



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

MEMORIA DE TITULO

**CONTROL DEL GUSANO CORTADOR DE LA PAPA (*Agrotis deprivata*) CON
NEMÁTODOS ENTOMOPATÓGENOS DEL GÉNERO *Steinernema* EN PLANTAS
DE MAÍZ EN MACETA**

PAZ VERÓNICA SÁNCHEZ CASTILLO

**Santiago, Chile
2022**



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TITULO

**CONTROL DEL GUSANO CORTADOR DE LA PAPA (*Agrotis deprivata*) CON
NEMÁTODOS ENTOMOPATÓGENOS DEL GÉNERO *Steinernema* EN PLANTAS
DE MAÍZ EN MACETA**

**CONTROL OF THE POTATO CUTTER WORM (*Agrotis deprivata*) WITH
ENTOMOPATOGENIC NEMATODES OF THE GENUS *Steinernema* IN POTTED
CORN PLANTS**

PAZ VERÓNICA SÁNCHEZ CASTILLO

**Santiago, Chile
2022**



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**CONTROL DEL GUSANO CORTADOR DE LA PAPA (*Agrotis deprivata*) CON
NEMÁTODOS ENTOMOPATÓGENOS DEL GÉNERO *Steinernema* EN PLANTAS
DE MAÍZ EN MACETA**

Memoria para optar al título
Profesional de Ingeniera Agrónoma

PAZ VERÓNICA SÁNCHEZ CASTILLO

		Calificaciones
PROFESORES GUÍAS		
Gabriela Lankin V. Ingeniera Agrónoma, Dra.		5,9
Erwin Aballay E. (Q.E.P.D) Ingeniero Agrónomo, Dr.		6,3
PROFESORES EVALUADORES		
Nicola Fiore Ingeniero Agrónomo, Dr.		5,3
Sra. Cecilia Baginsky G. Ingeniera Agrónoma, Dra.		5,6

Santiago, Chile
2022

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis	6
Objetivo general	6
METODOLOGÍA	7
Lugar de estudio	7
Multiplicación de Nemátodos entomopatógenos	7
Crianza de <i>A. deprivata</i>	9
Sustrato	10
Experimentos	10
Aplicación de tratamientos	11
Exposición de larvas de <i>A. deprivata</i> y <i>G. mellonella</i> a NEP	12
Evaluación del daño en las plantas de maíz y mortalidad de <i>A. deprivata</i> y <i>G. mellonella</i>	13
Diseño Experimental	13
Análisis estadístico	14
RESULTADOS	15
Determinación del daño de <i>A. deprivata</i> sobre plantas de maíz.....	15
Determinación de la sobrevivencia de <i>A. deprivata</i>	16
Determinación de la sobrevivencia de <i>G. mellonella</i>	17
DISCUSIÓN	18
CONCLUSIÓN	23
BIBLIOGRAFÍA	24

RESUMEN

Con la intención de buscar alternativas al uso de insecticidas sintéticos es que se ha trabajado en el control biológico de plagas. Dentro de estos, los nemátodos entomopatógenos (NEP) han sido altamente estudiados como controladores biológicos de distintas plagas, entre ellos se encuentran los NEP del género *Steinernema*. Para el presente ensayo se utilizó el aislamiento nativo *Steinernema feltiae* Licán Ray colectado de un bosque de roble en la región de la Araucanía sobre larvas de *Agrotis deprivata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae).

Ya que la eficacia de los NEP puede verse alterada gracias a factores ambientales es que existe una necesidad de desarrollar tecnologías para su aplicación exitosa. Con el objetivo de evaluar el modo de aplicación que optimiza la eficacia con que este aislado controla a *A. deprivata*, se realizó un ensayo con 6 tratamientos: tres corresponden a aplicaciones con NEP, mediante una suspensión acuosa tanto en superficie como a 5 cm de profundidad y otro con una larva de *G. mellonella* infestada con NEP. Estos fueron comparados con un tratamiento control, el cual solo se regó con agua, un tratamiento con insecticida químico y uno con insecticida biológico. Los tratamientos fueron aplicados sobre plantas de maíz en macetas, en las cuales se agregó una larva de *A. deprivata* posterior a la aplicación de los tratamientos. Si bien los tres tratamientos con NEP son similares estadísticamente, estos obtuvieron niveles de sobrevivencia de *A. deprivata* estadísticamente similares al insecticida químico, mientras que ambas aplicaciones con NEP mediante una suspensión demostraron ser mejores que el insecticida biológico comúnmente utilizado para el control de esta plaga.

En conclusión, el uso de *Steinernema feltiae* causa mortalidad sobre *A. deprivata* y su potencialidad depende de la forma de inoculación al momento de realizar la aplicación, siendo el tratamiento con NEP mediante una suspensión en superficie el mejor al momento de controlar a *A. deprivata* y presentar un bajo daño en las plantas de maíz.

Palabras claves: control biológico, aislamiento nativo, grado de protección.

ABSTRACT

With the intention of looking for alternatives for the use of synthetic insecticides, is that work has been done on biological control of pests. Within these, entomopathogenic nematodes (NEP) have been highly studied as biological controllers of different pests, among them are NEP of the genus *Steinernema*. We used for the present test, the native Licán Ray isolation of this nematode, collected from an oak forest in the region of Araucanía on *Agrotis deprivata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae).

Since the effectiveness of NEPs can be altered due to environmental factors, there is a need to develop technologies for their successful application. With the aim of evaluating the application mode that optimizes the efficacy with which this isolate controls *A. deprivata*, a trial was carried out with 6 treatments: three correspond to applications with NEP, by means of an aqueous suspension both on the surface and at a depth of 5 cm. and another with a larva of *G. mellonella* infested with NEP. These were compared with a control treatment, which was only irrigated with water, a chemical insecticide treatment and a biological insecticide treatment. The treatments were applied on corn plants in pots, in which an *A. deprivata* larva was added after the application of the treatments. Although the three treatments with NEP are statistically similar and with a better level of control of the *A. deprivata* larvae, the treatments with NEP by means of a suspension increased survival levels of these larvae statistically similar to the chemical insecticide, while both applications with NEP through a suspension proved to be better than the biological insecticide commonly used to control this pest.

In conclusion, it was determined that the use of *Steinernema feltiae* causes mortality on *A. deprivata* and its potential will depend on the method of inoculation at the time of application, being the treatment with NEP by means of a suspension on the surface the best when controlling *A. deprivata* and present low damage to corn plants.

Keywords: biologic control, native isolation, degree of protection.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es el tercer cultivo más sembrado en el mundo luego del trigo y del arroz, siendo Estados Unidos el principal país exportador de este cereal. Su producción se destina principalmente al consumo animal, seguido por el consumo humano (Faiguenbaum, 2003a). En Chile se presentan buenas condiciones para el cultivo del maíz, principalmente en las regiones de O'Higgins y del Maule, donde se encuentran las mayores superficies cultivadas. El Instituto Nacional de Estadística (INE) prevé que para la temporada 2020/2021 los rendimientos de maíz a nivel nacional serán de 102,4 qqm ha⁻¹, aún así, en las regiones de Ñuble y del Bío Bío se obtienen rendimientos cercanos a 122 q ha⁻¹ (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias [ODEPA], 2021).

Dentro de las plagas de importancia que atacan a este cultivo se encuentran los gusanos cortadores *Agrotis* sp., pertenecientes a la familia Noctuidae del orden Lepidoptera los cuales presentan un aparato bucal masticador pudiendo causar un daño importante a cultivos hortícolas, anuales y forrajeros en todo el mundo (Urretabizkaya, *et al.*, 2010). En Chile es una de las familias de insectos de mayor interés agrícola, dado la alta polifagia del grupo y la permanente asociación con muchos cultivos (González, 1989a; Divya y Sankar, 2009a).

Los gusanos cortadores presentan un gran potencial de daño en maíz durante la primera etapa del cultivo, su hábito de cortar plantas contiguas limita la capacidad de las plantas de volver a crecer alimentándose sin limitaciones hasta que las plantas presentan ocho hojas (Flores, 2010). Además, su ataque se ve favorecido por la práctica del monocultivo y por la existencia de residuos de la cosecha anterior previo a la siembra. El control de esta plaga es básicamente preventivo, utilizándose generalmente insecticidas líquidos asperjados en superficie o granulares aplicados al suelo previo a la siembra (Faiguenbaum, 2003b).

