



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Ingeniería Agronómica

**Efecto de nemátodos entomopatógenos sobre el gusano cogollero del
maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith, 1797) en condiciones *in vitro***

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniero
Agrónomo

AUTOR

Manuel Antonio González Muñoz

DIRECTORA

Dra. Marina Mazón Morales PhD.

Loja – Ecuador

2023

Certificación

Loja, 01 de marzo 2023


Marina Mazón Morales PhD.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Certifico:

Que he revisado y orientado todo el proceso de la elaboración de Titulación denominado: **Efecto de nemátodos entomopatógenos sobre el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith, 1797) en condiciones *in vitro***, de autoría del estudiante **Manuel Antonio González Muñoz**, con cédula de identidad Nro. 1105348609, previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Nacional de Loja, apruebo y autorizo su presentación para los tramites de titulación.

MARINA
MAZON
MORALES



Firmado digitalmente
por MARINA MAZON
MORALES
Fecha: 2023.03.01
11:52:49 -05'00'

Marina Mazón Morales, PhD.

Cédula 0151669991

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autoría

Yo, **Manuel Antonio González Muñoz**, declaro ser autor del presente trabajo de investigación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de Identidad: 1105348609

Fecha: 11/04/2023

Correo electrónico: manuel.a.gonzalez@unl.edu.ec

Teléfono: 0979401780

Carta de autorización para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo del Trabajo de Integración Curricular.

Yo, **Manuel Antonio González Muñoz**, declaro ser autor del Trabajo de Titulación denominado “ **Efecto de nemátodos entomopatógenos sobre el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith, 1797) en condiciones in vitro** ”, como requisito para optar por el título de **Ingeniero Agrónomo**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenido la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja a los once días del mes abril del dos mil veintitrés.

Firma:



Autor: Manuel Antonio Gonzalez Muñoz

Cédula: 1105348609

Dirección: Vía a Manu frente al cementerio de San Pablo de Tenta

Correo electrónico: manuel.a.gonzalez@unl.edu.ec

Teléfono: 0979401780

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora del trabajo de Titulación: Dra. Marina Mazón Morales PhD.

Dedicatoria

El presente trabajo de titulación va dedicado a todas y cada una de las personas quienes estuvieron pendientes de mí, durante el proceso de formación, de manera especial a mis padres Iván González, Flor María Muñoz y mis hermanos, quienes fueron siempre el pilar fundamental para alcanzar este logro en mi vida. Quienes son mi motor fundamental y mi mayor orgullo.

Manuel Antonio González

Agradecimiento

Primeramente, quiero agradecer a Dios y al Divino Niño Jesús por darme la sabiduría, humildad y fuerzas para poder alcanzar este logro. A la Universidad Nacional de Loja por abrirme sus puertas, a sus docentes quienes me supieron guiar en los diferentes módulos, al personal administrativo y en especial a la Dra. Marina Mazón Morales PhD. quien fue mi directora, a Luis Viteri, al MSc. Marlon Pineda y al MSc. Marlon Obando quienes me brindaron su ayuda y conocimientos durante el desarrollo de mi Proyecto de Titulación, agradecer de igual manera al Dr. Edi Chamba Director Distrital de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario Agrocalidad- Loja, por haberte permitido hacer uso del Laboratorio de Referencia Regional de Nematología.

A mis padres y mis hermanos quienes son parte fundamental de mi vida, gracias por ese apoyo incondicional durante mi vida universitaria. También agradecer a mis amigos y futuros colegas Jackeline Salinas, Zoila Sanmartín, Angel Uchuari, Wagner Oviedo y Santiago Macas quienes estuvieron durante estos 5 años de vida universitaria apoyándome en el día a día y a todos quienes contribuyeron con su granito de arena para culminar con éxito esta etapa de mi vida.

Manuel Antonio González

Índice de contenidos

Portada	i
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento.....	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de figuras	ix
Índice de anexos	x
1. Título	1
2. Resumen	2
2.1. Abstract.....	3
3. Introducción.....	4
Objetivo general.....	6
Objetivos específicos	6
4. Marco teórico.....	7
4.1. El cultivo de maíz.....	7
4.1.1. Clasificación taxonómica	7
4.1.2. Principales plagas	8
4.2. Gusano cogollero (<i>S. frugiperda</i>)	8
4.2.1. Clasificación taxonómica	9
4.2.2. Ciclo biológico del cogollero	9
4.2.3. Daños que ocasiona en la planta	9
4.3. Polilla de la cera (<i>Galleria mellonella</i>).....	10

4.4. Tipos de controles	10
4.4.1. Control químico.....	11
4.4.2. Control cultural	11
4.4.3. Control biológico.....	12
4.5. Antecedentes de la investigación.....	14
5. Metodología.....	16
5.1. Lugar de estudio.....	16
5.2. Diseño de la investigación	16
5.3. Metodología del primer objetivo “Realizar la multiplicación de nemátodos entomopatógenos en larvas de <i>G. melonella</i> , en condiciones <i>in vitro</i> ”	16
5.4. Metodología del segundo objetivo. “Evaluar la mortalidad de larvas de cogollero de maíz <i>S. frugiperda</i> a causa del ataque de nemátodos entomopatógenos en condiciones <i>in vitro</i> ”	18
5.5. Análisis Estadístico.....	19
6. Resultados	20
6.1. Multiplicación de NEP’s en <i>Galleria mellonella</i>	20
6.2. Control de <i>Spodoptera frugiperda</i> con NEP’s.....	21
6.2.1. Mortalidad de <i>Spodoptera frugiperda</i>	21
7. Discusión	22
8. Conclusiones	25
9. Recomendaciones	26
10. Bibliografía.....	27
11. Anexos.....	33
11.1. Fotografías de la cría de <i>Galleria</i>	33
11.2. Fotografías de la cría de <i>Spodoptera</i>	34
11.3. Fotografías del ensayo del control de <i>Spodoptera</i>	35

Índice de figuras

- Figura 1.** Nemátodos entomopatógenos (NEP) recuperados de las larvas de *Galleria mellonella* a lo largo del tiempo después de los 15 días de inoculación (A) de tres tratamientos de NEP (T1:100, T2:200 y T3:300); total de NEP's recuperados después de 21 días (B). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)..... 20
- Figura 2.** Mortalidad acumulada en la evaluación del efecto los NEP's *Heterorhabditis bacteriophora* en *S. frugiperda* durante 120 horas: Promedios de mortalidad en cada tratamiento con diferentes concentraciones: T1-400IJ; T2-800IJ; T3-1200IJ NEP's. Medias con una letra común en sentido vertical no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) 21

Índice de anexos

Anexo 1. Obtención de <i>Galleria</i> de apiarios de Loja y Zamora	33
Anexo 2. Obtención de adultos	33
Anexo 3. Obtención de huevos de <i>Galleria</i>	33
Anexo 4. Larvas <i>Galleria</i> obtenidas mediante la cría	33
Anexo 5. Recolección de larvas de <i>Spodoptera</i>	34
Anexo 6. Separación y alimentación de las larvas	34
Anexo 7. Adultos en cámara de ovoposición	34
Anexo 8. Obtención de larvas del 4 y 5 estadio	34
Anexo 9. Inoculación de NEP's en las cajas de Petri.....	35
Anexo 10. Colocación de las larvas en cada tratamiento	35
Anexo 11. Certificado de traducción del Abstract	36

1. Título

Efecto de nemátodos entomopatógenos sobre el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith, 1797) en condiciones *in vitro*

2. Resumen

Dentro de los principales cultivos que se producen en nuestra provincia Loja se encuentra el maíz, el cual es atacado por distintas plagas y enfermedades, una de las plagas más importantes es el cogollero de maíz, el cual ocasiona pérdidas hasta de un 34 % en la producción. Por tal motivo nuestro estudio busca minimizar el daño causado por *Spodoptera frugiperda* de una forma biológica sin causar impacto al medio ambiente, por lo que el objetivo del presente trabajo es evaluar la mortalidad de las larvas de cogollero de maíz *Spodoptera frugiperda* a causa de los nemátodo entomopatógenos (NEP's) *Heterorhabditis bacteriophora* en condiciones *in vitro*. Para ello se estableció la cría del insecto con una alimentación a base de higuerilla (*Ricinus communis*), así como la cría de *Galleria mellonella* (mediante una dieta artificial) para la producción de los nemátodos. En la cual se logró obtener hasta 90 532 NEP's/larva, los nemátodos obtenidos fueron usados para el control biológico del cogollero del maíz, con una concentración de 0, 400, 800 y 1200 NEP's por tratamiento. A las 96 horas de evaluación se obtuvo una mortalidad de 54, 75 y 84 % para cada una de las concentraciones antes mencionadas, donde se pueden observar diferencias significativas entre estos tratamientos utilizados, el tratamiento en el cual se inoculó los 1200 NEP's logró ser el mejor controlador de *Spodoptera frugiperda* el. En el presente estudio se logró conocer que el control biológico es eficiente concluyendo que los NEP's son un microorganismo controlador de insectos plaga.

Palabras clave: Polilla de la cera, cogollo del maíz, cajas de Petri, *Steinernema*, *Photorhabdus luminescens*.

