

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA



EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE TRES CONCENTRACIONES DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO *Heterorhabditis sp.* EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA (*Ceratitis capitata* Wiedemann) EN CONDICIONES DE LABORATORIO, NUEVO CHIMBOTE – 2018

PRESENTADO POR Bach. DÍAZ MILLA STEFFANY BRILLY

**Bach. RODRIGUEZ JIMÉNEZ CHRISTIAN
FERNANDO JAIR**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGRÓNOMO**

NUEVO CHIMBOTE - PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA

HOJA DEL AVAL DEL JURADO EVALUADOR

El presente trabajo de tesis titulado: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE TRES CONCENTRACIONES DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO *Heterorhabditis sp.* EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA (*Ceratitis capitata* Wiedemann) EN CONDICIONES DE LABORATORIO, NUEVO CHIMBOTE – 2018, para obtener el título profesional de Ingeniero Agrónomo, presentado por los bachilleres Díaz Milla Steffany Brilly y Rodríguez Jiménez Christian Fernando Jair, que tiene como Asesor al Ms. Pedro Antonio Vargas Linares, designado mediante Resolución Decanal N° 489-2018-UNS-F1. Ha sido revisado y aprobado el día 20 de junio del 2019 por el siguiente jurado evaluador designado mediante Resolución Decanal N° 160-2019-UNS-CFI de fecha 27 de Mayo del 2019.

Ing. María del Pilar Ventura Grados

Presidente

Ing. José Ismael Pérez Cotrina

Secretario

Ms. Pedro Antonio Vargas Linares

Integrante



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERIA

Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma

"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

A los veinte días del mes de junio del año dos mil diecinueve, siendo las 04:00 p.m. se instaló en los ambientes del Auditorio de Agroindustria de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Santa, el Jurado Evaluador designado mediante **Resolución N° 160-2019-UNS-CFI de fecha 27 de mayo del 2019**, integrado por los siguientes docentes:

- | | |
|---------------------------------------|-------------|
| ❖ Ing. María del Pilar Ventura Grados | Presidenta |
| ❖ Ing. José Ismael Pérez Cotrina | Secretario |
| ❖ Ms. Pedro Antonio Vargas Linares | Integrante |
| ❖ Ing. Santos Herrera Cherres | Accesitario |

Para dar inicio a la Sustentación y Evaluación de la Tesis, titulada: **EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE TRES CONCENTRACIONES DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO *Heterorhabditis sp.* EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA (*Ceratitis capitata* Wiedemann) EN CONDICIONES DE LABORATORIO, NUEVO CHIMBOTE - 2018**, perteneciente a los Bachilleres en Ingeniería Agrónoma: **STEFFANY BRILLY DÍAZ MILLA**, código N° 0201315017 y **CHRISTIAN FERNANDO JAIR RODRIGUEZ JIMÉNEZ**, código 0201315008. Teniendo como Asesor al docente **Mg. PEDRO ANTONIO VARGAS LINARES**, designado con Resolución Decanal N° 489-2018-UNS-FI de fecha 16.08.2018.

Terminada la sustentación, los Bachilleres respondieron las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el público presente.

El Jurado, después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, en concordancia con los artículos 103° y 104° del Reglamento General para Obtener el Grado Académico de Bachiller y Título Profesional de la Universidad Nacional del Santa, declara APROBADOS a los:

BACHILLER	PROMEDIO	PONDERACIÓN
STEFFANY BRILLY DIAZ MILLA	19	SOBRESALIENTE

Siendo las 05:30 p.m. del mismo día, se da por terminado el acto de Sustentación, firmando los integrantes del Jurado en señal de conformidad.


Ing. María del Pilar Ventura Grados
Presidente


Ing. José Ismael Pérez Cotrina
Secretario


Ms. Pedro Antonio Vargas Linares
Integrante



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERIA

Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma

"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

A los veinte días del mes de junio del año dos mil diecinueve, siendo las 04:00 p.m. se instaló en los ambientes del Auditorio de Agroindustria de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Santa, el Jurado Evaluador designado mediante **Resolución N° 160-2019-UNS-CFI de fecha 27 de mayo del 2019**, integrado por los siguientes docentes:

❖ Ing. María del Pilar Ventura Grados	Presidenta
❖ Ing. José Ismael Pérez Cotrina	Secretario
❖ Ms. Pedro Antonio Vargas Linares	Integrante
❖ Ing. Santos Herrera Cherres	Accesitario

Para dar inicio a la Sustentación y Evaluación de la Tesis, titulada: **EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE TRES CONCENTRACIONES DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO *Heterorhabditis sp.* EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA (*Ceratitis capitata* Wiedemann) EN CONDICIONES DE LABORATORIO, NUEVO CHIMBOTE - 2018**, perteneciente a los Bachilleres en Ingeniería Agrónoma: **STEFFANY BRILLY DÍAZ MILLA**, código N° 0201315017 y **CHRISTIAN FERNANDO JAIR RODRIGUEZ JIMÉNEZ**, código 0201315008. Teniendo como Asesor al docente **Mg. PEDRO ANTONIO VARGAS LINARES**, designado con Resolución Decanal N° 489-2018-UNS-FI de fecha 16.08.2018.

Terminada la sustentación, los Bachilleres respondieron las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el público presente.

El Jurado, después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, en concordancia con los artículos 103° y 104° del Reglamento General para Obtener el Grado Académico de Bachiller y Título Profesional de la Universidad Nacional del Santa, declara APROBADOS a los:

BACHILLER	PROMEDIO	PONDERACIÓN
CHRISTIAN FERNANDO JAIR RODRIGUEZ JIMÉNEZ	19	SOBRESALIENTE

Siendo las 05:30 p.m. del mismo día, se da por terminado el acto de Sustentación, firmando los integrantes del Jurado en señal de conformidad.


Ing. María del Pilar Ventura Grados
Presidenta


Ing. José Ismael Pérez Cotrina
Secretario


Ms. Pedro Antonio Vargas Linares
Integrante

DEDICATORIA

A Dios, por brindarme amor, sabiduría e inteligencia que me permitió concretar esta etapa importante en mi vida profesional.

A mis padres: Pedro Díaz y Yeni Milla, por su amor y apoyo incondicional.

A mi hermana Jackeline, por ser mi gran compañera de la vida.

A mis profesores y amigos de la UNS, por su aprecio, comprensión y dedicación durante mi etapa universitaria.

Díaz Milla Steffany Brilly

A mis padres: Rolando Rodríguez Toribio e Hilda Jiménez Saldaña, por brindarme su apoyo y amor de siempre.

A mis hermanos César y Fiorella, por su comprensión, paciencia, solidaridad y cariño.

A mis profesores y amigos de la UNS, por sus enseñanzas y consejos en mi etapa universitaria.

A mi alma mater que me acogió de la manera más confortable durante estos años de estudio.

Rodriguez Jiménez Christian Fernando Jair

AGRADECIMIENTO

A nuestros padres por sus consejos, por inculcar en nosotros muchos valores y por el incondicional apoyo de siempre.

A nuestro asesor, Ing. Antonio Vargas Linares quien con su amplia experiencia y conocimientos supo asesorarnos y apoyarnos en todo momento.

Al Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA, CTD Chimbote y a todo el personal profesional que labora en éste Organismo Público Técnico Especializado; asimismo, a la SDCB – SENASA, Lima, en especial a la Ing. Hilda Gómez Ramírez y a la Blga. Hilda Gamarra Soto; les agradecemos por su confianza, orientación y múltiples enseñanzas.

A nuestros docentes de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agrónoma que compartieron sus amplios conocimientos y experiencias durante nuestra etapa universitaria.

Finalmente, a nuestra alma mater la Universidad Nacional del Santa que durante todo éste periodo nos acogió en sus instalaciones.

Bach. Díaz Milla Steffany Brilly.

Bach. Rodriguez Jiménez Christian Fernando Jair.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Biología y Ecología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa, ubicado en Nuevo Chimbote, Ancash, durante los meses de diciembre 2018 a febrero 2019. En éste estudio se evaluó el efecto de la aplicación de tres concentraciones (3000, 5000 y 7000 JIs/1ml) del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* en el control biológico de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio. Para ello se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) empleando 4 tratamientos con 4 repeticiones, considerándose un testigo por repetición.

Se realizaron evaluaciones a los 10, 13 y 16 días después de la inoculación (ddi) de las concentraciones del nematodo entomopatógeno, el número de larvas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) a evaluar por tratamiento fue 15, de las cuales se contaron las larvas y pupas parasitadas y nematodos juveniles infectivos por larvas y pupa.

Se obtuvo como resultado en la investigación que el mayor número de individuos muertos lo representa el T₃ (7000 JIs/1ml) con un porcentaje de mortandad igual a 76.7 % seguido del tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml) con un porcentaje de mortandad de 65.0 %, finalmente el tratamiento T₁ (3000 JIs/1ml) muestra un porcentaje de mortandad inferior a los anteriores igual a 48.3 %.

Palabras clave: Nematodo entomopatógeno, *Heterorhabditis*, *Ceratitis capitata* Wiedemann, inoculación, parasitadas, porcentaje de mortandad.

ABSTRACT

The present research work was carried out in the Biology and Ecology laboratory of the Faculty of Sciences of the National University of Santa, located in Nuevo Chimbote, Ancash, during the months of December 2018 to February 2019. In this study the effect was evaluated of the application of three concentrations (3000, 5000 and 7000 JIs/1ml) of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis sp.* in the biological control of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata* Wiedemann) under laboratory conditions. For this, a completely randomized design (DCA) was used, using 4 treatments with 4 repetitions, considering a control by repetition.

Evaluations were made at 10, 13 and 16 days after the inoculation (ddi) of the entomopathogenic nematode concentrations, the number of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata* Wiedemann) larvae to be evaluated per treatment was 15, of which They counted parasitized larvae and / or pupae and infective juvenile nematodes by larvae and / or pupa.

It was obtained as a result in the investigation that the highest number of dead individuals is represented by T₃ (7000 JIs/1ml) with a mortality rate equal to 76.7% followed by treatment T₂ (5000 JIs/1ml) with a mortality rate of 65.0%, finally the Treatment T₁ (3000 JIs/1ml) shows a percentage of mortality lower than the previous ones equal to 48.3%.

Keywords: Entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis*, *Ceratitidis capitata* Wiedemann, inoculation, parasitized, percentage of mortality.