El gusano cortador de la papa, *Agrotis deprivata* (Walker) (Lepidóptera: Noctuidae), es uno de los representantes clave del complejo de gusanos cortadores que atacan el maíz. Esta plaga, de distribución Neotropical, está presente en todo Chile, siendo la acelga, papa, pimentón, espárrago y repollo, maíz, sus principales hospederos. *Agrotis deprivata* posee hábitos de alimentación nocturna e inverna en el suelo en estado larvario (González, 1989b). Las larvas son del tipo eruciforme y recién eclosadas, miden 1mm lo que las hace muy difícil de detectar en el cultivo hasta su tercer estado. Presentan pupas obtecas de color pardo oscuro cuando están próximas a la eclosión de los adultos, los que presentan alas anteriores color pardo-amarillenta con una mancha color pardo a la mitad de la misma ala. Su ciclo completo es cercano a los 30 días dependiendo de las condiciones ambientales (Vitta, 2017).

Si bien el uso de plaguicidas y agroquímicos ha generado un aumento de los rendimientos y de la producción de cultivos a nivel mundial, también se ha generado una fuerte dependencia de estos productos sintéticos debido a su rapidez de acción (Pérez y Landeros, 2009). Este aumento del uso de productos sintéticos se asocia directamente a la contaminación de los ecosistemas, afectando la calidad de los alimentos, el agua y el medio ambiente, junto con

un aumento en la resistencia de las poblaciones plaga a estos productos, generando una disminución en la disponibilidad de sustancias activas para lograr un control efectivo (Barzman *et al.*, 2015; Carvalho, 2017a). Debido a lo anteriormente expuesto y el interés creciente a nivel mundial de aumentar la producción de alimentos de calidad e inocuos, se han desarrollado planes de acción para lograr la disminución y el uso correcto de plaguicidas sintéticos, reduciendo así los impactos negativos y riesgos de su uso. Como alternativas para esto se encuentra la adopción de nuevas prácticas agrícolas y el uso de técnicas del Manejo Integrado de Plagas, que consideran el uso del control biológico, el cual podría desarrollarse positivamente, aumentando así su uso y eficacia (Carvalho, 2017b).

En los últimos años, el control biológico se ha convertido en una opción viable al uso de plaguicidas sintéticos (Moraes *et al.*, 2019), que incluye liberaciones de enemigos naturales exóticos en un ecosistema, intentando suprimir o disminuir la densidad poblacional de especies plaga, las cuales pueden afectar tanto a la agricultura, silvicultura y la salud humana. Este también se puede implementar a través del aumento o conservación de enemigos naturales nativos, y en este contexto, hay un interés creciente por el desarrollo de bioplaguicidas en base a nematodos entomopatógenos (NEP) (Divya y Sankar, 2009b).

Los NEP corresponden a animales microscópicos que habitan en el suelo. Dentro de los más estudiados en control biológico se encuentran los nemátodos de género *Heterorhabditis* y *Steinernema* de los que se han identificado más de 85 especies (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012a).

Para su uso en control biológico los NEP pueden ser producidos *in vitro* en equipos especiales o *in vivo* en larvas de *Galleria mellonella* L. (Linnaeus, 1756) (Lepidóptera: Pyralidae), insecto huésped más comúnmente utilizado para la producción masiva de estos organismos, dada la rica fuente de nutrientes disponibles en su cuerpo (Divya y Sankar, 2009c).

El ciclo de vida de los NEP consta de: un estado de huevo, cuatro estados juveniles y un estado adulto. El tercer estado juvenil (J3) o juvenil infeccioso (JI), es el único estado de vida libre, tiene la boca y el ano cerrados y no puede alimentarse hasta que encuentre un insecto hospedero. Los NEP esperan en el suelo y con la llegada de un insecto huésped susceptible se activan siguiendo la gradiente de dióxido de carbono que genera el insecto hospedero hasta encontrarlo, penetrando por sus aberturas naturales (boca, ano o espiráculos) o bien por heridas en la cutícula llegando al hemocele de este donde liberan bacterias simbiotes del género *Xenorhabdus*. Una vez dentro del insecto, estas bacterias simbiotes se multiplican y son las responsables de matarlo dentro de 24 a 48 horas. Los NEP se alimentan del caldo de bacterias y de los tejidos degradados por estas, y se reproducen dentro del insecto huésped, produciendo 2-3 generaciones de NEP, dependiendo de la cantidad de alimento que proporciona el hospedero (Divya y Sankar, 2009d; Kaya y Gaugler, 1993a; Gaugler *et al.*, 1997; Lozano, 2001a).

Steinernema sp. además de presentar un alto potencial reproductivo al reciclarse dentro del insecto hospedero, y, gracias a su baja toxicidad son seguros para vertebrados, plantas y otros organismos no objetivo (Kaya y Gaugler, 1993b; Fimbres y Flores-Lara 2016).

La eficacia de los NEP como controladores biológicos puede verse alterada por diversos factores tanto bióticos como abióticos, los que pueden incluir textura del suelo, humedad, radiación UV, temperatura, o enemigos naturales como invertebrados, depredadores y hongos (Kaya y Gaugler, 1993c). Uno de los factores bióticos más importante a considerar es la afinidad que existe entre el controlador biológico y la plaga objetivo (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012b). Por otro lado, entre los factores abióticos, la temperatura es uno de los factores importantes que afectan la infectividad, desarrollo y reproducción de los NEP los cuales pueden soportar temperaturas de hasta 30-32°C y mantener su viabilidad (Hazir, 2001; Lozano, 2001b). Además, la humedad en el suelo es sustancial para la sobrevivencia y movilidad de los NEP, donde sus niveles óptimos varían según el nemátodo y la textura de suelo (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012c). Al ser susceptibles a las condiciones ambientales, durante la aplicación como controladores biológicos de plagas, los NEP necesitan cierto grado de protección para mantener su viabilidad e infectividad.

Debido a su gran potencial como controladores biológicos, se ha desarrollado una amplia gama de tecnologías para la aplicación de los NEP como bioplagicidas, incluidos equipos de pulverización y distintos sistemas de riego, donde el tipo de aplicación va a depender de las condiciones ambientales del sistema, del cultivo utilizado y la superficie a tratar (Shapiro-Ilan *et al.*, 2006; Shapiro-Ilan *et al.*, 2012d). Además, dentro de las aplicaciones en el suelo con NEP, es posible encontrar diversas formulaciones como soluciones acuosas, gel hidrosoluble, esponjas, arcilla, cebos, aplicaciones granulares, cadáveres de insectos, etc, destinadas a facilitar la aplicación en terreno, mejorar la eficacia de las aplicaciones y prolongar la vida útil de los nemátodos reduciendo su metabolismo mediante refrigeración o desecación parciales de estos, protegiéndolos de los factores abióticos adversos mencionados anteriormente (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012e; Urtubia 2013 ; Bogantes *et al.*, 2018).

En Chile, el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) ha estado en la búsqueda de nemátodos entomopatógenos, los que han sido encontrados con mayor abundancia en el extremo sur, presentando adaptaciones y preferencias a climas fríos, constituyendo una base para ser utilizada en el control biológico de insectos plaga (France, 2003).

Así mismo, el laboratorio de Nematología de la Universidad de Chile, cuenta con una colección propia que incluye varios aislados nativos. Uno de ellos, el aislamiento Licán Ray perteneciente a la especie *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934), el cual fue colectado desde un bosque de roble ubicado en la comuna de Licán Ray, Villarrica, región de la Araucanía (Flores *et al.*, 2021).

Estudios conducidos por los Laboratorios de Nematología y de Entomología de Cultivos de esta Facultad han demostrado la capacidad del aislamiento Licán Ray de atacar larvas de *A. deprivata* en suelos arcillosos y de reproducirse en el hospedero dando vida a nuevas generaciones de JI (Burgos, 2017).

Hipótesis

El modo de aplicación del NEP nativo *Steinernema feltiae* aislamiento Licán Ray afecta la mortalidad de larvas de *A. deprivata* en plantas de maíz en maceta.

Objetivo

Evaluar el grado de protección con que *Steinernema feltiae* aislamiento Licán Ray debe ser aplicado al suelo para potenciar su eficacia.

METODOLOGÍA

Lugar de estudio

El ensayo se realizó en la primavera del año 2017, en el Laboratorio de Entomología de Cultivos de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en La Pintana, Santiago, Región Metropolitana.

Multiplicación de Nemátodos Entomopatógenos

Antes de comenzar el ensayo todos los materiales de laboratorio fueron esterilizados y/o sanitizados con una solución de etanol al 70%, mientras que el suelo utilizado fue autoclavado.

Los NEP utilizados fueron multiplicados *in vivo* según el protocolo descrito por Kaya y Stock (1997), el cual involucra el uso de trampas White y larvas de último estadio de *G. mellonella*, explicado a continuación.

