

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria**  
**Ingeniería Agronómica**



Proyecto Especial de Graduación

**Evaluación de la viabilidad en campo de dos entomonematodos**  
***Heterorhabditis bacteriophora*(Poinar) y *Steinernema carpocapsae*(Weiser) y**  
**determinación de la concentración para el control de *Spodoptera frugiperda***  
**(J.E. Smith) en maíz**

Estudiantes

Werner Fernando Gaibor Orellana

Paolo Farid Rizzo Almeida

Asesores

Rogelio Trabanino, M.Sc.

Jesus Orozco, Ph.D.

Miguel Cocom, Ing. Agrónomo

Honduras, Julio 2021

**Autoridades**

**TANYA MÜLLER GARCÍA**

Rectora

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidente y Decana Académica

**ROGEL CASTILLO**

Director de Ciencia y Producción Agropecuaria

**HUGO ZAVALA MEMBREÑO**

Secretario General

## Contenido

Índice de Cuadros.....	4
Resumen .....	5
Abstract.....	6
Introducción.....	7
Materiales y Métodos.....	11
Ubicación .....	11
Cultivo y Variedad.....	11
Unidad Experimental .....	11
Tratamientos.....	11
Dosificación de Nematodos .....	12
Aplicación de Nematodos en Campo.....	12
Infestación con <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	12
Variables Medidas.....	13
Mortalidad de <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	13
Diseño Experimental y Análisis Estadístico .....	13
Resultados y Discusión.....	15
Mortalidad .....	15
Viabilidad .....	18
Conclusiones .....	21
Recomendaciones.....	22
Referencias.....	23

## Índice de Cuadros

Cuadro 1 Tratamientos de los nematodos aplicados foliarmente en el cultivo de maíz en la Unidad de Control Biológico.....	12
Cuadro 2 Porcentaje de mortalidad de larvas de cogollero inoculadas a diferentes horas después de aplicados los tratamientos con H. bacteriophora y S. carpocapsae. ....	16
Cuadro 3 Número de nematodos vivos recuperados por planta 168 horas después de aplicados. ...	19
Cuadro 4 Promedio de mortalidad de cogollero por tratamiento de las nueve horas evaluadas. ....	20

## Resumen

Una de las plagas más importantes en el cultivo de maíz es *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero) del Orden *Lepidoptera*, de la familia *Noctuidae*. Este lepidóptero es una de las plagas más importantes en diferentes países causando pérdidas de hasta 50% de la producción. El objetivo del proyecto fue evaluar el efecto de cuatro diferentes mezclas de nematodos *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* a diferentes concentraciones para el control de larvas de *Spodoptera frugiperda* en el cogollo del maíz; y determinar la viabilidad de las mezclas de los nematodos para el control de gusano cogollero. Se evaluó *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapsae* a diferentes concentraciones de 100(1:1), 150(2:1) (1:2) y 200(1:1) millones de nematodos por tratamiento. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente en el programa SAS 9.4®. Se determinó que el uso de nematodos entomopatógenos *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* para el control de la plaga *S. frugiperda* es efectivo, el tratamiento de Hb y Sc a una proporción de 1:1 concentración de 200 millones obtuvo un 85% de control a las 48 horas después de la aplicación. Se demostró que no hubo viabilidad en las mezclas de *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* para el control de *Spodoptera frugiperda* a partir 168 horas después de la aplicación. Sin embargo, existió viabilidad del 20% con el tratamiento HbSc-2x10<sup>8</sup> hasta 144 horas después de la aplicación.

*Palabras clave:* Nematodos entomopatógenos, gusano cogollero, mortalidad, viabilidad.

### Abstract

One of the most important pests in the corn crop is *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm) of the Order *Lepidoptera*, of the Noctuidae family. This lepidopteran is one of the most important pests in different countries causing losses of up to 50% of production. The objective of the project was to evaluate the effect of four different mixtures of nematodes *H. bacteriophora* and *S. carpocapsae* at different concentrations for the control of *Spodoptera frugiperda* larvae in the corn bud; and to determine the viability of the nematode mixtures for the fall armyworm control. *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* were evaluated at different concentrations of 100 (1: 1), 150 (2: 1) (1: 2) and 200 (1: 1) millions of nematodes per treatment. The results obtained were statistically analyzed in the SAS 9.4® program. It was determined that the use of entomopathogenic nematodes *H. bacteriophora* and *S. carpocapsae* for the control of the plague *S. frugiperda* is effective, the treatment of Hb and Sc at a ratio of 1: 1 concentration of 200 million obtained an 85% control 48 hours after application. It was demonstrated that there was no viability in the mixtures of *H. bacteriophora* and *S. carpocapsae* for the control of *Spodoptera frugiperda* from 168 hours after application. However, there was 20% viability with HbSc-2x10<sup>8</sup> treatment up to 144 hours after application.