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	14
1.1 Antecedentes:	15
1.2 Planteamiento del problema:	18
1.3 Objetivos:	20
1.4 Hipótesis	21
1.5 Importancia y Justificación	21
1.6 Limitaciones del trabajo de investigación	22
II. MARCO TEÓRICO	23
2.1 Importancia de la fruticultura en Perú	23
2.2 Generalidades sobre las moscas de la fruta	24
2.3 Principales géneros de moscas de la fruta	25
2.4 Especies de mosca de la fruta con importancia económica en Perú.	25
2.5 La especie <i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann.	26
2.5.1. Ciclo biológico	26
2.5.2. Comportamiento de la mosca de la fruta	29
2.5.3. Plantas hospederas	31
2.5.4. Manejo integrado de moscas de la fruta	31
a. Mecanismos de detección	31
b. Control legal	32
c. Control mecánico – cultural	33
d. Control autocida	33
e. Control químico	33
f. Control biológico de moscas de la fruta	34
2.6 Nematodos entomopatógenos	36
2.6.1. Generalidades	36
2.6.2. Ciclo biológico	37
2.6.3. Bacterias simbióticas	39
2.6.4. Relación y modo de acción simbiote	39
2.6.5. Ecología de los nematodos entomopatógenos	41
2.6.6. Hospederos de nematodos entomopatógenos	45

2.6.7.	La familia Heterorhabditidae.....	47
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	51
2.1.	Materiales.....	51
2.2.	Características del área experimental.....	54
2.3.	Metodología.....	56
2.3.1.	Ubicación del experimento.....	56
2.3.2.	Obtención del material biológico.....	56
a.	Larvas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann).	56
b.	Nematodos entomopatógenos juveniles.....	57
2.3.3.	Sustrato de los tratamientos.	60
2.3.4.	Inoculación del nematodo entomopatógeno <i>Heterorhabditis sp.</i>	62
2.3.5.	Evaluación de la mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann).....	63
2.3.6.	Conteo de nematodos por larva y pupa infectada.....	66
2.3.7.	Análisis de datos.....	66
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	69
4.1	Número promedio de larvas y pupas muertas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) en las diferentes concentraciones de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis sp.</i>	69
4.2	Porcentaje de mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann).....	71
4.3	Porcentaje de mortandad en estadio (larva y pupa) de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann).	74
4.4	Evaluación de la mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) a los 10, 13 y 16 ddi.	84
4.5	Determinación de las concentraciones letales 50 y 90% (CL50, CL90) de los nemátodos entomopatógenos para el control de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann).	86
4.6	Número de nematodos por larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann).....	89
V.	CONCLUSIONES.....	92
VI.	RECOMENDACIONES.....	94
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
VIII.	ANEXOS.....	105

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Duración de los ciclos biológicos y hospedantes frecuentes de las principales moscas de la fruta en Perú.....	29
Cuadro 2: Requerimientos climáticos de <i>C. capitata</i> Wied.	30
Cuadro 3: Tamaño de la muestra	54
Cuadro 4: Descripción de los tratamientos.....	55
Cuadro 5: Croquis del área experimental	55
Cuadro 6: Número promedio de individuos muertos por tratamiento en cada repetición.	69
Cuadro 7: Porcentaje de mortandad.....	71
Cuadro 8: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de larvas y pupas de <i>Ceratitis capitata</i> Wied.....	73
Cuadro 9: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de larvas y pupas de <i>Ceratitis capitata</i> Wied.....	73
Cuadro 10: Número total de larvas y pupas muertas por tratamientos	74
Cuadro 11: Promedio de larvas y pupas muertas por tratamiento	75
Cuadro 12: Porcentaje de mortandad total en larvas y pupas	75
Cuadro 13: Número de larvas muertas por tratamiento en cada repetición	77
Cuadro 14: Porcentaje de mortandad en larvas por tratamiento en cada repetición	77
Cuadro 15: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de mortandad de larvas de <i>Ceratitis capitata</i> Wied.....	79
Cuadro 16: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de larvas de <i>Ceratitis capitata</i> Wied.....	79
Cuadro 17: Número de pupas muertas por tratamiento en cada repetición.....	80
Cuadro 18: Porcentaje de mortandad en pupas por tratamiento en cada repetición	81
Cuadro 19: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de pupas de <i>Ceratitis capitata</i> Wied.	82
Cuadro 20: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de pupas de <i>Ceratitis capitata</i> Wied.....	83
Cuadro 21: Mortandad total de individuos por días de evaluación	84
Cuadro 22: Promedio de larvas y pupas muertas por días	84
Cuadro 23: Porcentaje de mortandad del promedio de larvas y pupas por días	84
Cuadro 24: Porcentaje de mortandad corregida.....	86
Cuadro 25: Tabla de Predicciones Inversas para concentraciones letales	87
Cuadro 26: Número de nematodos promedio en larvas por tratamientos	89
Cuadro 27: Número de nematodos promedio en pupas por tratamientos	89

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de los nemátodos entomopatógenos	39
Figura 2: Número promedio de larvas y pupas muertas por tratamiento en cada repetición	70
Figura 3: Porcentaje de mortandad por tratamiento en cada repetición	72
Figura 4: Porcentaje de mortandad del promedio de larvas y pupas	75
Figura 5: Porcentaje de mortandad en larvas por tratamiento en cada repetición	78
Figura 6: Porcentaje de mortandad en pupas por tratamiento en cada repetición	81
Figura 7: Porcentaje de mortandad del promedio de larvas y pupas por días	85
Figura 8: Porcentaje de mortandad corregida por tratamiento en cada repetición	86
Figura 9: Promedio de nematodos en larvas y pupas por tratamientos.....	90

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Estadísticos descriptivos para porcentaje de mortandad en larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) sometidos a cada tratamiento	105
Anexo 2: Gráfico de medias de los porcentajes de mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) para cada tratamiento.....	105
Anexo 3: Estadísticos descriptivos para porcentaje de mortandad en larvas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) sometidos a cada tratamiento.	106
Anexo 4: Gráfico de medias de los porcentajes de mortandad en larvas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>C. capitata</i> Wiedemann) para cada tratamiento.....	106
Anexo 5: Estadísticos descriptivos para porcentaje de mortandad en pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) sometidos a cada tratamiento.	107
Anexo 6: Gráfico de medias de los porcentajes de mortandad en pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) para cada tratamiento.....	107
Anexo 7: Cartilla de evaluación para número de individuos infectados al 10°, 13°, 16 días después de la aplicación.	108
Anexo 8: Cuadro con datos registrados de mortandad.....	108
Anexo 9: Cuadro de mortandad corregida al uno por ciento para análisis Probit	109
Anexo 10: Cartilla de evaluación para población de nematodos en larvas y pupas	109
Anexo 11: Cuadro con datos registrados de número de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis sp.</i> por larva y pupa.....	110
Anexo 12: Cuadro de datos meteorológicos.....	111
Anexo 13: a) Recolección de frutos infectados por mosca de la fruta. b) Disección de frutos y extracción de larvas de III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann). c) Separación de larvas determinadas por el género de <i>C. capitata</i> Wied. de III estadio. d) Determinación de larva de <i>C. capitata</i> a través de espiráculos. e) Determinación de <i>C. capitata</i> III estadio por la característica contracción para realizar saltos.	112

Anexo 14: a) y b) Larvas colocadas en trampas White. c) Cosecha de nematodos juveniles infectivos emergidos de larvas de <i>Galleria mellonella</i> Linnaeus. d) Almacenamiento de la solución con nematodos en un vaso de precipitación. e) Extracción y colocación a una placa Petri cuadrículada 5 microgotas de la solución con nematodos utilizando una micropipeta de 10 ul. f) Contabilización de nematodos utilizando un estereoscopio y un contómetro.....	112
Anexo 15: a) Tamización de la arena. b) Secado del humus a estufa. c) Disgregación de las partículas del humus con mortero. d) Tamización del humus. e) Esterilización de la arena y humus en autoclave. f) Pesaje y mezcla del sustrato.....	113
Anexo 16: Croquis de distribución de los tratamientos por repeticiones.....	113
Anexo 17: a) Humedecimiento del sustrato para llevarlo a Capacidad de campo. b) Enjuague de las 15 larvas del III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) c) Distribución de las larvas en sus respectivos tratamientos. d) Inoculación de las concentraciones del nematodo entomopatógeno <i>Heterorhabditis sp.</i> a larvas de <i>C. capitata</i> Wied.	114
Anexo 18: a) Observación diaria de larvas y pupas. b) Toma de datos de: temperatura y HR. c) Adición de agua por pulverización para mantener al sustrato en CC. d) y e) Larvas y pupas infectadas por <i>Heterorhabditis sp.</i> respectivamente. f) Colocación de larvas y pupas a trampas white.....	114
Anexo 19: a) Larvas con presencia de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis sp.</i> b) Nematodos entomopatógenos emergiendo de las pupas de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) c) Adulto de la mosca mediterránea de la fruta (<i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann) encontrada en una pupa disectada.	115
Anexo 20: Certificado de características del nematodo entomopatógeno <i>Heterorhabditis sp.</i> .	116
Anexo 21: Caracterización del sustrato utilizado	117

I. INTRODUCCIÓN

La mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) viene siendo considerada una plaga muy nociva, voraz, polífaga y cosmopolita con más de 200 hospedantes entre hortalizas, frutales y plantas ornamentales. Es así que las moscas de la fruta son consideradas como uno de los mayores problemas de la fruticultura a nivel mundial ya que ocasiona problemas en la producción, sanidad, calidad y comercialización de frutos en mercados nacionales e internacionales; tal es el caso de Perú, el cual es un país megadiverso lo cual le posibilita propagar y adaptar cuantiosas especies vegetales con gran demanda en el mercado exterior pero, la presencia de esta plaga limita la producción de manera importante.

La mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) es de origen africano de las costas orientales. Su presencia en nuestro continente se registra desde el año 1900 mediante su ingreso por las costas de Brasil, llegando a Perú en el año 1956 tras el reporte del primer caso de aparición en los cultivos del departamento de Huánuco y en Tacna desde 1960.

Los actuales métodos de control se asientan principalmente en la utilización de insecticidas químicos, los cuales son inespecíficos y perjudiciales para la salud y el medio ambiente. Debido a la importancia económica de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) se requieren nuevos métodos de control, siendo una alternativa los insecticidas basados en agentes biológicos. Los nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* son importantes agentes para el control biológico de plagas. Se ha determinado patogenicidad en muchas larvas de lepidópteros, coleópteros y dípteros dentro de éstos últimos se registra en algunas especies del complejo *Anastrepha spp.*

1.1 Antecedentes:

Lezama et al. (1996) determinaron la susceptibilidad de *Anastrepha ludens* Loew en tercer estadio larval a los nematodos entomopatógenos *Steinernema carpocapsae* Weiser (Cepas All y Tecomán), *S. feltiae* Filipjev, *S. glaseri* Steiner (Cepa NC), *S. riobravis* (Cabanillas, Poinar & Raulston) y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (cepas NC, Potronato y Tecomán), en macetas con 300 gr de suelo esterilizado, de textura arena-migajonosa húmeda al 15%. Cada maceta contenía 1.0 ml de agua destilada estéril con 4000 nematodos y 20 larvas de *A. ludens* Loew. Cada una de las especies y cepas de nematodos fueron probadas con cuatro repeticiones. El experimento se llevó a cabo a 25 °C. A los 6 y 12 días después de la inoculación se registró un número de larvas y pupas parasitadas por nematodos, mismas que fueron disectadas, para ratificar la presencia de nematodos en el interior del cadáver. Se encontró que la plaga es susceptible en diferentes grados a los nematodos. *S. riobravis* (Cabanillas, Poinar & Raulston) y *S. carpocapsae* Weiser “cepa All” mataron un 90% de las larvas y pupas; *H. bacteriophora* Poinar cepa NC mató al 82.5%; *S. feltiae* Filipjev el 81.25%; la cepa *S. carpocapsae* Weiser (Tecomán) causó el 76% de mortalidad, mientras que *H. bacteriophora* Poinar (Tecomán) y *S. glaseri* Steiner el 52.5%.

