



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**CARRERA DE INGENIERÍA EN HORTICULTURA Y
FRUTICULTURA**

TESIS DE GRADO

TEMA

“Evaluación de la reproducción masiva de nematodos entomopatógenos (*Steinernema spp* y *Heterorhabditis spp*) en larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas”

Previo a la obtención del título de:

Ingeniero en Horticultura y Fruticultura

AUTORA:

Nohely Maite Arteaga Alarcón

DIRECTOR DE TESIS:

Ing. Agr. Jorge Rafael Mendoza Mora, MSC.

QUEVEDO - LOS RIOS - ECUADOR

2015

DECLARACIÓN DE AUTORIA DE LA INVESTIGACION

Yo, **Nohely Maite Arteaga Alarcón**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de propiedad intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Esta Tesis de Grado la he preparado para que no solamente sea aplicado en los sectores agrícolas de la ciudad de Quevedo o Sectores de Mocache, si no que sirva como guía y consulta laboral para los pequeños y grandes productores del país.

Nohely Maite Arteaga Alarcón

Autora

CERTIFICACION

En calidad de Docente y Director de Tesis; Ing. Agr. Jorge Rafael Mendoza Mora.

Certifico:

Que la Egresada Nohely Maite Arteaga Alarcón realizó la tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniera en Horticultura y Fruticultura, cuya tesis titulada es “**Evaluación de la reproducción masiva de nematodos entomopatógenos (*Steinernema spp* y *Heterorhabditis spp*) en larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas**” bajo mi dirección; Habiendo cumplido con la disposición reglamentaria establecida para el efecto.

Ing. Agr. Jorge Rafael Mendoza Mora, MSC.

Director de Tesis

TRIBUNAL DE TESIS



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA EN HORTICULTURA Y FRUTICULTURA

TESIS DE GRADO

**Presentado al consejo directivo como requisito como requisito
previo para la obtención del título de ingeniero en Horticultura y
Fruticultura**

Aprobado por:

**ECON. FLAVIO RAUL RAMOS MARTÍNEZ.
PRESIDENTE DE TRIBUNAL DE TESIS**

**SUAREZ CAPELLO CARMEN. PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS**

**ING. AGR. PEDRO ROSERO TUFIÑO
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS**

QUEVEDO - LOS RIOS - ECUADOR

2015

DEDICATORIA

La presente investigación, fue mediante el esfuerzo de varios años de sacrificios constantes, lo dedico con todo mi amor, respeto, agradecimiento y de manera muy especial a:

Mis padres, Sra. Silvia María Alarcón Castro y Sr. Eduardo Arteaga Vines, por todo su amor, paciencia, enseñanza, y sobre todo porque nuevamente llegamos a una meta más, cumpliendo con el objetivo propuesto.

A mis hermanos Eddy, Johnson, Flavio, Josué. Quienes me apoyaron en todo momento y circunstancia. A quienes amo y admiro con gran pasión.

A mis abuelos, Sra. Sara Haydee Castro Carriel Sr. Santiago Cristóbal Alarcón Montiel. Y a mis tías, primas, por todo ese amor y apoyo incondicional en cada etapa de mis estudios y en cada paso de mi vida.

A mis amigos(as) Anita, Esther, Marly, Henry, Bernardo, Jairo, José, Enrique, Galo, Jefferson, Cristian, Carlos, Bolívar, Miguel, Fabiola, Navila, Jonathan, Paul, Mayra, Janine, Jose luis, Ricardo, Maria Jose. Jimmy, Amado, Hector.

AGRADECIMIENTO

A Dios, a quien le agradezco por nunca abandonarme y ayudarme a cumplir esta meta.

Dejando constancia de mis sinceros agradecimientos a los Docentes de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, quienes supieron brindarme sus conocimientos y a los demás quienes de una u otra manera colaboraron en esta investigación.

Ing. Paula Plaza Zambrano. Decana de la Facultad de Ciencias Agrarias.

Ing. Ramiro Gaibor Fernández. Director de la Escuela de Horticultura y Fruticultura.

Ing. Mariela Andrade Arias

Al Ing. Agr. Jorge Rafael Mendoza Mora, por el apoyo brindado en la dirección del presente trabajo.

Al Ec. Flavio Ramos, por su excelente ética profesional y además por la dedicación y el gran apoyo con valiosas aportaciones en el desarrollo del presente documento, y sobre todo por su apreciable y valiosa amistad.

A la Dra. Carmen Suarez, por sus orientaciones, sugerencias atinadas y contribuir en mi formación académica.

Al Ing. Agr. M C. Vicente Páliz por su tiempo, dedicación y la gran aportación con excelente profesionalismo que me brindo en la elaboración del presente trabajo.

Al Ing. Pedro Rosero, por su dedicación y compromiso que tiene con los estudiantes en su formación académica.

Al Dr. Fabricio Canchignia, por su gran aporte con sugerencias que sirvieron de mucha ayuda para la elaboración de mi tesis.

INDICE GENERAL

PORTADA	¡Error! Marcador no definido.
DECLARACIÓN DE AUTORIA DE LA INVESTIGACION	ii
CERTIFICACION	iii
TRIBUNAL DE TESIS	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
INDICE GENERAL	vii
INDICE DE CUADROS	x
CUADROS DE ANEXOS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMEN EJECUTIVO	xiv
ABSTRAC	xvi
CAPITULO I. MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN	1
1.1. Introducción	2
1.2. Objetivos	5
1.2.1. General	5
1.2.2. Específicos	5
1.3. Hipótesis	5
CAPITULO II. MARCO TEORICO	6
2.1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	7
2.2. Generalidades de Phyllophagaspp.	7
2.2.1. Taxonomía	7
2.2.2. Huevos	8

2.2.3.Larva	8
2.2.4.Pupa	9
2.2.5.Adultos	10
2.2.6.Comportamiento en estado adulto	11
2.2.7.Daños Causados	12
2.2.8.Generalidades sobre el control biológico de gallina ciega	12
2.3.Taxonomía de los nematodos entomopatógenos	14
2.3.1.Rango de Hospederos	14
2.3.2.Uso de Nemátodos Entomopatógenos	15
2.4.Género Steinernema	16
2.4.1.Hembras	16
2.4.2.Machos	17
2.4.3.Juveniles infectivos	18
2.5. Género Heterorhabditis	20
2.5.1.Hembras hermafroditas	20
2.5.2.Hembras anfimícticas	21
2.5.3.Machos	21
2.5.4.Juveniles infectivos	21
2.5.5.Morfología	22
2.5.6.Comportamiento	22
2.5.7.Ciclo Biológico	23
2.5.8.Simbiosis nematodo-bacteria	23
2.5.9.Cría masiva	24
CAPITULO III. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN	28
3.1.Materiales y Métodos	29
3.1.1.Localización de la investigación	29

3.1.2. Características climatológicas y edafológicas de la zona	29
3.1.3. Diseño Experimental	29
3.1.4. Materiales genéticos	29
3.1.4.1. Obtención de material biológico de gallina ciega	29
3.1.4.2. Obtención de nematodos entomopatógenos	30
3.1.4.3. Formulación de los nematodos	30
3.1.5. Experimento	30
3.1.6. Factores en estudio	30
3.1.7. Multiplicación de los nematodos	31
3.1.8. Mortalidad de gallina	31
3.1.9. El establecimiento en vivero	31
3.1.10. Método de Evaluación y datos registrados	32
3.1.11. Fórmula de Abbott's	32
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1. Resultados	34
4.2. Discusión	42
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
5.1. Conclusiones	45
5.2. Recomendaciones	46
CAPITULO VI. BIBLIOGRAFIA	47
6.1. Literatura Citada	48
CAPITULO VII. ANEXOS	51

INDICE DE CUADROS

CUADRO

PÁG

1. NÚMERO DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS OBSERVADOS POR GÉNERO EN LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE *STEINERNEMA FELTIAE* Y *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* EN LARVAS DE GALLINA CIEGA (*PHYLLOPHAGASPP*) BAJO CONDICIONES CONTROLADAS. 34
2. PROMEDIO DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN LAS REPRODUCCIONES OBSERVADOS Y ESPERADOS, EN LA EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS (*STEINERNEMA FELTIAE* Y *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA*) EN LARVAS DE GALLINA CIEGA (*PHYLLOPHAGA SPP*) BAJO CONDICIONES CONTROLADAS. 36
3. PROMEDIO DE LARVAS DE GALLINA CIEGA NO CONTROLADAS CON NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN LA EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS (*STEINERNEMA FELTIAE* Y *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA*) EN LARVAS DE GALLINA CIEGA (*PHYLLOPHAGA SPP*) BAJO CONDICIONES CONTROLADAS. 38
4. PORCENTAJE DE EFICACIA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS PARA CONTROLAR LARVAS DE GALLINA CIEGA EN LA EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS (*STEINERNEMA FELTIAE* Y *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA*) EN LARVAS DE GALLINA CIEGA (*PHYLLOPHAGASPP*) BAJO CONDICIONES CONTROLADAS. 39

5. PROMEDIO DE LARVAS DE GALLINA CIEGA NO CONTROLADAS CON NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN LA EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS (STEINERNEMA FELTIAEY HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA) EN LARVAS DE GALLINA CIEGA (PHYLLOPHAGA SPP) BAJO CONDICIONES CONTROLADAS. **40**
6. PORCENTAJE DE EFICACIA EN EL VIVERO, EN LA EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS (STEINERNEMA FELTIAEY HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA) EN LARVAS DE GALLINA CIEGA (PHYLLOPHAGASPP) BAJO CONDICIONES CONTROLADAS. **41**

INDICE DE ANEXOS

ANEXO	Pág.
1. MEDIOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA EN PORCENTAJE DE EFICACIA DENTRO DEL LABORATORIO PARA LA EVALUACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS (STEINERNEMA FELTIAEY HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA) EN LARVAS DE GALLINA CIEGA “PHYLLOPHAGASPP” BAJO CONDICIONES CONTROLADAS.	52
2. GLOSARIO	52
3. ENSAYO ESTABLECIDO	54
4. REGISTRO DE DATOS	54
5. INFESTACIÓN DE NEMATODOS	55
6. ANÁLISIS DE NEMATODOS	55
7. ESTABLECIMIENTO DEL VIVERO	56
8. RECOLECCIÓN DE LARVAS DE GALLINA CIEGA	56