*Key words:* Nematodes, fall armyworm, mortality, viability

## Introducción

La pérdida de plantas por daños de plagas en etapas iniciales y durante todo el ciclo del cultivo es un problema considerable en la producción agrícola (Fassio y Zerbino 1995). Una de las plagas más importantes del cultivo de maíz es el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) del orden Lepidóptera, de la familia Noctuidae, causando pérdidas de hasta 50% de la producción (Castruita et al. 2017). El gusano cogollero en estado larval causa daños en la planta, al consumir el follaje o la región alrededor del meristemo apical (conocido como cogollo). Este daño es significativo si la infestación ocurre en etapas tempranas del cultivo (Murúa et al. 2009). Estos daños pueden llegar a representar una reducción en rendimientos de 13-60%, afectando área foliar y emergencia o inhibición de las inflorescencias (García y Tarango 2009). El ciclo de vida de *S. frugiperda* depende principalmente de la temperatura ambiental, si se llegan a temperaturas de 28 a 30°C su ciclo de vida se acorta y si bajan a temperaturas de 21 a 23° C su ciclo alarga. Por eso su periodo de vida varía en cada región siendo normalmente de 20 a 30 días, pero puede extenderse hasta 90 días (MRI 2019). La hembra puede depositar grupos o capas de 300 o más huevos, normalmente en el envés de la hoja. Durante la etapa reproductiva, la hembra puede llegar a ovipositar entre 500 a 2000 huevos (Urretabizkaya 2018).

El control químico ha sido una herramienta efectiva en el control del gusano cogollero, pero debido a los problemas ambientales causados por su uso desmedido y la resistencia que estos generan, se buscan alternativas sostenibles y amigables con el medio ambiente. Una alternativa al uso de pesticidas químicos para el control de *S. frugiperda*, es el control biológico. Con el uso de enemigos naturales es posible la mitigación del daño producido por plagas en las plantas y en el suelo (INTA 2019). Actualmente se emplea una amplia variedad de organismos parasitoides y entomopatógenos. En el control biológico de gusano cogollero se está implementando el uso nematodo entomopatógenos. El descubrimiento de nuevas cepas, el avance en la tecnología de formulación y producción en masa de nematodos entomopatógenos, y la conveniencia de reducir el uso de

plaguicidas han dado lugar a un aumento en el interés comercial de estos nematodos (Lawrence y Ramon 2012).

Los nematodos son gusanos redondos no segmentados lo cuales se dividen en entomopatógenos y fitoparásitos. Los nematodos entomopatógenos necesitan de un hospedero insecto completamente (parásitos obligados) o parcialmente (facultativos) para completar su ciclo de vida (Tofangsazi et al. 2012). Los nematodos entomopatógenos de las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae son utilizados como agentes de control biológico (Grewal et al. 2005). La eficiencia del nematodo dependerá de varios factores como la temperatura, humedad relativa del ambiente, la susceptibilidad del estadio del hospedero a infectar, el medio donde se desarrolle y la cepa que se produzca (Castruita et al. 2017).

Los géneros de nematodos *Steinernema* y *Heterorhabditis* tienen una asociación mutualista con las bacterias del genero *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* (Vashith et al. 2013). Estas bacterias son parte de la familia *Enterobacteriaceae* y viven en el intestino de los nematodos. El tercer estadio juvenil o juvenil infectivo es el único estadio de vida libre y se encuentra en el suelo. La infección de un hospedero ocurre cuando nematodos juveniles infecciosos entran al insecto por las aberturas naturales (boca, espiráculos, ojos) hasta llegar al hemocele del hospedero. Ya adentro del cuerpo del hospedero los nematodos liberan la bacteria en la hemolinfa y esta se reproduce rápidamente causando septicemia, provocando la muerte del insecto (Forst et al. 1997). Los nematodos se alimentan de los tejidos dañados del hospedero y se reproducen dentro del insecto durante 2 o 3 generaciones. Los juveniles infectivos de la última generación incorporan nuevamente las bacterias simbiotas en tracto digestivo, salen del insecto para buscar nuevamente otro hospedero (Adams y Nguyen 2002).

De los nematodos entomopatógenos utilizados para control biológico, *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapsae* han sido dos de los más ampliamente estudiados e implementadas como parte del manejo integrado de plagas (Vashith et al. 2013). Estos nematodos

tienen el mismo modo de acción, pero diferente hábito de búsqueda de hospederos. *H. bacteriophora* busca activamente a su presa con diferentes tácticas de forrajeo (Lewis et al. 1995), mientras *S. carpocapsae* tiene un modo de acción casi sedentario, se encuentra cerca de la superficie del suelo, donde atrapa a hospederos de gran movilidad (Campbell y Gaugler 1993). Por lo que podría existir sinergia al mezclar estos dos nematodos ya que tienen un hábito de búsqueda distinto; sin embargo, se desconoce si la mezcla de los nematodos tiene un efecto sinérgico en el control de plagas.