Asimismo, Reyes (2003) evaluó la patogenicidad de nematodos entomopatógenos contra *Anastrepha ludens* Loew; en condiciones de laboratorio, aplicando 2000 JIs/ml a larvas del tercer estadio de *A. ludens* Loew. Encontró que

Heterorhabditis indica Poinar presentó una mortalidad acumulada en larvas y pupas de *A. ludens* Loew del 71.13%, *S. carpocapsae* Weiser cepa Mexicana 53.03%, *Steinernema carpocapsae* Weiser cepa All 51.2%, *H. bacteriophora* Poinar HP88 47.29% y *Steinernema riobrave* (Cabanillas, Poinar & Raulston) con 38.26 %. Las especies *H. indica* Poinar, *S. carpocapsae* Weiser cepas Mexicana y All, fueron evaluadas en concentraciones de 0, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000 JIs/ml, presentando *H. indica* Poinar un CL50 de 7.23; *S. carpocapsae* Weiser cepa Mexicana 19.31 y *S. carpocapsae* Weiser cepa All 33.22 nemátodos cm²/suelo. El estudio demostró variabilidad en la patogenicidad de las diferentes especies y razas de nemátodos evaluados en contra de estados inmaduros de *A. ludens* Loew; donde *H. indica* Poinar y *S. carpocapsae* Weiser cepas Mexicana y All muestran tener potencial para ser usadas como agentes de control biológico de la plaga.

González (1998) evaluó la mortalidad de larvas de III estadio de *A. ludens* sometidos a cinco concentraciones de *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema glaseri*, *Steinernema feltiae*, *Steinernema riobrave* y *Heterorhabditis megidis*. Utilizó macetas con 300 ml de suelo estéril con humedad de 15% a las que agregó 1ml de suspensión con 1000 a 5000 nemátodos por maceta las que contenían cada una 100 larvas de *A. ludens*. Encontró dos niveles de significancia; la primera, agrupada por las especies *Steinernema glaseri* y *S. riobrave*, con mayor virulencia con 54.1% y 47% de mortalidad respectivamente; el segundo agrupada por *Heterorhabditis megidis*, *Steinernema feltiae* y *S. carpocapsae* con 28% al 25.2 % de mortalidades. *S. glaseri*

ocasionó un promedio de mortalidad mayor al 50%. Asimismo, determinó un CL50 igual a 21 nematodos/larva.

En el trabajo realizado por Toledo et al. (2005) se describe el efecto de la temperatura, la textura del suelo y la profundidad del hospedero sobre la capacidad de infección del nemátodo *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar en larvas de tercer estadio de *Anastrepha obliqua* Macquart, bajo condiciones de laboratorio. En el estudio, el mayor porcentaje de infección se registró en larvas de tercer estadio inicial y tardío en los recipientes con menor profundidad que contenían suelo de textura arenosa con 10% de humedad, mientras que las larvas de tercer estadio inicial fueron más susceptibles que las larvas de tercer estadio tardío en las tres profundidades. De tres de texturas diferentes evaluadas (arenosa, areno-arcillosa y areno-limosa), donde presento mayor porcentaje de mortalidad larval de ambas edades fue en el suelo de textura areno-arcillosa conservando un porcentaje de humedad del 15%. Respecto a la temperatura, la infección más representativa se dio en larvas que se mantuvieron a una temperatura de $24\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y la mortalidad larval fue menor a una temperatura de $18\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ en suelo de textura areno-arcillosa con 15% de humedad. La infección causada por *H. bacteriophora* Poinar se produjo en un tiempo de 17 días en suelo de textura areno-arcillosa con 16% de inoculados en el suelo, el porcentaje de mortalidad en larvas fue disminuyendo conforme la humedad se fue reduciendo. Los autores recomiendan realizar más estudios para considerar a este entomopatógeno como posible agente de control biológico de *A. obliqua* Macquart en campo.

1.2 Planteamiento del problema:

Durante los últimos años en el valle del Santa está ocurriendo un incremento en las áreas de producción frutícola debido a que los pequeños y medianos productores de esta zona buscan incursionar en el negocio de la agro exportación. La escasez de conocimientos por parte de dichos productores respecto a las técnicas de manejo integrado de plagas está trayendo consigo un problema grave reflejado en el aumento de fruta infestada principalmente por la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

La mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) es una de las principales plagas que limitan el acceso de frutas frescas a mercados internacionales, por lo que los países importadores aplican medidas fitosanitarias muy estrictas para mitigar el riesgo del ingreso de dicha plaga a sus respectivos mercados quienes además, exigen un estudio de Límite Máximo de Residuo (LMR) asegurando la seguridad e inocuidad alimentaria con el que debe ser enviado su producto (SENASA, 2016).

Según los productores frutícolas del valle del Santa, los daños de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) no sólo repercuten en los rendimientos de sus cultivos, sino también en la limitación para obtener el Certificado Fitosanitario para plantas o productos vegetales para exportación. En la búsqueda de una rápida y eficaz solución, dichos productores realizan aplicaciones de ciertos

plaguicidas que pueden significar un riesgo para el medio ambiente como para la salud humana.

Lo señalado anteriormente aunado a las características biológicas de las moscas de la fruta, como lo es su comportamiento cosmopolita y su alimentación polífaga, genera la necesidad de implementar medidas fitosanitarias de carácter biológico que permitan combatir la plaga de la mosca del mediterráneo.

Algunos estudios han demostrado la existencia de nematodos entomopatógenos con características que le confiere el complejo nematodo-bacteria, que les permite ser agentes claves para realizar un control biológico en larvas y/o pupas de muchas especies de plagas de importancia económica, así como ejemplo en el complejo *Anastrepha spp.* Por lo mencionado es de nuestro interés realizar una investigación que permita obtener resultados favorables en larvas de último estadio y/o pupas de mosca de la fruta del mediterráneo utilizando un género de nematodos entomopatógenos de la familia Heterorhabditidae que represente una solución ecológica a los grandes problemas que ocasiona mencionada plaga.

Según los antecedentes y analizando la problemática de la mosca de la fruta del mediterráneo *Ceratitis capitata* Wiedemann formulamos el siguiente problema.

¿Cuál será el efecto del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* aplicado a tres concentraciones diferentes en el control de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio?

1.3 Objetivos

Objetivo general:

- Evaluar el efecto de la aplicación de tres concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* en el control biológico de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio.

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto de la aplicación de la concentración de 3000 JIs/1ml del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* en el control de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio.
- Determinar el efecto de la aplicación de la concentración de 5000 JIs/1ml del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* en el control de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio.

- Determinar el efecto de la aplicación de la concentración de 7000 JIs/1ml del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* en el control de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio.

1.4 Hipótesis

Al menos una de las concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* ejerce control sobre la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio.

1.5 Importancia y Justificación

La presente investigación busca utilizar una nueva alternativa ecológica que logre reducir la cantidad de fruta infestada por mosca de la fruta del mediterráneo. Asimismo, se pretende colaborar con su futura erradicación dentro del Valle del Santa debido a que este insecto del orden díptera es una plaga con mucha importancia agronómica, alimentaria, ambiental y económica a causa de su comportamiento polífago y cosmopolita; siendo un limitante de las exportaciones de frutas frescas en el Valle y en todo nuestro país.

El control biológico resulta una buena alternativa para combatir a la mosca de la fruta, y nace con la demanda de los mercados importadores de productos agrícolas

inocuos tanto para la salud humana como para el medio ambiente. Por ello, los exportadores frutícolas están en la necesidad de optar por métodos de control biológico de plagas haciendo uso de organismos y microorganismos existentes en la fauna benéfica, esto representa una ventana a la investigación de alternativas técnicas que garanticen resultados favorables en campo.

La presente investigación se justifica en las razones agronómicas, sociales, económicas y ambientales anteriormente mencionadas que involucra este problema. De modo que la finalidad es evaluar el efecto a diferentes concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* como agente entomopatógeno en el control de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann). Además, se pretende aportar un prospecto técnico y científico de nuevos conocimientos que beneficien a otros investigadores, estudiantes y productores, con el fin de incentivar el empleo de nuevas alternativas biológicas en el control de esta plaga en el valle de Santa y otras zonas de producción.

1.6 Limitaciones del trabajo de investigación

La principal limitación durante el desarrollo de la investigación fue:

- La disponibilidad del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* y larvas de III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en un mismo momento.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Importancia de la fruticultura en Perú

Por las características geográficas y diversidad climática, en Perú se produce una amplia gama de frutas dentro las tres regiones: costa, sierra y selva; incluidos cultivos nativos y cultivos introducidos hace años atrás. El clima y la biodiversidad son atributos incomparables para la agricultura y en particular para la fruticultura, puesto que posibilita sembrar en variados pisos ecológicos, en diferentes momentos una diversidad de variedades de un mismo cultivo; lo cual posibilita proveer al mercado en cualquier época del año (Hernández , 2011).

Actualmente, se ha incrementado las exportaciones de mango, uva, palta, mandarina, plátano, como frutas frescas (...). Respecto a superficie cultivada, los frutales de mayor importancia son: plátano, naranjo, mango, palto, limonero, vid y piña. En Perú, la superficie enfocada a frutales comprende de 430,000 a 460,000 hectáreas (Hernández, 2011).

Respecto a la producción y exportación de frutas se ha notado un auge muy atractivo en la última década, habiendo aumentado considerablemente su oferta exportable, productos como la uva, la mandarina, las paltas y el banano (Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI], 2015). De tal modo, Sánchez (2012) señala que dada la importancia económica que tienen los frutales en la economía familiar campesina,

es necesario conducirlos técnicamente a base de prácticas culturales y fitosanitarias adecuadas y oportunas.

2.2 Generalidades sobre las moscas de la fruta

“Entre más de cien familias del orden Díptera, la familia Tephritidae, a la cual pertenece la mosca de la fruta, es la de mayor importancia económica, comprende aproximadamente 4000 especies distribuidas en áreas tropicales y subtropicales. Las conocidas como moscas de la fruta pertenecen a diversos géneros, entre los cuales *Dacus*, *Rhagoletis*, *Ceratitis*, *Bactrocera*, *Anastrepha* y *Toxotrypana*, son los principales” (Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2005).

Las moscas de las frutas son insectos de metamorfosis completa, cumplen las etapas de huevo, larva, pupa y adulto. La duración de cada una de las etapas del desarrollo del ciclo biológico y el número de generaciones al año dependen de las condiciones ambientales en que se desarrollen, particularmente la temperatura, la humedad y del tipo de planta hospedera (Torres, Castillo & Pérez, 2006).