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		Pág
1.	STEINERNEMA: LA HEMBRA DE PRIMERA GENERACIÓN A) VISTA DE LA CARA DE STEINERNEMAGLASERI MOSTRANDO PAPILA CEFÁLICA, PAPILA LABIAL, AMPHIDIAS Y ESTOMA B) VULVA EN UNA PROTUBERANCIA DE STEINERNEMAGLASERI C) VULVA DE S. SCAPTERISCI CON EPIGTYGMA DE DOBLE ALETA D) COLA	17
2.	STEINERNEMA: MACHO DE PRIMERA GENERACIÓN. A) REGIÓN ANTERIOR DE S. GLASERI PRESENTA UNA GRAN PAPILA CEFÁLICA Y MÁS PEQUEÑA PAPILA LABIAL. B) ESPÍCULA DE S. ANOMALI, VISTA LATERAL. C) GUBERNACULO DE S. GLASERI, VISTA VENTRAL. D) REGIÓN CAUDAL DE S. ANOMALI MOSTRANDO LA PUNTA DE LA ESPÍCULA Y GUBERNACULO Y LA PAPILA GENITAL POSTERIOR. E,F) REGIÓN POSTERIOR DE S.ANOMALI MOSTRANDO 7 (E) A 10 (F) DE LOS PARES DE PAPILAS GENITALES PREANALES, LA ÚNICA PAPILA VENTRAL PREANAL, Y ESPÍCULAS EXTENDIDAS,	18
3.	INFECTIVO JUVENIL DE STEINERNEMA A) REGIÓN ANTERIOR CON CUATRO PAPILAS CEFÁLICAS, UNA DE DOS ANFIBIAS, ESTOMA, Y EL INICIO DEL CAMPO LATERAL. B) CAMPO LATERAL CON 8 CANALES. C) CAMPO LATERAL A NIVEL DE LA PASMIDIA MOSTRANDO OCHO CANALES LLEGANDO A SER DOS GRANDES, BANDAS LLANAS. D) COLA MOSTRANDO EL ANO Y PASMIDIA CERCA DE LA MITAD DE LA COLA,	19
4.	<i>HETERORHABDITIS</i> SPP. A) VISTA DE LA CARA DE UNA HEMBRA HERMAFRODITA. B) REGIÓN VULVAL DE UNA HEMBRA HERMAFRODITA, MOSTRANDO ANILLOS ELÍPTICOS ALREDEDOR DE LA VULVA. D) LA REGIÓN POSTERIOR DEL MACHO, MOSTRANDO LA BURSA Y PAPILA GENITAL E) VISTA LATERAL DE LA ESPÍCULA. F) COLA,	20

RESUMEN EJECUTIVO

La investigación se realizó en el laboratorio y en el invernadero de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo ubicada en el km 1, Vía Quevedo a Santo Domingo. El objetivo general fue estudiar la reproducción masiva de nemátodos entomopatógenos *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* y evaluar su eficacia como control microbial de larvas de gallina ciega "*Phyllophaga spp*" bajo condiciones controladas.

Los objetivos específicos fueron identificar la eficacia de cada uno de estos nemátodos entomopatógenos como alternativa para el combate de la gallina ciega. Para el análisis de los resultados se utilizó la prueba estadística "Chi Cuadrado" Efectuándose siete frecuencias con intervalos de 15 días para la reproducción y eficacia en laboratorio y cuatro frecuencias para la investigación en vivero.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se condujo que el uso de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis bacteriophora* representa una buena alternativa para el control de larvas de gallina ciega, *Phyllophaga spp.*, en condiciones de laboratorio e invernadero. En el laboratorio se obtuvo el 96% de eficacia con *Heterorhabditis bacteriophora*; mientras que a nivel de invernadero se obtuvo el 80 % de eficacia.

Los nemátodos del género *Steinernema feltiae* en todas las variables evaluadas resultaron inferiores a las obtenidas con nemátodos del género *Heterorhabditis bacteriophora*. Mientras que la investigación realizada en el invernadero determino menor eficacia en el control de larvas de gallina ciega debido a que los nematodos deben desplazarse a mayor distancia para buscar a los insectos para infestarlos.

Se recomienda reproducir nematodos de género *Heterorhabditis bacteriophora* por su mayor capacidad de reproducción y eficacia en el control natural de insectos y así contribuir con la preservación del ambiente.

ABSTRACT

The research was conducted in the laboratory and greenhouse State Technical University Quevedo located at Km 1 Vía Quevedo to Santo Domingo. The overall objective was to study the mass reproduction of entomopathogenic nematodes *Steinernema* and *Heterorhabditis feltiae bacteriophora* and assess its effectiveness as microbial control larval grubs "*Phyllophaga spp*" under controlled conditions.

The specific objectives were to identify the effectiveness of each of these entomopathogenic nematodes as an alternative to combat grubs. To analyze the statistical test results "Chi Square" was used effected seven frequencies at intervals of 15 days to play and efficacy in laboratory and four frequencies for research in nursery.

According to the results obtained in this study led to the use of entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis bacteriophora* represents a good alternative for the control of larval grubs, *Phyllophaga spp.*, In laboratory and greenhouse conditions. In the laboratory 96% efficiency was obtained with *Heterorhabditisbacteriophora*; as emissions level 80% efficiency was obtained.

The nematodes of the genus *Steinernema feltiae* in all evaluated variables were lower than those obtained with nematodes of the genus *Heterorhabditis bacteriophora*. While research in the greenhouse determined less effective in controlling larvae of white grubs because nematodes must travel a greater distance to search for infest insects.

We recommend reproducing gender nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* by its greater reproducibility and efficiency in the natural control of insects and thereby contribute to preserving the environment.

CAPITULO I. MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Introducción

Esta investigación es resultado de la evaluación de la reproducción masiva de nemátodos entomopatógenos (*Steinernemaspp* y *Heterorhabditisspp*) en larvas de gallina ciega (*Phyllophagaspp*) bajo condiciones controladas, debido a que la gallina ciega morozco por sus hábitos rizófagos, se encuentra entre los insectos-plagas del suelo más destructoras y problemáticas en casi todas las plantas cultivadas del País. Entre los cultivos principales que afecta la gallina ciega tenemos al maíz, piña, soya, sorgo, material de vivero, papa, frijol, arroz, caña de azúcar, fresa. etc. Misma que han sido afectados severamente por la gallina ciega en los últimos años ocasionando en algunas plantas crecimiento poco uniforme y con síntomas de secamiento ya que sus raíces son consumidas por este insecto.

En esta tesis, la hipótesis planteada está relacionada con la utilización de los nemátodos entomopatógenos como una buena alternativa para el control poblacional de larva de gallina ciega que afecta a diversos cultivos. La misma que ratifica parcialmente porque uno de los nematodos del género *Heterorhabditis* fue el que presento mayor reproducción y fue más eficaz en el control de larvas de gallina ciega.

El presente estudio tiene gran importancia por cuanto, está enfocada en la utilización de enemigos naturales que controlan de forma efectiva una gran variedad de plagas de insectos que causan daños económicos. Poseen además características importantes para ser utilizados por los agricultores como agentes de control biológico siendo seguros para el medio ambiente fauna y flora produciéndose en grandes cantidades y son fáciles de aplicar.

El objetivo general fue estudiar la reproducción masiva de nematodos entomopatógenos *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* en larvas de gallina ciega *Phyllophaga spp*, y los objetivos específicos fueron determinar la eficacia de cada uno de estos nemátodos entomopatógenos como alternativa para el combate de la gallina ciega bajo condiciones de laboratorio e identificar la eficacia de los nematodos entomopatógenos bajo

condiciones de viveros. Para el análisis de los resultados en la reproducción de nematodos se utilizó el análisis estadístico “Chi Cuadrado” Se efectuaron siete frecuencias con intervalos de 15 días y en vivero cuatro frecuencias y para determinar la eficacia se la realizó mediante la fórmula de Abbott.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, el uso de nemátodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis bacteriophora* representa una buena alternativa para el control de larvas de gallina ciega, *Phyllophaga spp* en condiciones de laboratorio e invernadero. En el laboratorio se obtuvo el 96 % de eficacia con *Heterorhabditis bacteriophora*; mientras que a nivel de invernadero se obtuvo el 80 % de eficacia.

La investigación realizada en condiciones de laboratorio y en vivero, fue muy motivante, porque los procesos de desarrollo tanto del parásito como del huésped, resultaron interesantes y generaron nuevos conocimientos, que han fortalecido mi formación profesional al experimentar una alternativa de manejo biológico, en el control de esta plaga.

Problematización

La gallina ciega por sus hábitos rizófagos, se encuentra entre los insectos-plagas del suelo más destructoras y problemáticas en casi todas las plantas cultivadas del País. Entre los cultivos principales que afectan tenemos al maíz, piña, soya, sorgo, material de vivero, papa, frijol, arroz, caña de azúcar, fresa. etc. Misma que han sido afectados severamente por la gallina ciega en los últimos años ocasionando en algunas plantas crecimiento poco uniforme y con síntomas de secamiento ya que sus raíces son consumidas por este insecto. El cambio climático, la degradación del componente orgánico y la consecuente reducción en la capacidad del suelo para retener agua son factores que favorecen a este *insecto-plaga* que causa más daño en suelos con escasa materia orgánica y cuando el suelo empieza a secarse afectando a la calidad de producción agrícola.

Justificación

Hoy en día las personas están expuestas con mayor frecuencia a productos químicos para el combate de plagas con degradación de la calidad de las aguas, contaminación de los suelos gran parte provienen de los pesticidas afectando a la salud del hombre. Los enemigos naturales ofrecen un mecanismo más importante de regulación poblacional de la plaga, por lo que la conservación e incremento de especies entomopatógenos pueden ser eficaz ya que ofrece un combate preventivo siendo de manejo sencillo y seguro para el ser humano.

1.2. Objetivos

1.2.1. General

Estudiar la reproducción masiva de nemátodos entomopatógenos como control microbial en larvas de gallina ciega (*Phyllophagaspp*) bajo condiciones contraladas.

1.2.2. Específicos

- ❖ Determinar la eficacia de los nemátodos entomopatógenos como alternativa de combate de gallina ciega bajo condiciones de laboratorio.
- ❖ Identificar la eficacia de cada uno de los géneros de los nemátodos entomopatógenos como alternativa de combate de gallina ciega bajo condiciones de vivero

1.3. Hipótesis

La utilización de los nemátodos entomopatógenos es una buena alternativa para el control poblacional de larva de gallina ciega que afecta a diversos cultivos.

CAPITULO II. MARCO TEORICO

2.1. Fundamentación Teórica

2.2. Generalidades de *Phyllophagaspp.*

La gallina ciega es de orden coleóptero que pertenece a la familia Scarabaeidae, se considera una de las plagasrizófagamas más importante en Centroamérica. La familia Scarabaeidae es una de las más diversas dentro del orden Coleóptero, no solamente en morfología, sino en su ecología y comportamiento. Su ataque es generalmente esporádico, localizado y difícil de predecir. La identificación de las especies en el caso de Centro América es difícil y confusa especialmente en lo que se refiere a larvas (Méndez, 1997).

2.2.1. Taxonomía

Reino	: Animalia
Phylum	: Artrópodo
Clase	: Insecta
Orden	: Coleoptera
Suborden	: Polyphaga
Familia	: Scarabaeidae
Subfamilia	: Melolonthinae
Género	: Phyllophaga
Especies	: spp (Morón, 1984).