Las larvas de *G. mellonella* utilizadas para la reproducción masiva de los NEP y para los ensayos, se obtuvieron de una crianza perteneciente a los Laboratorios de Nematología y Entomología de Cultivos de la Facultad. La crianza de *G. mellonella* se realizó en cámaras oscuras a 25°C sobre dietas artificiales en base a cereales, en contenedores plásticos con tapa adaptada con ventilación.

Una vez emergidos los adultos de *G. mellonella* de los contenedores, estos se traspasaron sin sexar, en número entre 25-30 individuos, a envases de vidrio de 20 x 8 cm (alto x diámetro), con tapa con ventilación. Dentro de los envases de vidrio se dejó un trozo de papel de 20 x 10 cm, plegado en forma de acordeón, como sustrato para la ovipostura (Figura 1). A las 48 horas, estos papeles fueron extraídos y colocados en contenedores plásticos con dieta y rotulados con la fecha.

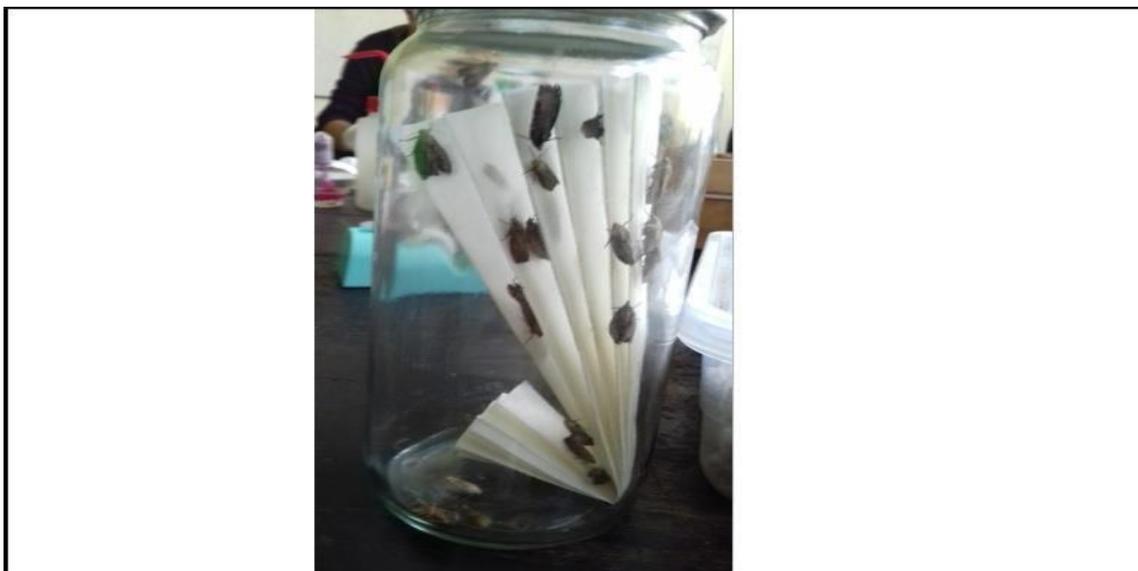


Figura 1. Adultos de *G. mellonella* en frascos de ovipostura.

Para la inoculación con NEP en placas Petri se utilizaron 5 larvas de *G. mellonella* con un peso superior a 0,28 gramos. En la base de la placa Petri se colocó un papel filtro, sobre el cual se aplicó con una pipeta una suspensión de 1mL de agua destilada con un total de 600 JI. Luego de asegurar una distribución homogénea de la solución en la placa se introdujeron las larvas previamente seleccionadas. La placa fue rotulada e introducida dentro de una bolsa plástica con una base de papel absorbente húmedo produciendo así una cámara húmeda, en una incubadora a 20°C.

Luego de 2-3 días post inoculación, las larvas muertas fueron traspasadas a trampas White. En los bordes de la placa pequeña se colocaron los cadáveres de *G. mellonella* y en la placa externa se agregó agua destilada. Pasados 5 días desde la inoculación, al emerger los juveniles infecciosos de los cadáveres, se desplazaron al agua en búsqueda de humedad (Figura 2).

Tras la emergencia de los NEP desde el hospedero, lo cual se determinó bajo observaciones con una lupa estereoscópica, fueron cosechados y almacenados en agua destilada (Figura 2), en una cámara a baja temperatura hasta su uso, por no más de 4 semanas.



Figura 2. (A) Larvas de *G. mellonella* muertas recientemente por ataque de NEP en trampa White. (B) NEP emergiendo de larvas de *G. mellonella* en trampa White. (C) Cosecha de NEP desde trampa White previo a ser almacenado a baja temperatura.

Crianza de *A. deprivata*

Para la obtención de una nueva generación de *A. deprivata*, se capturaron adultos desde una cámara de crianza en frascos de plástico transparentes los cuales fueron monitoreados a diario hasta la aparición de huevos.

Desde la eclosión las larvas se alimentaron con hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) producidas sin aplicación de plaguicidas, y fueron aisladas individualmente en frascos de plástico transparente debido a su comportamiento caníbal (Figura 3). A medida que las larvas crecieron se cambiaron a frascos más grandes para su comodidad, hasta alcanzar el estado requerido para el ensayo.



Figura 3. (A) Larvas de *A. deprivata* recién separadas para evitar conductas caníbales. (B) Larvas de *A. deprivata* de tercer estadio aisladas individualmente con comida.

Sustrato

El suelo, de textura franco arenosa, se obtuvo de los primeros 40 cm del perfil en una zona sin uso agrícola en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, perteneciente a la serie Santiago (CIREN, 1996).

Se tamizó el suelo para evitar la presencia de piedras y terrones de gran tamaño, y se mezcló con turba y perlita en una relación 2:1:1, colocando la mezcla en baldes de 10 litros, los que se sellaron con papel aluminio y autoclavaron para descartar la presencia de otros organismos. Previo a su uso los baldes fueron perforados, el sustrato se regó y se dejó drenar por 48 h hasta llegar a capacidad de campo.

Experimento

Se realizó un experimento para evaluar la relación del grado de protección de los NEP al ser aplicados al suelo y su efectividad para causar mortalidad sobre *A. deprivata* y, el daño de estas larvas sobre las plantas de maíz. Además, con el motivo de evaluar la virulencia y persistencia de los NEP, se utilizaron larvas de *G. mellonella*, un hospedero comúnmente utilizado para la reproducción de NEP.

Las macetas sobre las cuales se aplicaron los tratamientos fueron evaluadas diariamente en busca de actividad de las larvas de *A. deprivata* en superficie o mediante el daño observado en las plantas de maíz, donde cada maceta se encontraba sellada completamente con una pantalla plástica, cubierta por una malla para evitar la fuga de las larvas y permitir la entrada de oxígeno (Figura 4).



Figura 4. Adaptación de macetas para evitar la fuga de larvas de *A. deprivata*.

Aplicación de Tratamientos

Se llenaron macetas de 2 litros de suelo esterilizado, en las cuales se sembraron 5 semillas orgánicas de maíz, distribuidas de manera uniforme, dejando libre el centro de la maceta, estas fueron previamente germinadas durante tres días en agar estéril al 1%. Una vez en la maceta, cuando las plántulas tuvieron en promedio entre 2 y 4 hojas desplegadas se aplicaron los seis tratamientos descritos en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos aplicados.

Tratamiento	Descripción
NEP en cadáver	Se enterró un cadáver de larva de <i>G. mellonella</i> previamente inoculada con NEP en el centro de la maceta a una profundidad de 5 cm (Figura 5). La larva fue inoculada 3 días antes de ser utilizada, aportándole un grado de protección a los nemátodos. Para este tratamiento, se determinó previamente el tiempo que debía transcurrir desde la inoculación de <i>G. mellonella</i> para obtener la cantidad requerida de JI.
NEP 5 cm de profundidad	Se inyectaron 5 mL de suspensión al suelo con un total estimado de 600 JI a una profundidad de 5 cm al centro de la maceta.
NEP en superficie	Con una pipeta se aplicaron 5 mL de una suspensión con un total estimado de 600 JI directamente sobre el suelo en el centro de la maceta, quedando estos expuestos a factores ambientales.
Control	Macetas regadas con agua.

Insecticida sintético	Insecticida sintético utilizado comúnmente para el control de <i>A. deprivata</i> con nombre comercial Lorsban Plus, ingrediente activo clorpirifos (Dow AgroScience), a la dosis recomendada por la etiqueta de 1 L ha ⁻¹ (Figura 5).
Insecticida biológico	Insecticida biológico formulado a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> (<i>Bt</i>) con nombre comercial Dipel (Bayer Corp Science) a la dosis recomendada en la etiqueta de 1000 g ha ⁻¹ (Figura 5).