La mosca causa daños físicos directos en la pulpa de las frutas, producidos por las larvas y daños secundarios causados por la entrada de microorganismos patógenos, además de implicaciones indirectas tales como las medidas cuarentenarias y los tratamientos de postcosecha (ICA, 2005).

2.3 Principales géneros de moscas de la fruta

“Los géneros de la mosca de la fruta de mayor importancia económica en el ámbito mundial son: el de *Ceratitis*, representado por *C. capitata* (Wiedemann) conocida como “Mosca del Mediterráneo”, que se ha reportado atacando cerca de 250 especies de hospederos (Christenson & Foote, 1960; Liquido, 1992). El género *Bactrocera* (o *Dacus*) Hendel, distribuido en África, partes de Europa, Asia y Australia. El género *Toxotrypana* Gertácker, localizado en Florida, México y América Central (Landoth, 1984; Landoth et al., 1991). El género *Rhagoletis* Loew el cual se encuentra distribuido en las zonas templadas y neo tropicales (Boller & Prokopy, 1976) y el género *Anastrepha* Schiner que tiene reportada a la fecha, alrededor de 185 especies, distribuidas en el continente americano” Reyes (2003).

2.4 Especies de mosca de la fruta con importancia económica en Perú.

Rodríguez et al. (citado por Hernández, 2016) afirma que: “En el Perú los dos principales géneros de moscas de la fruta que causan daño son: *Anastrepha* y *Ceratitis*, siendo las especies: *Ceratitis capitata* Wiedemann (Mosca del mediterráneo), *Anastrepha fraterculus* Wiedemann (Mosca sudamericana), *Anastrepha striata* Schiner (Mosca de la guayaba), *Anastrepha distincta* Greene (Mosca del pacaé), *Anastrepha serpentina* Wiedemann (Mosca de las sapotáceas), *Anastrepha oblicua* Macquart (Mosca del ciruelo)”.

2.5 La especie *Ceratitis capitata* Wiedemann.

“La mosca del Mediterráneo, *Ceratitis capitata* Wiedemann (Díptera: Tephritidae) es la plaga más destructiva y más distribuida de los cítricos y muchos otros frutales en el mundo. (...) El insecto adquiere gran importancia no solo por los daños que hace sino por su capacidad invasora, el gran número de frutales y otras plantas que ataca y las restricciones que impone el mercado internacional a los países con esta plaga” (ICA, 1989).

La mosca del mediterráneo se encuentra presentes en climas templados, subtropicales y tropicales alrededor del mundo. En sur América, por ejemplo, se encuentra en zonas desérticas en Chile y Perú, al igual que en el Medio Oriente en Egipto e Israel. También se le encuentra en zonas tropicales húmedas como Brasil, Centro América, Ecuador, Panamá y Venezuela. Igualmente en varias islas alrededor del mundo, tales como en Australia, Azores, Creta, Hawaii, Nueva Zelandia y Sicilia. Aunque tuvo su origen en Africa Oriental, se ha propagado en los cinco continentes en más de 90 países. Su primer reporte histórico fue en Mauritania en 1817 (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza [CATIE], 1987).

2.5.1. Ciclo biológico

Según el Programa Nacional de Moscas de la Fruta (2001), citado por Hernández (2016), “*Ceratitis capitata* Wiedemann presenta una metamorfosis

completa, presentando las cuatro fases de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto”. En la fase de huevo puede durar de 2-7 días, fase larval de 6-11 días y la fase pupa de 9- 15 días; la duración de este ciclo depende directamente de las condiciones ambientales (Servicio Nacional de Sanidad Agraria [SENASA], 2001).

a. Huevo

Son de color blanco, alargados, y miden sólo un milímetro, por lo que, hundidos en la pulpa del fruto, resultan difícilmente perceptible. Cada mosca hembra puede poner durante toda su vida de 300 a 400 huevos, en grupos de tres a diez por fruto (Del Cañizo, 1952). Por otro lado, SENASA (2016) nos menciona que la hembra fecundada puede llegar a ovipositar de 8 a 12 huevos en cada postura, llegando a poner de 300 a 800 durante toda su vida.

b. Larva

Feicán, Encalado & Larriva (1999) “Las larvas antes de empupar atraviesan por tres estadios (instares) larvarios (...) una vez que la larva ha alcanzado su madurez busca la manera de salir hacia el exterior del hospedero, para lo cual se deja caer al suelo, enterrándose a una profundidad de 1-10 cm, o simplemente permanece bajo el fruto caído protegido de la radiación directa del sol”. Asimismo, Ros (1988) nos señala que en condiciones favorables puede concretar su estadio larval en 11 a 13 días.

c. Pupa

Es cilíndrica, tiene entre 4.0 y 4.3 mm de longitud de color marrón oscuro-rojizo (Agropecuarias & Tecnológico, 1989).

d. Adulto

Según el Programa Nacional de Moscas de la Fruta, citado por Hernández (2016). “La vida en estado adulto de la mosca del mediterráneo varía de acuerdo a las condiciones ambientales siendo de 1 a 2 meses en climas cálidos y hasta 10 meses en climas fríos. Las hembras alcanzan su madurez sexual a los 4 a 5 días, iniciando la oviposición a los 7 a 9 días a temperaturas de 24 – 27 °C. La copulación de la mosca de la fruta, se da en el momento en la cual el macho se posiciona en un punto estratégico dentro de la planta e inicia a secretar una feromona sexual funcionando este como una señal o llamado a la hembra, luego comienza a agitar vigorosamente las alas y toma distintas ubicaciones por lo general se incorporan otros machos y a esta agrupación de machos aleteando se le denomina LEKS y emprende una competencia, en la que la hembra se aproxima y elige a un macho para dar inicio a la copula, con tan solo copula la hembra queda inseminada para toda su vida y apta para su reproducción”.

Asimismo el Programa Nacional de Mosca de la Fruta, citado por Hernández (2016) muestra la duración de los ciclos biológicos de las moscas de las frutas más representativas en el Perú (Cuadro 1).

Cuadro 1: Duración de los ciclos biológicos y hospedantes frecuentes de las principales moscas de la fruta en Perú

ESPECIE	CICLO BIOLÓGICO (DIAS)			CAPACIDAD DE OVOPOSICIÓN (huevo)	GENERACIÓN POR AÑO	REPORTE DE EXISTENCIA (provincias)
	HUEVO	LARVA	PUPA			
<i>Ceratitis capitata</i> Wied.	2 a 7	6 a 11	9 a 15	300 a 800	12	Chincha, Pisco, Ica, Palpa, Nazca
<i>Anastrepha fraterculus</i> Wied.	3	8 a 9	12 a 14	400 a 800	8 a 10	Chincha, Pisco, Ica, Palpa, Nazca
<i>Anastrepha distincta</i> Greene	1 a 4	10 a 25	10 a 15	100 a 800	4 a 8	Chincha, Pisco, Ica, Palpa, Nazca
<i>Anastrepha serpentina</i> Wied.	1 a 4	10 a 25	10 a 15	100 a 800	4 a 8	Chincha

FUENTE: Programa Nacional de Mosca de la Fruta 2001, citado por (Hernández, 2016, p. 10)

2.5.2. Comportamiento de la mosca de la fruta

Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG, 1989), son insectos diurnos y descansan durante la noche en el lado interior de las hojas de las plantas hospederas o de otras plantas. Sus actividades diarias pueden ser divididas en cinco categorías funcionales importantes: Alimentación, copulación, oviposición, dispersión y descanso. Ciertas actividades están restringidas a específicas partes

del día debido a la interacción de ritmos internos y factores externos como la temperatura y la intensidad de luz.

Ros (1988) afirma que Bodenheimer fue quien citó por primera vez en 1951 los requerimientos climáticos de *C. capitata* Wied. (Cuadro 2), además menciona que: La longevidad de los adultos de *C. capitata* Wied. está notablemente influenciada por la humedad ambiental (cuadro 2). Una extrema sequía es perjudicial, aun en un período relativamente corto. Las prolongadas precipitaciones entorpecen e impiden la normal actividad de los adultos (...) La mortalidad de pupas es muy alta en inviernos severos, reduciéndose cuando las condiciones son menos extremas y no tan lluviosas. Por su parte los autores corporativos ICA & IICA (1989) adicionan: “El tiempo que requiere la Mosca del Mediterráneo para completar su ciclo de vida depende de la temperatura. Estudios previos han demostrado que *C. capitata* Wied. requiere 622 grado-día (medidos en °F) para completar su ciclo de vida”.

Cuadro 2: Requerimientos climáticos de C. capitata Wied.

	T° C	HR %
Zona óptima (A)	16-32	75-85
Zona Favorable (B)	10-35	60-90
Zona no favorable (C)	2-38	40-100
Zona Imposible (D)	2-40	40

FUENTE: Requerimientos climáticos de *C. capitata* Wied., citado por Ros (1988)

2.5.3. Plantas hospederas

Se conocen más de 200 hospederos de *C. capitata* Wied., principalmente frutales, aunque también ataca hortalizas y otras plantas. Los hospederos se identifican en varias formas dependiendo de la preferencia y de otros factores como la disponibilidad de los mismos y área rango de cobertura (CATIE, 1987).

White & Elson-Harris & Cabi (citados por Hernández, 2016), mencionan que: “Los hospederos principales de la mosca de la fruta son: pimiento, cafeto, cítricos, higuera, manzano, prunus, guayabo, cacao y los hospederos secundarios son: nuez, guanábana, capsicum, papayo, níspero, mango, entre otros”.

2.5.4. Manejo integrado de moscas de la fruta

a. Mecanismos de detección

- Muestreo

Es un procedimiento usado para el seguimiento a los estados inmaduros de las moscas de la fruta a través de la recolección y evaluación de frutos. El muestreo permitirá conocer los hospedantes primarios, secundarios y ocasionales de las moscas de la fruta, asimismo el grado de diseminación de la

plaga, así como la fenología y distribución de sus hospedantes en un área determinada (SENASA, s.f)

- Trampeo y uso de atrayentes

Se colocan trampas en lugares donde las moscas de la fruta normalmente se aparean, como en la copa de los frutales hospederos, en puntos semi sombreados de la copa, por lo general en el lado de donde sopla el viento.

Otros lugares adecuados para colocar la trampa son las áreas de descanso y de alimentación en árboles que dan refugio y protegen a las moscas de los vientos fuertes y los depredadores (Organismo Internacional de Energía Atómica [OIEA], 2005).

b. Control legal

El control legal son disposiciones obligatorias (leyes o reglamentos), que emite el gobierno para garantizar la participación de la población a fin de evitar el ingreso de la mosca de la fruta a una determinada área (SENASA, 2015).