Los nematodos entomopatógenos tienen una amplia gama de hospedantes, son ambientalmente seguros y se pueden producir a diferentes escalas in vivo o in vitro (Rodríguez et al. 2012). Las condiciones ambientales para su desarrollo óptimo varían de 8-30 C° en etapa de desarrollo y 20-30°C en etapa reproductiva (Grewal et al. 1994). El suelo es el ambiente natural de nematodos entomopatógenos, lo que los convierte en controladores eficaces de plagas subterráneas (Shapiro-Ilan et al. 2006). Varias especies de nematodos de la familia Steinernematidae y Heterorhadtidae son utilizadas comercialmente para el control de insectos plaga en el suelo. A diferencia de la aplicación de nematodos para control de insectos que viven en el suelo, el uso de nematodos para control de plagas foliares puede ser poco efectiva. Principalmente la efectividad de los nematodos puede ser inhabilitada por los factores ambientales donde las plagas foliares habitan (radiación ultravioleta y desecación) (Shapiro-Ilan et al. 2006). Sin embargo, sí la aplicación de nematodos es realizada en regiones donde los nematodos estén protegidos de factores ambientales, como lo es el cogollo del maíz, la supervivencia de los nematodos podría mejorar y proveer un control más apropiado y prolongado. No obstante, actualmente se desconoce la viabilidad que los nematodos puedan tener al infestar el cogollo del maíz, así como también se desconoce si la combinación de *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* aumenta sinérgicamente el control del gusano cogollero. Los nematodos entomopatógenos no solo se usan para el control de *S. frugiperda*, existen estudios, tales como Vuelta et al. (2017) en el cual se afirma que se puede controlar lepidópteros, coleópteros y áfidos con *Heterorhabditis* en cultivos de maíz, boniato y plátano.

Los objetivos del estudio fueron evaluar el efecto de cuatro diferentes mezclas de nematodos *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* a diferentes concentraciones para el control de larvas de *Spodoptera frugiperda* en el cogollo del maíz, y determinar la viabilidad de las mezclas de los nematodos en la planta para el control de *Spodoptera frugiperda*.

## Materiales y Métodos

### Ubicación

El estudio se realizó en los terrenos de la Unidad de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, ubicada a 30 km de Tegucigalpa, departamento de Francisco Morazán, municipio San Antonio de Oriente, Honduras. El sitio está localizado a 14° latitud norte, 87° longitud oeste, a 800 msnm, la precipitación promedio anual es de 1,200 mm y la temperatura promedio anual de 23°C. El experimento se realizó del 10 al 20 de junio del 2021. La temperatura y precipitación durante nuestro experimento fue de 25°C y 38 mm respectivamente.

### Cultivo y Variedad

El cultivo utilizado fue maíz variedad Tuxpeño, el cual fue sembrado a un distanciamiento de 20 cm entre planta y 80 cm de entre surco, obteniendo una densidad de 62,500 plantas por ha. Se fertilizó con NPK a 200 kg/ha, Urea a 136 kg/ha y KCl a 68 kg/ha. El control de malezas y el aporque fueron realizados manualmente.

### Unidad Experimental

Cada unidad experimental consto de 2.5 m de largo y 0.80 m de ancho, con un total de 2 m<sup>2</sup> y 12 plantas por cada unidad experimental.

### Tratamientos

Los tratamientos se aplicaron 24 días después germinadas las plantas. Se evaluó la efectividad de cuatro diferentes relaciones entre nematodos *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* y un testigo sin aplicar (Cuadro 1). Los tratamientos consistieron en mezclas ambas especies en relaciones 1:1, 2:1 y 1:2 a diferentes concentraciones como se detalla en el Cuadro1.

## Cuadro 1

*Tratamientos de los nematodos aplicados foliarmente a diferentes concentraciones y proporciones en el cultivo de maíz.*

Trt	Jl/ha	Nematodo	Jl/ha	Nematodo	Total (Jl/ha)	H. bact : S.carpo ratio
1	0.5×10 <sup>8</sup>	<i>H. bacteriophora</i>	0.5×10 <sup>8</sup>	<i>S. carpocapsae</i>	1×10 <sup>8</sup>	1:1
2	1×10 <sup>8</sup>	<i>H. bacteriophora</i>	0.5×10 <sup>8</sup>	<i>S. carpocapsae</i>	1.5×10 <sup>8</sup>	2:1
3	1×10 <sup>8</sup>	<i>S. carpocapsae</i>	0.5×10 <sup>8</sup>	<i>H. bacteriophora</i>	1.5×10 <sup>8</sup>	2:1
4	1×10 <sup>8</sup>	<i>H. bacteriophora</i>	1×10 <sup>8</sup>	<i>S. carpocapsae</i>	2×10 <sup>8</sup>	1:1
5	Testigo		Agua			

Nota. Jl/ha: Juveniles infectivos por hectárea; Trt: tratamientos.

### Dosificación de Nematodos

Para la evaluación se utilizaron las especies de nematodos *S. carpocapsae* y *H. bacteriophora* suministradas por el Laboratorio de Control Biológico, Zamorano. Cada dosificación se ajustó previamente por recuentos al microscopio mediante diluciones 1:10, este procedimiento se realizó para las dos especies de nematodos, obteniendo finalmente las concentraciones indicadas en el cuadro 1 de los tratamientos.

### Aplicación de Nematodos en Campo

La aplicación de los nematodos entomopatógenos al follaje de maíz se realizó a los 25 días después de la siembra. Se realizó una única aplicación la cual se ejecutó a la 5:00 PM hora local, utilizando una bomba de mochila manual de 20 L, aplicando una solución de 2.1 L por tratamiento. La aplicación fue dirigida directamente al cogollo de maíz. Utilizando una boquilla de cono lleno, con uso de agua destilada sin aplicación de adherente.