2.1. Abstract

Among the main crops produced in our province of Loja is corn, which is attacked by various pests and diseases; one of the most important pests is the corn earworm, which causes losses of up to 34% in production. For this reason, our study seeks to minimize the damage caused by *Spodoptera frugiperda* in a biological way without causing impact to the environment, so the objective of this work is to evaluate the mortality of the larvae of the corn earworm *Spodoptera frugiperda* due to the entomopathogenic nematode's (NEP's) *Heterorhabditis bacteriophora* under in vitro conditions. For this purpose, the rearing of this insect with a diet based on higuierilla (*Ricinus communis*) was established, as was the rearing of *Galleria mellonella* (by means of an artificial diet) for the production of the nematodes. In which it was possible to obtain up to 90 532 NEP's/larva, the nematodes obtained were used for the biological control of the corn earworm, with a concentration of 0, 400, 800, and 1200 NEP's per treatment. At 96 hours of evaluation, a mortality of 54. 75, and 84% was obtained for each of the concentrations mentioned above. Where significant differences were observed between the treatments used, the treatment in which 1200 NEP's were inoculated was the best controller of *Spodoptera frugiperda*. In the present study, it was possible to know that the biological control is efficient, concluding that NEP's are a microorganism that controls insect pests.

Key words: Wax moth, corn bud, petri dishes, *Steinernema*, *Photorhabdus luminescens*.

3. Introducción

El cultivo de maíz (*Zea mays*) está dentro de los productos agrícolas más importantes del mundo, junto al trigo, algodón, soja y arroz, el cual representa el 14 % de la superficie agrícola y el 43 % del valor bruto de la producción agrícola ([Zerbino & Panizzi, 2019](#)). Dentro de América Latina y en Ecuador, el maíz es una de las gramíneas utilizada en la dieta alimenticia de los humanos y animales, además de servir como materia prima para la elaboración de productos procesados (balanceados) o consumido directamente, e incluye una agrobiodiversidad de gran notoriedad: solo en Ecuador han sido identificadas 29 razas de maíz ([Zambrano et al., 2021](#)).

Ecuador cuenta con una superficie de 373 587 ha de maíz duro sembrado, con un rendimiento de 1 699 370 t y un rendimiento promedio de 4,6 t ha⁻¹ ([Márquez & Cuichán, 2021](#)). Las provincias que más se destacan en superficie sembrada a nivel nacional son Guayas 14,13 %, Manabí 29,82 %, Los Ríos con el 40,80 %, nuestra provincia de Loja con el 5,35 %, y el 9,9 % restante se divide en el resto de provincias del país ([Márquez & Cuichán, 2021](#)). El maíz se ve afectado en su fase vegetativa por diferentes plagas y enfermedades provocando bajos rendimientos. Entre las plagas más importantes que atacan a este cultivo se encuentran los gusanos cortadores (*Agrotis ipsilon*), trazadores (*Acromyrmex* sp. y *Atta* sp.) y los cogolleros (*Spodoptera frugiperda*) ([Wang et al., 2020](#); [Zhang et al., 2019](#)), el cual es originario de las regiones tropicales y subtropicales de las Américas donde su encuentra atacando al cultivo de maíz produciendo pérdidas económicas ([Suciu et al., 2014](#)).

El gusano cogollero (*S. frugiperda*) es una plaga la cual ataca a varios cultivos, en la actualidad se conoce que son 353 especies las afectadas por este insecto ([Wang et al., 2020](#)). Durante su ciclo biológico pasa por las etapas de huevo, larva, pupa y adulto con una duración de 53 días aproximadamente ([Mallapur et al., 2018](#)), el cual causa daños en el estado larval, al comerse el cogollo del maíz, lo que genera pérdidas en la producción hasta del 34 % ([Deole & Paul, 2018](#)). Por tal motivo esta plaga es de gran importancia económica en el Ecuador ([Nagoshi et al., 2019](#)), por lo cual los productores se han visto obligados a utilizar métodos de control para mitigar el daño que causa *S. frugiperda*.

Entre las formas de mitigación disponibles se encuentra el control biológico, que permite reducir las poblaciones de esta plaga sin causar un impacto negativo al medio

ambiente, y así garantizar un menor daño económico en el cultivo ([Ghosh et al., 2023](#)). Hoy en día el control biológico se ha convertido en uno de los métodos más innovadores en el manejo integrado de plagas (MIP) ([Sharmila et al., 2018](#)). El cual se basa en el uso de organismos antagonistas, entre los cuales se encuentran los nemátodos entomopatógenos (NEP's). Uno de los géneros utilizados de los NEP's en el control biológico es *Heterorhabditis*, ya que es de fácil aplicación mediante pulverizaciones, las cuales se pueden hacer con bomba de mochila o a través de los sistemas de riego, con una gran eficiencia sin la necesidad de un equipo costoso ([Chaubey, 2021](#)).

Los NEP's se introducen al cuerpo del huésped a través de aberturas naturales, para luego liberar la bacteria simbiote *Photorhabdus* específica de *Heterorhabditis*, que mata al huésped por septicemia, normalmente en 2 días ([Caccia et al., 2014](#)), sin embargo no se sabe con exactitud cuál es la concentración de NEP's más efectiva en el control de esta plaga.

De acuerdo con los antecedentes de nuestra investigación, en nuestra provincia de Loja existe la producción a gran escala del cultivo de maíz, en la cual se utiliza productos químicos para el control de *S. frugiperda*, es decir no realizan control biológico para mitigar los daños ocasionados por el cogollero. Por tal motivo el presente estudio tiene como objetivo evaluar la eficiencia de los NEP's en el manejo y mortalidad de *S. frugiperda*.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la eficacia de los nemátodos entomopatógenos en el manejo de cogollero de maíz *S. frugiperda*.

Objetivos específicos

- Realizar la multiplicación de nemátodos entomopatógenos en larvas de *Galleria mellonella*, en condiciones *in vitro*.
- Evaluar la mortalidad de larvas de cogollero de maíz *S. frugiperda* a causa del ataque de nemátodos entomopatógenos en condiciones *in vitro*.

4. Marco teórico

4.1.El cultivo de maíz

El maíz (*Zea mays* L.) es originario de México, el cual se extendió a practicante todo el mundo. Es un cultivo de gran importancia alimenticia, por lo que se lo considera uno de los productos agrícolas que representan a la economía regional en nuestro país, es cultivado desde los 23° norte y 32° sur con altitudes que van desde el nivel de mar hasta los 3 000 m sobre el nivel del mar ([Prasanna, 2012](#)). Es la principal materia prima para la producción de alimentos concentrados (balanceados) en la industria animal, especialmente avicultura comercial, es una de las actividades más dinámicas del sector agrícola. Ecuador tiene una superficie de 373 587 ha de maíz duro sembrado, con un rendimiento de 1 699 370 t con un rendimiento promedio de 4,6 t ha⁻¹ ([Márquez & Cuichán, 2021](#)). La superficie sembrada a nivel nacional se encuentra distribuida en dos sectores principales, en la costa con un 84,75 % entre las cuales tenemos a Los Ríos con 40, 80 %, Guayas 14,13 %, Manabí 29,82 % y el 15,25 % se encuentra distribuido entre la amazonia y la sierra ([Márquez & Cuichán, 2021](#)).

El cultivo de maíz (*Zea mays*), en la sierra ecuatoriana es de suma importancia por el área cultivada y el papel que juega en la seguridad y soberanía alimentaria, porque es un elemento esencial de la dieta rural de la población, el consumo per cápita de maíz blanco es de 14,50 kg / año por persona. El área sembrada con maíz blanco para el año 2020 fue de 74,961 hectáreas con un promedio de 3.36 toneladas / ha para maíz choclo y 1.07 para granos secos ([Vargas-Salgado et al., 2021](#)).

4.1.1. Clasificación taxonómica

El maíz taxonómicamente pertenece a la familia de las gramíneas Poaceae (Gramineae) tribu Maydeae, es una plata actualmente considerada domesticada la cual es una de las más productivas de las plantas alimenticias ([García-Lara & Serna-Saldivar, 2019](#)).

4.1.2. Principales plagas

El cultivo de maíz, se ve afectado por diferentes problemas fitosanitarios, entre los más importantes, está el ataque de plagas que causan daño a nivel de planta raíz, hojas, tallo y mazorca, entre las principales tenemos: gusano del cholo (*Heliothis zea* Boddie, 1850), polilla del maíz (*Ostrinia nubilalis* Hubner, 1796), gusano trozador (*Agrotis ipsilon* Hufnagel, 1766), el cutzo (*Phyllophaga* sp) y cogollero (*Spodoptera frugiperda* Smith, 1797) el cual es causante de grandes pérdidas económicas en este cultivo, el principal ataque y daño es a nivel del follaje, todas estas plagas causan pérdidas significativas en el rendimiento de la producción de maíz ([Suciu et al., 2014](#)). Estas pérdidas, pueden llegar hasta un 31% de ataque de plagas en asocio con enfermedades (roya común (*Puccinia sorghi*), el tizón foliar (*Exserohilum turcicum*) y mancha foliar del maíz causada por *Cercospora zea-maydis*) ([Sibiya & Sumbwanyambe, 2019](#)). Para poder manejar este problema, es necesario conocer el ciclo biológico y la forma de alimentación de la plaga en el cultivo, para poder predecir los momentos críticos de ocurrencia y así establecer métodos de control efectivos, para asegurar el correcto crecimiento de las plantas ([Jaramillo-Barrios et al., 2020](#)).

4.2. Gusano cogollero (*S. frugiperda*)

El gusano cogollero (*S. frugiperda*) es nativo de América Central y del Sur, el cual se ha extendido a los continentes de África, Asia para pasar a los países de Corea y Japón en el año 2019 ([Acharya et al., 2020](#); [Liu et al., 2020](#)), esta especie, es una plaga polífaga es decir que se encuentra atacando a una gran variedad de especies ([Dumas et al., 2015](#)).

