Deladenus siricidicola* for the biological control of the *Sirex noctilio* was as consequence of the introduction of that pest on *Pinus* forestry of the Mesopotamia region. In this work was evaluated the parasitism capacity of new isolated nematodes from two sites in the Northern of Misiones. That was to compare whit the parasitism of the older strain whit three year kept in laboratory and control logs without nematode inoculation. The largest level of parasitism was reached for the new isolated nematodes, thus to maintain the virulence of strain, is necessary the renewal of that for new nematodes isolation.

Key words : *Deladenus*, *Sirex*, *Pinus*, parasitism, isolation.

RESUMEN

El impacto de la introducción de *Sirex noctilio* en la región mesopotámica, trajo como consecuencia la instalación de un laboratorio para la cría del nematodo *Deladenus siricidicola*, que es el agente de control mas efectivo para esta plaga que afecta las forestaciones del genero *Pinus*. En el presente trabajo se evalúa, en dos sitios en el norte de la provincia de Misiones, la capacidad de parasitismo de nuevos aislamientos del nematodo. Se los comparó con el parasitismo producido por nematodos procedentes de una cepa con tres años de mantenimiento en laboratorio y trozas testigo sin inocular. Los mas altos niveles de parasitismo se alcanzaron con material proveniente de los nuevos aislamientos. Por lo tanto para evitar la pérdida de virulencia de las cepas, es necesario renovar regularmente la misma a partir de nuevos aislamientos de nematodos.

Palabras clave: *Deladenus*, *Sirex*, *Pinus*, parasitismo, aislamiento.

INTRODUCCIÓN

La avispa barrenadora de los pinos *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae) es una de las principales plagas que afectan a las plantaciones de las diversas especies cultivadas de *Pinus*. Este insecto tiene su distribución natural en Europa, Asia y Norte de Africa,

actualmente se encuentra introducido en Sudamérica y es una seria amenaza para el patrimonio forestal de toda esta región.

El nematodo *D. siricidicola* está reconocido como el agente mas efectivo para el control de *Sirex noctilio* (IEDE et al; 1998). La característica principal de este nematodo es su compleja biología, ya que su ciclo de vida se divide en una fase micetófaga en la madera de coníferas atacadas por la avispa y otra parte parásitica en el interior del cuerpo del insecto (BEDDING, 1992). En su fase micetófaga en la madera de los árboles atacados por la avispa, *D. siricidicola* se alimenta del hongo *Amylostereum areolatum*, que es simbionte de *S. noctilio* y fuente de alimento de las larvas de este insecto. Durante esta fase el nematodo puede vivir alrededor de 12 días, período en el cual una hembra puede poner en promedio 300 huevos (AKHURST, 1975). Las sucesivas generaciones se desarrollan normal e indefinidamente mientras el nematodo encuentre el hongo, que es su fuente de alimento, en desarrollo (NUTTAL, 1980).

Los nematodos en estado juvenil que se encuentran en cercanías de una larva de *S. noctilio*, y como consecuencia de las diferentes condiciones de pH y concentración de CO₂ se desarrollan en los adultos de la forma parasítica. Estos se caracterizan por tener un tamaño menor que sus progenitores micetófagos y poseen un estilete de mayor tamaño que permite a las hembras fecundadas ingresar en el interior de las larvas de *Sirex*. Durante la fase pupal de su huésped, miles de nematodos juveniles se dirigen al aparato reproductivo, provocando la esterilidad en los huevos de las hembras de *S. noctilio* (BEDDING, 1972).

El tipo de alimentación micetófaga de *D. siricidicola* permitió que en Australia se investigue y desarrolle la tecnología para su cultivo en forma masiva en laboratorio y su utilización como controlador biológico de *S. noctilio*. La efectividad del control realizado con *D. siricidicola* en la década de 1970 permitió controlar la plaga en Australia y Nueva Zelanda. Entre los años 1987 y 1989 se produjo una nueva explosión poblacional de *S. noctilio* causando una mortalidad estimada de 1.8 millones de árboles por año, en el denominado "triangulo verde" en el sur de Australia (MADDEN, 1998). Las aplicaciones del nematodo en esas áreas tuvieron como resultado un nivel muy bajo de parasitismo, que se motivó en la perdida de virulencia del nematodo por el mantenimiento de la cepa mas de 20 años en laboratorio de la forma micetófaga sin pasar por una fase parasítica. Esto provocó una selección natural de líneas con menos capacidad de transformación a formas infectivas. Por este motivo se realizaron nuevos aislamientos de *D. siricidicola* de insectos emergidos de *Pinus radiata* provenientes de Kamona (Scottsdale, Australia), donde *D. siricidicola* se encontraba instalado alcanzando altos niveles de parasitismo (BEDDING, 1992).