### Infestación con *Spodoptera frugiperda*

La infestación de las larvas de *Spodoptera frugiperda* se realizó en todas las plantas de cada tratamiento, para ellos se utilizaron larvas de tercer estadio, las cuales fueron inoculadas a 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas después de la aplicación de los tratamientos. Se aplicó una larva por

planta colocada con un pincel al cogollo. Se revisó el establecimiento de las mismas 24 horas después de la infestación.

### **Variables Medidas**

#### ***Mortalidad de Spodoptera frugiperda***

A las 48 horas después cada inoculación (HDCI), las larvas de *S. frugiperda* (1 larva por planta) muertas fueron recolectadas de las plantas de maíz correspondientes a cada unidad experimental para determinar la mortalidad y confirmar su parasitismo por nematodos entomopatógenos en laboratorio. Las larvas muertas se colocaron en cámaras húmedas donde permanecieron 48 horas, posteriormente se disectaron con bisturí para ser analizadas en microscopio y confirmar el parasitismo por nematodos entomopatógenos.

#### **Viabilidad de los Nematodos**

Con el objetivo de recuperar los nematodos que fueron inoculados en las plantas y determinar la viabilidad se aplicó a cada planta 10 mL de agua destilada al cogollo utilizando una pipeta y seguidamente se extrajeron 2 mL con una pipeta serológica de cada planta a las 24 horas hasta 168 horas después de la aplicación. Se muestrearon dos plantas al azar por unidad experimental. El agua recolectada de ambas plantas fue colocada en tubos plásticos de centrifuga de 50 mL, se extrajo 300  $\mu$ L que fueron distribuidas en 3 gotas de 100  $\mu$ L en un plato Petri para realizar el conteo de nematodos vivos, con la utilización de un microscopio.

#### **Diseño Experimental y Análisis Estadístico**

Los tratamientos fueron distribuidos en campo usando un diseño de Bloques Completos al Azar con medidas repetidas en tiempo (BCA). Se evaluaron nueve tiempos diferentes después de la aplicación (0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas después de aplicación), con cuatro repeticiones para un total de 20 unidades experimentales en cada tiempo (Cuadro1). Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico SAS versión 9.4 (Statistical Analysis System), se realizó un análisis

ANDEVA para evaluar la significancia del modelo y definir si hubo interacción de los tratamientos con el tiempo, y una separación por la prueba Duncan ( $P < 0.05$ ).

## Resultados y Discusión

### Mortalidad

Al evaluar la mortalidad de las larvas de *Spodoptera frugiperda* a las diferentes horas de muestreo se observó que en la hora cero todos los tratamientos a excepción del testigo presentaron mortalidades en un rango de 75 y 85%. Los tratamientos con mayor concentración y los que tuvieron una mayor proporción de *Heterorhabditis bacteriophora* presentaron una mayor mortalidad que el resto de los tratamientos, aunque esta diferencia en mortalidad no fue estadísticamente diferente entre ellos, pero si diferente del testigo aplicado con agua. El porcentaje de mortalidad disminuyó a medida que transcurrieron las horas, comparando la mortalidad de larvas inoculadas a las 12 y 24 horas después de la aplicación, no existe diferencia estadística entre tratamientos, pero si la hay, entre tratamientos y testigo. Cabe resaltar que el tratamiento HbSc(1:1)- $2 \times 10^8$  tuvo los mayores porcentajes de mortalidad que el resto de los tratamientos. No existió diferencia significativa en el porcentaje de mortalidad entre los tratamientos HbSc(1:1)- $1 \times 10^8$ , HbSc(2:1)- $1.5 \times 10^8$ , ScHb(2:1)- $1.5 \times 10^8$ . El porcentaje de mortalidad a las 48 horas fue igual en los tratamientos evaluados estadísticamente a excepción del testigo. Se aprecia que a partir de la hora 72 de inoculación, no hay diferencia significativa en el porcentaje de mortalidad entre los tratamientos, más si la hay entre los tratamientos con el testigo. Se observó que a la hora 96 no existió diferencia significativa de los tratamientos con el testigo. Al comparar la mortalidad de los tratamientos entre las horas 120 y 144 podemos observar que no existe diferencia significativa entre tratamientos, pero se puede observar que el tratamiento HbSc(1:1)- $2 \times 10^8$  mantiene un alto porcentaje de mortalidad con valores de 35% y 12.5% respectivamente.