S. frugiperda insecto prefiere los brotes jóvenes porque son fáciles de comer, posee un alto nivel de canibalismo es decir se pueden comerse entre sí. *S. frugiperda* tiene el potencial de dañar 353 especies de plantas pertenecientes a 76 familias de plantas ([Wang et al., 2020](#)), entre los principales cultivos atacados se encuentran algodón, sorgo, trigo, soja, girasol, frijol, papa, arroz y el maíz, en este último reducen el rendimiento hasta en un 57% ([Acharya et al., 2020](#); [Andaló et al., 2010](#); [Dumas et al., 2015](#)). Es una de las plagas más importantes del maíz y otros cultivos económicos en Ecuador y muchos otros países, convirtiendo en un problema grave en las regiones cálidas tropicales y subtropicales ([Sihler](#)

[et al., 2018](#)).

4.2.1. Clasificación taxonómica

El gusano cogollero del maíz fue descrito por primera vez por J.E. Smith en el año 1852. Considerando algunas modificaciones que ha tenido a lo largo del tiempo en su clasificación, este insecto pertenece al orden Lepidóptera, familia Noctuidae, género *Spodoptera*, especie *Spodoptera frugiperda* ([Salvadori et al., 2012](#)).

4.2.2. Ciclo biológico del cogollero

El ciclo biológico de *S. frugiperda*, tiene una duración de 24 a 30 días en condiciones óptimas para su desarrollo ([Hutasoit et al., 2020](#)), el cual puede llegar hasta los 64 días en condiciones no favorables, el cogollero tiene una alta tasa de reproducción llegando a 900-1000 huevos por hembra ([Johnson, 2011](#)), durante el ciclo biológico esta plaga pasa por los estadios de: huevecillo (2 a 3 días), larva (comprende 6 estadios, 14 a 30 días), pupa (6 a 11 días) y adulto (6 a 20 días) ([Deole & Paul, 2018](#)).

Durante las primeras etapas del crecimiento de maíz, se encontró masas de huevos de *S. frugiperda* en mayor número en el envés de la hoja, cuando las plantas tenían 8-10 y 12-24 hojas los huevos se ponen en las regiones media y superior, y el mayor número de poblaciones de huevos se produce en la etapa de 4-6 hoja ([Hruska, 2019](#)).

4.2.3. Daños que ocasiona en la planta

S. frugiperda generalmente se alimenta en la etapa de crecimiento del maíz comiendo las hojas y cogollo, pero con mayor frecuencia después de la geminación, es decir en plantas jóvenes de hasta 45 días. Las larvas suelen consumir una gran cantidad de follaje y a veces impiden el desarrollo y crecimiento del cultivo. El cogollero en el primer estadio suele comer el tejido verde de un lado de la hoja, dejando intacta la epidermis membranosa del otro lado y las larvas más viejas comienzan a hacer agujeros en las hojas, el cuarto, quinto y sexto estadio pueden destruir completamente las plantas pequeñas y arrancar las más grandes ([Assefa & Ayalew, 2019](#)).

La reducción de la producción de maíz debida a la alimentación de *S. frugiperda* es de hasta el 34% ([Deole & Paul, 2018](#)). En este punto, el gusano comienza a rascar y alimentarse del follaje, que se considera el momento más fácil para identificarlo. Además, son etapas fáciles de controlar con insecticidas por exposición de la plaga. A medida que el gusano crece, comienza a migrar a diferentes plantas, una vez que crece la plaga, se instala en el cogollo de maíz ([Health et al., 2017](#)).

4.3. Polilla de la cera (*Galleria mellonella*)

La polilla de la cera es considerada como una plaga, la cual afecta las colmenas de abejas, atacan y dañan las colonias de las melíferas y la producción de miel, los invaden para colocar sus huevos y poder reproducirse, *Galleria mellonella* es un miembro de la subfamilia Galleriinae dentro de la familia Pyralidae del orden de los lepidópteros ([Kwadha et al., 2017](#)). Este insecto vive a una temperatura de 20 a 30 °C y una humedad relativa cercana a los 80%, el ciclo biológico de este insecto puede durar de alrededor de 36 y 51 días ([Costa et al., 2007](#); [Hussein et al., 2022](#)).

4.4. Tipos de controles

Por las alta población existente de *S. frugiperda*, se ha visto la necesidad de tratar de controlar sus efectos en el cultivo de maíz, mediante la utilización de diferentes tipos y métodos de control, el principal método es a través de productos químicos de amplio espectro como son los insecticidas ([Sihler et al., 2018](#); [Wang et al., 2020](#)), los cuales son baratos, eficaces y de acción rápida, pero tienen muchos efectos secundarios, como la contaminación del medio ambiente y los riesgos para la salud debido a su penetración en la cadena alimentaria ([Naeem-Ullah et al., 2020](#)). El control biológico es otro método el cual ayuda a mitigar el daño a causa de *S. frugiperda*, comprende diversos tipos de hongos, bacterias, virus y nemátodos entomopatógenos los cuales generan un control sin afectar al medio ambiente o la salud de los seres humanos o animales ([García-Gutiérrez et al., 2012](#)), finalmente está el control cultural.

4.4.1. Control químico

El control químico hace referencia específicamente a la utilización de fórmulas químicas para el control de plagas en los diferentes cultivos, los cuales poseen la capacidad para reprimir, mitigar o prevenir el desarrollo y daños de umbral económico en los cultivos ([Paredes-Sánchez et al., 2021](#)). Hoy en día en la agricultura los plaguicidas son utilizados ampliamente en el control de plagas en los cultivos para mejorar así la calidad, rendimientos y rentabilidad ([Fernández et al., 2010](#)), la medida química es la alternativa más usada en el control de gusano cogollero, para poder mitigar el daño, los agricultores necesitan realizar la aplicación de una gran cantidad de insecticidas y múltiples combinaciones para poder controlarla ([Togola et al., 2018](#)).

Dentro de los tipos de insecticidas más utilizados en el control de *S. frugiperda* están los organofosforados, spinosin, y piretroides, entre los cuales tenemos a los clorpirifos, lufenurón, cipermetrina, spinosad, metoxifenozida y deltametrina ([Devine et al., 2008](#); [IRAC](#); [Aldomario S. Negrisoli et al., 2010](#)).

4.4.2. Control cultural

Dentro del control cultural se encuentran diferentes enmiendas que se pueden realizar para prevenir el daño del insecto plaga en el cultivo, para lo cual se debe realizar un monitoreo constante en el cultivo, cuando se encuentre un 20 % de plantas con daño inicial se debe realizar o efectuar medidas de control, se puede revisar de 20 o 30 plantas consecutivas y registrar la presencia de larvas en el cultivo, mediante la observación del daño en las hojas y cogollo ocasionado, se debe repetir esta operación en diferentes sectores del lote donde se encuentra el cultivo y determinar así el % de plantas con daño ([Zamora Belli et al., 2020](#)). Una práctica cultural importante, empleada en el cultivo para evitar la presencia de *S. frugiperda*, es la siembra temprana y/o las variedades de maduración temprana ([Capinera, 2002](#)), realizar la siembra con plantas resistentes a plagas y enfermedades.

4.4.3. Control biológico

El control biológico es una de las alternativa al uso indiscriminado de los insecticidas químicos, control biológico es esencialmente una alternativa ecológica estrechamente relacionada con la teoría de la experimentación y la modelización de diversas áreas, especialmente con la biología ([Sharmila et al., 2018](#)). Dentro del control biológico, se encuentra la utilización de los NEP's, los cuales han demostrado tener un gran potencial de estudio dentro del control de plagas, por su capacidad para atacar al insectos al momento de su aplicación ([Dillman & Sternberg, 2012](#)).

4.4.3.1. Nemátodos entomopatógenos

A nivel mundial, se conoce dos géneros los cuales sobresalen entre los NEP's, es decir, *Steinernema* y *Heterorhabditis*, están representados por 100 y 16 especies, respectivamente, en la mayoría de los casos, no es necesario un equipo de aplicación especial, una ventaja de los nemátodos es que, en la mayoría de las especies son compatibles con pulverizadores presurizados, de niebla, electrostáticos, de abanico y aéreos, los pulverizadores de manguera, los pulverizadores de bomba y las regaderas también son aplicadores eficaces, logrando así aplicar a los nemátodos mediante los sistemas de riego, en los campos agrícolas durante las temporadas del cultivo de maíz ([Chaubey, 2021](#)).

El modo de acción de los NEP's es buscar y encontrar un huésped susceptible, para luego, los juveniles infecciosos del tercer estadio J3 se introduzcan al cuerpo del huésped a través de aberturas naturales, para luego liberar las bacterias simbiotes específicas de cada género que matan al huésped por septicemia, normalmente en 2 días, dependiendo de las condiciones edafoclimáticas donde se realizó la aplicación. Sin embargo, muchas especies de NEP's pertenecientes a ambos géneros se han utilizado con éxito como agentes en el control biológico contra una serie de plagas insectos que ocupan diferente hábitat ([Caccia et al., 2014](#)). Los nemátodos, que suelen tener menos de 1 mm de longitud, son compatibles con la mayoría de los equipos de pulverización, y su facilidad de aplicación ha sido un factor importante en su desarrollo ([Gaugler et al., 1997](#)).

a) Principales géneros

Los principales géneros que se reportan y los más usados en distintos estudios en el control biológico de plagas son Rhabditida, de estos los más conocidos en la utilización de control biológico con NEP's están los *Heterorhabditis* y *Steinernema* se utilizan contra las plagas de insectos ([Aldomario S Negrisoli et al., 2010](#)), entre las principales especies que infectan estos nemátodos tenemos a los lepidópteros, hemípteros, coleópteros y dípteros, los géneros antes mencionados de nemátodos se pueden reproducir masivamente para ser aplicados facialmente en el control bilógico de diferentes plagas ya que son sumamente seguros para los organismos que no son su objetivo de control como también seguros para el medio ambiente ([Kaya & Gaugler, 1993](#); [Van Niekerk & Malan, 2012](#)).

b) Ciclo biológico

El ciclo biológico parasitario de los NEP's, se inicia en los estadios juveniles infectivos específicamente en el estadio (IJ), los cuales buscan e invaden a sus insectos huéspedes a través de aberturas naturales como son el ano, boca y espiráculos, una vez que entran al insecto, invaden el hemocele para luego liberar la bacteria simbiote la cual se encuentra dentro del intestino del NEP y esta causa septicemia montando así al insecto al huésped en un lapso de 24 a 48 horas aproximadamente ([Grewal & Georgis, 1999](#); [Kaya & Gaugler, 1993](#)). Los juveniles infecciosos (IJ) penetran en el hemocele del insecto y liberan sus bacterias simbióticas (*Xenorhabdus spp.* en Steinernematidae y *Photorhabdus spp* en Heterorhabditidae).