La manipulación previa y al momento de la aplicación de los tratamientos con insecticidas se realizó bajo las medidas de seguridad pertinentes.

Desde la aplicación de los tratamientos en las macetas se registraron las temperaturas del suelo y del ambiente dado a que es un factor determinante en la funcionalidad y sobrevivencia de los NEP.



Figura 5. (A) Aplicación de tratamiento T₁ en plantas de maíz. (B) Aplicación de tratamiento T₅ en plantas de maíz. (C) Aplicación de tratamiento T₆ en plantas de maíz.

Exposición de larvas de *A. deprivata* y *G. mellonella* a NEP

Veinticuatro horas posteriores a la aplicación de los tratamientos, se colocó una larva de *A. deprivata* en su estadio L6 en la superficie del suelo al centro de cada maceta. El estado de desarrollo fue determinado mediante la medición de la distancia entre las setas frontales de la cápsula cefálica.

Además, se ubicó en cada maceta, a 5 cm de profundidad, un tubo Eppendorf de 1,5 mL, el cual fue relleno con suelo y una larva de *G. mellonella* en su último estadio, como un control. El tubo se perforó en todo su contorno para permitir el intercambio gaseoso y la entrada de los NEP (Figura 6).

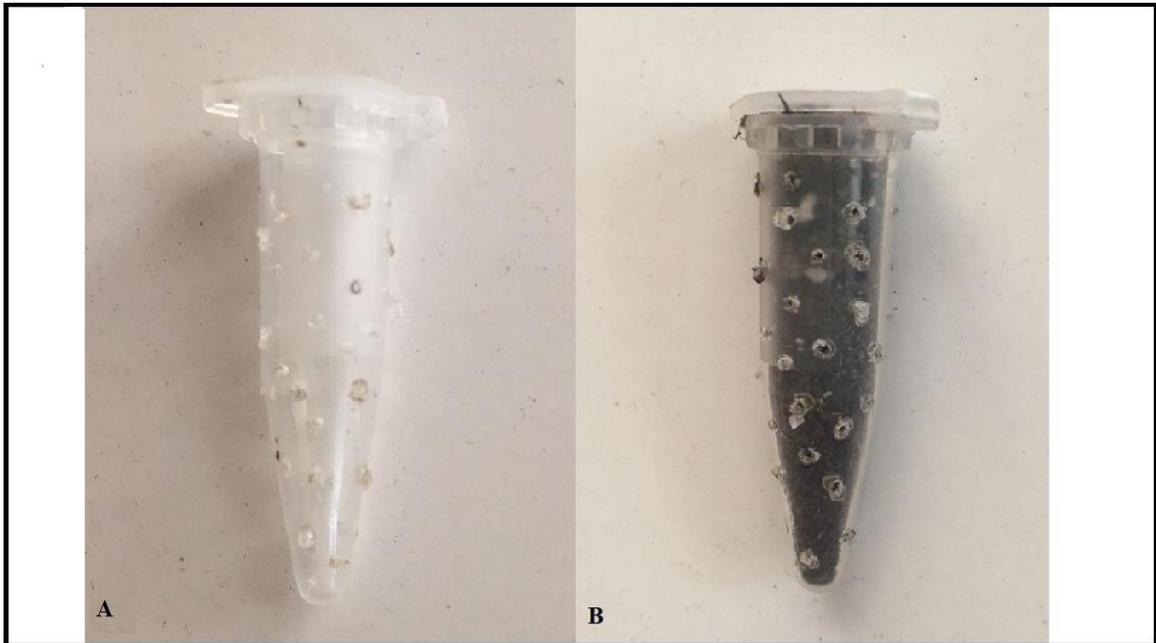


Figura 6. (A) Tubo Eppendorf perforado para permitir intercambio gaseoso y entrada de NEP. (B) Tubo Eppendorf relleno, listo para ser aplicado en la maceta.

Evaluación del daño en las plántulas de maíz y sobrevivencia de *A. deprivata* y *G. mellonella*

Transcurrida una semana desde la exposición de las larvas a los tratamientos, se midió el daño en las plántulas de cada maceta, considerando la cantidad promedio de hojas dañadas. También se extrajeron los tubos Eppendorf con las larvas de *G. mellonella* y se vaciaron las macetas para recuperar las larvas de *A. deprivata*. Aquellas larvas de ambas especies que presentaron síntomas de parasitación por NEP fueron pasadas individualmente a trampas White en cámaras a 20°C hasta observar emergencia de los NEP desde los cadáveres.

Diseño experimental

Para la aplicación de los tratamientos se utilizó un diseño en bloques completamente al azar con 6 tratamientos, 12 repeticiones por cada uno. La disposición de los bloques se hizo en hileras según exposición solar. En cada hilera se puso una maceta correspondiente a cada tratamiento, separadas a una distancia de 5 cm entre sí, sobre las hileras los tratamientos se distribuyeron al azar. Además, se puso un borde con dos macetas a lo largo y ancho de las hileras para evitar la exposición de las macetas más externas (Figura 7). Las macetas se pusieron sobre un plástico y dentro de un túnel de tul para evitar la entrada de insectos o aves no deseados, se regaron según necesidad, evaluando visualmente la humedad presente en el suelo a través de la pantalla que las cubría sin permitir que llegase a secarse, antes y durante

el experimento.

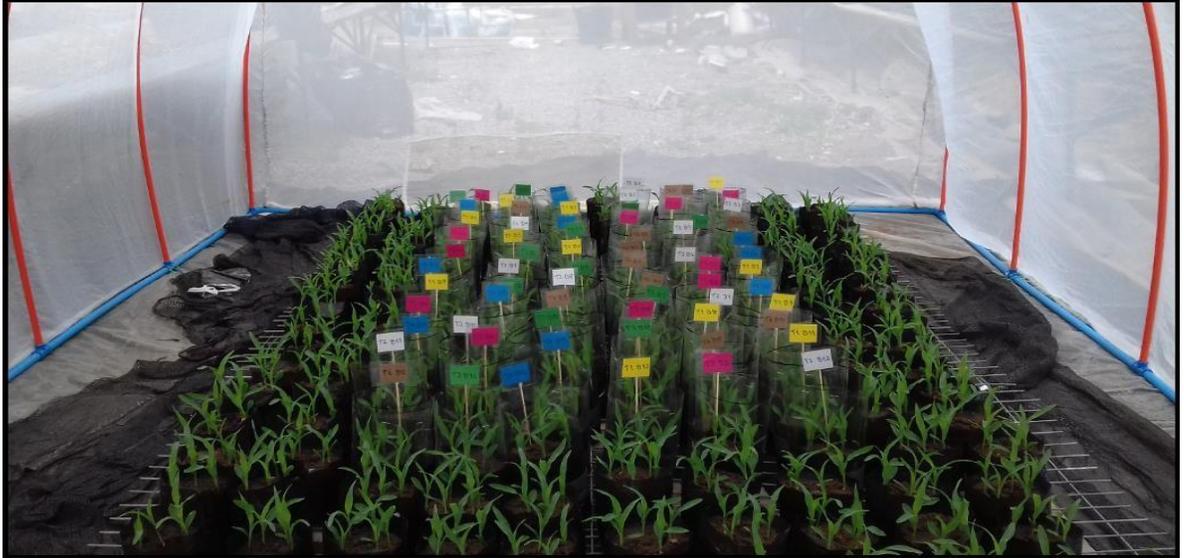


Figura 7. Disposición de bloques con sus respectivos tratamientos en terreno.

Análisis estadístico

Los resultados sobre la supervivencia de las larvas tanto de *A. deprivata* como de *G. mellonella* fueron analizados con un Modelo lineal generalizado de respuesta Binomial, dado que la variable a analizar es vivo/muerto.

Los resultados de daños sobre las plantas en los distintos tratamientos fueron analizados con un análisis de varianza (ANDEVA) al 5% de nivel de significancia, utilizando el programa Infostat. Para detectar diferencias significativas entre las medias, se utilizó la prueba de comparación de Tukey al 5%.

RESULTADOS

En el Cuadro 2 se muestran las temperaturas máximas y mínimas obtenidas en el suelo y el ambiente durante los 8 días siguientes a la aplicación de los tratamientos. Se destacan en gris las temperaturas extremas registradas.

Cuadro 2. Temperaturas (°C) máximas y mínimas registradas en el ambiente y en el suelo durante los días desde la aplicación de los tratamientos.