Los porcentajes de mortalidad de larvas ocasionada por los tratamientos fue igual estadísticamente para el muestro a la hora cero. Es importante mencionar que los resultados obtenidos de mortalidad fueron recopilados después de 48 horas porque, los nematodos tienen una relación mutualista con la bacteria *Photorhabdus luminiscencens*, la cual una vez dentro del insecto causa la muerte del mismo por septicemia durante las primeras 24 a 48 después de la infección

(Vashith et al. 2013). En este caso la medición a las cero horas representaba durante el muestreo 48 horas después de la aplicación; donde se dio la mayor mortalidad de todo el estudio. Se observó que las mortalidades estuvieron en un rango de 75 a 85% entre los tratamientos (Cuadro2). Registrando mayor control con el tratamiento HbSc(1:1)-2x10<sup>8</sup> con el 85% de larvas muertas. Valores similares fueron reportados por Sanchez et al. (2019) bajo condiciones de invernadero, quienes presentaron un 84% de mortalidad del gusano cogollero a las 48 horas después de la aplicación con nematodos entomopatógenos en maíz. El patrón de disminución del porcentaje de mortalidad se observó a medida que transcurrían las horas a excepción del tratamiento ScHb(2:1)-1.5x10<sup>8</sup> el cual mantuvo mortalidades arriba del 70% hasta las 48 horas. Las larvas recolectadas a las 168 horas no se encontraron muertas.

## Cuadro2

*Porcentaje de mortalidad de larvas de Spodoptera frugiperda introducidas en el cogollo de una planta de maíz a diferentes horas después de ser aplicados con los tratamientos de los nematodos entomopatógenos H. bacteriophora y S. carpocapsae.*

Tratamientos	HR0	HR12	HR24	HR48	HR72	HR96	HR120	HR144	HR168
Hb <sup>#</sup> Sc <sup>φ</sup> (1:1)-1x10 <sup>8</sup> /ha	75.0a <sup>&amp;</sup>	52.5b <sup>&amp;</sup>	50.0b <sup>&amp;</sup>	55.0a <sup>&amp;</sup>	30.0ab <sup>&amp;</sup>	15.0	0	0	0
Hb <sup>#</sup> Sc <sup>φ</sup> (2:1)-1.5x10 <sup>8</sup> /ha	82.5a	70.0ab	65.0ab	62.5a	42.5a	32.5	17.5	7.5	0
Sc <sup>φ</sup> Hb <sup>#</sup> (2:1)-1.5x10 <sup>8</sup> /ha	77.5a	75.0ab	72.5a	75.0a	50.0a	35.0	6.6	0	0
Hb <sup>#</sup> Sc <sup>φ</sup> (1:1)-2x10 <sup>8</sup> /ha	85.0a	80.0a	77.5a	67.5a	63.0a	43.3	35.0	12.5	0
Testigo	0b	0c	0c	0b	0b	0	0	0	0
Probabilidad	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0386	0.0579	0.1698	0.6008	0
R <sup>2</sup>	0.89	0.88	0.34	0.53	0.53	0.59	0.52	0.29	0
C.V.	4.55	4.78	3.62	11.81	8.38	8.95	7.81	5.39	0

Nota. <sup>&</sup>Medias en la misma columna con letras diferentes indican que hubo diferencias significativas según prueba Duncan ( $P < 0.05$ ).

1:1(relación de *H. bacteriophora*: *S. carpocapsae*) 2:1(relación de *H. bacteriophora*: *S. carpocapsae*) 2:1(relación de *S. carpocapsae*: *H. bacteriophora*); HR: horas de introducción de la larva después de la aplicación; #*Heterorhabditis bacteriophora*; φ*Steinernema carpocapsae*

Al comparar la mortalidad de las larvas inoculadas a las 12 y 24 horas se puede observar que el tratamiento HbSc(1:1)-1x10<sup>8</sup> presento mortalidades más bajas que el tratamiento HbSc(1:1)-2x10<sup>8</sup>. Los tratamientos HbSc(2:1)-1.5x10<sup>8</sup> y ScHb(2:1)-1.5x10<sup>8</sup> no presentaron mortalidades diferentes a los

tratamientos HbSc(1:1)- $1 \times 10^8$  y HbSc(1:1)- $2 \times 10^8$ . Se pudo determinar que la proporción de *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* en los tratamientos no tuvo ningún impacto en la mortalidad en las horas evaluadas, ya que ambos tratamientos tuvieron similar porcentaje de mortalidad (Cuadro2).

Se aprecia que a partir de las 72 horas de inocular las larvas no se presentó diferencia significativa en el porcentaje de mortalidad y se nota una reducción en la cantidad de larvas muertas comparada con las reportadas en la hora cero (Cuadro 2). Al evaluar la mortalidad a la hora 96 se puede observar que no existe diferencia significativa de los tratamientos con el testigo, pero se puede observar que el tratamiento HbSc(1:1)- $2 \times 10^8$  tiene un mayor porcentaje de mortalidad con un valor de 43.3%. Estos resultados son menores a los reportados por Yuksel et al. (2018), que estudiaron la efectividad de *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* sobre larvas de lepidóptero: obteniendo una mortalidad de 70%, todo esto bajo condiciones de laboratorio. Resultados aún mayores fueron presentados por Goudarzi et al. (2015) el cual menciona que a nivel de laboratorio e invernadero obtuvieron un 98% de mortalidad contra larvas del lepidóptero: *Agrotis segetum*, utilizando las mismas especies de nematodos entomopatógenos *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae*.