2.2.2. Huevos

Son de color blanco brillante, el adulto los deposita en suelo húmedo a una profundidad, inicialmente entre dos a cinco pulgadas, son blancos, elongados y se vuelen esféricos después de 24 horas, alcanzando 2.5 mm de diámetro, se encuentran en grupos de 10-20 huevos, después de los 7 días toman un forma esférica y aumentan su tamaño a 3 mm de diámetro; posteriormente va aumentando el diámetro hasta reventar permitiendo la salida de larvas del primer instar. El proceso tarda de dos a seis semanas para eclosionar, aunque puede tardar más días dependiendo de las condiciones de la temperatura y humedad de suelo (King y Saunder, 1984).

2.2.3. Larva

Las larvas de *Phyllophaga spp* tienen su cuerpo en forma de C, encorvados, color blanco cremoso, carnosos y arrugado, la cabeza es café amarillenta o rojo-café prominente y tiene mandíbulas fuertes; las patas traseras son peludas y bien desarrolladas. Las larvas de gallina ciega pasan por 3 estadios con duración variable y se desarrollan en el suelo (King y Saunder, 1984). El primer estadio larval aparece con la cabeza bien definida hasta los 30 días, se alimentan generalmente de raíces finas, tallos subterráneos y materia orgánica, aumentan su peso inicial hasta 15 veces en 2 meses (entre junio y julio), cuando alcanzan el segundo estadio larval, luego continua aumentando su biomasa hasta 7 veces en los meses de julio a agosto, hasta alcanzar su tercer estadio que ocurre en los cultivos durante 3 o 5 meses (Arguello, 1997). Las larvas se profundizan en el suelo habiéndose encontrado hasta 1m de profundidad (King y Saunder, 1984).

La larva una vez emergida, inmediatamente empieza a causar daño a las raíces de las plantas (aunque es importante mencionar que algunas especies son saprofitas en sus primeros estadios). El cuerpo es robusto y curvado, con gran cantidad de pliegues transversales, excepto en la región trasera que es casi lisa y brillante, a través de cuya piel se observa una

coloración oscura debido al suelo que ingiere junto con las raíces(Sarh, 1988).

La larva de primer estadio presenta un color blanco cremoso y mide alrededor de 5mm de largo, la larva del segundo estadio mide aproximadamente 26 mm y la de tercer estadio oscila entre los 30 a 40 mm. Las larvas del primer estadio se alimentan de raíces y materia orgánica durante un periodo que varía entre 20 y 60 días hasta aumentar de 10 a 15 veces su peso inicial antes de la ecdisis para el segundo estadio, durante el cual incrementan de cinco a siete veces su biomasa en el transcurso de 30 a 60 días. De esta manera la ecdisis o muda para el tercer estadio larval ocurre entre agosto y octubre dando origen a la fase más longeva y voraz de esta especie, que en las zonas tropicales o subtropicales se alimenta durante cuatro a ocho meses y en las zonas templadas y frías durante siete a 14 meses hasta aumentar de seis a ocho veces su peso antes de iniciar la etapa de prepupa. En estas zonas las larvas de tercer estadio cesan de alimentarse y se inactivan durante parte del otoño y el invierno profundizando hasta 30-40 cm en el suelo para protegerse de las bajas temperaturas y la sequedad (Morón, 1984). En la primavera suben a la superficie del suelo para alimentarse y completar su desarrollo(Metcalf y Flind, 1982). Larva, pupas y adulto de *Phyllophagaspp.* El estado larvario dura alrededor de nueve meses o más según la especie (Sarh, 1988).

Durante la primavera las larvas de tercer estadio delimitan una celda o cámara ovoide, compactando con sus excrementos las partículas del suelo a una profundidad de 15 a 20 cm, en la cual expulsan todo el contenido del aparato digestivo y se inmovilizan como prepupa durante una o dos semanas antes de la ecdisis que da origen a la pupa exarada.

2.2.4. Pupa

Los primeros síntomas de empupamiento que muestran son un cambio en la coloración corporal o amarillamiento uniforme, reduce su movilidad y forma una celda con su propia saliva o excremento; así permanece por 2-3

meses entre los meses de noviembre y diciembre. Al caer nuevamente las primeras lluvias emergen los adultos, en el campo el empupamiento ocurre en febrero o marzo aunque puede ocurrir temprano en condiciones de laboratorio (Méndez, 1997)

El color de la pupa es blanco cremoso amarillo o marrón. La etapa de pupa dura de tres a seis semanas al cabo de la cual emerge el adulto (Morón, 1986).

2.2.5. Adultos

Las “gallinas ciegas” presentan variantes en su ciclo de vida, encontrándose de ciclo anual, bianual o trianual, dependiendo de la especie. En el estado de Oaxaca predominan diferentes especies de son de hábitos nocturnos, por lo que en las noches se les observa apareándose y alimentándose del follaje o volando alrededor de lámparas luminosas (Sarh, 1988).

Los adultos tienen muchos hospederos como guayaba (*Psidium guayaba*), yuca (*Manihotesculenta*), la naranja dulce (*Citrus sinensis L.*) y madero negro (*Gliricidiasepium*). Sin embargo su hospedero preferido varía para la alimentación y copulación dependiendo la región. En contraste el árbol preferido por *Phyllophagamenestriesi*, es el guayabo (*Psiduimguajaba*) las poblaciones de larvas mayormente se encuentran en las orillas de los árboles de guayaba. Los adultos tienen preferencias de ovipositar en los huertos descuidados y llenos de pastos y hiervas. Tanto los machos como las hembras son atraídos por la luz artificial (Méndez, 1997)

Al amanecer regresan al suelo, donde las hembras ponen sus huevecillos, que son esféricos, de color blanco aperlado con un tamaño de 1.5 a 3 mm de diámetro. Éstos son depositados en los suelos húmedos (de siete a 28 huevecillos por insecto), donde permanecen enterrados hasta su eclosión; la incubación dura 15 días, aproximadamente (Metcalf y Flind, 1982).

El imago permanece dentro de la celda en tanto madura su aparato reproductor y se incrementan la humedad y la temperatura para realizar

sus primeras actividades en el exterior. La longevidad de los adultos varía entre ocho y 30 días aun cuando las hembras de algunas especies pueden sobrevivir más de dos meses. Los adultos son conocidos comúnmente como escarabajos, presentan un color brillante rojizo - marrón a negro, miden de 19 a 26mm de largo, con cuerpo ovalado y robusto (Morón, 1986).

2.2.6. Comportamiento en estado adulto

Las especies de *Phyllophaga* presentes en el territorio demuestran una gran capacidad de adaptación que les ha permitido colonizar casi todos los agro ecosistema ubicados entre el nivel del mar y los 3,500 msnm. De acuerdo con cada especie, el comportamiento que exhiben los imagos después de emerger de la cámara pupal es variable; en la mayoría de los casos aparecen primero los machos, los cuales inician sus actividades de vuelo al crepúsculo o primeras horas nocturnas, dirigiéndose en busca de las plantas con que se alimentan, y una vez localizadas se posan para consumir su follaje, posteriormente retornan al área de partida para refugiarse en el suelo durante todo el día.

En la época que las hembras empiezan a emerger, los machos vuelan buscando un punto elevado, como una rama o una simple hierba que sobresalga en la pradera para posarse y percibir las feromonas sexuales y rastrear a su compañera potencial.

En las especies con hábitos crepusculares o nocturnos la búsqueda y el acoplamiento se lleva a cabo en el suelo o follaje de las plantas de alimentación; mientras que en las especies diurnas o vespertinas los machos sobrevuelan a baja altura (40-90cm) del terreno, con las lamelas antenales totalmente extendidas para localizar a las hembras incluso antes de que emerjan del suelo (Morón, 1986).

2.2.7. Daños Causados

La gallina ciega se encuentra entre los insectos-plagas del suelo más destructores y problemáticos. Los adultos atacan el follaje de numerosas plantas frutales, forrajeras y ornato, alimentándose también de flores, néctar y polen. Las larvas tienen mayor importancia económica, debido a que se alimentan de numerosas especies de plantas, causando su deterioro en grandes áreas. Entre los muchos ejemplos de cultivos afectados están los pastos, rosales, plántulas de vivero, fresa, maíz, camote, durazno, manzano y espinaca.

Afectan también a otros cultivos de importancia económica como frijol, sorgo, trigo, jitomate y chile, esta reportada como plaga del café y caña de azúcar. Cuando los agricultores realizan la siembra de maíz en campos infestados con gallina ciega, generalmente brotan las plantas pero dejan de crecer después de alcanzar una altura de 20 a 60 cm. El maíz muestra crecimiento poco uniforme con áreas de tamaño variable, plantas muertas o secándose, debido a que las larvas se alimentan de las raíces. Las plantas de maíz presentan amarillamiento de las hojas, retraso en el crecimiento y pérdida de vigor; además, las heridas producidas en la raíz son vías de entrada de diversos microorganismos causantes de enfermedades (Saunders, 1998).

2.2.8. Generalidades sobre el control biológico de gallina ciega

Entre los enemigos naturales de insectos plaga, tenemos a los nematodos entomopatógenos que son agentes importantes que regulan sus poblaciones y, por lo tanto, pueden constituirse como una buena alternativa de control.

Los nematodos entomopatógenos controlan de forma efectiva una gran variedad de plagas de insectos que causan daños económicos poseen además unas características importantes para ser utilizados como agentes de control biológico: son seguros para el medio ambiente, fauna y flora pueden producirse en grandes cantidades en medios artificiales y son

fáciles de aplicar mediante simples equipos de pulverización, de irrigación o inyección. Hay una gran evidencia de la eficacia de los nematodos entomopatógenos en el control de insectos (Georgis, 1990).

El control microbiano es la principal meta de la patología de insectos y representa un área del control biológico de insectos. Este método de control consiste en usar racionalmente los patógenos para mantener a la plaga en un nivel que no cause daño económico. Los insectos pueden ser atacados por virus, bacterias, hongos, protozoarios y nematodos. En este último caso, se les denomina nemátodos entomopatógenos, los cuales están siendo usados para controlar plagas en cultivos de alto valor comercial y podrán ser usados muy pronto a gran escala en programas de manejo integrado, o en pequeñas plantaciones comerciales, granjas y sistemas de agricultura sustentable.

Entre las alternativas de manejo de plagas más amigables con el ambiente se cuenta hoy en día con agentes entomopatógenos, es decir, microorganismos que causan enfermedades a los insectos-plagas, como son bacterias, hongos, virus y nematodos; siendo los nemátodos los organismos que en la última década han cobrado gran importancia por su facilidad para ser aplicados al suelo, alta virulencia y patogenicidad y relativa facilidad para ser multiplicados en forma masiva y comercializados (Larriva, 2002).