		Temperatura °C							
		Días desde la aplicación de los tratamientos							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Aire	T°max	26,8	26,9	26,3	26,3	25,6	26,2	26,0	27,3
	T°min	19,8	19,5	19,5	19,1	18,7	19,3	19,5	19,7
Suelo	T°max	30,1	30,7	32,2	34,1	32,3	30,7	31,0	27,1
	T°min	13,0	13,7	11,7	12,2	13,3	12,4	13,2	13,9

1. Determinación del daño de *A. deprivata* sobre plantas de maíz

La determinación del daño de *A. deprivata* sobre las plantas se hizo en base al daño final evaluado en el día en que se desmontó el experimento. Por otro lado, las plantas de maíz fueron observadas diariamente en busca de actividad y daños visibles, este último comenzó a disminuir a partir del tercer día desde que se colocaron las larvas de *A. deprivata* en las macetas.

En todos los tratamientos aplicados el número promedio de hojas presentes fue similar, lo que sugiere que las larvas de *A. deprivata* tuvieron acceso a una cantidad similar de alimento en todos ellos.

En el Cuadro 3 se muestra el porcentaje de hojas dañadas en cada tratamiento, demostrando que todos presentan algún grado de daño. El tratamiento que presentó el mayor porcentaje de hojas dañadas fue el tratamiento en el cual se aplicaron NEP por medio de un cadáver, llegando a generar un 21% de daño. Por otro lado, el tratamiento con insecticida biológico Dipel y el tratamiento con NEP en superficie obtuvieron el menor porcentaje de hojas dañadas, llegando este a un 1% de daño, existiendo una diferencia porcentual de un 20% de daño entre los mejores y peores tratamientos.

Cuadro 3. Porcentaje de hojas dañadas (%) en el total de las plantas de maíz dentro de cada tratamiento, causado por larvas de *A. deprivata* luego de terminado el experimento.

Tratamiento	Cantidad promedio de hojas dañadas (%)	E.E
NEP cadáver	21 a	± 0,11
Control - Agua	18 a	± 0,1
Químico	8 ab	± 0,05
NEP 5 cm	6 abc	± 0,04
Biológico	1 bc	± 0,01
NEP superficie	1 c	± 0,01

Promedios dentro de la columna seguida con una letra diferente son significativamente diferentes ($P < 0,05$) según test de Tukey. EE (Error Estándar) de la variable daño promedio de hojas dañadas sometida a análisis estadístico.

2. Determinación de la sobrevivencia de *A. deprivata*

Las larvas recolectadas muertas de los tratamientos con NEP presentaron síntomas visuales de parasitación por NEP, observándose un cambio de color, tornándose los cadáveres más oscuros y perdiendo firmeza.

En el Cuadro 4 se presenta el porcentaje de larvas vivas de *A. deprivata* una vez terminado el periodo experimental, donde es posible observar que el tratamiento control, en el cual solo se aplicó agua a las macetas, obtuvo un 100% de sobrevivencia. Al contrario, los dos tratamientos en los cuales se aplicaron NEP, ya sea en superficie o a 5 cm de profundidad, obtuvieron los menores porcentajes de sobrevivencia de larvas de *A. deprivata* con un 16 y 14 % respectivamente, existiendo una diferencia porcentual de un 84% entre los mejores y peores tratamientos.

Cuadro 4. Proporción de larvas vivas (%) de *A. deprivata* causadas por los tratamientos aplicados, finalizado el experimento.

Tratamiento	Sobrevivencia de <i>A. deprivata</i> (%)	E.E
Control - Agua	100 a	± 0,0000026
Biológico	74 b	± 0,2
NEP cadáver	39 bc	± 0,21
Químico	29 c	± 0,17
NEP superficial	16 c	± 0,15
NEP 5 cm	14 c	± 0,13

Promedios dentro de la columna seguida con una letra diferente son significativamente diferentes ($P < 0,05$) según test de Tukey. EE (Error Estándar) de la proporción de larvas vivas de *A. deprivata* sometida a análisis estadístico.

Finalmente, estos resultados indican que existen diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de larvas vivas de *A. deprivata* causada por los distintos tratamientos aplicados, donde los tratamientos con NEP mediante una suspensión obtuvieron niveles de

sobrevivencia de estas larvas estadísticamente similares al insecticida químico, mientras que la aplicación mediante un cadáver de *G. mellonella* fue similar estadísticamente a ambos insecticidas utilizados comúnmente en el control de *A. deprivata* ($p \leq 0,05$).

3. Determinación de la sobrevivencia de *G. mellonella*

En el Cuadro 5 es posible observar la proporción de sobrevivencia de larvas de *G. mellonella*, donde el tratamiento control, en el cual solo se regó con agua destilada obtuvo un 100% de sobrevivencia, presentando todas las larvas vivas envueltas en seda terminado el experimento. Igualmente, el insecticida biológico Dipel junto con el insecticida químico Lorsban Plus presentaron un 100% de sobrevivencia. Los tres tratamientos en los cuales se utilizaron NEP no presentaron diferencias significativas entre ellos, observándose prácticamente nula sobrevivencia de *G. mellonella*, presentándose todos los individuos de *G. mellonella* muertos. Con respecto a las larvas muertas, se desconoce el día exacto de su muerte dado a que estas se encontraban bajo tierra.

Cuadro 5. Proporción de larvas vivas (%) de *G. mellonella* causadas por los tratamientos aplicados, finalizado el experimento.

Tratamiento	Sobrevivencia de <i>G. mellonella</i> (%)	E.E
Control - Agua	100 a	± 0
Biológico	100 a	$\pm 1,9E-11$
Químico	100 a	$\pm 0,000016$
NEP cadáver	0,0004 b	$\pm 0,000018$
NEP superficial	0 b	± 0
NEP 5 cm	0 b	± 0

Promedios dentro de la columna seguida con una letra diferente son significativamente diferentes ($P < 0,05$) según test de Tukey. EE (Error Estándar) de la proporción de larvas vivas de *G. mellonella* sometida a análisis estadístico.

DISCUSIÓN

Los gusanos cortadores provocan un gran daño en cultivos como el maíz, generado por la pérdida de plantas, principalmente entre la etapa de siembra y la emergencia del cultivo (Flores et. al, 2014.; Urretabizkaya, 2018). Debido a esto y por su hábito de corte de plantas, se esperaría un gran porcentaje de plantas dañadas por parte de estas larvas sobre las plantas de maíz. Sin embargo, y sin considerar el efecto de los NEP sobre *A. deprivata*, el mayor porcentaje de daño alcanzado en las plantas de maíz fue de un 21% cuando las plantas se trataron con NEP por medio de un cadáver de *G. mellonella*, seguido a este el tratamiento control, del cual se esperaría el mayor porcentaje de daño, presentó un 18%. Estos resultados están por encima de los obtenidos con el tratamiento con NEP mediante una suspensión en superficie y el insecticida biológico, los cuales no superan el 1% de daño (Cuadro 3).

Igualmente, se esperaría que al existir una mayor sobrevivencia de *A. deprivata*, el daño ocasionado en las plantas de maíz fuese mayor, sin embargo, este escenario no es tan simple de apreciar. Si bien se pudo observar que el tratamiento control, el cual presentó una sobrevivencia de un 100% y que generó un 18% de hojas dañadas; existen tratamientos con sobrevivencias menores que obtuvieron un mayor daño en hojas, este es el caso del tratamiento NEP cadáver que presentó una sobrevivencia de 39% pero causó un alto porcentaje de daño (Cuadros 3 y 4). Por el contrario, el tratamiento con insecticida biológico presentó un gran porcentaje de sobrevivencia (74%) mientras que el daño causado en las hojas fue casi nulo (1%).

En un estudio para evaluar la capacidad de atracción de seis especies hortícolas ante NEP del género *Steinernema* al ser atacadas por el gusano cortador de la papa *Agrotis deprivata*, Quezada (2018), concluyó que distintas especies hortícolas, entre ellas maíz, generan diferentes niveles de atracción hacia los nemátodos luego de ser atacadas por las larvas de *A. deprivata*. Así mismo, es de conocimiento que las señales de dióxido de carbono (CO₂) emitidas por los insectos huésped atraen a varias especies de NEP, y, estas también son emitidas por las raíces de las plantas. De hecho, existen señales provenientes de plantas dañadas que podrían ser más llamativas que las señales químicas emitidas por el hospedador, por ejemplo, se ha demostrado que nemátodos entomopatógenos *Heterorhabditis megidis* se sienten más atraídos a plantas de maíz que estaban siendo dañadas por larvas del gusano de la raíz del maíz occidental *Diabrotica virgifera*, que a plantas sanas (Johnson y Rasmann, 2015; Rasmann et. al, 2005).