En Brasil *D. siricidicola* se introduce en 1989 y en el año 1995 se aislan nematodos provenientes de insectos capturados en el municipio de Encruzilhada do Sul, donde *D. siricidicola* alcanzó niveles de parasitismo del 70 a 80 % luego de dos años de realizada la inoculación (PEREIRA LEITE, 1998). En Misiones, y como consecuencia de presencia de la avispa en toda la región mesopotámica, se puso en funcionamiento en 1996 un Laboratorio de Cría Masiva de *Deladenus siricidicola* en la E.E.A. Montecarlo, oportunidad en que se introdujo desde Brasil la mencionada cepa Encruzilhada do Sul y esta misma cepa se reintrodujo en 1999. Desde el año 2000 la producción de dosis de nematodos se realiza a partir de la replicación de *D. siricidicola* aislados de adultos de *S. noctilio* parasitados por el nematodo y capturados en la región.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el parasitismo sobre *S. noctilio* de los nematodos provenientes desde aislamientos recientes realizados a partir de insectos parasitados capturados en el norte de la Provincia de Misiones, versus los aislamientos importados de Brasil, mantenidos por mas tiempo en laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización del área de estudio

El presente estudio se realizó en dos sitios:

- Forestación de 7 has de *P. taeda* de 22 años de edad, con una densidad inicial de plantación de 2200 plantas por hectárea. Localizado en el Lote 49 d, Campo Anexo Manuel Belgrano del INTA, San Antonio, Departamento Manuel Belgrano. Grado de ataque de *S. noctilio*: 3,67%.
- Lote localizado en el paraje denominado Angriman, Municipio de Puerto Esperanza, Departamento Iguazú. Forestación de *P. taeda* de 21 años de edad, con densidad inicial de plantación en el sector de selección de los árboles de 3300 árboles por ha. El grado de ataque de *S. noctilio*: 5,1%.

Selección de las trozas a inocular:

En cada uno de los sitios de estudio se seleccionaron 15 árboles atacados por la avispa según los siguientes criterios: gotas de resina en el tronco, clorosis en la copa, ausencia de orificios de emergencia de insectos adultos y presencia de larvas en el interior del tronco. Entre los meses de junio y julio de 2001 se apearon los árboles adecuados y del tercio medio de cada uno se extrajeron tres trozas de 1,2 m de largo. El número total de trozas en cada sitio fue de 45.

Inoculación de las trozas:

Las aplicaciones de nematodos se realizaron en cuatro puntos distanciados 30 cm entre sí, según lo esquematizado en la **Figura 1**. La metodología de inoculación utilizada es la recomendada por IEDE y PENTEADO (1994). Cada troza se identificó y se trató en sus extremos con fungicida y parafina para proteger a estas de la entrada de hongos y la pérdida excesiva de humedad.

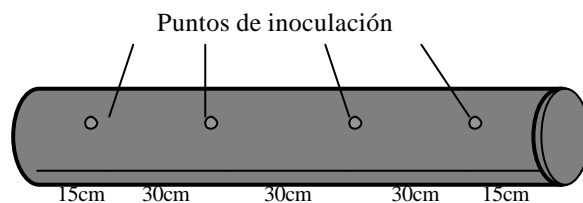


Figura 1. Esquema de las trozas y puntos de inoculación.
Figure 1.

Todas las trozas permanecieron en el sitio donde fueron apeados los árboles e inoculadas las trozas hasta el momento de su recolección. Se colocaron apoyadas en posición horizontal sobre otras trozas evitando de esta manera que tomen contacto directo con el suelo. En la primer quincena del mes de septiembre siguiente, la totalidad de las trozas se transportaron hasta las instalaciones de la E.E.A. Montecarlo y se acondicionaron en jaulas con compartimientos individuales.

Tratamientos a evaluar:

- **Cepa original:** inoculación de nematodos de dosis producidos a partir de la cepa original introducida desde Brasil en 1999 y con tres años de mantenimiento en laboratorio desde su aislamiento.