Los nemátodos entomopatógenos son considerados enemigos naturales y se pueden integrar a otras medidas de control, cuando esas plagas han sido atacadas con programas o manejos en forma inadecuada. La manera de cómo estos nematodos ejercen el control es más parecido a la acción de un insecticida químico que al de uno biológico (Glauger, 1999).

En la naturaleza, los nemátodos entomopatógenos se encuentran en poblaciones bajas, sin embargo, su recolección y aislamiento ha sido posible luego de identificar una forma de captura relativamente fácil. El conocimiento de métodos de aislamiento, multiplicación y almacenamiento

permitirá desarrollar mayor investigación y apoyar al control biológico de plagas en el Ecuador.

2.3. Taxonomía de los nematodos entomopatógenos

Los nematodos entomopatógenos se encuentran ubicados en el Phylum Nematoda, se subdivide en las clases Secernentia y Adenophoria, (Poinar, 1975). Los nematodos entomopatógenos conocidos que tienen posibilidades de control biológico se encuentran en cuatro órdenes, por importancia, Rhabditida, Mermitida, Tylenchida y Aphelenchida (Smart y Nguyen, 1994). Dentro del orden Rhabditida se encuentra la mayoría de nematodos de vida libre incluyendo a las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, parásitos facultativos de insectos (Tanada, et al, 1993). La familia Steinernematidae comprende dos géneros; Steinernema y Neo steinernema. La familia Heterorhabditidae comprende el género Heterorhabditis (Smart y Nguyen, 1994).

2.3.1. Rango de Hospederos

Los nematodos entomopatógenos presentan un gran potencial para el combate de insectos plaga, éstos invaden y matan un gran número de especies de insectos-plaga, especialmente de los órdenes Lepidóptera, Coleóptera y Díptera, tanto en laboratorio y campo. Sin embargo, se observa una relación estrecha entre el nematodo e insecto, lo que sugiere una susceptibilidad particular del espécimen plaga, que se refleja en la variabilidad de la virulencia de la cepa o aislamiento del nematodo (Simoes, 1996).

En el control de gallina ciega, el uso de microorganismos que han evolucionado con la plaga se perfila como una práctica promisorio, especialmente aquellos reconocidos por su capacidad para causar enfermedades crónicas y muerte, tanto a los estadios larvales como a los adultos de *Phyllophaga spp.* Muchos de estos microorganismos han mostrado ser capaces de causar epizootias que mantienen naturalmente

controladas las poblaciones de larvas de escarabeidos en el campo (Hidalgo, 2001).

Ciertas especies de nemátodos han sido identificadas para el control de algunos insectos que atacan cítricos, pastos, ornamentales, entre otros. Resultados favorables se han obtenido conociendo la biología del insecto, mejorando la dosis, el momento oportuno de aplicación; un aspecto importante es que las estrategias de aplicación permitan el contacto del nematodo con el insecto, específicamente para aquellos que no se desplazan (Alatorre y Guzmán, 1999). De acuerdo con experimentos realizados por (Melo, et al, 2005). Se considera al segundo estadio de la larva de *Phyllophaga* spp. Como el momento idóneo para ejercer el control con nemátodos entomopatógenos.

(Alatorre y Guzmán , (1999) Mencionan que los nemátodos entomopatógenos tienen ciertas ventajas sobre los insecticidas sintéticos. Por ejemplo, estos organismos son ambientalmente seguros y aceptables y buscan activamente a su huésped; debido a esta característica, han demostrado tener una alta capacidad en el control de insectos barrenadores y algunas plagas del suelo. Si se desean explotar a los nematodos entomopatógenos en el suelo, necesitamos entender sus interacciones en este ambiente. Este conocimiento constituirá la base para estudios futuros sobre la dinámica poblacional y la epizootiología de la enfermedad causada por los nemátodos; esta información permitirá optimizar el potencial de estos organismos en el control de insectos del suelo (Alatorre y Guzmán, 1999).

2.3.2. Uso de Nemátodos Entomopatógenos

En la ciudad de México son pocas las experiencias documentadas sobre el uso de nematodos como agentes de control microbial de insectos plaga. Los trabajos realizados se han enfocado a dos líneas de investigación: una que involucra la búsqueda de nuevos aislamientos, y otra el control de plagas de suelo, para lo cual se realizan pruebas de campo para determinar la efectividad de especies de *Steinernema* y *Heterorhabditis*,

algunas de las cuales ya se producen de manera comercial (Alatorre Rosas, 1990).

En el manejo de las especies plaga, es importante conocer los alcances y limitaciones de los patógenos y su manera de interacción con la población de plaga hospedera. Su conocimiento proporciona grandes oportunidades para su uso como reemplazo de los plaguicidas sintéticos (Jackson, 2003).

Los nemátodos de las familias *Heterorhabditidae* y *Steinernematidae* portan bacterias que son liberadas dentro del hospedante. La multiplicación de estas bacterias causa la muerte del insecto y a la vez le permite al nematodo completar su ciclo de vida, generando infectivos juveniles que saldrán en busca de nuevas presas. Una ventaja de los nematodos es su movilidad, que en capacidad para buscar las larvas de *Phyllophaga* en el suelo (Aguirre y Salazar, 1999).

2.4. Género *Steinernema*

2.4.1. Hembras

Tamaño variable. Poseen una cutícula lisa o anillada con ausencia de campos laterales. Con poro excretor evidente. La región anterior es redondeada y posee 6 labios parcial o totalmente fusionados, con una papila labial en cada labio y a veces con otras estructuras papilares presentes. Poseen 4 papilas cefálicas. Afidios presentes, de pequeño tamaño. Estoma colapsada formando un anillo que parece dos grandes puntos esclerotizados en vista lateral. Otras partes de la estoma forman un canal asimétrico con un estrechamiento en la parte anterior. Esófago Rhabditoide con el metacorpus ligeramente hinchado, istmo estrecho rodeado por el anillo nervioso, y un bulbo basal alargado con una reducida válvula cardíaca. Válvula esofágica-intestinal normalmente pronunciada. Sistema reproductor didélfico, anfidélfico, retroflexo con la vulva localizada en la mitad del cuerpo, a veces sobre una protuberancia, con o sin epitigma. Las hembras son ovovivíparas u ovíparas con juveniles desarrollados en estado infectivo antes de emerger del cuerpo de la hembra.

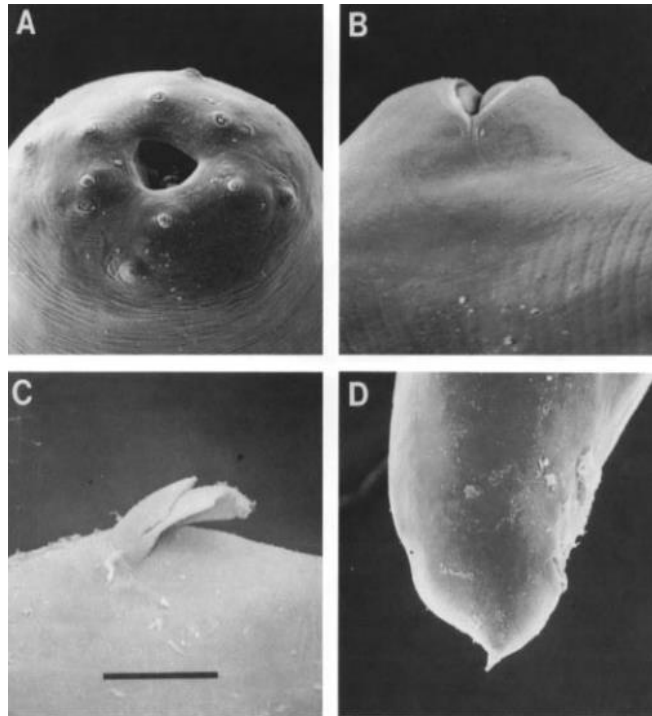


Figura 1. *Steinernema*: La hembra de primera generación A) Vista de la cara de *Steinernema glaseri* mostrando papila cefálica, papila labial, amphidias y estoma B) Vulva en una protuberancia de *Steinernema glaseri* C) Vulva de *S. scapterisci* con epigtygma de doble aleta D) Cola (Nguyen y Smart, 1992).

2.4.2. Machos

Son de tamaño más pequeño que las hembras. Extremo anterior normalmente con 6 papilas labiales, 4 papilas cefálicas y alargadas y generalmente con disco perioral. Esófago similar al de las hembras. Testículo único, retroflexo y espículas pares y separadas. Gubernáculo largo, a veces tanto como la espícula. Bursa ausente. Punta de la cola redondeada, con o sin mucrón. Una papila simple y 10 a 14 pares de papilas genitales presentes junto con 7 a 10 pares de papilas precloacales.

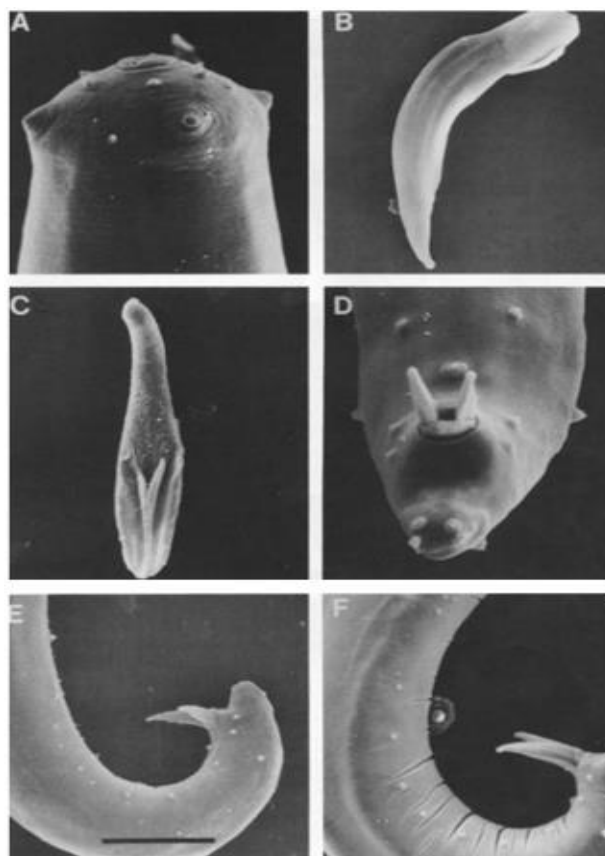


Figura 2. Steinernema: Macho de primera generación. A) región anterior de *S. Glaseri* presenta una gran papila cefálica y más pequeña papila labial. B) Espícula de *S. anomali*, vista lateral. C) Gubernaculo de *S. glaseri*, vista ventral. D) Región caudal de *S. anomali* mostrando la punta de la espícula y gubernaculo y la papila genital posterior. E,F) Región posterior de *S.anomali* mostrando 7 (E) a 10 (F) de los pares de papilas genitales preanales, la única papila ventral preanal, y espículas extendidas (Nguyen y Smart, 1995).