Dada la información bibliográfica revisada, queda en evidencia la posible existencia de una relación entre el ataque de *A. deprivata* a las plantas de maíz y su sobrevivencia frente a los NEP, demostrando que, al existir un daño sobre las plantas estas son capaces de generar una respuesta capaz de atraer a los nemátodos entomopatógenos, facilitando el control sobre la plaga. Este hecho no es tan claro en el presente estudio, sin considerar el tiempo de acción de los NEP sobre las larvas, se esperaría que en el tratamiento en el cual se aplicaron NEP por medio de un cadáver de *G. mellonella*, donde se obtuvo el mayor porcentaje de hojas

dañadas (21%), las plantas de maíz generaran una señal capaz de atraer a los NEP hacia ellas, obteniendo porcentajes de sobrevivencia de *A. deprivata* menores, sin embargo, este alcanzo un 39%. Por otra parte, en los tratamientos que se utilizaron NEP por medio de una suspensión, ya sea a 5 cm de profundidad o en superficie, el daño causado en las plantas fue mínimo (6 y 1%) y se obtuvieron porcentajes de sobrevivencia menores (14 y 16% respectivamente), demostrando que en este ensayo el ataque de *A. deprivata* sobre las plantas de maíz no influyó en la sobrevivencia de estas ante los NEP.

De acuerdo con los resultados obtenidos sobre la sobrevivencia de *A. deprivata*, en los tres tratamientos en los cuales se utilizaron NEP del género *Steinernema* los porcentajes de sobrevivencia fueron menores a un 40%. Estos resultados serían más bajos a los obtenidos en un estudio previo realizado por Burgos (2017), quien demostró que *Steinernema* sp. aislamiento Licán Ray causó hasta 40% de mortalidad acumulada sobre *A. deprivata* en macetas, presentando sobrevivencias cercanas a un 60% al quinto día después de la inoculación. Sin embargo, en dicho trabajo también se observaron niveles de 10% de sobrevivencia al tercer día después de aplicado el tratamiento sobre *A. deprivata* en placa Petri. Con estos antecedentes queda en evidencia la diferencia en la efectividad y en el tiempo de infección de los NEP al ser aplicados directamente sobre su presa objetivo o sobre el sustrato en el cual la presa vive.

De lo anterior, podría esperarse que el tratamiento en el cual se aplicaron los NEP con algún grado de protección, por medio de una larva de *G. mellonella* presentara una sobrevivencia mayor o una eficacia tardía en comparación a los tratamientos en los cuales los NEP se aplicaron mediante una suspensión. Existen informes que revelan la existencia de ventajas al aplicar los NEP mediante un cadáver comparado a una solución acuosa generando una mayor supervivencia, infectividad y eficacia (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012). Si bien se realizaron observaciones diarias sobre la maceta y la actividad de las larvas sobre las plantas, la sobrevivencia de *A. deprivata* se midió al momento de levantar el ensayo. Sin embargo, el hecho de que existiera un mayor ataque sobre las plantas de maíz en el tratamiento con NEP a través del cadáver de *G. mellonella* se puede atribuir a que los nemátodos, al presentar un grado de protección mayor y tener que emerger de la larva, tardaran más en generar un control. Del Valle *et al.* (2011), en un estudio para evaluar la influencia del periodo de tiempo entre la infección de *G. mellonella* con NEP y la aplicación al suelo de estos cadáveres, con la emergencia de JI de estos, recomienda el uso de NEP por medio de cadáveres incubados en periodos de 6 a 10 días desde la infección hasta el uso del cadáver. Demostrando que periodos de tiempo de 6 días mostraron una emergencia de JI significativamente mayor que periodos de 12 días, evaluando que mientras más tiempo transcurre entre la infección del cadáver y su uso, estos se desecan, pierden turgencia física y se vuelven más susceptibles a rupturas.

Todos estos antecedentes indicarían que el hecho de que los nemátodos se aplicaran con algún grado de protección, genere un retraso en la acción de los NEP sobre su presa objetivo. Esto es posible de notar al comparar la relación entre el porcentaje de sobrevivencia con el daño en las plantas en los tratamientos, donde es posible ver que los tratamientos con NEP mediante una suspensión obtuvieron menores porcentajes de daños en las plantas de maíz en

comparación al tratamiento con NEP mediante un cadáver de *G. mellonella*, siendo el tratamiento en el cual se aplicaron los NEP en superficie el más eficiente al momento de controlar a *A. deprivata* y evitar el daño en el cultivo.

Los tres tratamientos en los cuales se utilizaron NEP presentaron resultados estadísticamente similares sobre el porcentaje de sobrevivencia de *A. deprivata*, y a su vez, estos son estadísticamente similares al insecticida químico utilizado. Así mismo, la aplicación de NEP por medio de una suspensión, a 5 cm de profundidad y en superficie, presentan un mejor control que el insecticida biológico comúnmente utilizado para el control de *A. deprivata*, demostrando la potencial efectividad que presentan los NEP como controladores biológicos (Cuadro 3).

Con respecto a los resultados obtenidos con el insecticida biológico, el cual presentó una supervivencia de *A. deprivata* de un 74% pero tan solo se observó un 1% de daño en las plantas, es posible observar una discordancia en los resultados, donde se hubiese esperado que al haber un mayor porcentaje de sobrevivencia, las larvas hubiesen generado un mayor daño en las plantas de maíz. Al ser una plaga del suelo, y este alcanzar temperaturas superiores a los 30° podría ser que las larvas disminuyeran su metabolismo por estrés. Sin embargo, de ser así todos los tratamientos presentarían un daño en las plantas similar a este tratamiento. Flores (2014), expresa que *A. deprivata* es capaz de generar grandes ataques a cultivos en escenarios de altas temperaturas y baja humedad, además, en un estudio realizado por Rios (2016) para determinar los requerimientos térmicos de *Lobesia botrana*, perteneciente al orden Lepidóptera, se determinó que las temperaturas más adecuadas para su desarrollo van desde los 10 a los 30°C como máximo. Otra posible explicación sería que las larvas, al estar en su último estadio se preparasen para pupar, lo que generaría una disminución en su actividad, pero de igual forma esto ocurriría de manera similar en todos los tratamientos.

En otros estudios reportados en la literatura sobre el control biológico de gusanos cortadores, se ha evaluado el uso de *Thymebatis* sp., especies parásitas perteneciente al género Hymenoptera, en el cual la avispa adulta ataca a las orugas en desarrollo, parasitándolas, y creciendo la larva de ésta en su huésped mientras ésta última se desarrolla. Si bien, el uso de este parásito ha reportado hasta un 30% de sobrevivencia en orugas cortadoras su eficiencia suele ser menor, presentando entre un 80-60% de sobrevivencia (Aragón, 1997; Aragón, 2000). Estos resultados presentarían una sobrevivencia mayor a las obtenidas en el presente ensayo con el uso de NEP como controladores biológicos, demostrando que los NEP del género *Steinernema* serían una mejor opción sobre otros controladores biológicos al momento de buscar una alternativa al control de *A. deprivata*.

Con respecto a los resultados obtenidos en relación con la sobrevivencia de *G. mellonella*, se puede observar que los tres tratamientos con NEP presentaron sobrevivencias de un 0%, siendo los tratamientos que obtuvieron mejores resultados, demostrando así su efectividad en el control de insectos que están inmóviles en el suelo. Estos resultados superan a los obtenidos en un ensayo previo realizado por Burgos (2017), quien obtuvo resultados mayores

de sobrevivencia al utilizar *Steinernema* sp. aislamiento Licán Ray sobre larvas de *G. mellonella* en macetas, logrando un 66,7% de mortalidad en el último día del experimento. Con respecto a los tratamientos con insecticidas comerciales y el tratamiento control, los tres obtuvieron porcentajes de sobrevivencia de un 100%. La sobrevivencia de todos los individuos de *G. mellonella* indica que estas larvas pueden sobrevivir sin alimento por un periodo de al menos 8 días. Además, dado a que las larvas se encontraban en profundidad, se demuestra que los NEP fueron capaces de moverse en busca de un hospedero, coincidiendo con lo reportado por Vidal (2014), donde se determinó que, en suelos francos, NEP del aislamiento *S. feltiae* Lican Ray, son capaces de desplazarse sin dificultad hasta por 30 cm, logrando la mortalidad del 100% sobre larvas de *G. mellonella*. Por esta razón, el suelo utilizado no sería una limitante en la movilidad e infectividad de los NEP ante *G. mellonella* y *A. deprivata*.