En Heterorhabditidae, se multiplican y generan metabolitos que matan al insecto y sirven de fuente de alimento para los nemátodos ([Aldomario S Negrisoli et al., 2010](#)). En el interior del insecto el nemátodo pasa por tres estadios juveniles, siendo el tercero llamado juvenil infectivo (J1) el cual sale del insecto a buscar nuevos hospedadores para iniciar nuevamente el ciclo de vida, con un máximo de 20 días de la infección y como resultado de la reproducción de los nemátodos se puede observar miles de juveniles emergen del insecto hospedador ([Costa et al., 2007](#)).

c) Ecología

Dentro de la ecología de los nemátodos podemos mencionar a las características físicas o químicas (por ejemplo, la humedad del suelo, temperatura, pH, textura, estructura y densidad) y las características resultantes de las actividades humanas (por ejemplo, la alteración química o física durante la gestión del ecosistema, como la fertilización, la aplicación de pesticidas, etc.), en particular, la humedad del suelo es un factor abiótico crítico que afecta a el comportamiento, la eficacia y la supervivencia de los NEP's porque los nemátodos requieren películas de agua de suficiente grosor y continuidad para permitir su movimiento ([Campos-Herrera et al., 2012](#)).

Los nemátodos entomopatógenos no son eficaces a altas temperaturas porque son muy sensibles a la luz ultravioleta y requieren una humedad adecuada y una elevada humedad relativa para sobrevivir, ser virulentos y ser eficaces durante un período de tiempo considerable. Los factores que influyen en la movilidad y la supervivencia de los juveniles infecciosos son la humedad del suelo, la temperatura, textura, el pH del suelo y los factores bióticos, el bajo rango de tolerancia a la temperatura es una limitación en su uso a gran escala en la agricultura ([Gaugler et al., 1997](#)).

Dentro de los géneros más importantes como son los Steinernematidae pueden sobrevivir en un rango de temperatura de 4° a 30 °C, mientras que Heterorhabditidae sobreviven en un rango óptimo de 15° a 28 °C ([Sharmila et al., 2018](#)).

Como ocurre con otros agentes de control biológico, la eficacia de los nemátodos entomopatógenos puede verse influida por varios factores abióticos y bióticos que en este caso pueden incluir la textura del suelo, la temperatura, la humedad y los enemigos naturales de los nemátodos, como los hongos y los invertebrados depredadores, se pueden atribuir más fracasos de control biológico con nemátodos a la realización de liberaciones en hábitats inapropiados que a cualquier otra razón ([Gaugler et al., 1997](#)).

4.5. Antecedentes de la investigación

Durante las últimas décadas se han venido utilizando los nemátodos entomopatógenos (NEP's) para el control biológico de plagas en todo el mundo, siendo los principales géneros utilizados *Steinernema* y *Heterorhabditis* ([Burnell & Stock, 2000](#); [Grewal & Georgis, 1999](#)). Los NEP's, que se encuentran de forma natural en el campo, han

servido para controlar a muchas especies de insectos que constituyen plagas agrícolas como lepidópteros, hemípteros, coleópteros y dípteros ([Chen et al., 2022](#)), permitiendo disminuir la utilización de plaguicidas ([Rosales et al., 2009](#)).

Estos agentes de control son un sustituto eficaz y económico frente a los insecticidas químicos en la industria floricultura de Países Bajos, Inglaterra y Alemania ([Vashisth et al., 2013](#)). En Australia, Europa y América se los viene utilizando en cultivos de palma, invernadero, huertos, plantas ornamentales, césped y silvicultura ([Divya & Sankar, 2009](#); [Lacey & Georgis, 2012](#)). En el año 2021 se reportó por primera vez la utilización de los NEP's de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* con diferentes cepas en el control de mosca de la fruta (*Bactrocera dorsalis*), a nivel de laboratorio se obtuvo una mortalidad entre un 7,03 hasta 96,09 %, mientras que en laboratorio se llegó a tener una mortalidad de 70,84 % \pm 10,46 en el cual se demostró la eficiencia de control que poseen los NEP ([Godjo et al., 2021](#)).

En un estudio realizado por [Andaló et al. \(2010\)](#), el cual se llevó a cabo en el laboratorio, pudieron observar que los nemátodos *Steinernema arenarium* y *Heterorhabditis* sp. son eficientes en el control sobre *Spodoptera frugiperda*, con una concentración de 250 IJ nemátodos, *S. arenarium* llegó a una mortalidad del 85 % y *Heterorhabditis* sp. llegó a 90 % de mortalidad. En México [Fallet et al. \(2022\)](#) utilizaron una cepa de nemátodos comerciales para el control de *Spodoptera frugiperda* la cual fue *Steinernema carpocapsae* con la cual se logró una mortalidad de 58 %, para comparar su efectividad utilizaron otras cepas mexicanas con las cuales obtuvieron resultados similares: para *Heterorhabditis zacateca* obtuvieron un 71 %, para *Steinernema riobrave* el 58 % y para *Heterorhabditis mexicana* el 55 % de mortalidad.

5. Metodología

5.1. Lugar de estudio

El presente trabajo se realizó en la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario – AGROCALIDAD en el Laboratorio de Nematología de Referencia Regional-Loja, el cual está ubicado en la ciudad de Loja a 2 107 msnm, con una latitud de 3° 58' 38" S y longitud de 79° 12' 36" O; una temperatura promedio de 15 °C y una precipitación promedio anual de 1453 mm ([Aguirre-Padilla et al., 2018](#)).

5.2. Diseño de la investigación

La presente investigación es de carácter experimental, se realizó un diseño completamente aleatorizado (DCA), compuesto por 4 tratamientos (T) en los cuales se utilizaron diferentes concentraciones de nemátodos entomopatógenos (NEP) de la especie *Heterorhabditis bacteriophora*; cada tratamiento constó de cinco réplicas (R). Los tratamientos fueron: NEP 400 J3 (juvenil infectivo) /mL (T1), NEP 800 J3/mL (T2) y NEP 1200 J3/mL (T3) más un control para cada tratamiento. Se evaluó el efecto que tienen los nemátodos entomopatógenos sobre la mortalidad del cogollero de maíz (*S. frugiperda*). Dentro de este estudio se trabajó con un total de 20 unidades experimentales (UE) las cuales fueron cajas Petri (se utilizaron 4 larvas de cogollero por caja de Petri con subdivisiones para evitar el canibalismo), esto se realizó en condiciones *in vitro* en los laboratorios de Agrocalidad.

5.3. Metodología del primer objetivo “Realizar la multiplicación de nemátodos entomopatógenos en larvas de *G. mellonella*, en condiciones *in vitro*”

Para la multiplicación de nemátodos se utilizó un hospedador, en este caso la polilla de la cera de abeja *Galleria mellonella* (Anexo 1). Se colectaron las larvas de *G. mellonella* en diferentes apiarios de la provincia de Loja y Zamora, las que se colocadas en una dieta compuesta por 100 g de leche en polvo, 80 g de salvado de trigo, 100 g de harina de trigo, 100 g de harina de maíz, 100 ml de glicerina y 100 ml de miel de abeja para poder obtener las polillas ([Costa et al., 2007](#); [Hussein et al., 2022](#)). Una vez obtenidas las polillas (Anexo 2), fueron colocadas en frascos de vidrio de medio litro (carameleros) para la cópula, al

interior se colocaron abanicos de papel parafinado o papel seda para que coloquen allí sus huevecillos (Anexo 3), que luego fueron colectados con un pincel y colocados en una bandeja de plástico con dieta nueva ([Rosales et al., 2009](#)).

En bandejas plásticas de 20 cm x 20 cm debidamente ventiladas, se colocaron aproximadamente 200 gramos de dieta artificial y 0,5 gramos de huevos de *G. mellonella* (se obtuvo un total de cuatro bandejas). La colecta de huevecillos se realizó cada 2 o 3 días de los frascos de vidrio y fueron colocados directamente en la dieta a una temperatura de 22°C en una incubadora memert para obtener las larvas de *G. mellonella* (Anexo 4).

Para la multiplicación de los nemátodos, las larvas obtenidas de *G. mellonella* se las colocaron en cajas de Petri las cuales contenían papel filtro a capacidad de campo, donde se colocó la concentración de 100, 200 y 300 NEP's (*Heterorhabditis bacteriophora*), más un tratamiento testigo, a los cuales se los sello con papel Field, las larvas con los síntomas de infección por nemátodos se pasaron a trampas "White" las cuales estuvieron formadas por dos platos Petri, un plato Petri grande de 15 cm en el cual se colocó 45 ml de agua destilada y otro plato Petri más pequeño de 9 cm, dentro de este se colocó un papel filtro húmedo con 4 larvas de *G. mellonella* para la recuperación de los NEP's. Se mantuvieron las trampas White tapadas con plástico negro para evitar la muerte de los NEP's por la luz, y los nemátodos empezaron a salir del cadáver de la *G. mellonella* en un lapso de 6 a 10 días, estos se desplazaron por el papel húmedo hasta llegar al agua del plato Petri (15 días) donde se quedaron atrapados ([Rosales et al., 2009](#)).