Este descenso en la mortalidad es muy notorio y se va reduciendo a medida que transcurren las horas hasta llegar a las 144 horas en la cual la mortalidad máxima fue de 12.5% para el tratamiento HbSc(1:1)- $2 \times 10^8$  el cual no fue significativamente mayor que ninguno de los tratamientos (Cuadro2). Cabe destacar que las larvas recolectadas a la hora 168 no se encontraron muertas debido a que no había presencia de nematodos en el cogollo como se puede apreciar en el cuadro 3. Posiblemente al efecto de la lluvia sobre estos nematodos, los cuales fueron lavados del cogollo ya que se presentaron en diferentes tiempos de la inoculación a las 0 hr, 48hr, 96hr, 120hr y 144hr con promedios acumulados de 38 mm en total, que pudieron tener un lavado progresivo sobre los nematodos del follaje y de esta manera reducir su presencia y efectividad en la mortalidad de las larvas de *Spodoptera frugiperda*.

## Viabilidad

Para poder relacionar la mortalidad de las larvas de *Spodoptera frugiperda* se procedió recapturar los nematodos aplicados y observar la viabilidad de los mismos. Los resultados indican que 24 horas después de haber sido aplicados los tratamientos se pudieron recuperar del número inicial de nematodos aplicados por planta (1620 de HbSc(1:1)- $1 \times 10^8$ , 2430 de HbSc(2:1)- $1.5 \times 10^8$ , 2430 de ScHb(2:1)- $1.5 \times 10^8$  y 3241 HbSc(2:1)- $2 \times 10^8$ ) el 50% de HbSc(1:1)- $1 \times 10^8$ , 44% de HbSc(2:1)- $1.5 \times 10^8$ , el 36% de ScHb(2:1)- $1.5 \times 10^8$  y 72% de HbSc(1:1)- $2 \times 10^8$  vivos. Se observó que el tratamiento HbSc(1:1)- $2 \times 10^8$  presento el mayor número de nematodos recuperados viables y esta cantidad fue estadísticamente diferente al resto de los tratamientos (Cuadro 3). Cuando comparamos los nematodos recuperados de los tratamientos con la concentración de  $1.5 \times 10^8$  se puede observar que el tratamiento que tenía la proporción de 2:1 de *H. bacteriophora*: *S. carpocapsae* fue mayor que los nematodos recuperados de la proporción 2:1 de *S. carpocapsae*: *H. bacteriophora*, aunque esta cantidad recuperada de nematodos no fue diferente estadísticamente. Este efecto se observó durante las primeras 72 horas en la cuales la recuperación de nematodos vivos del tratamiento de mayor relación *H. bacteriophora* fue superior a la de los *S. carpocapsae*. Los datos de sobrevivencia tienen relación con los porcentajes de mortalidad presentados en el Cuadro 2.

### Cuadro 3

*Número de nematodos entomopatógenos vivos recuperados por planta de maíz de 24 hasta 168 horas después de aplicados.*

Tratamiento	HR24	HR48	HR72	HR96	HR120	HR144	HR168
Hb#Sc <sup>φ</sup> (1:1)-x10 <sup>8</sup> /ha	802.5b <sup>®</sup>	575.0	536.3	326.7	0b <sup>®</sup>	0b <sup>®</sup>	0
Hb#Sc <sup>φ</sup> (2:1)-1.5x10 <sup>8</sup> /ha	1068.8b	922.5	593.8	710.0	340.0a	346.7a	0
Sc <sup>φ</sup> Hb <sup>‡</sup> (2:1)-1.5x10 <sup>8</sup> /ha	880.0b	696.3	393.8	728.3	523.3a	0b	0
Hb#Sc <sup>φ</sup> (1:1)-2x10 <sup>8</sup> /ha	2322.5a	1225.0	1063.3	936.7	415.0a	643.8a	0
Probabilidad	<.0001	0.833	0.576	0.396	<.0001	<.0001	0
R <sup>2</sup>	0.85	0.33	0.31	0.58	0.92	0.91	0
C.V.	18.11	45.75	38.75	25.79	18.14	34.07	0

Nota. <sup>®</sup>Medias en la misma columna con letras diferentes indican que hubo diferencias significativas según prueba Duncan ( $P < 0.05$ ).

1:1(relación de *H. bacteriophora* : *S. carpocapsae*) 2:1(relación de *H. bacteriophora* : *S. carpocapsae*) 2:1(relación de *S. carpocapsae* : *H. bacteriophora*); HR: horas de introducción de la larva después de la aplicación; <sup>‡</sup>*Heterorhabditis bacteriophora*; <sup>φ</sup>*Steinernema carpocapsae*

La sobrevivencia de los nematodos a las 120, 144 y 168 horas se observa que el tratamiento HbSc(1:1)-1x10<sup>8</sup> fue el más susceptible ya que desde esas horas ya no se encontraron en el muestreo, similares comportamientos tuvieron los nematodos del tratamiento ScHb(2:1)-1.5x10<sup>8</sup> que tenía una mayor proporción de *S. carpocapsae* el cual a partir de las 144 horas no se pudo recuperar del follaje. En cambio, los tratamientos HbSc(2:1)-1.5x10<sup>8</sup> y HbSc(1:1)-2x10<sup>8</sup> todavía presento juveniles infectivos vivos y la cantidad encontrada fue significativamente mayor siempre con la tendencia que estos tratamientos la proporción de *H. bacteriophora* fue mayor que la de *S. carpocapsae*. Estos resultados son diferentes a los reportados por Grewal *et al.* (1994) que consideran que en general *S. carpocapsae* tiene mejores tasas de supervivencia e infección de huésped que *H. bacteriophora*.