2.4.3. Juveniles infectivos

En el tercer estado juvenil del nemátado tiene estoma colapsado y Cuerpo alargado, a menudo manteniendo la cutícula del segundo estado juvenil. Campos laterales presentes, con 4 a 9 surcos y de 3 a 8 protuberancias lisas. Boca y ano cerrados, y esófago e intestino reducidos. Poro excretor visible, anterior al anillo nervioso. Los fasmidios situados en la zona media del extremo caudal, pudiendo ser prominentes, poco o no observables. Tiene cola conoide o filiforme (Smart y Nguyen, 1994).

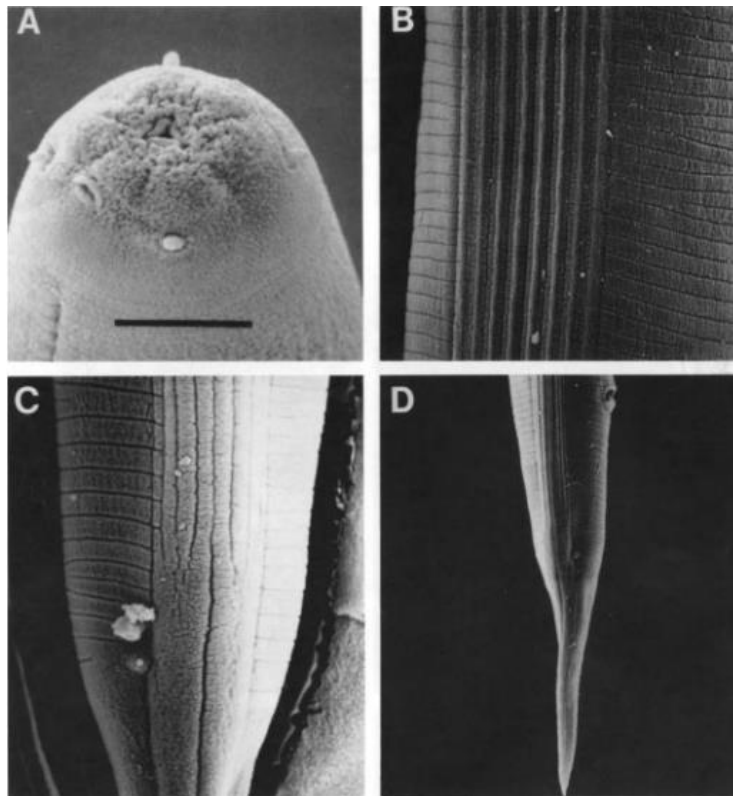


Figura 3. Infeccioso Juvenil de *Steinernema* A) región anterior con cuatro papilas cefálicas, una de dos anfíbios, estoma, y el inicio del campo lateral. B) campo lateral con 8 canales. C) Campo lateral a nivel de la pasmidia mostrando ocho canales llegando a ser dos grandes, bandas llanas. D) cola mostrando el ano y pasmidia cerca de la mitad de la cola (Nguyen y Smart , 1995).

2.5. Género *Heterorhabditis*

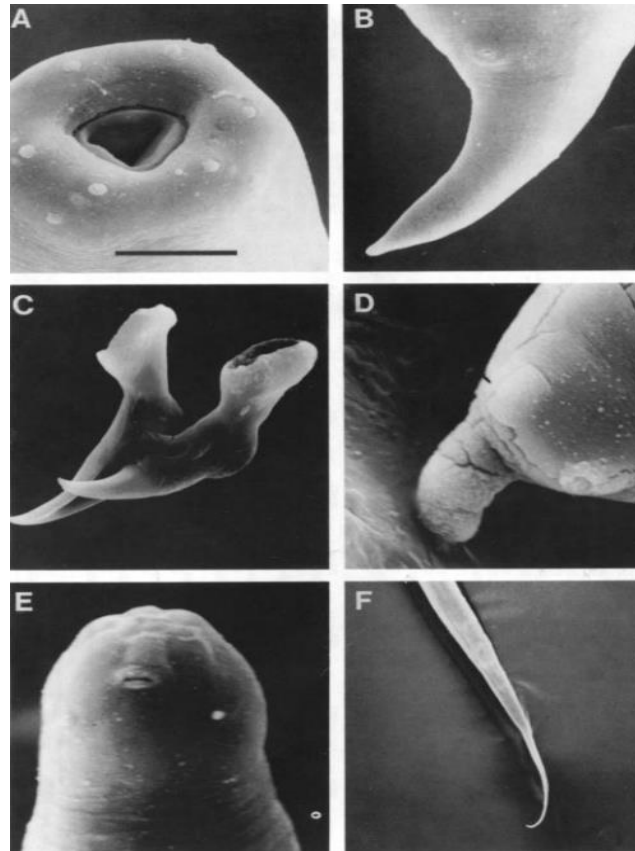


Figura 4. *Heterorhabditis* spp. A) Vista de la cara de una hembra hermafrodita. B) Región vulval de una hembra hermafrodita, mostrando anillos elípticos alrededor de la vulva. D) La región posterior del macho, mostrando la bursa y papila genital E) Vista lateral de la espícula. F) cola (Poinar, 1976).

2.5.1. Hembras hermafroditas

Las hembras tienen parte anterior del cuerpo truncada o ligeramente redondeada. Presentan 6 labios cónicos bien desarrollados y separados, cada uno con una papila terminal. A veces cada labio posee una o dos pequeñas estructuras en la base. Anfidios con abertura pequeña. Región posterior de la estoma colapsada y cubierta por el esófago. Esófago sin metacorpus, con istmo delgado, en cuya parte media se encuentra el anillo nervioso. Poro excretor generalmente posterior a la base del esófago.

Vulva en la parte media, con forma de hendidura, rodeada de anillos elípticos. Ovotestículos anfidélficos, retroflexos. Son ovíparas, volviéndose ovovivíparas al final de su vida. Cola acabada en punta, más larga que la anchura a nivel anal, presentando generalmente una protuberancia postanal.

2.5.2. Hembras anfimícticas

Las hembras anfimícticas tienen morfología similar, aunque generalmente de menor tamaño, a las hembras hermafroditas. Papilas labiales prominentes. Sistema reproductor anfidélfico, con ovarios opuestos retroflexos, con la vulva no funcional para la deposición de huevos pero sí para el apareamiento. Los huevos son incubados en el interior de la hembra y las formas juveniles emergen por endotoquia matricida.

2.5.3. Machos

Se producen únicamente durante la generación anfimíctica. Presentan un único testículo retroflexo. Tienen espículas pares, separadas y ligeramente curvadas ventralmente y con la cabeza corta. Un gubernáculo largo y delgado, generalmente representa la mitad de la longitud de la espícula. Bursa abierta, con nueve pares de costillas.

2.5.4. Juveniles infectivos

El tercer estadio infectivo juvenil se encuentra dentro de la cutícula del segundo estadio. La cutícula del segundo estadio es estriada, mientras que la del tercer estadio presenta un campo lateral muy aparente formado por dos bandas longitudinales. Región anterior con un prominente diente dorsal. Boca y ano cerrados. Esófago e intestino reducidos. Poro excretor situado en posición posterior al anillo nervioso. Las bacterias simbióticas se encuentran en el interior del intestino. Cola acabada en punta (Poinar, 1975).

2.5.5. Morfología

Los nemátodos entomopatógenos son definidos generalmente como gusanos invertebrados, debido a que poseen un cuerpo no segmentado, con un tracto digestivo completo. Por un “tracto digestivo completo” se entiende una boca, un canal alimenticio y ano. No tienen respiración y sistema circulatorio especializado, sin embargo, poseen sistemas nervioso y excretor bien desarrollados y juego de músculos longitudinales (Glauger, 1999).

2.5.6. Comportamiento

Algunas especies de nemátodos entomopatógenos prefieren buscar sus hospederos cerca de la superficie del suelo, por ejemplo, *S. carpocapsae*, pero otras se han adaptado para buscar en perfiles más profundos del suelo, como *H. bacteriophora*. Una vez que seleccionan su habitat, los nemátodos pueden adoptar una de las dos estrategias de búsqueda: a) emboscar a su presa; b) movilizarse hacia su presa (Kaya, 1993).

En el primer caso se trata de nemátodos poco móviles que ahorran energía mientras esperan que su presa venga hacia ellos, sin embargo, presentan el inconveniente de no seguir a su hospedero cuando éste se encuentra en un estado de desarrollo inmóvil, (pupa), de ahí que la única posibilidad para que se ponga en contacto con el insecto es cuando éste pasa cerca de él o se alimenta de algún sustrato en el cual se encuentra presente. En cambio, los nematodos que buscan a su presa son altamente móviles y responden fuertemente a los estímulos químicos emitidos por el hospedero, funcionando éstos como atrayentes; estas especies estarían mejor adaptadas para parasitar hospederos subterráneos sedentarios (Kaya, 1993).

2.5.7. Ciclo Biológico

Los nematodos *Steinernemátidos* y *Heterorhabdítidos* tienen un ciclo de vida similar. El ciclo biológico de los nemátodos y la bacteria simbiote se inicia cuando los nemátodos juveniles infectivos (que no se alimentan) buscan fuera del cuerpo de su hospedero (insecto) iniciar una nueva infección, para lo cual lo primero que hacen es localizar el huésped. Cuando ha sido localizado, el nemátodo penetra en la cavidad del cuerpo del insecto; lo que hace usualmente por las aberturas naturales del cuerpo como la boca, el ano, y espiráculos, así como por las partes delgadas de su cutícula.

Los estados juveniles infectivos de los *Steinernemátidos* pueden llegar a ser machos o hembras, a diferencia de los *Heterorhabdítidos* que se desarrollan en el interior como hermafroditas; no obstante, la sub siguiente generación dentro de un hospedero produce machos y hembras; el ciclo biológico se completa en pocos días y cientos de miles de nuevos juveniles infectivos emergen del cadáver del hospedero (Glauger, 1999).

2.5.8. Simbiosis nematodo-bacteria

Los nemátodos de las géneros *steinenerma* y *heterorhabditis* simbióticamente están asociados con bacterias del género *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*. Los juveniles infectivos o "dauer" de estos nematodos llevan las células de sus bacterias simbiotes en la parte anterior del intestino. Independientemente de la presencia de la bacteria simbiótica, los nematodos del género *Steinernema* desarrollan una vesícula intestinal durante la formación del estado infectivo, la cual almacena las células bacteriales. Los del género *Heterorhabditis* no poseen aquella estructura y las células de *Photorhabdus spp.* Están distribuidas en el lumen del intestino, a menudo rodeadas de una especie de membrana de origen desconocido (Ehlers, 1996). La simbiosis mencionada es indispensable para que el insecto se enferme y muera.