Transcurridos los 15 días se recolectó la solución agua-nemátodo y se la renovó, para después de 2 días más realizar la segunda cosecha, se volvió a renovar el agua y transcurridos 19 días más se realizó la tercera, y a los 21 días se realizó la última cosecha de los nemátodos entomopatógenos. Este método permite cosechar hasta 200 000 nemátodos juveniles infectivos por larva de *G. mellonella* aproximadamente ([Rosales et al., 2009](#)). Una vez realizada la cosecha de los nemátodos estos se trasladaron a recipientes con agua destilada, los cuales se colocaron por dos horas en un vaso de precipitados de forma inclinada, para que se asienten en el fondo del recipiente. Finalmente se descartó el sobrenadante y se colectaron los nemátodos encontrados.

5.4. Metodología del segundo objetivo. “Evaluar la mortalidad de larvas de cogollero de maíz *S. frugiperda* a causa del ataque de nemátodos entomopatógenos en condiciones *in vitro*”

Previo a la evaluación de mortalidad de *S. frugiperda*, se realizó la cría del insecto plaga, se colectaron las larvas del cogollero en los cultivos de maíz del valle de Catamayo (Anexo 5), se colocaron en una tarrina de medio litro con pequeños orificios en su tapa y se las alimentó con hojas de maíz hasta llevarlas al laboratorio (se les proporcionó el suficiente alimento para evitar que se coman entre ellas por efecto de canibalismo) ([Burgos, 2017](#)). Una vez en el laboratorio las larvas fueron colocadas en recipientes individuales (Anexo 6) hasta que alcanzaron el estado de pupa, se les proporcionó hojas de higuierilla *Ricinus communis* como alimento.

Las larvas que alcanzaron la etapa de adulto se las colocó en vasos plásticos de un litro, en la tapa de este se realizaron pequeños orificios para el intercambio de aire, en este recipiente se colocó papel filtro a manera de abanico para que las hembras ovipositen (Anexo 7), y el recipiente fue colocado en una cámara de cría a 25 °C durante todo el ciclo de *S. frugiperda*. Dentro de este recipiente se les proporcionaron algodones saturados con una solución azucarada a base de agua más miel de abeja como suplemento de alimento ([Vásquez et al., 2002](#)). Una vez realizada la ovipostura por partes de las mariposas, se trasladaron los huevos a recipientes (vasos de una onza) a la espera de que llegaran al estado larval para luego separarlas y evitar el canibalismo, luego fueron trasladadas a vasos de una onza con alimento necesario y cada 3 días se renovó el alimento (higuierilla) hasta alcanzar el estadio larval 4 y 5 (Anexo 8).

Una vez que la cría de cogollero se estableció, se recolectaron las larvas en los estadios 4 y 5 para ser infestadas por juveniles infectivos del NEP's, para lo cual fue necesario colocar las larvas en una caja de Petri, para ello se realizaron 4 divisiones en cada caja ([Burgos, 2017](#)).

Una vez que los NEP's fueron extraídos se retiró la mayor cantidad de agua del último lavado y se aforó a un volumen de 100 ml de suspensión con agua destilada. De los 100 mL se extrajo de la suspensión en movimiento 2 ml y se colocó en una caja de Petri, en

la cual se realizaron cuadrantes para facilitar el conteo de los nemátodos con ayuda de un estereomicroscopio, luego con este resultado se extrapolo para poder obtener la concentración de nemátodos en los 100 mL de suspensión ([Sánchez Jara et al., 2019](#)).

Una vez que se conoció la concentración de la solución agua - nemátodo, se procedió a realizar la aplicación de los nemátodos a las placas de Petri (Anexo 9), las cuales contenían papel filtro, el cual fue humedecido previamente con 1 mL de las diferentes concentraciones de NEP's (400, 800 y 1200), luego se procedió a colocar las divisiones y seguidamente poner las larvas de cogollero (Anexo 10), las cuales no contaron con alimento durante el tiempo de evaluación. Las cajas de Petri fueron observadas cada 24 horas por el lapso de 5 días después de haber realizado la inoculación de los NEP's ([Costa et al., 2007](#)), para poder conocer el porcentaje de mortalidad del gusano cogollero del maíz a causa de los nemátodos entomopatógenos.

5.5. Análisis Estadístico

Los datos colectados en la recuperación de los nematodos en cada uno de los tratamientos fueron sometidos a la ANOVA ONE WAY no paramétrica Kruskal-Wallis, SigmaPlot 14.5 (**Systat Software**, San Jose, CA). Para, la mortalidad registrada de las *S. frugiperdas* en cada uno de los tratamientos fue analizada por ANOVA ONE WAY paramétrica al cumplir con los testes de normalidad e igualdad de varianza.

6. Resultados

6.1. Multiplicación de NEP's en *Galleria mellonella*

En la figura 1A se presenta a los NEP's recuperados en cada una de las 4 cosechas realizadas, el número de NEP's recuperados fue menor en las cosechas 1, 2 y 4 ($P < 0.05$) para todas las inoculaciones iniciales. En la 3 cosecha se logró recuperar el mayor número de NEP's, siendo la mayor inoculación (300 nemátodos) donde se logró la mayor multiplicación (600 000 nemátodos recuperados) respecto a los otros tratamientos ($P < 0.05$). En la Figura B se presenta la recuperación de los NEP's al final del periodo de cosecha, como se puede observar de la mayor inoculación se obtuvo mayor número de NEP's cuando se la compara con el resto de inoculaciones.

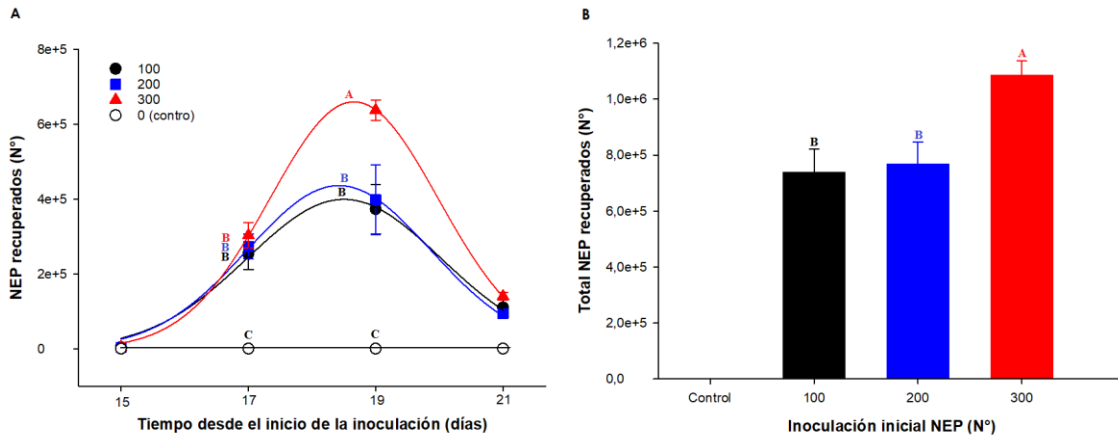


Figura 1. Nemátodos entomopatógenos (NEP) recuperados de las larvas de *Galleria mellonella* a lo largo del tiempo después de los 15 días de inoculación (A) de tres tratamientos de NEP (T1:100, T2:200 y T3:300); total de NEP's recuperados después de 21 días (B). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

6.2. Control de *Spodoptera frugiperda* con NEP's

6.2.1. Mortalidad de *Spodoptera frugiperda*

Se pudo evidenciar el efecto de *Heterorhabditis bacteriophora* en el control de *Spodoptera frugiperda*, el cual llegó a causar hasta un 90 % de mortalidad a las 120 horas de la inoculación. A las 24 y 48 horas después de la inoculación de los NEP's no se presentaron diferencias significativas entre los Tratamientos, al día 3 se puede observar diferencias significativas, donde el T3 logró el mayor porcentaje de mortalidad entre los tratamientos utilizados con un 66 %, siendo mayor a T2 y T1 con 36 y 42 % respectivamente. Al cuarto día (96 horas) de evaluación se puede observar que la diferencia existente entre los tratamientos disminuye, siendo mayor el T3 con respecto al T2, con una reducción del 27 %, alcanzando este tratamiento una mortalidad del 75 %, con respecto al T1 se obtuvo una disminución de la diferencia del 12 %, alcanzando este una mortalidad del 54 %, de igual forma se observó que el T0 (testigo) no presentó mortalidad. Todas las larvas muertas hasta las 120 h de evaluación presentaron síntomas característicos por el ataque de NEP's.