Es importante notar que cuando comparamos las residualidad de un producto químico para control de *Spodoptera* estos no son superiores a 144 horas y en este experimento se encontró mortalidad a las 144 horas. A las 168 horas del muestreo, no se encontró nematodos en el cogollo de la planta. Es importante mencionar que durante se llevó a cabo este estudio cayeron 38 mm de lluvia que pudieron influir en el lavado de los nematodos y dejarlos fuera del área foliar del muestreo.

### Porcentajes de Mortalidad

Los porcentajes de mortalidad en larvas de *Spodoptera frugiperda* muestran que hubo diferencia significativa entre tratamientos (Cuadro 4). Los tratamientos HbSc(2:1)-1.5x10<sup>8</sup>, ScHb(2:1)1.5x10<sup>8</sup> y HbSc(1:1)-2x10<sup>8</sup> presentaron mortalidades estadísticamente iguales mostrando un control superior al 40% en las nueve horas evaluadas. HbSc(1:1)-1x10<sup>8</sup> fue el tratamiento que menor concentración de nematodos tenía y el que presentó el promedio de mortalidad más baja con un 31% de control de las nueve horas evaluadas. El tratamiento HbSc(1:1)-2x10<sup>8</sup> presentó en promedio el mayor porcentaje de mortalidad con un 52%.

### Cuadro 4

*Promedio de mortalidad de cogollero por tratamiento de las nueve horas evaluadas.*

Tratamiento	% Mortalidad
Hb#Sc <sup>φ</sup> (1:1)1x10 <sup>8</sup> /ha	31.4±2.77b
Hb#Sc <sup>φ</sup> (2:1)1.5x10 <sup>8</sup> /ha	43.2±2.96a
Sc <sup>φ</sup> Hb#(2:1)1.5x10 <sup>8</sup> /ha	43.1±3.31a
Hb#Sc <sup>φ</sup> (1:1)2x10 <sup>8</sup> /ha	52.2±3.06a
Testigo	0c
Probabilidad	<.0001

Nota. <sup>a</sup>Medias en la misma columna con letras diferentes indican que hubo diferencias significativas según prueba Duncan ( $P < 0.05$ ).

1:1(relación de *H. bacteriophora* : *S. carpocapsae*) 2:1(relación de *H. bacteriophora* : *S. carpocapsae*) 2:1(relación de *S. carpocapsae* : *H. bacteriophora*); HR: horas de introducción de la larva después de la aplicación; #*Heterorhabditis bacteriophora*; <sup>φ</sup>*Steinernema carpocapsae*

### Conclusiones

Se concluyó que el uso de nematodos entomopatógenos *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* para el control de la plaga *S. frugiperda* es efectivo, el tratamiento de Hb y Sc a una proporción de 1:1 concentración de 200 millones obtuvo un 85% de control a las 48 horas después de la aplicación.

Se determinó que no hubo viabilidad en las mezclas de *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* para el control de *Spodoptera frugiperda* a partir 168 horas después de la aplicación. Sin embargo, existió viabilidad del 20% con el tratamiento HbSc-2x10<sup>8</sup> hasta 144 horas después de la aplicación

### Recomendaciones

Evaluar la efectividad de los nematodos entomopatógenos *S. carpocapsae* y *H. bacteriophora* para control de gusano cogollero en las diferentes épocas del año.

Evaluar la adición de anti secantes u otros adyuvantes que prolonguen la vida de los nematodos entomopatógenos para tener una mayor residualidad y control del cogollero a mayores horas después de la aplicación.