Cisneros (2010) señala que “el control legal incluye las medidas de cuarentena, inspección, erradicación, reglamentación de cultivos y reglamentación del uso y comercio de los pesticidas.”

c. Control mecánico – cultural

Jiménez (2009) nos señala que consiste en la colecta manual y destrucción de plagas. Dicho control es posible cuando existe abundante mano de obra y que sea de bajo costo.

d. Control autocida

El control autocida o Técnica del Insecto Estéril (TIE) se dirige hacia la erradicación o eliminación total de una plaga de un ambiente o ecosistema dado mediante la crianza y liberación masiva de adultos estériles (Wendemberg, et al., 1993)

e. Control químico

Se basa en la utilización de una mezcla de insecticida y atrayente alimenticio. Las aplicaciones se realizan tras la detección de la presencia de machos adultos, lo que se realiza normalmente por medio de trampas detectores con cebos de diversos tipos (Galán, 2009).

f. Control biológico de moscas de la fruta

- Parasitoides

Beitia et al., Falcó et al. (citados por Panisello, Roig & Ramoneda, s.f) afirman que: actualmente, el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) realiza estudios cautivos en laboratorio y en campo para introducir parásitos foráneos o exóticos a nuestros campos como agentes de control biológico de moscas de la fruta. En concreto ensaya con dos himenópteros braconídeos parasitoides: *Diachasmimorpha tryoni* Cameron y *Fopius arisanus* Sonan, que han obtenido muy buenos resultados en América y Australia. En el mismo contexto Helmuth, (2000) menciona que “la mosca de la fruta mediterránea, *C. capitata* Wied., y la mosca de la fruta, *Anastrepha spp.* están parasitadas por varios parasitoides como *Opius oophilus* Fullaway, *O. incisi*, *Biosteres formosanus* Fullaway, *B. tryoni* Cameron, *B. vandenboschi*, *B. compensans* Silvestri, *B. longicaudatus* Ashmead (Hymenoptera, Braconidae)”.

- Hongos entomopatógenos

García, Messias, Souza & Piedra Buena (1984) declaran que *Matarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin es el principal hongo evaluado en contra de moscas de la fruta. Asimismo, García et al. (citados por Reyes, 2003) reportan que *Matarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin evaluado

en contra de *Ceratitis capitata* Wied. presentó un DL₅₀ de $8 \times 10^{6.6}$ conidias/ml y un TL₅₀ de 11.4 días.

Castillo, et al. (citado por Reyes, 2003) al evaluar siete razas de hongos entomopatógenos contra *Ceratitis capitata* Wied. encontraron que *Matarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin y *Paecilomyces fumosoroseus* Wize raza CG-200 fueron hongos más infectivos con valores de DL₅₀ 5.1 y 6.1×10^3 conidia/mosca respectivamente. Asimismo al evaluar los extractos se reportó que *Matarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin fue el más tóxico, resultando un 90% de mortalidad a una concentración de 25 conidia/g de dieta y además de que la fecundidad y fertilidad fue reducida al 94 y 53 respectivamente comparado con el testigo.

- Bacterias entomopatógenas

Para Robacker et, al. (citado por Reyes, 2003) las investigaciones realizadas con el uso de la bacteria *B. thuriangiensis* Berliner contra moscas de la fruta consigna que al evaluar 55 aislados de *Bt* en la presentación de pellet y sobrenadante, contra las larvas de tercer estadio de *Anastrepha ludens* Loew hallaron, que dos cepas aisladas de Guatemala mostraron más virulencia, alcanzando un porcentaje de 100% de mortalidad en larvas más pupas, le siguieron en efectividad las cepas HD2 y la HD146 provenientes del laboratorio del Dr. Howard Dulamage.

Por su parte, Molina, et al. (citado por García, 2011) estudio la cepa *Bacillus pumilus* 15.1 la cual presentó rangos de mortalidad del 68 al 94% en larvas de *Ceratitis capitata* Wiedemann, dependiendo bajo las condiciones en las cuales se realizan los bioensayos.

2.6 Nematodos entomopatógenos

2.6.1. Generalidades

Los nematodos entomopatógenos (NEPs) son unos organismos parásitos obligados de algunas plagas agrícolas de interés. Estos nematodos reúnen características que les otorgan un potencial como agentes de control biológico: poseen un amplio rango de insectos huéspedes, tienen la habilidad para ubicar y perseguir en el suelo a su objetivo, entrando en él y liberando así a la bacteria simbiote e induce a la muerte del huésped dentro de las 24 a 48 horas después de haberse producido la infección, éstos nematodos se pueden reproducir masivamente y pueden ser aplicados fácilmente, son seguros para los organismos que no son su objetivo y para el medioambiente (Merino & France, 2009).

Dentro de esta clasificación de nemátodos entomopatógenos generalmente comprende a dos familias del orden *Rhabditidos*, la familia *Steinernematidae* y la familia *Heterorhabditidae*, parasitos facultativos de insectos. La familia

Steinernematidae comprende dos generos: *Steinernema* y *Neosteinernema*. La familia *Heterorhabditidae* comprende el genero *Heterorhabditis* (Romero, 2004).

France (s.f) en la publicación de su artículo denominado “Uso de nematodos entomopatógenos para el control de insectos” cita lo siguiente:

“Todos los nematodos corresponden a gusanos cilíndricos no segmentados y en el caso de los entomopatógenos, se caracterizan además por portar bacterias que les serán de utilidad durante la patogénesis del insecto. Estas bacterias pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son Gram negativas y anaeróbicas facultativas. Se han reconocido dos géneros de bacterias simbioses: *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, las cuales se asocian a las familias *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*, respectivamente (Griffiny et al., 2005)”.

2.6.2. Ciclo biológico

Según Rodriguez et al., Lewis & Clarke (citado por France, s.f). “El ciclo de vida de cualquier especie de NEP consta de huevo, cuatro estados juveniles (J1 a J4) y adulto (figura 1). Los nemátodos infectivos corresponden al estado juvenil J3, pero que mantienen la cutícula del estado J2, y que son denominados “dauers” (termino que proviene del idioma alemán y que significa perdurable). Sólo los dauers son capaces de localizar a su hospedero e iniciar el proceso de parasitismo de forma activa, además son los unicos que pueden sobrevivir fuera del

hospedante y de poseer en su interior la bacteria simbiótica la cual transporta de un insecto a otro”.

“Los dauers o juveniles infectivos penetran al hospedante por vía oral, anal, espiráculos o tráquea, en el caso de *Heterorhabditis* también a través del tegumento intersegmental, si las medidas de defensa no son suficientes, los NEP terminan ingresando al hemocele donde se liberan las bacterias simbiotas a través del ano (*Steinernematidos*) o por la boca (*heterorhabditidos*) , las cuales se multiplican y destruyen tejidos y hemolinfa, ocasionando la muerte del insecto por una septicemia generalizada en 24-96 horas. Estas bacterias producen antibióticos que impiden la proliferación de otros organismos y por tanto preservan los tejidos semi descompuestos del huésped, los que son aprovechados por los nemátodos para su alimentación y multiplicación” (Suarez et al., s.f)

Zioni et al., Nguyen & Smart (citados por Ruiz, 2009) indican que la duración de vida de *H. Bacteriophora* a 25°C, de huevo a huevo es de 96 h el desarrollo de juveniles toma un tiempo de 48 h, con la duración de cada estado de 8 a 12 h la duración y proporción de los estados de desarrollo en la población son similares en cultivos in vivo que in vitro. Los ciclos de vida dependen de la temperatura y no se completa a temperaturas inferiores de 10 o 15°C superiores de 35 a 37°C, siendo la óptima de 24°C.

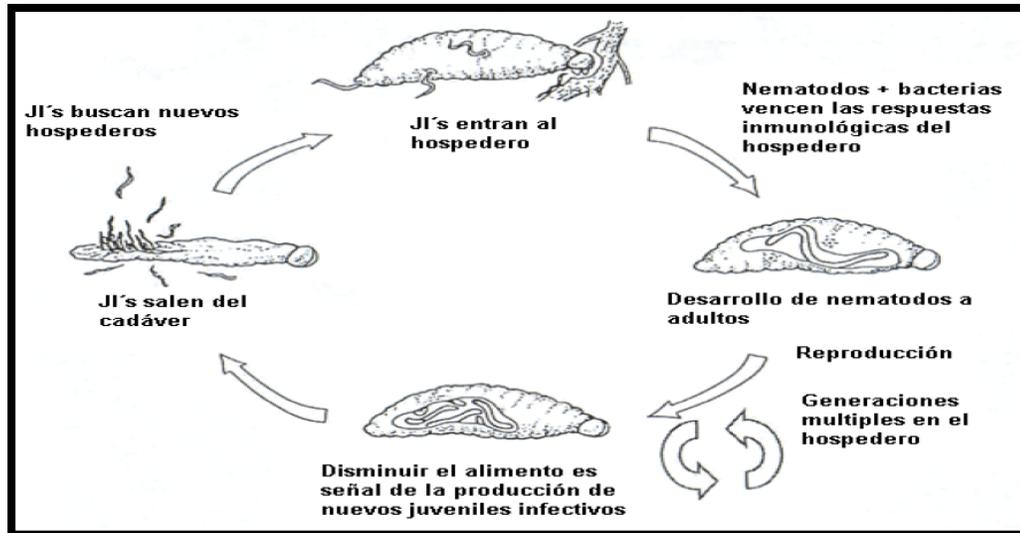


Figura 1. Ciclo biológico de los nematodos entomopatógenos

2.6.3. Bacterias simbióticas

González (2006) cita a Boemare, quien manifiesta que las bacterias *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* son móviles, Gram negativa, facultativo, no forman esporas, las barras anaerobias en la familia *Enterobacteriaceae*. En el género *Xenorhabdus* existen 5 especies que se asocian con *Steinernema*, mientras que el género *Photorhabdus*, existen 3 especies que se asocian con *Heterorhabditis*, con una especie *P. luminescens* (Tomas & Poinar) dividido en cinco subespecies: *luminescens*, *laumondii*, *akhurstii*, *kayaii* y *thraciaensis*.

2.6.4. Relación y modo de acción simbiote

Cortes (2009) señala que el J1 de *Heterorhabditis* posee la bacteria *Photorhabdus luminescens* (Tomas & Poinar) como bacteria simbiote la cual se

localiza en el esófago y en la porción ventricular del intestino. Asimismo, Poinar (citado por Cortes, 2009) declara que los juveniles infectivos una vez en el hemocele liberan la bacteria simbiote, que coloniza, se propagan rápidamente y matan al hospedero en 48 horas por septicemia letal. Además, los insectos muertos por ese mecanismo presentan una coloración rojo, rojo ladrillo, purpura, rojo carmelita.

Morgan et al. (1997) menciona que la relación existente entre el entomopatógeno y la bacteria constituye un ejemplo clásico de simbiosis, la bacteria es incapaz de sobrevivir en las condiciones ambientales del suelo por lo tanto requiere del juvenil infectivo que actúa como vector y protección, siendo su casa el intestino. Asimismo al carecer de habilidad de invasión es dependiente del nemátodo, para transportarse dentro del hemocele del hospedero, de igual modo recibe la protección del nematodo ya que este inhibe las defensas antibacterianas del hospedero.

Por otro lado los autores Paul et al. (citados por Reyes, 2003) sostienen que: por su parte el nemátodo recibe los beneficios de la bacteria, debido a que ésta produce una toxina que mata al hospedero rápidamente y crea un ambiente favorable para el desarrollo del nematodo al inhibir el crecimiento de microorganismos competidores como bacterias y hongos en el cadáver a través de la producción de antibióticos.