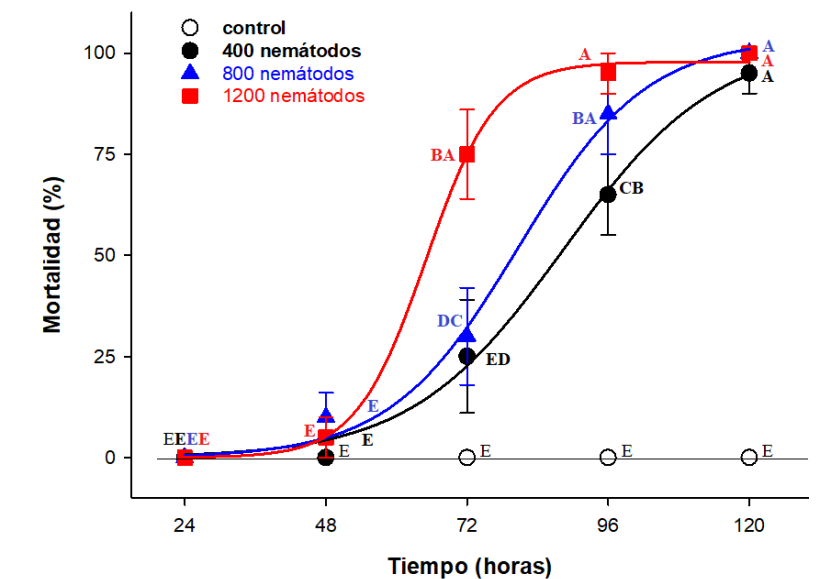


Figura 2. Mortalidad acumulada en la evaluación del efecto los NEP's *Heterorhabditis bacteriophora* en *S. frugiperda* durante 120 horas: Promedios de mortalidad en cada tratamiento con diferentes concentraciones: T1-400IJ; T2-800IJ; T3-1200IJ NEP's. Medias con una letra común en sentido vertical no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

7. Discusión

Para el control biológico de *Spodoptera frugiperda* con NEP's fue necesario iniciar con la multiplicación de los nemátodos las larvas de *Galleria mellonella*, que coinciden con el estudio realizado por [Molina et al. \(2004\)](#), en el cual menciona que es posible multiplicarlos en este insecto, para lo cual se estableció la cría mediante una dieta artificial, que está basada en lo señalado por ([Hussein et al., 2022](#)). El nemátodo se multiplicó fácilmente en estas larvas, obteniendo una producción de 61 697 a 90 532 nemátodos/larva, la cual está dentro del rango de multiplicación reportado por [Flanders et al. \(1996\)](#), quienes afirman que los rendimientos de producción pueden alcanzar los 50 000 a 400 000 nemátodos/larva de *Galleria*. Asimismo, [Jansson \(1996\)](#) menciona que *Heterorhabditis bacteriophora* alcanza una producción de 137 229 nemátodos/larva de *Galleria*, y en otro estudio se menciona que puede llegar a una producción de 141 562 a 271 593 nemátodos/larva de *Galleria* ([Unlu & Ozer, 2003](#)). Queda demostrado que *Galleria* es un excelente medio de multiplicación de los NEP's. Estos nemátodos poseen una bacteria simbiote (*Photobacterium luminescens*) la cual causa la muerte de *Galleria* por septicemia ([Caccia et al., 2014](#)), alojándose en la hemolinfa del insecto una vez que ha sido atacado por los NEP's.

La multiplicación realizada con una concentración de 300 NEP's/ml de agua destilada permitió obtener 90 532 NEP's/larvas en 21 días, la cual es mayor de a la reportada por [Realpe et al. \(2008\)](#) quien logro una recuperación de 86 250 para *Steinernema colombiense* y de 78 750 para *Heterorhabditis bacteriophora* con una concentración de 1000 NEP's, claramente se puede ver que nuestra multiplicación fue mayor a pasar que se utilizó una menor concentración de NEP's. Mientras que [Sáenz and López \(2011\)](#) con una concentración de 1000 NEP's/ml de *Heterorhabditis* sp. alcanzaron una producción total de 150 000 a 280 000 nemátodos/larva de *Galleria* hasta el agotamiento del hospedero, empezando la colecta de nemátodos a los 15 días de la inoculación, siendo el 5° y el 6° día en los de mayor recuperación, por lo tanto, si se espera hasta el agotamiento del hospedero se va a lograr un mayor número de multiplicación.

En cambio, en otro estudio se menciona que por cada larva de *Galleria* en un periodo de 20 días con una concentración de 100 NEP's/ml se lograron recuperar 270 810

individuos de *Heterorhabditis indica*, 238 470 de *Steinernema siamkayai* y 208 260 de *Steinernema bicornantum* ([Kashyap et al., 2021](#)), por lo que en comparación con este estudio la presente investigación tuvo una multiplicación de nemátodos baja. Estas diferencias podrían atribuirse a la especie del nemátodo utilizada, el tiempo de emergencia o la duración del ciclo de los NEP's en el hospedante, aunque [Ortiz et al. \(1994\)](#) afirma que la producción de NEP's puede ser muy variable y no depende necesariamente de la especie de nemátodo utilizada.

La evaluación de mortalidad de *Spodoptera frugiperda* causada por el nemátodo *Heterorhabditis bacteriophora* se la llevó a cabo durante un período de 5 días, con una concentración de 400 y 800 NEP's, donde al tercer día de la aplicación se logró una mortalidad de 24 y 30 % respectivamente. En un estudio realizado por [Casusol and Neira \(2011\)](#), menciona que *Heterorhabditis bacteriophora* con una concentración de 200 y 300 NEP/ml en larvas de cogollero mostraron un mortalidad de 16,2 % y 23,86 % respectivamente, estos resultados convalidan nuestra postura, al decir que a mayor concentración de NEP's mayor será el porcentaje de mortalidad que se obtendrá, como se observa en este estudio con una concentración de 300 no lograr alcanzar ni el 24% de mortalidad esto se debe a la concentración que ellos utilizaron, porque cuando nosotros utilizamos una concentración 400 NEP's a los 5 días de evaluación logramos una mortalidad del 90 % y al día tres ya fue mayor al 24%, esto se logró al garantizar las condiciones óptimas al nemátodo para infestar a *S. frugiperda*, como una temperatura de 20 a 25 °C y humedad relativa de 60 % ([Sánchez Jara et al., 2019](#); [Van Damme et al., 2016](#)).

A las 72 horas de evaluación *S. frugiperda* presentó una mortalidad del 66 % con una concentración de 1200 NEP's, algo inferior a lo obtenido por [Saltos Rea \(2021\)](#) en el mismo tiempo, que fue de 82,2 %, pero con una concentración de 750 NEP. Sin embargo, cabe recalcar que una parte importante de las larvas reportadas como vivas (y que por tanto no formaron parte del 66 % de mortalidad), ya a las 72 horas tenían una movilidad visiblemente reducida, lo cual a efectos prácticos se traduciría en una reducción del daño en el cultivo (aunque no esté muerta la larva).

[Guo et al. \(2020\)](#) menciona que a las 96 horas de evaluación con una concentración de 1 000, 3 000 y 5 000 NEP se puede lograr una mortalidad de 75, 87 y 92 %

respectivamente, en la presente investigación se obtuvo una mejor respuesta del ataque de los NEP's, obteniendo una mortalidad del 84 % con una concentración de 1200 NEP's en el mismo tiempo, aunque se llegó a alcanzar el 90 % de mortalidad a las 120 horas de evaluación, representado este porcentaje de mortalidad un control altamente efectivo sobre *S. frugiperda* y se alcanzó un mayor control de la plaga que el efectuado por [Guo et al. \(2020\)](#), puesto que el nivel de daño económico puede tolerar hasta un 25 %, el cual no afecta significativamente en el rendimiento de maíz siendo rentable la producción obtenida ([Jaramillo-Barrios et al., 2020](#)).

Una vez probados los NEP's en condiciones *in vitro*, se deben realizar las pruebas de estos en campo para saber si efectivamente logran controlar esta plaga. En este sentido, algunos autores han encontrado resultados prometedores, es así que [Sánchez Jara et al. \(2019\)](#) realizó un estudio en campo donde utilizó una concentración de 750 nemátodos/larva, logrando una mortalidad del 84,44 % por efecto del nemátodo *Heterorhabditis bacteriophora*, resultados similares se ha logrado en este estudio *in vitro* en el cual se llegó con 800 NEP's al 90% de control, lo cual sugiere que el nemátodo *Heterorhabditis bacteriophora* es un buen controlador biológico contra el insecto *S. frugiperda* tanto en laboratorio como en campo, pero es necesario realizar más pruebas, especialmente en campo, y ver si tiene algunos efectos adversos, por ejemplo sobre organismos no objetivo como sí tienen otros productos químicos comúnmente usados contra *S. frugiperda* ([Ruiz et al., 2008](#)).

8. Conclusiones

- Se logró la multiplicación masiva de los nemátodos entomopatógenos en *Galleria mellonella*, la cual fue un medio de producción a bajo costo y de fácil obtención.
- Se realizó el control biológico de *S. frugiperda* en condiciones *in vitro* con el nemátodo *Heterorhabditis bacteriophora*, el cual es dependiente de la concentración.

9. Recomendaciones

- Mantener una cría de *G. mellonella* a largo plazo puesto que este insecto es un gran medio de reproducción masiva de NEP's, lo cual puede servir para la realización de posteriores ensayos.
- La realización de un nuevo ensayo en campo y así ratificar nuestros resultados, de esta manera poder ejecutar el método de control en el cultivo de maíz, y así seguir con el estudio de los NEP's y su bacteria simbiote, que son un controlador eficiente contra de insectos perjudiciales en los cultivos.