- **Cepa renovada:** inoculación con nematodos de dosis producidos a partir de la replicación de la cepa renovada con aislamientos de *D. siricidicola* obtenidos de insectos parasitados capturados en el norte de Misiones, con año de cría en laboratorio.
- **Testigo:** trozas testigo sin inoculaciones de nematodos.

Evaluación de parasitismo:

Desde el momento de su acondicionamiento en las jaulas y hasta el mes de abril siguiente se efectuó la revisión diaria de las jaulas y la captura de los insectos de *S. noctilio* emergentes. Los insectos fueron colocados en forma individual en recipientes de plástico identificados y mantenidos vivos en heladera a 5° C hasta el momento de la evaluación del parasitismo del nematodo. En laboratorio se procedió a separar el abdomen del torax, y por medio de una lupa con un aumento de 40 x, se observó en todos los adultos de *S. noctilio* los aparatos reproductores, determinándose la presencia o ausencia de *D. siricidicola* en testículos de individuos machos y los ovarios de las hembras.

El diseño utilizado fue en bloques al azar. Para el análisis de los datos se utilizaron los correspondientes a las trozas donde se presentaron emergencias de insectos adultos de *S. noctilio*. Los valores de porcentaje de insectos parasitados correspondientes a cada troza se compararon por medio del análisis de variancia y el test de comparación de medias.

RESULTADOS

San Antonio:

Se determinaron emergencias de adultos de *S. noctilio* en 23 trozas (51,1%). Registrándose un total de 60 insectos emergidos, lo que representa una media de 2,6 insectos por troza. El parasitismo medio de los tratamientos evaluados se presenta en el **gráfico 1**, donde los valores mas altos correspondieron a la cepa renovada.

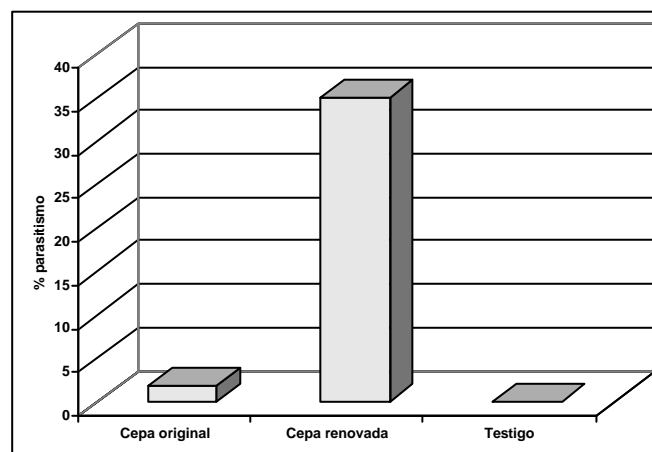


Gráfico 1. Porcentajes medios de parasitismo de *D. siricidicola* en los tres tratamientos evaluados. San Antonio, Misiones.

Figure 1. Average percentage of parasitism of *D. siricidicola* in the tree treatment from San Antonio, Misiones.

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre tratamientos. En el test de comparación de medias, el parasitismo de la cepa renovada se diferenció significativamente de los otros dos tratamientos (**cuadro 1**).

Cuadro 1. Parasitismo medio de *D. siricidicola* en los tres tratamientos evaluados. San Antonio (Test de Duncan. Alfa = 0.05).

Table 1. Average parasitism of *D. siricidicola* in the three treatment evaluated from San Antonio, Misiones (Duncan's test. Alfa = 0.05).

Tratamiento	Nº de trozas	Parasitismo %	
Testigo	7	0.0	b*
Cepa original	10	2.0	b
Cepa renovada	6	35.0	a

*Medias seguidas por diferentes letras indican diferencias significativas $\alpha = 0.05$

Puerto Esperanza:

La emergencias se observaron en 24 de las trozas seleccionadas (53,3%) y se registraron 201 insectos emergidos, esto representa una media de 8,4 insectos por troza. Las medias del porcentaje de parasitismo de los tratamientos se presenta en el **gráfico 2**.