Seguidamente, “los nematodos se alimentan de las células de la bacteria y los productos de los tejidos descompuesto del hospedero que sirven de nutrientes para su reproducción. Por consiguiente, se producen de dos a tres generaciones antes que se desarrollen en juveniles infectivos que emergen del cadáver” (Mayta, 2011).

2.6.5. Ecología de los nematodos entomopatógenos

Los factores bióticos y abióticos ejercen impactos limitantes para su comportamiento, eficacia, dispersión y supervivencia. Por esta razón es importante conocer las distintas interacciones con su medio ambiente.

Factores abióticos

- Temperatura.

“La temperatura tiene efectos profundos sobre los aspectos biológicos de los nematodos entomopatógenos (NEPs) al afectar el desarrollo, la respiración, la sobrevivencia, la dispersión, búsqueda de hospederos e infectividad. El rango de temperatura óptima para la actividad de *Heterorhabditis* es de 20 a 25° C, que es similar a la óptima (24° C) para la actividad de juveniles infecciosos de otros nematodos parásitos” (Griffin citado por Ruiz, 2009).

- Radiación solar

Según Gaugler (citado por Vázquez, 2012) menciona: “Entre los principales factores abióticos que afectan de manera adversa a los nematodos entomopatógenos se encuentra la luz ultravioleta”. Asimismo reporta que cuando expusieron a la luz solar a *S. carpocapsae* Weiser éste fue inactivado con 60 minutos, mientras que *H. bacteriophora* Poinar fue más sensible siendo inactivado con 30 minutos, además señalan que bajo una lámpara de UV simulando la luz de UV de onda larga e intensidad de luz solar los tiempos de inactivación de *S. carpocapsae* Weiser fue de 6 minutos y *H. bacteriophora* Poinar fue de 2 minutos.

- Humedad

Los autores Luc, et al. (citados por Vázquez, 2012) hacen referencia a que los nematodos son organismos esencialmente acuáticos debido a que requieren de una película de agua entre las partículas de suelo para poder movilizarse, por tanto el contenido de agua en el suelo es un factor muy importante e influye en la sobrevivencia de estos organismos. Asimismo Kaya (citado por Mayta, 2011) indica que “en suelos mojados o saturados el movimiento de los nematodos puede ser restringido debido a la poca tensión superficial necesariamente forzosa para el movimiento y desplazamiento de los nemátodos. En suelos secos también pueden ser restringidos, debido a que los nemátodos se vuelven quiescentes a anhidro bióticos”.

- Textura

Reyes (2003), con referencia a la influencia de la textura sobre el desarrollo de los nemátodos entomopatógenos, cita lo siguiente:

“La textura del suelo afecta la movilidad, persistencia e infectividad del nemátodo (Gorgis & Poimar, 1983; Choo & Kaya, 1991) siendo las texturas arenosa y franca la más favorable” (Baker & Capinera, 1997).

En suelos arcillosos, el pequeño diámetro de sus poros (Molyneux & Bedding, 1986) y la reducción de la aireación constituyen los aspectos de mayor influencia en la supervivencia nematodo (Kaya, 1990). Smits (1996) señala que no tan solo se ve afectada la supervivencia del nematodo en los suelos arcillosos sino que también se reduce su efectividad.

- pH del suelo

La sobrevivencia y patogenicidad de los nematodos entomopatógenos disminuye levemente cuando el pH paso de 8 a 4; sin embargo si se vieron afectados cuando fueron probados a pH 10, por lo cual sólo en suelos alcalinos se afecta su acción Kung et al., citado por Gónzales (2006). Asimismo Fischer & Fuher (citados por Parada, 2014) afirman que el parasitismo de *S. kraussei* sobre *Cephalcia abietis* L. (Hymenoptera) puede ser limitado con un pH debajo de 4.

- Aireación del suelo

“El desarrollo, movimiento y reproducción de los nematodos depende de la concentración de oxígeno en el suelo debido a que éstos carecen de órganos respiratorios diferenciados. Los adultos que viven como parásitos intestinales son principalmente anaerobios, en ellos falta el ciclo de Krebs y el sistema de citocromos, pero todos pueden utilizar el oxígeno si está disponible” (Esquivel, 1996).

Factores bióticos

Los nematodos entomopatógenos al igual que todos los organismos tienen enemigos naturales, entre los cuales sobresalen los hongos nematófagos, que llegan a formar parte dentro de una cadena alimenticia (Ruiz, 2009).

Los hongos pueden llegar a atacar de manera rápida a los nematodos, no impide si el nematodo de tercer estado juvenil retiene aún la segunda cutícula del segundo instar, misma que actúa como una barrera contra la invasión de hongos. Entre los hongos nematófagos se encuentran *Hirsutella rhossiliensis*, *Arthrobotrys spp.* Y *Monacrosporium spp.* que infectan o atrapan juveniles infectivos (Kaya & Koppenhofer, citados por Reyes, 2003)

2.6.6. Hospederos de nematodos entomopatógenos

“Los nematodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* habitan exclusivamente en el suelo y actúan eficazmente debido a que las bacterias simbióticas matan a los insectos rápidamente, no existe una íntima relación entre el huésped y el parásito. En consecuencia, los nematodos entomopatógenos son letales para un amplio rango de hospederos” (Nicholls, 2008).

Una característica del género *Heterorhabditis* descrita por Poinar GO (2012) fue su capacidad para emitir fluorescencias, tanto que todo el cadáver de un insecto infectado brillaba en la oscuridad una bacteria luminiscente en donde la polilla de la cera que brillaba en la oscuridad después de haber sido infectados con *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar.

Akhurst & Smith (citado por Campos, 2015) Estudios a campo y en laboratorio mostraron que insectos de 17 órdenes y 135 Familias son susceptibles en algún grado a estos nematodos.

- Lepidópteros

En una investigación desarrollada por Sáenz & López (2011) nos muestra a *Heterorhabditis sp.* como controlador de *Galleria mellonella* Linnaeus

(Lepidoptera: *Pyrilidae*) matándolas entre 24 y 72 horas después de haberlas expuesto a dicho nematodo entomopatógeno.

De la misma manera podemos encontrar otras plagas de importancia económica controladas por mencionado entomopatógeno como nos señala la investigación realizada por Molina (2007) donde estudia a dos géneros de nematodos entomopatógenos *Rhabditis* y *Heterorhabditis*, tomando como experimento las larvas de *Spodoptera frugiperda* Walker, *Diaphania hyalinata* y *Plutella xylostella* Linnaeus donde se comprueba que su efectividad como controladores biológicos potenciales para larvas de *Spodoptera frugiperda* Walker, *Diaphania hyalinata* Linnaeus y *Plutella xylostella* Linnaeus; en donde cabe señalar que el género *Heterorhabditis* controló *Spodoptera frugiperda* Walker en menor tiempo que el género *Rhabditis*.

- Coleópteros

En un ensayo realizado por Morton (2009) comprobó la eficacia de los nematodos entomopatógenos sobre las larvas de *Capnodis tenebrionis* Linnaeus, pues después de penetrar en la raíz de la planta muestra son capaces de entrar por las galerías realizadas por las larvas asimismo, localizarlas y parasitarlas.

- Dípteros

Pacheco (2014) en su ensayo de patogenicidad con *Heterorhabditis sp.* (Nativo), observó que en larvas de ultimo estadio y pupas de la plaga del tomate *Prodiplosis longifila* Gagné presentó una elevada patogenicidad, en larvas concentración letal medio (CLso) fue 108,466 nematodos a 24 horas y 33,767 nematodos a 48 horas. En las pupas la concentración letal medio (CLso) fue 153,064 nematodos a 24 horas y 46,87 nematodos a 48 horas. Es importante señalar que en el caso de las larvas estas presentaron una forma de resistencia denominada "salto larval". Siendo este es el primer reporte sobre el "salto larval" observado como una posible forma de resistencia cuando se ve amenazada por un nematodo entomopatógeno.

2.6.7. La familia Heterorhabditidae.

- Características.

La especie más importante de ésta familia es *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, que puede ser tan efectivo contra el complejo gallina ciega como los insecticidas sintéticos.

“Son patógenos obligados que matan a su hospedante. Desarrollan dos generaciones en el insecto. Son hermafroditas en la primera generación y

anfimícticas en la segunda generación (participación de machos y hembras). En los infectivos juveniles, el poro excretor está localizado posterior al anillo nervioso. Los machos presentan bursan tienen espículas apareadas y separadas, tienen nueve pares de papilas genitales y gubernáculo presente. Tienen seis labios que pueden estar parcialmente fusionados en la base y cada labio con un única papila labial. Ellos presentan una asociación mutualista con la bacteria *Photorhabdus luminescens*. Tienen la capacidad de parasitar la mayoría de órdenes y familias de insectos, pueden ser cultivados in vivo o in vitro en forma masiva sobre medios artificiales y los estadios infectivos (J3) pueden ser almacenados por mucho tiempo, conservando su capacidad infectiva” (Carballo & Guharay, 2004)

- Ciclo de vida

Según Bengonchea, Garzón & Hiernaux (2014) su ciclo de vida es muy parecido a los *Steinernematidae*, con la diferencia de que los adultos que provienen de las formas infectivas (J3) son hermafroditas. Por tanto, simplemente con que penetre una forma juvenil es suficiente para producir su descendencia. Solamente las hembras hermafroditas entran al insecto hospedante.

“Los huevos puestos por los hermafroditas producen juveniles que producen machos y hembras o infectivos juveniles de la segunda generación. Los machos y las hembras copulan y producen huevos que emergen y producen infectivos

juveniles. Presentan cuatro estadios juveniles separados entre sí por mudas” (Bengonchea, Garzón & Hiernaux, 2014)

- Modo de ingreso al hospedero

Morton (2009) “los juveniles infectivos entran al hospedero a través de las aberturas naturales (boca, ano o espiráculos) llegando hasta el hemocele a través de la pared intestinal. A diferencia de los *Steinernematidae*, los *Heterorhabditidae* poseen un diente con el cual ellos también pueden penetrar directamente a través de las zonas membranas intersegmentadas de la cutícula de los insectos. Las larvas infectivas son atraídas a los insectos siguiendo una gradiente de dióxido de carbono”.

- Modo de acción

Carballo & Guharay (citados por Angulo, 2015) nos menciona que “el Juvenil infectivo (J1) transporta la bacteria *Xenorhabdus sp.* en la porción ventricular de su intestino. Después de que el nematodo ha alcanzado el hemocele, la bacteria es liberada dentro de la hemolinfa donde se propaga. Esta causa la muerte del hospedante por septicemia dentro de las 48 horas, principalmente porque al multiplicarse producen enzimas proteolíticas (destructoras de proteínas). El nematodo se nutre de la bacteria asimismo, de los tejidos del hospedero. Las mencionadas bacterias y sus subproductos proporcionan al nematodo los elementos

necesarios para su desarrollo, primordialmente para su sistema reproductor. La bacteria depende totalmente de los nematodos para poder llegar a la hemolinfa y parasitar los insectos. Cuando el nematodo se encuentra dentro del insecto, este inhibe sus defensas antibacterianas. La bacteria fabrica una toxina que da muerte al insecto y produce antibióticos que impide el desarrollo de otras bacterias contaminantes”.