10. Bibliografía

- Acharya, R., Hwang, H.-S., Mostafiz, M. M., Yu, Y.-S., & Lee, K.-Y. (2020). Susceptibility of Various Developmental Stages of the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*, to Entomopathogenic Nematodes. *Insects*, 11(12), 868. <https://www.mdpi.com/2075-4450/11/12/868>
- Aguirre-Padilla, N. I., Alvarado-Espejo, J., & Granda-Pardo, J. (2018). Bienes y servicios ecosistémicos de los bosques secos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 8(2).
- Andaló, V., Santos, V., Moreira, G. F., Moreira, C. C., & Moino Junior, A. (2010). Evaluation of entomopathogenic nematodes under laboratory and greenhouses conditions for the control of *Spodoptera frugiperda*. *Ciência Rural*, 40, 1860-1866. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000151>
- Assefa, F., & Ayalew, D. (2019). Status and control measures of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) infestations in maize fields in Ethiopia: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1641902. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1641902>
- Burgos, E. (2017). Efecto del ataque de nematodos entomopatógenos nativos del género *Steinernema* sobre el gusano cortador de la papa (*Agrotis bilitura* Guenée) en condiciones de laboratorio. *Undergraduate thesis, Universidad de Chile, Santiago*, 34.
- Burnell, A., & Stock, S. P. (2000). *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts—lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2(1), 31-42.
- Caccia, M. G., Del Valle, E., Doucet, M. E., & Lax, P. (2014). Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomopathogenic nematode *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) under laboratory conditions. *Chilean journal of agricultural research*, 74, 123-126. http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-58392014000100019&nrm=iso
- Campos-Herrera, R., Barbercheck, M., Hoy, C. W., & Stock, S. P. (2012). Entomopathogenic nematodes as a model system for advancing the frontiers of ecology. *Journal of nematology*, 44(2), 162-176. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23482825>
- Capinera, J. L. (2002). Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Insecta: Lepidoptera: Noctuidae): EENY098/IN255, rev. 7/2000. *EDIS*, 2002(7).
- Casusol, C., & Neira, M. (2011). Efecto del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* para el control de *Spodoptera frugiperda* y gusanos de tierra en maíz. *LIII Convención Nacional de Entomología, Perú*, 7(10).
- Chaubey, A. K. (2021). Entomopathogenic Nematodes. In *Microbial Approaches for Insect Pest Management* (pp. 385-418). Springer.
- Chen, Y., Long, H., Jin, T., Peng, Z., Sun, Y., & Feng, T. (2022). Potential of Entomopathogenic Nematode HbSD as a Candidate Biocontrol Agent against *Spodoptera frugiperda*. *Insects*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/insects14010002>
- Costa, J. C., Dias, R. J., & Morenz, M. J. (2007). Determining the adaptation potential of entomopathogenic nematode multiplication of *Heterorhabditis riobravus* and

- Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) in larvae of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Parasitol Res*, 102(1), 139-144. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0747-9>
- Deole, S., & Paul, N. (2018). First report of fall army worm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith), their nature of damage and biology on maize crop at Raipur, Chhattisgarh. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(6), 219-221.
- Devine, G. J., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. J. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 25, 74-100. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000100011&nrm=iso
- Dillman, A. R., & Sternberg, P. W. (2012). Entomopathogenic nematodes. *Current Biology*, 22(11), R430-R431.
- Divya, K., & Sankar, M. (2009). Entomopathogenic nematodes in pest management. *Indian Journal of Science and Technology*, 2(7), 53-60.
- Dumas, P., Legeai, F., Lemaitre, C., Scaon, E., Orsucci, M., Labadie, K., . . . d'Alençon, E. (2015). *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) host-plant variants: two host strains or two distinct species? *Genetica*, 143(3), 305-316. <https://doi.org/10.1007/s10709-015-9829-2>
- Fallet, P., De Gianni, L., Machado, R. A., Bruno, P., Bernal, J. S., Karangwa, P., . . . Degen, T. (2022). Comparative Screening of Mexican, Rwandan and Commercial Entomopathogenic Nematodes to Be Used against Invasive Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Insects*, 13(2), 205.
- Fernández, D. G., Mancipe, L. C., & Fernández, D. C. (2010). Intoxicación por organofosforados. *Revista Med*, 18(1), 84-92.
- Flanders, K. L., Miller, J. M., & Shields, E. J. (1996). *In vivo* production of *Heterorhabditis bacteriophora* 'Oswego' (Rhabditida: Heterorhabditidae), a potential biological control agent for soil-inhabiting insects in temperate regions. *Journal of Economic Entomology*, 89(2), 373-380.
- García-Gutiérrez, C., González-Maldonado, M. B., & Cortez-Mondaca, E. (2012). Uso de enemigos naturales y biorracionales para el control de plagas de maíz. *Ra Ximhai*, 8(3), 57-71.
- García-Lara, S., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). Corn history and culture. *Corn*, 1-18. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2>
- Gaugler, R., Lewis, E., & Stuart, R. J. (1997). Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. *Oecologia*, 109(4), 483-489.
- Ghosh, D., John, E. A., & Wilkinson, A. (2023). Clever pest control? The role of cognition in biological pest regulation. *Anim Cogn*, 26(1), 189-197. <https://doi.org/10.1007/s10071-022-01731-4>
- Godjo, A., Chabi, N., Zadji, L., Dossou, P., Batcho, O., Baimey, H., . . . Afouda, L. (2021). Evaluation of the ability of indigenous nematode isolates of *Heterorhabditis taysarae* and *Steinernema kandii* to control mango fruit fly *Bactrocera dorsalis* under laboratory, semi-field and field conditions in Northern Benin. *Crop Protection*, 149, 105754. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105754>

- Grewal, P., & Georgis, R. (1999). Entomopathogenic Nematodes. In F. R. Hall & J. J. Menn (Eds.), *Biopesticides: Use and Delivery* (pp. 271-299). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/0-89603-515-8:271>
- Guo, J., Wu, S., Zhang, F., Huang, C., He, K., Babendreier, D., & Wang, Z. (2020). Prospects for microbial control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: a review. *BioControl*, 65(6), 647-662. <https://doi.org/10.1007/s10526-020-10031-0>
- Health, E. P. o. P., Jeger, M., Bragard, C., Caffier, D., Candresse, T., Chatzivassiliou, E., . . . Jaques Miret, J. A. (2017). Pest categorisation of *Spodoptera frugiperda*. *EFSA Journal*, 15(7), e04927.
- Hruska, A. J. (2019). Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) management by smallholders. *CABI Reviews*(2019), 1-11.
- Hussein, M. A., Salem, H. A., Hala, S., & Mahmoud, S. (2022). Effects of the nutrition of different diets and lipid content of the insect host larvae, *Galleria mellonella* on the efficacy of indigenous entomopathogenic nematodes. *Journal of Plant Protection Research*, vol. 62(No 3), 265-271. <https://doi.org/10.24425/jppr.2022.142133>
- Hutasoit, R. T., Kalqutny, S. H., & Widiarta, I. N. (2020). Spatial distribution pattern, bionomic, and demographic parameters of a new invasive species of armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera; Noctuidae) in maize of South Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(8). <https://doi.org/https://doi.org/10.13057/biodiv/d210821>
- IRAC. (2016). Clasificación de Modo de Acción de Insecticidas y Acaricidas. 18.
- Jansson, R. K. (1996). Infectivity and reproduction of three *heterorhabditis* nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) in two insect hosts. *Florida Entomologist*, 363-363.
- Jaramillo-Barrios, C. I., Varón-Devia, E. H., & Monje-Andrade, B. (2020). Economic injury level and action thresholds for *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) in maize crops. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 73(1), 9065-9076.
- Johnson, S. J. (2011). Migration and the life history strategy of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in the western hemisphere. *International Journal of Tropical Insect Science*, 8(4-5-6), 543-549. <https://doi.org/10.1017/S1742758400022591>
- Kashyap, D., Ingole, D., Dash, S. S., Supriya, K., Lavhe, N., & Tambe, V. (2021). Biocontrol potential of entomopathogenic nematodes against greater wax moth *Galleria mellonella*.
- Kaya, H. K., & Gaugler, R. (1993). Entomopathogenic nematodes. *Annual review of entomology*, 38(1), 181-206.
- Kwadha, C. A., Ong'amo, G. O., Ndegwa, P. N., Raina, S. K., & Fombong, A. T. (2017). The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Insects*, 8(2), 61.
- Lacey, L. A., & Georgis, R. (2012). Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *Journal of nematology*, 44(2), 218.
- Liu, T., Wang, J., Hu, X., & Feng, J. (2020). Land-use change drives present and future distributions of Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Science of The Total Environment*, 706, 135872. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135872>

- Mallapur, C., Naik, A. K., Hagari, S., Prabhu, S., & Patil, R. (2018). Status of alien pest fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) on maize in Northern Karnataka. *J. Entomol. Zool. Stud*, 6(6), 432-436.
- Márquez, J., & Cuichán, M. (2021). Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua 2020. In: INEC.
- Molina, J., Moino Jr, A., & Cavalcanti, R. (2004). Produção in vivo de nematoides entomopatogênicos em diferentes insetos hospedeiros. *Arquivos do Instituto Biológico*, 71(3), 347-354.
- Naeem-Ullah, U., Ramzan, M., Bokhari, S. H. M., Saleem, A., Qayyum, M. A., Iqbal, N., . . . Saeed, S. (2020). Insect Pests of Cotton Crop and Management Under Climate Change Scenarios. In S. Fahad, M. Hasanuzzaman, M. Alam, H. Ullah, M. Saeed, I. Ali Khan, & M. Adnan (Eds.), *Environment, Climate, Plant and Vegetation Growth* (pp. 367-396). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-49732-3_15
- Nagoshi, R. N., Nagoshi, B. Y., Cañarte, E., Navarrete, B., Solórzano, R., & Garcés-Carrera, S. (2019). Genetic characterization of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Ecuador and comparisons with regional populations identify likely migratory relationships. *Plos One*, 14(9), e0222332. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222332>
- Negrisolí, A. S., Garcia, M. S., Barbosa Negrisolí, C. R. C., Bernardi, D., & da Silva, A. (2010). Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nematoda: *Rhabditida*) and insecticide mixtures to control *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn crops. *Crop Protection*, 29(7), 677-683. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.002>
- Negrisolí, A. S., Garcia, M. S., Negrisolí, C. R. B., Bernardi, D., & da Silva, A. (2010). Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nematoda: *Rhabditida*) and insecticide mixtures to control *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae) in corn crops. *Crop Protection*, 29(7), 677-683.
- Ortiz, E., CALVACHE, G., & LUQUE, E. (1994). Control microbiano de *Sagalassa valida*, Walker con el nematodo *Steinernema carpocapsae* (Weiser) en Tumaco, Nariño. *Palmas*, 5(1), 29-38.
- Paredes-Sánchez, F. A., Rivera, G., Bocanegra-García, V., Martínez-Padrón, H. Y., Berrones-Morales, M., Niño-García, N., & Herrera-Mayorga, V. (2021). Advances in Control Strategies against *Spodoptera frugiperda*. A Review. *Molecules*, 26(18). <https://doi.org/10.3390/molecules26185587>
- Prasanna, B. M. (2012). Diversity in global maize germplasm: Characterization and utilization. *Journal of Biosciences*, 37(5), 843-855. <https://doi.org/10.1007/s12038-012-9227-1>
- Realpe, F., Bustillo, A., & López, J. (2008). Optimización de la cría de *Galleria mellonella* L para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café.
- Rosales, C., Rodríguez, H., Enrique, R., Puentes, L., & García, J. (2009). Cría Masiva de Nematodos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plagas. *En: INIA Divulga*, 12, 19-22.
- Ruiz, P. A. T., Restrepo, L. N. Z., Sánchez, R. A. H., Rodríguez, F. C. Y., Tafur, J. C., & Sánchez, F. O. (2008). Determinación de la DL₅₀ y TL₅₀ de extractos etanólicos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(2), 4564-4575.