Una vez en el nemátodo está en el interior, se ubica en el hemocele (cavidad interior del cuerpo del insecto); la bacteria es liberada desde el intestino del nemátodo, misma que se multiplica rápidamente causando la muerte del hospedero en poco tiempo aproximadamente en (24 a 48 horas) debido a una septicemia generalizada; el nemátodo se alimenta después de los desechos del cuerpo del insecto, ingiriendo también las células bacterianas; alcanzando allí su estado maduro. (Ehlers, 1996)

2.5.9. Cría masiva

Los nematodos entomopatógenos pueden ser multiplicados *in vivo* en un insecto hospedero o *in vitro*, ya sea en un medio semisólido tridimensional o en un fermentador líquido. Todas las especies de Steinernematidae y Heterorhabditidae pueden ser multiplicadas en insectos (Sirjusingh, et al, 1990).

Para realizar la producción de nemátodos entomopatógenos en el laboratorio es necesaria la cría de un hospedero de los mismos, que nos permita obtener grandes cantidades del tercer estadio de los juveniles, el cual es el estadio infeccioso. Varios hospederos alternativos se conocen para este fin, entre ellos *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) y *Amyelios transitella* Walker han sido usados para la cría de nematodos de una manera económica. Sin embargo, la polilla de la cera, *G. mellonella*, es la más comúnmente usada, debido a que se consigue con facilidad en los apiarios, es muy susceptible a la infección por el nemátodo y muestra una diagnosis muy fácil de los síntomas de infección, así como la facilidad de criarla en el laboratorio sin equipos costosos (Sirjusingh, et al, 1990).

La polilla de la cera, *Galleria mellonella* es de orden Lepidóptera, habita en las colmenas. Es la responsable de grandes pérdidas en los apiarios en varios países del mundo, causando grandes daños en climas tropicales. En condiciones naturales las larvas se alimentan en los panales, donde se desarrollan hasta el estado adulto. Mediante condiciones de laboratorio las larvas son fácilmente criadas en cera y polen; su desarrollo, puede mostrar grandes variaciones. La producción masiva de *G. mellonella* no necesita

requerimientos especiales y se usa generalmente con fines limitados en la investigación y en bioensayos de laboratorio.

Una larva de *Galleria. mellonella* puede producir hasta 200,000 juveniles infectivos de nemátodos. La producción *in vitro* necesita tomar en consideración la asociación con la bacteria simbiote respectiva. Todos los *Heterorhabditis* y los *Steinernema* pueden ser multiplicados en un medio tridimensional, el cual consiste de una esponja impregnada en un medio nutritivo. Para el procedimiento se requiere de varios equipos como: cámara de flujo laminar, autoclave, agitador, frascos Erlenmeyer, etc. En este caso, debe ajustarse el método a las condiciones particulares de cada especie. Se producen grandes cantidades de nemátodos, cerca de 25 millones de nemátodos infectivos por Erlenmeyer, los cuales pueden ser usados en pruebas de campo o en pequeñas parcelas experimentales.

La producción por fermentación es capaz de producir varias cantidades de nemátodos, los cuales podrán ser comercializados para ser aplicados en cualquier explotación del campo agrícola. Los estudios más avanzados al respecto se encuentran en los países de Francia y Portugal. Sin embargo, esta técnica requiere equipos muy especializados y costosos (Bonifas y Neves, 1990).

En la agricultura mexicana, el uso de los nemátodos para el control de insectos se ha visto limitado, principalmente por la falta de disponibilidad en el mercado nacional de productos formulados a base de estos organismos entomopatógenos (Alatorre, 1999).

Existen varios métodos de producción masiva y formulación de estos organismos que han permitido la generación de productos comerciales para otras plagas. Pese a que hay muchos resultados promisorios contra *Phyllophaga* a nivel de laboratorio, su uso en el campo tiene limitaciones biológicas y técnicas que deben superarse (Hidalgo, 2001). (Kaya y Koppenhöfer, 1999). Hacen mención de varios aspectos que afectan el buen desempeño de los nemátodos, tales como: extensión del área que ocupa la plaga, hábitat en que se desarrolla y estado de desarrollo en que

es susceptible al ataque del nematodo; ante ello, es necesario desarrollar innovaciones que permitan aumentar el uso de nemátodos entomopatógenos para el control de plagas, dependiendo de las condiciones particulares que se presenten.

De acuerdo con (Burges, 1998). Algunos organismos que han sido muy efectivos en el laboratorio pueden todavía fallar en condiciones de campo, debido a una formulación deficiente. La formulación de bio insecticidas es tan importante como la ingeniería genética en el desarrollo de microorganismos para el control de plagas en la agricultura y la silvicultura.

El corto periodo de vida de anaquel de los nemátodos es el principal factor limitante para una explotación comercial más generalizada de estos agentes de bio control (Strauch, et al, 2004).

(Alatorre, 1999). Menciona que, hasta la fecha, los ensayos realizados con nemátodos entomopatógenos han sido del tipo ensayo -error, la dificultad de predecir el comportamiento de estos organismos en el campo ha sido uno de los mayores obstáculos. Es obvio que aún hay mucho por investigar, a medida que entendamos la ecología de estos entomopatógenos y la relación con sus huéspedes, se podrán usar de manera más efectiva y en forma selectiva contra diversas plagas de insectos. Los nematodos poseen un alto potencial que contribuye al desarrollo teórico y práctico del control microbiano.

(Hidalgo, 2001). Establece que, pese a los esfuerzos en la investigación en el control biológico de *Phyllophaga*, aún se está en una fase incipiente en lo referente al desarrollo de productos formulados de eficacia aceptable. Sin embargo, se ha demostrado el potencial de algunos microorganismos y la necesidad de usarlos en combinación con otras prácticas que permitan mejorar el control de la plaga.

El futuro de los nemátodos entomopatógenos para ser utilizados como insecticidas biológicos es excelente. Los nemátodos tienen algunas ventajas como agentes de control sobre los plaguicidas sintéticos, no contaminan y son seguros para el ambiente, a tal grado que están exentos

de registro por parte de la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) de los E. U. A (Cabanillas, 1999).

Es absurdo pensar que los nematodos entomopatógenos sean la panacea para solucionar el problema que causan los insectos-plagas en la agricultura y otros sectores, pero se pueden constituir como una estrategia y alternativa novedosa dentro de un verdadero programa de Manejo Integrado de Plagas (Larriva, 2002).

CAPITULO III. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Materiales y Métodos

3.1.1. Localización de la investigación

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, de la Ciudad de Quevedo, Provincia de Los Ríos, ubicada entre 75 y 80 msnm, longitud oeste 79°, 28', 30" y latitud sur 01 ° .

3.1.2. Características climatológicas y edafológicas de la zona

El clima que presenta la ciudad de Quevedo es tropical húmedo, caracterizado por temperatura media de 24.8 °C, precipitación media anual de 2.252.2 mm, humedad relativa 84 % y heliofanía anual de 894 horas/sol.

Para cumplir con los objetivos de esta investigación establecidos en el presente trabajo, se establecieron tres experimentos. Cada uno de ellos se detalla en los siguientes párrafos, Además se mencionan aspectos generales que tienen relación con el experimento.

3.1.3. Diseño Experimental

La evaluación estadística se realizó con el empleo de la prueba No Paramétrica Chi-Cuadrado, la que permitió conocer la reproducción de nematodos entomopatógenos y la eficacia en el manejo de la gallina ciega.

3.1.4. Materiales genéticos

3.1.4.1. Obtención de material biológico de gallina ciega

Debido a que la gallina ciega es una plaga compleja que incluye varios géneros y especies, y ante la necesidad de obtener resultados precisos, se procedió a trabajar con *Phyllophaga* spp Para ello se realizaron colectas en terrenos que habían sido cultivados con maíz y los abonos orgánicos en la finca la María de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, procediéndose a colocarlas en recipientes de manera individual. Las larvas de gallina ciega se alimentan de las semillas germinadas y de raíces de

cultivos se realizó una siembras de maíz, sorgo y arroz en un terreno determinado del cual se utilizaron las raíces de la plantas antes mencionadas que sirvieron como alimento durante el estudio, las mismas que fueron desinfectadas con agua estéril y formaldehído antes de realizar las pruebas de efectividad con los nematodos entomopatógenos.

3.1.4.2. Obtención de nematodos entomopatógenos

La obtención de nematodos entomopatógenos se lo obtuvo a través de (*Galleria mellonella*), que son reproducidos en la Facultad de ciencias para el desarrollo de la Universidad de Guayaquil ubicada en la ciudad de Vinces, a través de trampas White compuesta por tres partes. Un tubo semicircular de polietileno, un recipiente plástico y papel absorbente, sobre la cual se depositaron las larvas de *Galleria mellonella* con síntomas de infección por nematodos entomopatógenos. Posteriormente se incubaron hasta que todos los juveniles emergieran del cadáver.

3.1.4.3. Formulación de los nematodos

Los nematodos una vez extraídos del hospedero (*Galleriamellonella*), se realizó la aplicación en solución acuosa contenidos en una probeta y se tomaron 400 microlitros que contenían aproximadamente (1,000 nematodos).

3.1.5. Experimento

En el experimento se determinaron: nematodos reproducidos por especies con la misma dosis 400 microlitros (1,000 Nematodos) aproximadamente en cada muestras que contenía para determinar la reproducción y eficacia de nematodos para controlar larvas de gallina ciega.

3.1.6. Factores en estudio

Dos géneros de nematodos entomopatógenos evaluados fueron: *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*.

3.1.7. Multiplicación de los nematodos

Se usó como hospedero a la gallina ciega para la reproducción de dos tipos de nematodos en recipientes plásticos (cm de diámetro) cuyas tapas tenían un orificio cubierto con tela tul para que las larvas puedan respirar normalmente. Se aplicó en cada recipiente 15g de suelo franco esterilizado y una larva de gallina ciega y se alimentó diariamente con raíces de cultivos previamente desinfectadas.

Posteriormente se aplicó la cantidad aproximada de 1000 nematodos de cada género de nematodos por tarrina/sustrato. Con un total de siete frecuencias con intervalo de 15 días que eran lo necesario para que los nematodos se reprodujeran de manera suficiente para las necesidades del estudio. La extracción se realizó usando una cámara White para completar el trabajo.

3.1.8. Mortalidad de gallina

Se estableció con 10 muestras en recipientes desechables con un orificio en la tapa que fue cubierta con tela tul, en cada recipiente se agregó suelo franco esterilizado, Se aplicó en cada muestra cinco larvas de gallina ciega las cuales eran alimentadas de cultivos de maíz, sorgo, arroz para que continúen con su hábitat así evitar el canibalismo, las mismas que eran desinfectadas antes de ser aplicadas. Luego se procedió a realizar la aplicación en 5 tarrinas/sustrato con la cantidad aproximada de 1000 nematodos del género *Steinernema* y en las otras 5 tarrinas/sustrato restantes se aplicó el género *Heterorhabditis*. Diariamente se llevó una observación detallada para determinar la eficacia de los nematodos entomopatógenos para controlar larvas de gallina ciega.