## Referencias

- Adams BJ, Nguyen KB. 2002. Entomopathogenic nematology: Taxonomy and systematics. En: Gaugler R, editor. Entomopathogenic nematology: Production technology. Wallingford: CABI. p. 1–33 ; [consultado el 5 de ago. de 2021]. <https://www.cabi.org/isc/ebook/20023023440>.
- Campbell JF, Gaugler R. 1993. Nictation Behaviour and Its Ecological Implications in the Host Search Strategies of Entomopathogenic Nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). Behaviour; [consultado el 5 de ago. de 2021]. 126(3-4):155–169. [https://www.researchgate.net/publication/236596515\\_Nictation\\_Behaviour\\_and\\_Its\\_Ecological\\_Implications\\_in\\_the\\_Host\\_Search\\_Strategies\\_of\\_Entomopathogenic\\_Nematodes\\_Heterorhabditidae\\_and\\_Steinernematidae](https://www.researchgate.net/publication/236596515_Nictation_Behaviour_and_Its_Ecological_Implications_in_the_Host_Search_Strategies_of_Entomopathogenic_Nematodes_Heterorhabditidae_and_Steinernematidae). doi:10.1163/156853993X00092.
- Castruita G, Aquino T, Ruiz J. 2017. Nematodos entomopatógenos, un control biológico para el manejo del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* j. e. smith) (Lepidoptera: noctuidae) en maíz, en los Valles de Oaxaca, México. Entomología mexicana; [consultado el 5 de ago. de 2021]. (4):132–137. [http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2017/CB/EM0112017\\_132-137.pdf](http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2017/CB/EM0112017_132-137.pdf).
- Fassio A, Zerbino MS. 1995. Insectos plagas en maiz. Montevideo, Uruguay: INIA. 23 p. (Boletín de divulgación; vol. 51). ISBN: 9974-38-040-5.
- Forst S, Dowds B, Boemare N, Stackebrandt E. 1997. *Xenorhabdus* and *photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. Annual Reviews Microbiological; [consultado el 5 de ago. de 2021]. 51:57–72. <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.micro.51.1.47>.
- García G, Tarango H. 2009. Manejo birracional del gusano cogollero. Mexico: INIAP. 37 p. Folleto técnico Informe no. 30. <https://www.compucampo.com/tecnicos/manejobirracionalgusanocogollero-maiz.pdf>.
- Goudarzi M, Moosavi MR, Asadi R. 2015. Effects of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) and *Steinernema carpocapsae* (Weiser), in biological control of *Agrotis segetum* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Noctuidae). Turkish Journal of Entomology. 39(3). doi:10.16970/ted.43220.
- Grewal P, Selvan S, Gaugler R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment, and reproduction. Journal of Thermal Biology; [consultado el 5 de ago. de 2021]. 19(4):245–253. doi:10.1016/0306-4565(94)90047-7.
- Grewal PS, Ehlers RU, Shapiro-Ilan DI, editores. 2005. Nematodes as Biocontrol Agents. Cambridge, USA: CABI Publishing. ISBN: 0851990177. <https://cutt.ly/QQEJPor>.
- INTA. 2019. Control biológico, una estrategia tan sostenible como rentable. [sin lugar].
- Lawrence A, Ramon G. 2012. Entomopathogenic Nematodes for Control of Insect pests above and below ground with comments on commercial production. Journal of Nematology. (2):218–225.
- Lewis EE, Selvan S, Campbell JF, Gaugler R. 1995. Changes in foraging behaviour during the infective stage of entomopathogenic nematodes. Parasitology. 110(5):583–590. doi:10.1017/S0031182000065306.
- [MRI] Programa Manejo de Resistencia de Insectos. 2019. Cogollero (*Sopodoptera frugiperda*) en el cultivo del maiz: Bases para su manejo y control en sistemas de producción. Santa Fe, Argentina.

- 24 p. 2250-5350. <https://www.aapresid.org.ar/wp-content/uploads/sites/3/2019/12/Cogollero-1.pdf>.
- Murúa G, Molina J, Fidalgo P. 2009. Natural distribution of parasitoids of larvae of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Argentina. *Journal of insect science*. 9(1):1–17. eng. doi:10.1673/031.009.2001.
- Rodríguez MG, Hernández D, Gomez L. 2012. Nematodos entomopatógenos: elementos del desarrollo histórico y retos para su consolidación como biorreguladores en la agricultura en Cuba. *Revista de Protección Vegetal*; [consultado el 5 de ago. de 2021]. 27(3). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522012000300001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000300001).
- Sanchez J, Valle J, Perez E, Neira M, Calderon C. 2019. Control biológico de *Spodoptera frugiperda* en cultivo de *Zea mays*: Uso de nematodos entomopatógenos. *Scientia Agropecuaria*; [consultado el 8 de jun. de 2021]. 10(4):551–557. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000400012&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000400012&script=sci_arttext).
- Shapiro-Ilan DI, Gouge DH, Piggott SJ, Fife JP. 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Biological Control*. 38(1):124–133. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.09.005.
- Tofangsazi N, Riverside Sp, Robin M, Gliblin D. 2012. common name: entomopathogenic nematodes scientific name: (Nematoda: Rhabditida: families Steinernematidae and Heterorhabditidae). [sin lugar]: University of Florida; [consultado el 5 de ago. de 2021]. [https://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/entomopathogenic\\_nematode.htm](https://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/entomopathogenic_nematode.htm).
- Urretabizkaya N. 2018. Manejo Integrado de plagas asociadas al cultivo de maíz. Estrategias de control. [sin lugar]: Universidad Nacional de Lomas de Zamora. 54 p; [consultado el 5 de ago. de 2021]. <http://www.maizar.org.ar/documentos/mip%20maizar.pdf>.
- Vashith S, Chandel Y, Sharma P. 2013. Entomopathogenic nematodes. *Indian Journals*; [consultado el 5 de ago. de 2021]. 34(3):163–175. <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ar&volume=34&issue=3&article=001>.
- Vuelta DR, Arias N, Rizo M. 2017. Evaluación de la aplicación de heterorhabditis bacteriophora en el cultivo de la col (*Brassica oleracea*). *Ciencia en su PC*. 83–91. <https://www.redalyc.org/pdf/1813/181351615006.pdf>.
- Yuksel E, Taskesen EY, Erarslan D, Canhilal R. 2018. Effectiveness of different entomopathogenic nematode species against the variegated cutworm, *Peridroma saucia* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. (8).