- Sáenz, A., & López, J. C. (2011). Ciclo de vida y patogenicidad del aislamiento nativo *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 37(1), 43-47.
- Salto Rea, J. C. (2021). Evaluación del nemátodo entomopatógeno (*Heterorhabditis bacteriophora*) para el manejo de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.).
- Salvadori, J. D. M., Defferrari, M. S., Ligabue-Braun, R., Yamazaki Lau, E., Salvadori, J. R., & Carlini, C. R. (2012). Characterization of entomopathogenic nematodes and symbiotic bacteria active against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and contribution of bacterial urease to the insecticidal effect. *Biological Control*, 63(3), 253-263. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.08.002>
- Sánchez Jara, J., Valle Delgado, J., Pérez Tesén, E., Neira de Perales, M., & Calderón Arias, C. (2019). Control biológico de *Spodoptera frugiperda* en cultivo de *Zea mays*: Uso de nematodos entomopatógenos. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 551-557.
- Sharmila, R., Priya, M. S., Subramanian, S., Poornima, K., & Pandiyan, M. (2018). Review on Ecology of entomopathogenic nematodes. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6, 1086-1093.
- Sibiya, M., & Sumbwanyambe, M. (2019). A Computational Procedure for the Recognition and Classification of Maize Leaf Diseases Out of Healthy Leaves Using Convolutional Neural Networks. *AgriEngineering*, 1(1), 119-131. <https://www.mdpi.com/2624-7402/1/1/9>
- Sihler, W., Souza, M. L. d., Valicente, F. H., Falcão, R., & Sanches, M. M. (2018). In vitro infectivity of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus to different insect cell lines. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53, 01-09.
- Suciu, L., ȘOPTERAN, L., MUREȘANU, F., Adina, I., & PĂ, A. M. (2014). The pathogens and lepidopteran pests on corn and soybeans in the Transylvanian plain. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, 71(2), 387-388. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-agr:10889>
- Togola, A., Meseka, S., Menkir, A., Badu-Apraku, B., Boukar, O., Tamò, M., & Djouaka, R. (2018). Measurement of Pesticide Residues from Chemical Control of the Invasive *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in a Maize Experimental Field in Mokwa, Nigeria. *International journal of environmental research and public health*, 15(5), 849. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijerph15050849>
- Unlu, I. O., & Ozer, N. (2003). Evaluation of the reproductive potential and competition between two entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Turkish Journal of Biology*, 27(3), 149-155.
- Van Damme, V. M., Beck, B. K., Berckmoes, E., Moerkens, R., Wittemans, L., De Vis, R., . . . De Clercq, P. (2016). Efficacy of entomopathogenic nematodes against larvae of *Tuta absoluta* in the laboratory. *Pest Manag Sci*, 72(9), 1702-1709. <https://doi.org/10.1002/ps.4195>
- Van Niekerk, S., & Malan, A. P. (2012). Potential of South African entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae) for control of the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Pseudococcidae). *J Invertebr Pathol*, 111(2), 166-174. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.07.023>
- Vargas-Salgado, M., Portillo-Vázquez, M., Brambila-Paz, J. d. J., Martínez-Damián, M. Á., & Medina-Cuellar, S. E. (2021). Óptimos económicos de fertilizante en la

- producción de maíz blanco en Valles Altos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(8), 1391-1400.
- Vashisth, S., Chandel, Y., & Sharma, P. (2013). Entomopathogenic nematodes-a review. *Agricultural Reviews*, 34(3).
- Vásquez, J., Zeddám, J., & TRESIERRA-AYALA, Á. (2002). Control biológico del “cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera; Noctuidae) con el baculovirus SfVPN, en Iquitos-Perú. *Folia Amazónica*, 13(1-2), 25-39.
- Wang, W., He, P., Zhang, Y., Liu, T., Jing, X., & Zhang, S. (2020). The Population Growth of *Spodoptera frugiperda* on Six Cash Crop Species and Implications for Its Occurrence and Damage Potential in China. *Insects*, 11(9), 639. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/insects11090639>
- Zambrano, J. L., Yáñez, C. F., & Sangoquiza, C. A. (2021). Maize breeding in the highlands of Ecuador, Peru, and Bolivia: a review. *Agronomy*, 11(2), 212.
- Zamora Belli, A., Páez Jerez, P. G., García Mendez, F., Vera, M. T., & de la Vega, M. H. (2020). Determinación de parámetros de desarrollo en estados inmaduros de *Spodoptera cosmioides* (Walker) criadas en dos sustratos diferentes. *Revista agronómica del noroeste argentino*, 40(2), 149-158.
- Zerbino, M. S., & Panizzi, A. R. (2019). The underestimated role of pest pentatomid parasitoids in Southern South America. *Arthropod-Plant Interactions*, 13(5), 703-718. <https://doi.org/10.1007/s11829-019-09703-1>
- Zhang, Z., Xu, C., Ding, J., Zhao, Y., Lin, J., Liu, F., & Mu, W. (2019). Cyantraniliprole seed treatment efficiency against *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) and residue concentrations in corn plants and soil. *Pest Manag Sci*, 75(5), 1464-1472. <https://doi.org/10.1002/ps.5269>

11. Anexos

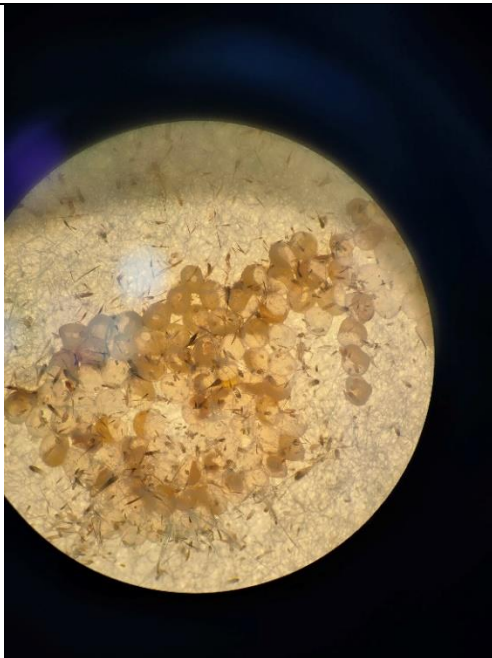
11.1. Fotografías de la cría de *Galleria*



Anexo 1. Obtención de *Galleria* de apiarios de Loja y Zamora



Anexo 2. Obtención de adultos



Anexo 3. Obtención de huevos de *Galleria*



Anexo 4. Larvas *Galleria* obtenidas mediante la cría

11.2. Fotografías de la cría de *Spodoptera*



Anexo 5. Recolección de larvas de *Spodoptera*



Anexo 6. Separación y alimentación de las larvas



Anexo 7. Adultos en cámara de ovoposición



Anexo 8. Obtención de larvas del 4 y 5 estadio

11.3. Fotografías del ensayo del control de *Spodoptera*



Anexo 9. Inoculación de NEP's en las cajas de Petri



Anexo 10. Colocación de las larvas en cada tratamiento

Anexo 11. Certificado de traducción del Abstract



Loja 15 de marzo de 2023

Magister: Wilman Vicente Ortega Jaramillo

DOCENTE DE INGLÉS DE LA UNIDAD EDUCATIVA FISCOMISIONAL "FRAY
CRISTÓBAL ZAMBRANO"

CERTIFICA:

Que he traducido minuciosamente el resumen del trabajo de titulación denominado
"EFECTO DE NEMÁTODOS ENTOMOPATÓGENOS SOBRE EL GUSANO
COGOLLERO DEL MAÍZ (*SPODOPTERA FRUGIPERDA SMITH, 1797*) EN
CONDICIONES *IN VITRO*", autoría del estudiante: Manuel Antonio Gonzalez Muñoz con
cédula de identidad Nro. 1105348609, egresado de la carrera de Ingeniería Agronómica de la
Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando al interesado, hacer uso del
presente en lo que estime conveniente.

Atentamente.



Mgs. Wilman Vicente Ortega Jaramillo.

Docente de Inglés.