- Sintomatología

“Los cadáveres producto de la infección presentan color rojo, rojo ladrillo, púrpura, naranja o en ocasiones verde; asimismo, estos cadáveres presentan luminiscencia en la oscuridad” (Carballo & Guharay, 2004).

- Toxicidad para otros organismos

Todas las evidencias indican que los nematodos benéficos y las bacterias asociadas a ellos, no tienen impacto negativo sobre los otros organismos del suelo que no sean plagas es decir, es selectivo. (Carballo & Guharay, 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

Los materiales utilizados para el desarrollo de ésta investigación fueron:

a. Material biológico

- Larvas de III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).
- Juveniles infectivos (JIs) del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.*

b. Materiales

- Placas Petri de Vidrio
- Placas Petri de plástico
- Placas cuadrículadas
- Macetas de plástico de ½ kg
- Mallas de plástico de 0.1 cm² de abertura
- Cuchillos
- Pera de succión
- Pizeta
- Pinzas

- Bisturí
- Mango para bisturí
- Pipeta de 10 ml
- Pipeta de 1 ml
- Micropipeta de 0.5 ul a 10 ul
- Puntas de plástico para micropipeta
- Vaso de precipitación
- Mortero
- Tamizador de 250 μm
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Aspersores
- Lupas 30 X
- Bolsas de plástico
- Recipientes de vidrio
- Hilo pabilo
- Tijeras
- Silicona líquida
- Papel toalla
- Cinta masking
- Contometro
- Alcohol 96°
- Guantes quirúrgicos

- Tapabocas
- Hojas bond
- Marcador indeleble
- Marcador tinta seca
- Calculadora
- Cuaderno de apuntes

c. Equipos

Los equipos utilizados para el desarrollo de esta investigación fueron:

- Estufa
- Autoclave
- Balanza analítica
- Termohigrómetro digital
- Estereoscopio binocular de 40X-1000X
- Computador personal (Laptop).

d. Insumos

Los insumos utilizados para el desarrollo de esta investigación fueron:

- Frutos de: pomarrosa, ají escabeche y mango

- Arena
- Humus de lombriz
- Agua destilada

2.2. Características del área experimental

2.2.1. Tamaño de la Muestra

El tamaño de la muestra del experimento presenta las siguientes características:

Cuadro 3: Tamaño de la muestra

Número de repeticiones	4
Número de tratamientos	3
Tratamiento control	1
Número de unidades experimentales	16
Número de larvas por tratamiento	15
Número de larvas totales en el ensayo	240

FUENTE: Elaboración Propia

Cuadro 4: Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Concentración
T ₀	0 Jls/1ml
T ₁	3000 Jls/1ml
T ₂	5000 Jls/1ml
T ₃	7000 Jls/1ml

FUENTE: Elaboración Propia

Cuadro 5: Croquis del área experimental

Repeticiones	Tratamientos			
I	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
II	T ₂	T ₃	T ₁	T ₀
III	T ₃	T ₂	T ₀	T ₁
IV	T ₁	T ₀	T ₃	T ₂

FUENTE: Elaboración propia.

2.3. Metodología

2.3.1. Ubicación del experimento

El estudio se realizó en el laboratorio de Biología y ecología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa, ubicada en la Av. Universitaria s/n en Nuevo Chimbote, Santa – Ancash, Perú con una temperatura media de 25 ± 2 °C y humedad relativa de 67 ± 2 %, durante el periodo comprendido entre los meses de Diciembre a Febrero del 2019.

2.3.2. Obtención del material biológico.

a. Larvas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

- Recolección de frutos infestados

Las larvas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) fueron obtenidas de frutos infestados, para lo cual se siguieron los procedimientos de recolección establecidos en el Manual del Sistema Nacional de Vigilancia de Moscas de la fruta del Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA (2007), que consistió en la recolección de frutos maduros que observados con lupa de 30 X presentaban posturas de mosca de la fruta extraídos de los campos de cultivos de pomarroza, ají escabeche y mango ubicados en el valle del Santa,

estos frutos fueron llenados en bolsa plástica para después ser llevadas al laboratorio N°3 de Biología y Ecología de la Facultad de Ciencias de la UNS.

- Separación, determinación y contabilización de larvas

Los frutos maduros infestados fueron disectados con un cuchillo separando con pinzas las larvas de la pulpa de la fruta, luego se determinó a través del estereoscopio los especímenes de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) siguiendo las características morfológicas descritas por el SENASA (2015) los espiráculos posteriores son color marrón ubicados en el último segmento abdominal más cerca de la región dorsal al ras del cuerpo (no hay "tubos de escape") y los saltos característicos del III estadio donde arquea el cuerpo y de esta posición da un salto *Ceratitis capitata* Wied. Después se procedió a colocar en Placas petri la cantidad de 15 larvas de III estadio para ser lavadas despojando de su cuerpo resto de fruta para su posterior distribución por tratamiento.

b. Nematodos entomopatógenos juveniles.

- Obtención de nematodos.

Los nematodos fueron obtenidos de larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus infectadas con el nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* a través de la Sub Dirección de Control Biológico (SDCB-SENASA SEDE ATE, Lima).

Las larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus fueron colocadas en trampas White para separar los nematodos de su interior. Éstas trampas White fueron adaptadas por Woodring y Kaya (citado por Reyes, 2003), y consistieron en 2 tapas de placa Petri una de 5.3 cm de diámetro invertida sobre la otra de 9.2 cm a las que se colocaron encima una doble de pieza de papel filtro húmeda vertiendo agua destilada en la placa de mayor diámetro evitando que entre en contacto con la superficie de la placa de menor diámetro donde se ubicaron las 3 larvas infectadas.

Posteriormente fueron colocadas en depósitos de plástico de 0.5 L de capacidad con medidas 10x10x6 cm de largo, ancho y alto respectivamente, las cuales se cubrieron con una tapa de plástico la cual tenía una abertura central de 7 cm² cubierta con malla de plástico de 0.1 cm² de abertura para facilitar el intercambio gaseoso y prevenir la entrada de insectos a las trampas. Asimismo, las trampas se incubaron a 25±2 °C siguiendo la metodología de Woodring y Kaya (citado por Reyes, 2003).

La cosecha de los nematodos se ejecutó cada 24 horas (tres cosechas como máximo), a partir de que los juveniles infectivos empezaran a emerger del cadáver de la larva de *Galleria mellonella* Linnaeus, se cosechó y almacenó la solución con nematodos en un vaso precipitado y se añadió agua destilada utilizando una pizeta con el fin de regular la concentración y facilitar el conteo.

- Contabilización de nematodos

Para la contabilización de los nematodos se utilizó el método de la dilución volumétrica (Leucoma, citado por Mayta, 2008). Donde, empleando una micropipeta de 10 ul se extrajo de la solución del vaso precipitado cinco micro gotas que fueron colocadas en una placa Petri de plástico cuadrículada, en la que se contó el número de nematodos viables usando un Estereoscopio binocular de 40X-1000X y un contómetro para mayor precisión.

Para determinar las concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* por mililitro a extraer de la solución y proporcionarla por cada tratamiento: 0 (control), 3000, 5000 y 7000 juveniles infectivos, se hizo uso de la fórmula utilizada por Quinteros (2003) y recomendadas por la SDCB – SENASA, Lima; que se especifica a continuación:

$$X = \left(\frac{b * 10 \text{ ul}}{a} \right) * c$$

Donde:

a = Número de nematodos promedio en 10 ul.

b = Número de nematodos deseado según tratamiento (concentración).

$$c = \frac{1ml}{1000 \text{ ul}}, \text{ factor de conversión de ul a ml}$$

X = Volumen restante del mililitro que le corresponde a cada tratamiento.

Luego, a cada concentración del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* sp. contenidos en un 1ml se diluyó en 9.0 ml de agua destilada formando una nueva dilución de 10 ml (1 en 9) aplicable según a cada uno de los tratamientos.

2.3.3. Sustrato de los tratamientos.

- Procedencia del sustrato

El sustrato empleado fue arena y humus a una proporción 2:1 (arena: humus), la arena utilizada fue recogida del subsector La Carbonera perteneciente al Valle del santa y el humus utilizado fue de la marca: 4 estaciones.

El sustrato utilizado fue llevado al laboratorio de suelos de la UNALM para conocer su caracterización, el resultado se puede observar en el anexo 21.

- Tamización y esterilización

Para separar la arena de partículas grandes e inertes que no correspondan a éstas, se usó un tamizador de 250 μm (0,25 mm). De la arena tamizada se necesitó

la cantidad de 2.7 kg para ser distribuida en los tratamientos. En cuanto al humus, antes de ser disgregado con un mortero y tamizado por su procedencia húmeda pasó por un proceso de secado a estufa a una temperatura de 120° C por 3 horas, siendo 1.3 kg la cantidad a utilizar de humus tamizado.

Se esterilizó la arena y el humus utilizando la autoclave sometiéndolas a una temperatura de 120 ° C por 3 horas (Recomendación del personal de laboratorio de la facultad de Ciencias – UNS), con la finalidad de asegurar la no existencia de otros agentes patógenos que influyan en la investigación.

- Macetas de plástico

Para evaluar el efecto del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* en larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann), se empleó la metodología de Lindegren & Vail (1986) y Lezama et al. (1996) utilizando como unidad experimental macetas de plástico con capacidad de ½ L con las características descritas en la elaboración de la protección de las trampas White a fin facilitar el intercambio gaseoso y prevenir la entrada de insectos.

El sustrato tamizado y esterilizado se colocó en las macetas de plástico a una proporción de 250 g/maceta, agregando un volumen de agua destilada para completar la capacidad de campo del sustrato (25 % de humedad). Asimismo, se

observó diariamente la humedad del sustrato manteniéndolo en capacidad de campo y se tomó lectura de la T° y HR con un termohigrómetro digital.

El método para determinar la capacidad de campo fue el empleado por García, Puppo, Hayash & Morales (s.f.) que consistió en colocar el sustrato a una estufa con una temperatura constante de 105° C empleando la siguiente fórmula:

$$CC = \frac{(Psh - Pss)}{Pss} * 100$$

Donde:

Psh= Peso suelo húmedo.

Pss= Peso suelo seco.

2.3.4. Inoculación del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.*

Se incorporaron por cada maceta 15 larvas del III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann). Luego, a cada maceta según el tratamiento que le correspondía se le inoculó las concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* contenidos en los 10 ml de la nueva dilución y se distribuyó homogéneamente por todo el sustrato que contenía las larvas de *C. capitata* Wied. usando un aspersor; al tratamiento control solo se agregó agua

destilada siguiendo la metodología planteada por Lezama et al. (1996). Las macetas fueron cubiertas con las tapas de plástico a una temperatura ambiente de 25 ± 2 °C.