3.1.9. El establecimiento en vivero

Se estableció con 10 fundas de viveros, en el cual se utilizó suelo franco para realizar la siembra del cultivo de sorgo, A los 21 días de germinación se infectó al hospedero con larvas de gallina ciega, colocando 5 larvas por cada funda de vivero. Aplicando en 5 fundas de las plantas infectadas por

gallina ciega, la cantidad aproximada de 1000 nematodos del genero *Steinernema* y en las otras 5 fundas restantes el nematodos del genero *Heterorhabditis*. Diariamente se realizaba las observaciones detalladas para determinar el índice de mortalidad de gallina ciega.

3.1.10. Método de Evaluación y datos registrados

Los datos observados se desarrollaron una vez que los nematodos fueron extraídos mediante trampas o cámaras White se toma 10 ml de suspensión con agua destilada se mantuvo en movimiento la suspensión de la cual se tomaron 10 ul (Microlitros) colocando en una caja petri con cuadrantes para facilitar el conteo. Mediante la ayuda del estereoscopio se cuenta los nemátodos entomopatógenos contenido en los 10 ul se los multiplica por la cantidad de agua (10 ml) y se divide para (0.01mm) (uL) el resultado obtenido corresponde a la cantidad de nemátodos en la suspensión.

3.1.11. Datos esperados

Cada muestra estuvo formada por 1000 nemátodos entomopatógenos que fueron determinados mediante el método de evaluación antes mencionado, y como los datos esperados se consideró 5000 por cada muestra en razón de que en términos generales por cada nemátodo se reproducen 5 unidades.

3.1.12. Fórmula de Abbott's

Para poder determinar el porcentaje de eficacia de los nematodos para controlar larvas de gallina ciega, se empleó la fórmula de Abbott's, quedando establecida de la siguiente manera:

$$\%E \frac{(t - T)}{t} \times 100 =$$

%E = Porcentaje de eficacia

t = Testigo

T = Tratamiento

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Numero de nematodos entomopatógenos (observados) reproducidos en larvas de gallina ciega en frecuencias de reproducción.

En el Cuadro 1 se presentan los promedios de dos especies de nematodos con su ciclo de reproducción. Las observaciones se realizaron en reproducciones con intervalos de 15 días entre una y otra frecuencia.

El nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* presento los mayores promedios, oscilando desde 12600 nematodos en la primera reproducción a 16600 en la sexta reproducción; mientras que la especie *Steinernema feltiae* presento valores promedios entre 6800 para la reproducción cuatro (4) y cinco (5) y 9000 para la primera (1) reproducción, alcanzando valores medios en nematodos *Heterorhabditis bacteriophora* 14457 y *Steinernema feltiae* 7543.

Cuadro 1. Número de nematodos entomopatógenos observados por género en la reproducción masiva de *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* en larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas.

Frecuencia de reproducción	<i>Steinernema feltiae</i>	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>
1 (15 días)	9.000	12.600
2 (30 días)	8.200	13.600
3 (45 días)	7.000	14.600
4 (60 días)	6.800	14.400
5 (75 días)	6.800	14.400
6 (90 días)	7.400	16.600
7 (105 días)	7.600	15.000
Media	7543	14457

4.1.1. Número de nematodos entomopatógenos (esperados) reproducidos en larvas de gallina ciega

Los promedios de nematodos entomopatógenos esperados se determinaron de acuerdo a la teoría de probabilidades, que de una serie de eventos $E_1, E_2, E_3 \dots E_n$, se produzcan con frecuencia $e_1, e_2, e_3 \dots e_n$, llamadas frecuencias esperadas, que para la presente investigación se consideró en aproximadamente 5000 nemátodos de cada género en cada proceso de reproducción.

4.1.2. Número de nematodos entomopatógenos observados y esperados y su significancia estadística determinada con la prueba Chi-Cuadrado.

El análisis estadístico utilizando la prueba Chi-Cuadrado en nematodos entomopatógenos del género *Steinernema feltiae* en el proceso de reproducción se observó el mayor número de nemátodos reproducidos fueron de 9000 en la primera (1) reproducción seguidos de la segunda con 8200, observándose que las menores reproducciones 6800 se registran en el cuarto (4) y quinto (5) proceso de reproducción; mientras que el género *Heterorhabditis bacteriophora* presento en mayor número de nematodos se registró en el sexto proceso de reproducción con 16600 seguido de 12600 nemátodos alcanzados en el primer proceso de reproducción con 12600. Los géneros al ser sometidos a la prueba de Chi-Cuadrado mostraron alta significancia estadística entre los datos observados y esperados.

Cuadro 2. Promedio de nematodos entomopatógenos en las reproducciones observados y esperados, en la evaluación de la reproducción masiva de nematodos entomopatógenos (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) en larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas.

Nematodos Entomopatógenos						
Frecuencias de reproducción	Steinernema feltiae			Heterorhabditis bacteriophora		
	Valores observados	Valores esperados	Chi-Cuadrado	Valores observados	Valores esperados	Chi-Cuadrado
1 (15 días)	9000	5000	3200	12600	5000	11552
2 (30 días)	8200	5000	2048	13600	5000	14792
1 (45 días)	7000	5000	800	14600	5000	18432
1 (60 días)	6800	5000	648	14400	5000	17672
1 (75 días)	6800	5000	648	14400	5000	17672
1 (90 días)	7400	5000	1152	16600	5000	26912
1 (105 días)	7600	5000	1352	15000	5000	20000

4.1.3. Número de larvas de gallina ciega y su significancia estadística de acuerdo a la prueba Chic cuadrado no controladas con nematodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema Feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*.

De acuerdo con la prueba Chi-Cuadrado las larvas de la gallina ciega no controladas con los nematodos entomopatógenos del Genero *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* mostraron alta significancia estadística, determinando que los nematodos *Steinernema feltiae* muestran eficacia en el control de gallina ciega observándose entre 2 y 8 larvas vivas con nematodos *Steinernema feltiae*; mientras que con el nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* el número de larvas vivas oscilo entre 1 y 3 siendo por tanto mayor eficiente en el control.

Cuadro 3. Promedio de larvas de gallina ciega no controladas con nemátodos entomopatógenos en la evaluación de la reproducción masiva de nematodos entomopatógenos (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) en larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas.

Prueba de Chi Cuadrado (En el control de larvas de gallina ciega)					
Géneros de nematodos	Valores observados	Fre. Esp.	O-F.E.	(O-F.E)²	(O-F.E.)²/F.E
Steinernema feltiae	6	25,00	-19,00	361,00	14,44
Steinernema feltiae	2	25,00	-23,00	529,00	21,16
Steinernema feltiae	8	25,00	-17,00	289,00	11,56
Steinernema feltiae	8	25,00	-17,00	289,00	11,56
Steinernema feltiae	8	25,00	-17,00	289,00	11,56
Steinernema feltiae	7	25,00	-18,00	324,00	12,96
Steinernema feltiae	6	25,00	-19,00	361,00	14,44
X²=					222,92

Generos de nematodos	Valores observados	Fre. Esp.	O-F.E.	(O-F.E)²	(O-F.E.)²/F.E
Heterorhabditis bacteriophora	2	25,00	-23,00	529,00	21,16
Heterorhabditis bacteriophora	3	25,00	-22,00	484,00	19,36
Heterorhabditis bacteriophora	2	25,00	-23,00	529,00	21,16
Heterorhabditis bacteriophora	3	25,00	-22,00	484,00	19,36
Heterorhabditis bacteriophora	2	25,00	-23,00	529,00	21,16
Heterorhabditis bacteriophora	1	25,00	-24,00	576,00	23,04
Heterorhabditis bacteriophora	3	25,00	-22,00	484,00	19,36
X²=					158,72

4.1.5. Porcentaje de eficacia de nematodos *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* en el control de larvas de *Phyllophaga* spp bajo condiciones del laboratorio.

En el Cuadro 4 se presentan los porcentajes de eficacia en el control de larvas de gallina ciega en condiciones de laboratorio .El mayor porcentaje de eficacia 88 a 96 %, que se alcanzó con el género de nematodos *Heterorhabditis bacteriophora*; mientras que con la especie *Steinernema feltiae* la eficacia oscilo entre 68 y 92 % en el control de larvas de gallina ciega.

Cuadro 4. Porcentaje de eficacia de nemátodos entomopatógenos para controlar larvas de gallina ciega en la evaluación de la reproducción masiva de nematodos entomopatógenos (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) en larvas de gallina ciega (*Phyllophaga* spp) bajo condiciones controladas.

Larvas de gallina ciega no controladas con nematodos entomopatógenos			
Género <i>Steinernema Feltiae</i>			
Observado	Esperado	Eficacia	% Eficacia
6	25	0,76	76
2	25	0,92	92
8	25	0,68	68
8	25	0,68	68
8	25	0,68	68
7	25	0,72	72
6	25	0,76	76
Género <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>			
Observado	Esperado	Eficacia	% Eficacia
2	25	0,92	92
2	25	0,92	92
1	25	0,96	96
1	25	0,96	96
2	25	0,92	92
1	25	0,96	96
3	25	0,88	88

4.1.4. Número de larvas de gallina ciega y su significancia estadística de acuerdo a la prueba Chic cuadrado no controladas con nemátodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* bajo condiciones de vivero.

Cuadro 5. Promedio de larvas de gallina ciega no controladas con nemátodos entomopatógenos en la evaluación de la reproducción masiva de nemátodos entomopatógenos (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) en larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas.

Prueba de Chi Cuadrado (En el control de larvas de gallina ciega)					
Géneros de nematodos	Valores observados	Fre. Esp.	O-F.E.	(O-F.E)²	(O-F.E.)²/F.E
Steinernema feltiae	13	25,00	-12,00	144,00	5,7600
Steinernema feltiae	14	25,00	-11,00	121,00	4,8400
Steinernema feltiae	15	25,00	-10,00	100,00	4,0000
Steinernema feltiae	14	25,00	-11,00	121,00	4,8400
X²=					19,4400
Géneros de nematodos	Valores observados	Fre. Esp.	O-F.E.	(O-F.E)²	(O-F.E.)²/F.E
Heterorhabditis bacteriophora	6	25,00	-19,00	361,00	14,4400
Heterorhabditis bacteriophora	5	25,00	-20,00	400,00	16,0000
Heterorhabditis bacteriophora	6	25,00	-19,00	361,00	14,4400
Heterorhabditis bacteriophora	5	25,00	-20,00	400,00	16,0000
X²=					60,8800

4.1.6. Porcentaje de eficacia de nematodos entomopatógenos, para controlar larvas de gallina ciega bajo condiciones de vivero.

En el Cuadro 6 se presentan los porcentajes de eficacia en el control de larvas de gallina ciega en condiciones de vivero. El género de nematodos *Heterorhabditis bacteriophora* presento el mayor porcentaje de eficacia con el 80%; mientras que los de género *Steinernema feltiae* presentaron menor eficacia con valores que fluctuaron entre 44 y 48%.