Con relación a la incidencia de los factores ambientales sobre el ataque de los NEP sobre *A. deprivata* y *G. mellonella*, se sabe que los JI son capaces de sobrevivir a las condiciones ambientales dentro del cadáver huésped, que su supervivencia varía según la especie y dependerá de las condiciones en las que se encuentra el cadáver. Por ejemplo, en condiciones tanto de baja humedad relativa como de bajas temperaturas se ha observado una disminución de la emergencia de los NEP desde el huésped, llegando a provocar su muerte (Brown and Gaugler, 1997).

Alvarado (2012), determinó que la temperatura en la cual *Steinernema* sp. aislado Licán Ray puede infectar y reproducirse dentro de *G. mellonella*, fluctúa entre los 10 y 30°C, con un óptimo entre 25 a 28°C (Hazir *et al*, 2001; Miles *et al*, 2012). Con respecto al ensayo actual, las temperaturas más bajas registradas en el suelo fueron superiores a los 11°C, mientras que las temperaturas más altas registradas diariamente superaron los 30°C desde el día uno de la aplicación de los tratamientos, llegando a alcanzar los 34°C en el cuarto día desde iniciado el experimento (Cuadro 2).

La temperatura no es el único factor para considerar en la aplicación de los NEP, por ejemplo, estudios realizados por Brown y Gaugler (1997), muestran que la humedad del suelo afecta la mortalidad de los NEP dentro del cadáver de *G. mellonella*, con una evidente disminución en la emergencia de *S. feltiae* del cadáver bajo condiciones de 75% de humedad relativa. A su vez, se ha demostrado que la humedad del suelo influye en la aparición de los JI provenientes de los cadáveres hospederos, afectando a las diferentes especies de manera distinta, y que además estos pueden sobrevivir dentro de los cadáveres en desecación en suelos con bajos contenidos de humedad (Koppenhofer *et al.*, 1997). Sáenz (2008), demostró que la humedad del suelo afecta la movilidad de los nemátodos hacia el hospedero en suelo franco arenoso con cuatro niveles de humedad (0%, 15%, 30% y 45%), obteniendo como resultado una disminución en el número de JI en suelo con 15 y 45% de humedad. Esto se vio reflejado en la mortalidad obtenida sobre larvas de *Sagalassa valida*, llegando a disminuir un 75% en suelos con 30% de humedad. En este trabajo, al haber sido regadas las plantas según necesidad, la humedad del suelo no sería un problema para evaluar la efectividad de los nemátodos.

Con respecto a otros factores ambientales, es de conocimiento que la radiación UV es perjudicial para los nemátodos, por esto, en las aplicaciones superficiales con NEP por medio de una suspensión, en las cuales los nemátodos quedan completamente expuestos, es recomendable realizar las aplicaciones temprano en la mañana o al atardecer (Shapiro-Ilan *et al.*, 2006). Si bien, Shapiro-Ilan *et al.*, (2006) recomienda realizar la aplicación de suspensiones bajo superficie para mejorar la eficacia y evitar la exposición a la radiación ultravioleta, el presente informe no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con NEP mediante una suspensión a 5 cm de profundidad y en superficie (14 y 16 % respectivamente).

Debido a los datos recopilados con respecto a los factores ambientales, las altas temperaturas alcanzadas en el suelo podrían generar una incidencia sobre los resultados obtenidos en el presente ensayo. Para lograr un control efectivo, se deben considerar las condiciones ambientales del medio al momento de utilizar de NEP como controladores biológicos, principalmente en su uso mediante un cadáver de *G. mellonella* dado el hecho de que estos deben salir en óptimas condiciones del cadáver antes de poder generar un control.

Por otro lado, se ha reportado el uso de NEP del género *Steinernema* en el control de otras plagas. Por ejemplo, Saenz (2003), en un estudio realizado en Costa Rica, observó que *S. feltiae* lograba niveles de mortalidad de 100 y 88% sobre *Tecia solanivora* y *Clavipalpus ursinus*, respectivamente. Atribuyendo la diferencia en su grado de infección en las diferencias morfológicas de los insectos. En Chile, en ensayos realizados con nemátodos entomopatógenos sobre curculiónidos, se ha visto disminuida la emergencia de adultos en especies como el cabrito en hasta un 75% (*Aegorhinus superciliosus*) y hasta un 68% en el capachito de los frutales (*Naupactus cervinus*), considerándose un buen nivel de control dado la dificultad de control de estas larvas, mostrando así su efectividad en el control de la plaga y en la disminución de la presión de esta para la temporada siguiente (Rozas, 2009; France, 2013). Estos resultados se asemejan a los porcentajes de sobrevivencia obtenidos en el presente estudio, dejando en evidencia que los nemátodos entomopatógenos presentan un gran potencial como controladores biológicos de distintas plagas.

CONCLUSIONES

Con relación a los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir lo siguiente:

- *Steinernema feltiae* aislamiento “Licán Ray” causa mortalidad sobre larvas de último estadio de *Agrotis deprivata*.
- La forma de inoculación del nemátodo incide en la eficacia de su control, las aplicaciones con NEP en forma de suspensión generan un ataque más rápido que las aplicaciones mediante un cadáver de *G. mellonella*, sin embargo, estas se deben realizar considerando los factores ambientales del sistema en el cual se van a aplicar.
- La aplicación de NEP en forma de suspensión en superficie es el mejor tratamiento al momento de considerar el bajo porcentaje de sobrevivencia (16%) y el menor daño en las plantas de maíz (1%).
- La efectividad de *Steinernema feltiae* aislamiento “Licán Ray” depende de la plaga objetivo y la movilidad que ésta presente en el suelo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, A. (2012). *Hábitos parasitarios y comportamiento de un aislamiento nativo del nemátodo entomopatógeno Steinernema sp. en larvas de Galleria mellonella L.* (Memoria para optar al grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Chile, Santiago). Recuperado de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/116147/Memoria%20de%20T%c3%adtulo%20Andrea%20In%c3%a9s%20Alvarado%20Orellana.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Aragón, J. (2000). *Evaluación y manejo de orugas cortadoras (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivo de girasol en Argentina.* Recuperado en <https://www.isasunflower.org/fileadmin/documents/aaProceedings/15thISCToulouse2000/PosterWorkshopE-F-H/H-AragonAR54.pdf>
- Aragón, J. (1997). Manejo integrado de plagas. En: L. Giorda y H. Baigorri. *El cultivo de soja en Argentina.* (pp 247-288). Córdoba, Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Barzman, M., Barberi, P., Birch, N., Bononekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graff, B., ... Sattin, M. (2015). *Eight principles of integrated pest management.* doi: <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0327-9>
- Bogantes, D., Flores, L., Castellón, E. y Uribe, L. (2018). Encapsulamiento de nemátodos entomopatógenos en materiales basados en biopolímeros y su efecto sobre *Galleria mellonella*. *Agronomía Costarricense*, 42(2). doi: <https://doi.org/10.15517/rac.v42i2.33774>
- Brown, I. and Gaugler, R. (1997). Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. *Nematologica*, 43(5), 363-375. doi: <https://doi.org/10.1163/005025997X00102>
- Burgos, E. (2017). *Efecto del ataque de nemátodos entomopatógenos nativos del género Steinernema sobre el gusano cortador de la papa (Agrotis bilitura Guenée) en condiciones de laboratorio.* (Memoria para optar al grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Chile, Santiago). Recuperado de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/152704/Efecto-del-ataque-de-nematodos-entomopatogenos-nativos-del-genero-Steinernema-sobre-el-gusado-cortador-de-la-papa-%28Agrotis-bilitura-Guenee%29-en-condiciones-de-laboratorio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Carvalho, F. (2017). Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security*, 6(2), 48–60. doi: <https://doi.org/10.1002/fes3.108>
- CIREN (Centro de Información Recursos Naturales), Chile. (1996). Estudio agrológico Región Metropolitana, descripciones de suelos materiales y símbolos. Santiago, Chile: CIREN.
- Del Valle, E., Dolinski, C., Barreto, E. and Souza, R. (2011). Time period between infection by *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: *Rhabditida*) and soil application of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: *Pyralidae*) cadavers on the emergence of infective juvenile. *Nematologia Brasileira*, 37(1-2). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/328268386_Time_Period_Between_Infection_of_Heterorhabditis_baujardi_LPP7_Nematoda_Rhabditida_and_Soil_Application_of_Galleria_mellonella_Lepidoptera_Pyralidae_Cadavers_on_the_Emergence_of_Infective_Juveniles
- Divya, K and Sankar, M. (2009). Entomopathogenic nematodes in pest management. *Indian Journal of Science and Technology*. 2(7): 53-60. doi: [10.17485/ijst/2009/v2i7/29499](https://doi.org/10.17485/ijst/2009/v2i7/29499)
- Faiguenbaum, H. (2003). *Labranza, siembra y producción de los principales cultivos de Chile*. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.
- Filipjev, I.N. (1934). *The classification of the free-living nematodes and their relation to parasitic nematodes*. Recuperado de https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/23985/SMC_89_Filipjev_1934_6_1-57.pdf
- Fimbres, G. and Flores-Lara, Y. (2016). Potencialidad y retos del uso de nemátodos entomopatógenos para el control biológico de plagas. I: Control biológico mediante una asociación simbiótica NEP-Bacteria. *INVURNUS*, 11(1), 27-36. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/303549085_Potencialidad_y_Retos_del_Uso_de_Nematodos_Entomopatogenos_para_el_Control_Biologico_de_Plagas_I_Control_biologico_mediante_una_asociacion_simbiotica_NEP-Bacteria_The_Potential_and_Challenges_of_the_U
- Flores, F. (2010). *Manejo de plagas en el cultivo de maíz*. Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-manejo_de_plagas_en_el_cultivo_de_maz.pdf
- Flores, F y Balbi, E. (2014). *Manejo de orugas cortadoras en cultivos extensivos*. Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_mj_orugas_cortadoras14.pdf
- Flores, P., Alvarado, A., Lankin, G., Lax, P., Prodan, S. and Aballay, E. (2021). Morphological, molecular and ecological characterization of a native isolate of

- Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) from southern Chile. *Parasites & Vectors*, 14(45). doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04548-7>
- France, A. (2013). Uso de nemátodos entomopatógenos para el control de insectos. (Cap. 3, pp. 35-47). En: Luppichini, P.; A. France; I. Urtubia; N. Olivares y F. Rodríguez. c. Boletín N°260. Chillán, Chile: INIA. 79p. Recuperado de <https://hdl.handle.net/20.500.14001/7587>
- Gaugler, R., Lewis, E. and Stuart, R. (1997). Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. *Oecologia*, 109(4), 483-489. doi: <https://doi.org/10.1007/s004420050108>
- González, R. (1989). *Insectos y ácaros de importancia agrícola y cuarentenaria en Chile*. Santiago, Chile: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.
- Hazir, S., Stock, P., Kaya, H., Koppenhöfer, A. and Keskin, N. (2001). Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 77(4), 243-250. doi: <https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5029>
- Johnson, S. y Rasmann, S. (2015). Root-feeding insects and their interactions with organisms in the rhizosphere. *Annual Review of Entomology*, 60, 517-535. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-020608>
- Kaya, H. and Gaugler, R. (1993). Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, 38, 181-206. doi: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.en.38.010193.001145>
- Kaya, H. and Stock, P. (1997). Techniques in insect nematology. In: L. Lacey (Ed.). *Biological techniques: Manual of techniques in insect pathology*. 281-324. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-432555-5.X5000-3>
- Koppenhofer, A., Baur, M., Stock, P., Choo, H., Chinnasri, B. and Kaya, H. (1997). Survival of entomopathogenic nematodes within host cadavers in dry soil. *Applied Soil Ecology*, 6(3), 231-240. doi: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(97\)00018-8](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(97)00018-8)
- Lozano, J. (2001). *El estrés calórico en la expresión de las proteínas Hsp70 y Hsp90 en nemátodos entomopatógenos (Rhaditida: Steinernematidae, Heterohabditidae)*. (Tesis para optar al grado de Doctorado en Ciencias, Área Biotecnología). Universidad de Colima, Colima, Mexico.
- Miles, C., Blethen, C., Gaugler, R., Shapiro-Ilan, D. and Murray, T. (2012). *Using entomopathogenic nematodes for crop insect pest control*. Recuperado de <https://s3.wp.wsu.edu/uploads/sites/2709/2021/05/PNW544.pdf>

- Moraes, J., Prada, Y., Padilla, J., Montenegro, S., Fonseca, M., Mosquera, R. y Pulido, S. (2019). Control Biológico. *En Servicios ecosistémicos: Un enfoque introductorio con experiencias del occidente colombiano*. (pp. 201-211). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/336180263_Control_Biologico
- Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. (2021). *Boletín de cereales*. Recuperado de <https://bibliotecadigital.odepa.gob.cl/bitstream/handle/20.500.12650/70789/BoletinCerealesMayo2021.pdf>
- Pérez, A. y Landeros, C. (2009). Agricultura y deterioro ambiental. *Revista elementos BUAP*, 16(73), 19-25. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/280319205_Agricultura_y_deterioro_ambiental
- Quezada, M. (2018). *Capacidad de diferentes especies hortícolas de atraer nemátodos entomopatógenos del género Steinernema al ser atacadas por el gusano cortador de la papa (Agrotis bilitura Guenée)*. (Memoria para optar al grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Chile, Santiago). Recuperado de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/153140/Capacidad-de-diferentes-especies-hortícolas-de-atraer-nematodos-entomopatogenos-del-genero-Steinernema-al-ser-atacadas-por-el-gusano-cortador-de-la-papa-%28Agrotis-bilitura-Guenee%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Rasman, S., Kollner, T., Degenhardt, J., Hiltbold, I., Toepfer, S., Kuhlmann, U., ... and Turlings, T. (2005). Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*, 434, 732–37. doi: <https://doi.org/10.1038/nature03451>
- Rios, F. (2016). *Cálculo de temperatura umbral y requerimientos térmicos para Lobesia botrana den. y schiff bajo condiciones de laboratorio*. (Memoria para optar al grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Chile, Santiago). Recuperado de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/150849/Calculo-de-temperatura-umbral-y-requerimientos-termicos-para-Lobesia-Bostrana-Den-y-Schiff-bajo-condiciones-de-laboratorio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rozas, I. (2009). *Nemátodos entomopatógenos nativos para el control de Aegorhinus superciliosus (Guérin) (Coleóptera: Curculionidae)*. (Memoria para optar al grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Concepción, Chillán, Chile). Recuperado de <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/2115>
- Saenz, A. (2003). Eficacia de invasión de *Tecia solanivora* y *Clavipalpus ursinus* por el nemátodo *Steinernema feltiae*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 67, 35-43. Recuperado de <https://docplayer.es/147017447-Eficacia-de-invasion-de-tecia-solanivora-y-clavipalpus-ursinus-por-el-nematodo-steinernema-feltiae.html>
- Saenz, A. y Olivares, W. (2008). Capacidad de búsqueda del nemátodo entomopatógeno

- Steinernema* sp. SNIO 198 (Rhabditida: Steinernematidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 34(1), 51-56. doi: <https://doi.org/10.25100/socolen.v34i1.9250>
- San Blas, G. and Agrain, F. (2017). Revalidation and redescription of *Feltia deprivata* (Walker)(=*bilitura* of authors)(Lepidoptera: Noctuidae), a pest species on South America. *Zootaxa*. doi: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4323.2.8>
- Shapiro-Ilan, D., Gouge, D., Piggott, S. and Patterson, J. (2006). Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Biological Control*, 38, 124–133. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.09.005>
- Shapiro-Ilan, D., Han, R. and Dolinski, C. (2012). Entomopathogenic nematode production and application technology. *The Journal of Nematology*, 44(2), 206-217. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-18266-7_9
- Urretabizkaya, N., Vasicek, A., Saini, E. (2010). *Insectos perjudiciales de importancia agronómica. I. Lepidópteros*. Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_lepidopteros.pdf
- Urretabizkaya, N. (2018). *Manejo Integrado de plagas asociadas al cultivo de maíz*. Recuperado de <http://www.maizar.org.ar/documentos/mip%20maizar.pdf>
- Urtubia, I. (2013). *Formulación de nemátodos entomopatógenos*. Recuperado de <https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/7589>
- Urtubia, I., France, A. y Cisterna, E. (2015). Nemátodos entomopatógenos (NEPs): Microorganismos para el control biológico de insectos plaga. Chillán, Chile: INIA Quilamapu. N°129.
- Vidal, G. (2014). Efecto de la textura del suelo sobre la capacidad de desplazamiento e infectividad en laboratorio de *Steinernema* sp. aislamiento Licán Ray. (Tesis para optar al grado de Ingeniera Agrónoma y Magister en Ciencias Agropecuarias, Mención Sanidad Vegetal, Universidad de Chile, Santiago). Recuperado de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/148656/Vidal-%20Efecto%20de%20la%20textura%20%282014%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Vitta, N. (2017). *Entomología - Plagas en hortalizas: Gusanos cortadores en tomate*. Ficha técnica INIA – Programa Sanidad Vegetal no 45. Recuperado de <https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/66973>