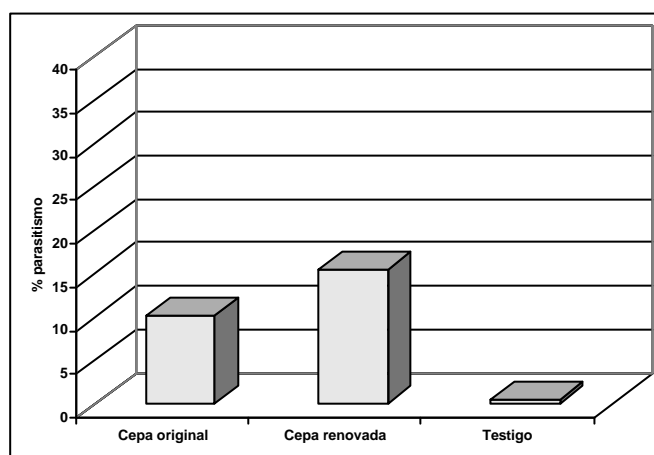


Gráfico 2. Porcentajes medios de parasitismo de *D. siricidicola* en los tres tratamientos evaluados. Puerto Esperanza, Misiones.

Figure 2. Average percentage of parasitism of *D. siricidicola* in the tree treatment from Puerto Esperanza, Misiones.

El análisis de la varianza mostró diferencias estadísticas significativas entre medias, y en el test de comparación de medias solamente el parasitismo de los nematodos de la cepa renovada se diferenciaron del tratamiento testigo (**cuadro 2**).

Cuadro 2. Parasitismo medio de *D. siricidicola* en los tres tratamientos evaluados. Puerto Esperanza (Test de Duncan. Alfa = 0.05).

Table 1. Average parasitism of *D. siricidicola* in the three treatment evaluated from Puerto Esperanza, Misiones (Duncan's test. Alfa = 0.05).

Tratamiento	Nº de trozas	Parasitismo %	
Testigo	8	0.5	b*
Cepa original	8	10.3	b a
Cepa renovada	8	15.5	a

* Medias seguidas por diferentes letras indican diferencias significativas $\alpha = 0.05$

CONCLUSIONES

Los resultados observados, en forma coincidente con los antecedentes, demuestran que las actividades de evaluación de parasitismo y la renovación de las cepas de *D. siricidicola* a partir de nuevos individuos que pasen por una fase parasítica, permiten el mantenimiento de la virulencia del material de cría.

BIBLIOGRAFÍA

- AKHURST, R. 1975. A study of the free-living phase of *Deladenus*, nematodes parasitic in woodwasps. MSc Thesis, University of Tasmania. 124 pp.
- BEDDING, R.A. 1972. Biology of *Deladenus siricidicola* (Neotylenchidae) an entomophagous – mycetophagous nematode parasitic in siricid woodwasps. *Nematologica* 18: 482 - 493
- BEDDING, R.A. 1992. Biological control of *Sirex noctilio* using the nematode *Deladenus siricidicola*. In: BEDDING, R.A.; AKHURST, R.J.; KAYA, H. Nematodes and the biological control of insect pests. Melbourne. CSIRO. pp. 11 – 20.
- IEDE, E.T. y Penteadó, S.R.C. 1994. Aspectos biológicos e recomendaciones para criação massal e uso do nematóide *Deladenus siricidicola* (Nematoda: Neotylenchidae) no controle biológico de *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae). EMBRAPA. CNPFlorestas. Colombo, Brasil. 19 pp.
- IEDE, E.T.; Penteadó, S.C.P; Schaitza, E. 1998. Programa nacional de controle á vespa-da-madeira no Brasil. En: Proceedings of a Conference: Training in the Control of *Sirex noctilio* by the Use of Natural Enemies. USDA. Forest Service. pp 43 –51.
- MADDEN, J. 1998. Overview of *Sirex* control and development of management strategies in Australia. En: Proceedings of a Conference: Training in the Control of *Sirex noctilio* by the Use of Natural Enemies. USDA. Forest Service. pp 19 – 22.
- NUTTALL, M.J. 1980. *Deladenus siricidicola* BEDDING (Nematoda: Neotylenchidae). Nematode Parasite of *Sirex*. Forest and timber insects in New Zealand. Nº 48. Forest Research Institute New Zealand Forest Service. 8 pp.
- PEREIRA LEITE, M. S. 1998. Eficiência de linhagens de *Deladenus siricidicola* Bedding, 1968 (Nematoda: Neotylenchidae) no controle de *Sirex noctilio* F. (Hymenoptera: Siricidae) em *Pinus taeda* L. e aspectos biológica de *Ibalia leucospoides* (Hymenoptera: Ibalidae), em localidades do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Tesis de Posgraduación en Ciencias Biológicas, UFPR, Curitiba. 72 pp.