Cuadro 6. Porcentaje de eficacia en el vivero, en la evaluación de la reproducción masiva de nematodos entomopatógenos (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) en larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas.

Larvas de gallina ciega no controladas con nematodo entomopatógenos			
Steinernema feltiae			
Observado	Esperado	Eficacia	% Eficacia
13	25	0,48	48
14	25	0,44	44
14	25	0,44	44
14	25	0,44	44
Heterorhabditis bacteriophora			
Observado	Esperado	Eficacia	% Eficacia
6	25	0,76	76
5	25	0,80	80
5	25	0,80	80
5	25	0,80	80

4.2. Discusión

En la reproducción de nemátodos entomopatógenos el género *Heterorhabditis bacteriophora* presento los mayores promedios de reproducción superando los 16600 contenidos en 10 ml siendo superior al nivel de reproducción de nemátodo del género *Steinernema feltiae* que alcanzaron un valor máximo de 9000 nematodos, siendo inferior con respecto al género *Heterorhabditis* en un 121% a nivel medio, concordando con (Koppenhöfer, et al, 1996). Quienes manifiestan que la reproducción de nemátodos del género *Heterorhabditis bacteriophora* fue mayor que *Steinernema feltiae*.

En la evaluación del número de nemátodos reproducidos en larvas de gallina ciega fueron superiores en el género *Heterorhabditis bacteriophora* incrementándose entre 11.3 veces y 15.6 veces más que la unidad de reproducción de (1000 nemátodos) en tanto que con el género *Steinernema feltiae* el nivel de reproducción fue de 5.8 a 8.0 veces más que la unidad de reproducción (1000 nematodos). Lo que coincide con (Gaugler, et al, 1993). Quienes manifiestan que el número de nemátodos del género *Steinernema feltiae*. Es inferior en reproducción a los nemátodos del genero *Heterorhabditis bacteriophora*.

Los nemátodos del género *Steinernema feltiae* mostraron menor eficacia en el control de larvas de gallina ciega oscilando entre 68 a 76 % de eficacia; mientras que los nemátodos del género *Heterorhabditis bacteriophora* su eficacia alcanzo entre 88 y 96% lo que indica que este género presenta un alto grado de eficacia en el control de larvas de gallina ciega coincidiendo con (Simoës, 1996). Quien manifiesta que los nemátodos entomopatógenos presentan un potencial para el combate de insectos plagas especialmente los de orden lepidóptera y coleóptera que es donde pertenece la larva de gallina ciega (*Phyllophag aspp*).

Cuando se determinó la eficacia en condiciones de vivero fue inferior a los valores del laboratorio lo que puede verse al desplazamiento que deben hacer los nemátodos para infestar al insecto y a la vez alimentarse de sus

organismos, concordando con (Alatorre, 1999). Quien menciona que, hasta la fecha, los ensayos realizados con nemátodos entomopatógenos han sido del tipo ensayo-error por la dificultad de predecir el comportamiento de estos organismos en el campo ha sido uno de los mayores obstáculos.

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Del análisis e interpretación de los resultados se extraen las siguientes conclusiones:

- Los nematodos de género *Heterorhabditis bacteriophora* presentaron mayores promedios de reproducción que el género *Steinernema feltiae* superando en alrededor de 1660 contenidos en una muestra de 10ml.
- La reproducción de nematodos en larvas de gallina ciega fue superior en los nematodos de género *Heterorhabditis bacteriophora* incrementados entre 11.3 y 15.6 veces más que la unidad de reproducción, mientras que *Steinernema feltiae* creció entre 5.6 a 8.0 veces.
- El nematodo del género *Heterorhabditis bacteriophora* mostro la mayor eficacia en el control de larvas de gallina ciega alcanzando porcentaje que oscilaron entre 88 y 96% en condiciones de laboratorio.
- Los nematodos del género *Steinernema feltiae* en todas las variables evaluadas resultaron inferiores a las obtenidas con nematodos del genero *Heterorhabditis bacteriophora*.
- En la investigación realizada en el invernadero determino menor eficacia en el control de larvas de gallina ciega debido a que los nematodos deben desplazarse a mayor distancia para buscar a los insectos para infestarlos.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda:

- Reproducir nematodos de género *Heterorhabditis bacteriophora* por su mayor capacidad de reproducción y eficacia en el control natural de insectos.
- Probar la acción de los nematodos entomopatógenos de *Heterorhabditis bacteriophora* en el control en otros insectos como un medio amigable con el ambiente.

CAPITULO VI. BIBLIOGRAFIA

6.1. Literatura Citada

- Aguirre y Salazar. (1999). Potencial de Nemátodos Entomopatógenos en el Control de Plagas. Colima.
- Alatorre. (1999). Perspectiva del Uso de nemátodos entomopatógenos y su Potencial en el Control de Plagas. México.
- Alatorre Rosas, R. (1990). Perpectiva del uso de nematodos entomopatogenos. Recuperado el 15 de 5 de 2014, de http://www.biblio.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/1851/Negrete_Garcia_R_MC_Entomologia_Acarologia_2013.pdf?sequence=1
- Alatorre y Guzmán. (1999). Potencial de Nemátodos Entomopatógenos en el Control de Plagas. Colima.
- Arguello. (1997). Inventario agroecológico de las especies de gallina ciega (*Phyllophaga* spp) validacion de trampas artesanales luz para el control de adultos. Nicaragua.
- Bonifas y Neves. (1990). La producción de nématodes entomopatogénos *Steinernematidae* et *Heterorhabditidae*. París.
- Burges. (1998). Formulación de micro insecticidas.
- Cabanillas. (1999). Potencial de Nemátodos Entomopatógenos en el control de Plagas. Colima.
- Ehlers. (1996). Current and future use of nematodes in biocontrol Science and technology.
- Gaugler, et al. (1993). Efectos dependientes de la densidad en nemátodos entomopatógenos (*Heterorhabditidae* y *Steinernematidae*) dentro de un insecto huésped.
- Georgis. (1990). Formulación y aplicación de nemátodos entomopatógenos *steinernema* y *heterorhabditis*. Inglaterra.
- Glauger. (1999). Ecological Consider antion in the biological control of soil inhabiting insectos with entomopathogenic nematodos. Parasitology.
- Hidalgo. (2001). Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp.
- Jackson. (2003). Estudios Sobre Coleópteros del suelo en América.

- Kaya. (1993). Nemátodos Entomopatógenos.
- Kaya y Koppenhöfer. (1999). Potencial de nematodos Entomopatogenos en el control de Plagas. Colima.
- King y Saunder. (1984). Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en America. Turrialba.
- Koppenhöfer, et al. (1996). La competencia entre dos especies de nematodos steinernemátidos para un insecto huésped en diferentes profundidades del suelo. J. Parasitol.
- Larriva. (2002). Nematodos que se alimenta de insectos: Una opcion para el manejo Integrado de plagas.
- Larriva. (2002). Una opción para el Manejo Integrado de Plagas con Nemátodos que se alimentan de insecto. Azuay.
- Melo, et al. (2005). Efecto del estado de desarrollo de *Phyllophaga menetriesi* y *Amala inconstans* (Coleoptera; Melolonthidae) con dos sepas de entomonematodos. Cali.
- Méndez. (1997). Efectividad de los hongos entomopatógenos para el control de la gallina ciega (*Phyllophaga* spp). Nicaragua.
- Metcalf y Flind. (1982). Insectos destructivos e insectos útiles, sus Costumbres y control. México, D. F.
- Morón. (1984). Estudio de Escarabajos 200 millones de años de evolucion.
- Morón. (1986). Estudio del Insecto Coleóptera Melolonthidae. Mexico.
- Morón. (1986). Revisión del género *Phyllopaga* Harris (insectaColeopthera). Mexico.
- Nguyen y Smart . (1995). Scanning electron microscope studies of *Steinernema glaseri*.
- Nguyen y Smart. (1995). Infective juveniles of *Steinernema* spp And *Heterorhabditis bacteriophora* (Nemata: Rhabditida).
- Nguyen y Smart. (1992). Addendum to the morphology of *Steinernema scapterisci*.
- Poinar. (1975). Descripción biológica de nuevo insecto parasito .
- Poinar. (1976). Description and biology of a new insect parasitic rhabditiod, *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida; Heterorhabditidae) Nematologica .

- Sarh. (1988). Principales Plagas que afectan a plantaciones de maíz. Mexico.D.F.
- Saunders. (1998). Las plagas invertebradas de cultivos alimenticios anuales en America Central. Turrialba.
- Simoës. (1996). Control biológico de larvas de gallina con nemátodos entomopatógenos *Heterorhabditis* y *Steinernema*.
- Sirjusingh, et al. (1990). Uso de nemátodos entomopatógenos para controlar insectos plagas del suelo. Florida.
- Smart y Nguyen. (1994). Control Biológico con nematodos entomopatógenos.
- Strauch, et al. (2004). Genetic improvement of the desiccation tolerance of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* through selective breeding.
- Tanada, et al. (1993). Insect Pathology (*Heterorhabditidae* y *Steinernematidae*). San Diego.

CAPITULO VII. ANEXOS

Anexo 1. Medios del análisis de varianza en porcentaje de eficacia dentro del laboratorio para la evaluación de la reproducción masiva de nematodos entomopatógenos (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) en larvas de gallina ciega "*Phyllophaga spp*" bajo condiciones controladas.

Genero Steinernema			
Grados de Libertad	Chi cuadrado	T de tabla 0.05 - 0.01	Sig. Est
6	222,92	12.59 - 16.81	**

Genero Heterorhabditis			
Grados de Libertad	Chi cuadrado	T de tabla 0.05 - 0.01	Sig. Est
6	158,72	12.59 - 16.81	**

Anexo 2. Glosario

Biomasa: Suma de la masa total de organismos vivos que habitan en una zona determinada.

Saprophytas: Las bacterias saprophytas son las bacterias que no se desarrollan en el organismo vivo y que se alimentan de los desperdicios de alimentos generados por el propio organismo. En contraposición tenemos a las bacterias patógenas, que entran en el cuerpo y crecen dentro del organismo y que puede causar infecciones.

Ecdisis: la ecdisis o muda, es la eliminación del exoesqueleto, lo que posibilita el crecimiento del animal, durante su desarrollo hacia la etapa adulta.

Imagos: Imago puede referirse a: Biología. Imago, término entomológico para el último estadio del desarrollo de un insecto.

Protozoarios: Juegan un papel importante en la cadena alimentaria o en simbiosis con animales superiores o con otros microorganismos.

Epizootias: Enfermedad que acomete a una o varias especies de animales, por una causa general y transitoria.

ANEXOS FOTOGRAFICOS



Anexo 3. Ensayo establecido



Anexo 4. Registro de datos



Anexo 5. Infestación de nematodos



Anexo 6. Análisis de nematodos



Anexo 7. Establecimiento del vivero



Anexo 8. Recolección de larvas de gallina ciega