2.3.5. Evaluación de la mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann)

Se utilizó la metodología de Castellón, Gonzáles & Pozo (2014) para evaluar la mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) causada por las distintas concentraciones de juveniles infectivos del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.*, consiguiendo al final del experimento el número acumulado de individuos muertos en 3 días de evaluación.

Esta metodología consistió en transferir a trampas white a los individuos que presentaron sintomatología a los 9, 12 y 15 ddi, para evaluar a las 24 horas después de la transferencia (10, 13 y 16 ddi) la emergencia de los nematodos juveniles infectivos, confirmando así la mortandad de larva y pupas a causa de éstos.

Los días de evaluación fueron designados de acuerdo a los días evaluados por Reyes (2013) y Castellón, Gonzáles & Pozo (2014), asimismo considerando el tiempo en que *Ceratitis capitata* Wiedemann necesita para completar la fase de pupa; comprendida entre 9 a 15 días según SENASA (2001).

- Primera Evaluación

A los 9 ddi se separó con pinzas todas las larvas y pupas del sustrato de cada tratamiento colocándolas en placas Petri y observándolas al estereoscopio para evidenciar si existe o no parasitismo.

Se consideró que las larvas y pupas que presentaron una apariencia flácida y coloración rojo ladrillo, naranja y en ocasiones verdes; color producido por los heterorhabditidos (Kaya, citado por Reyes, 2003), estaban infectadas.

Después de la separación, las larvas y pupas fueron colocadas en trampas White por un periodo de 24 horas (10 ddi) para corroborar la presencia de juveniles de *Heterorhabditis sp.*

De las pupas que no emergieron nematodos a los 10 ddi, se consideraron como no infectadas en ese tiempo y se colocaron en sus respectivas macetas de plástico donde se mantuvieron por 3 días más para volver a ser evaluadas.

- Segunda Evaluación

Se realizó la separación de larvas y pupas a los 12 ddi siguiendo el mismo procedimiento de la primera evaluación para evidenciar si existe o no parasitismo. Se corroboró a las 24 horas (13 ddi) la presencia de juveniles del nematodo

entomopatógeno *Heterorhabditis sp* continuando la metodología anteriormente mencionada.

- Tercera Evaluación

Se realizó la separación de larvas y pupas a los 15 ddi siguiendo el mismo procedimiento de la primera y segunda evaluación para evidenciar si existe o no parasitismo. Se corroboró a las 24 horas (16 ddi) la presencia de juveniles del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp* continuando la metodología anteriormente mencionada.

Finalmente, se disectó con ayuda de una pinza y un bisturí las pupas que no exhibieron los síntomas anteriormente citados y se observaron en el estereoscopio para confirmar la presencia o no de nematodos.

a. Número de larvas y pupas infectadas

- Porcentaje de mortalidad

El porcentaje de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) que presentaron mortandad se determinó empleando la fórmula desarrollada por Duso et al. (citado por Barrera, et al., 2013):

$$\% M = \frac{NMF}{NVI} * 100$$

Donde;

% M = Porcentaje de mortalidad del tratamiento

NMF = Número de individuos muertos al final del tratamiento

NVI = Número de individuos vivos antes del tratamiento

2.3.6. Conteo de nematodos por larva y pupa infectada

Para determinar la intensidad de la infección (número de nematodos entomopatógenos por larva y pupa) de cada muestra sometida a algún tratamiento se utilizó el mismo procedimiento descrito para la contabilización de nematodos en larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus. Seleccionando al azar 3 larvas y/o pupas de *Ceratitis capitata* Wiedemann infectadas de las trampas White instaladas para la evaluación de mortandad, se procedió a contar el número de nematodos emergidos de cada individuo previamente disectado a fin de asegurar la emergencia de todos los nematodos del cuerpo de la larva.

2.3.7. Análisis de datos

Los datos se registraron en formatos propiamente elaborados en el programa Excel y utilizando el software IBM SPSS Statistics versión 25 fueron sometidos a un análisis de varianza ANOVA usando la prueba de comparaciones múltiples

Duncan con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ para determinar diferencias estadísticas entre tratamientos sobre el porcentaje de mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann)

Modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$i = 1,2,3,4$ tratamientos: Representan las 3 concentraciones de Nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* más el testigo.

$j = 1,2,3,4$ repeticiones

Y_{ij} = Número de larvas y pupas (15) en la ij – ésima unidad experimental

μ = media general del número de larvas y pupas

τ_i = efecto del i – ésimo tratamiento en el número de larvas y pupas

ε_{ij} = error experimental asociado a la ij - ésima unidad experimental

Para determinar las concentraciones letales (CL50 y CL90) en larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann), los porcentajes de mortalidad obtenidos por tratamiento fueron corregidos por la fórmula de Abbott citado por Estay (2015) y seguidamente se sometieron a un análisis Probit utilizando el software STATGRAPHICS. La fórmula de Abbott utilizada para determinar la mortandad corregida se detalla a continuación:

Mortalidad corregida % =

$$MC = \frac{\% \text{ Mortalidad del tratamiento} - \% \text{ Mortalidad del testigo}}{100 - \% \text{ Mortalidad del testigo}} \times 100$$

Asimismo, se procesó los datos del número de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* que emergieron de cada individuo por tratamiento en el formato elaborado en Excel y se calculó el promedio de nematodos en larva y pupa.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Número promedio de larvas y pupas muertas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en las diferentes concentraciones de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* sp.

La mortandad a nivel de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) se produjo en las diferentes concentraciones de 3000, 5000 y 7000 JIs/1ml de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* sp. aplicadas; lo que demuestra la capacidad del nematodo para causar mortalidad en larvas de tercer estadio de mencionada especie. Éstos resultados coinciden con la investigación desarrollada por Reyes (2003) quien determinó el efecto de las diferentes concentraciones de 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 y 6000 del nematodo entomopatógeno *H. indica* sobre *Anastrepha ludens* loew, concluyó también que todas las concentraciones ocasionaban mortandad en larvas y pupas. De la misma manera en el trabajo desarrollado en condiciones de laboratorio por Toledo, Pérez, Liedo & Ibarra (2005) al analizar la susceptibilidad de las larvas de *A. obliqua* al nematodo *H. bacteriophora* comprobando su capacidad para infectar y matar.

Cuadro 6: Número promedio de individuos muertos por tratamiento en cada repetición.

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
REPETICION 1	1	7	9	11
REPETICION 2	1	8	10	11
REPETICION 3	0	7	10	12
REPETICION 4	1	7	10	12
TOTAL	3	29	39	46
PROMEDIO	0.75	7.25	9.75	11.5

<<Continuación>>

FUENTE: Elaboración propia

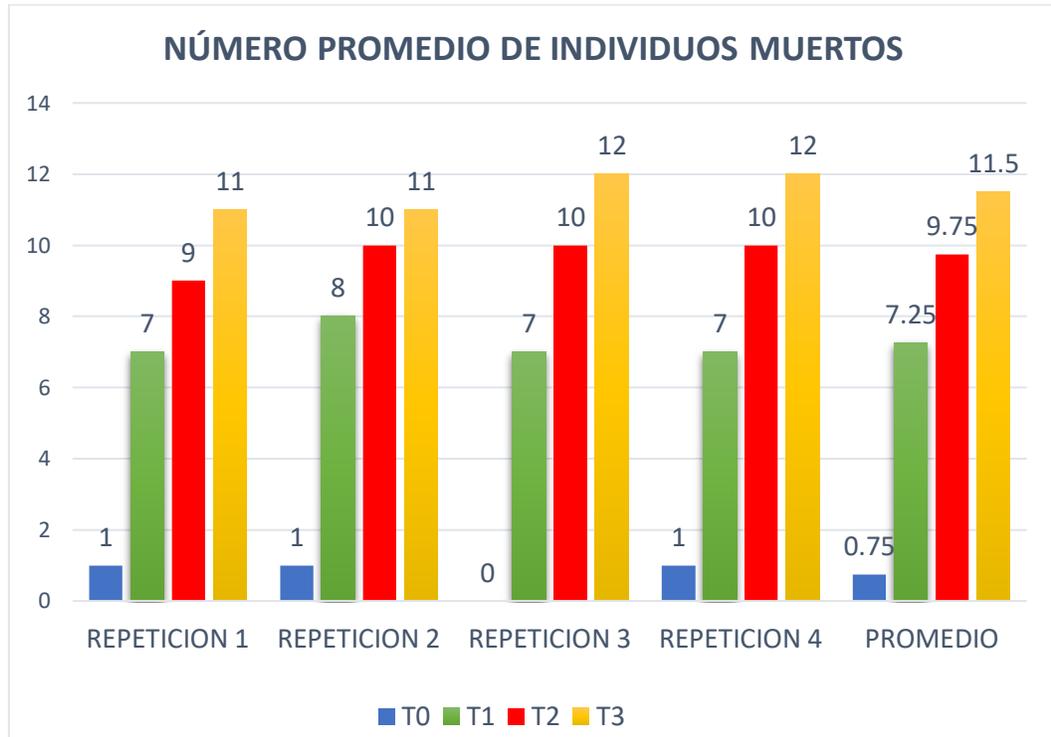


Figura 2: Número promedio de larvas y pupas muertas por tratamiento en cada repetición

FUENTE: Elaboración propia

El Cuadro 6 y Figura 2 muestran el número promedio de larvas y pupas de *C. capitata* Wied. muertas por cada repetición, a causa de la infección de las concentraciones que se incluyen los tratamientos T₀, T₁, T₂ y T₃; se observa que el tratamiento T₃ (7000 JIs/1ml) representa la máxima cantidad de individuos muertos con un promedio de 11.5; seguido del tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml) con un promedio de 9.75 larvas y pupas muertas de *C. capitata* Wied.; además se muestra los resultados del tratamiento T₁ (3000 JIs/1ml) con un promedio de 7.25; finalmente, el tratamiento T₀ (Testigo) con un promedio de 0.75 individuos con muerte natural.

La mortandad promedio de larvas y pupas sometidas a los tratamientos: T₁, T₂ y T₃ fue de 28.5, lo que se fundamenta con lo citado por García del Pino (1994) quien concierne que la infectividad se potencia debido a que el nematodo puede superar las defensas del insecto ya que la superficie del nematodo tiene una proteína que suprime la respuesta inmune de su huésped.

Los individuos que lograron sobrevivir a las concentraciones alcanzaron completar su ciclo transformándose en adultos. Lo que se contrarresta con el enunciado de Wang y Gaugler, citado por García del Pino, (1994), quienes mencionan que: los insectos pueden usar proteínas antibacteriales, para inactivar la acción de los nematodos.

4.2 Porcentaje de mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

Cuadro 7: Porcentaje de mortandad

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
REPETICION 1	6.7 %	46.7 %	60.0 %	73.3 %
REPETICION 2	6.7 %	53.3 %	66.7 %	73.3 %
REPETICION 3	0.0 %	46.7 %	66.7 %	80.0 %
REPETICION 4	6.7 %	46.7 %	66.7 %	80.0 %
PROMEDIO	5.0 %	48.3 %	65.0 %	76.7 %

FUENTE: Elaboración propia

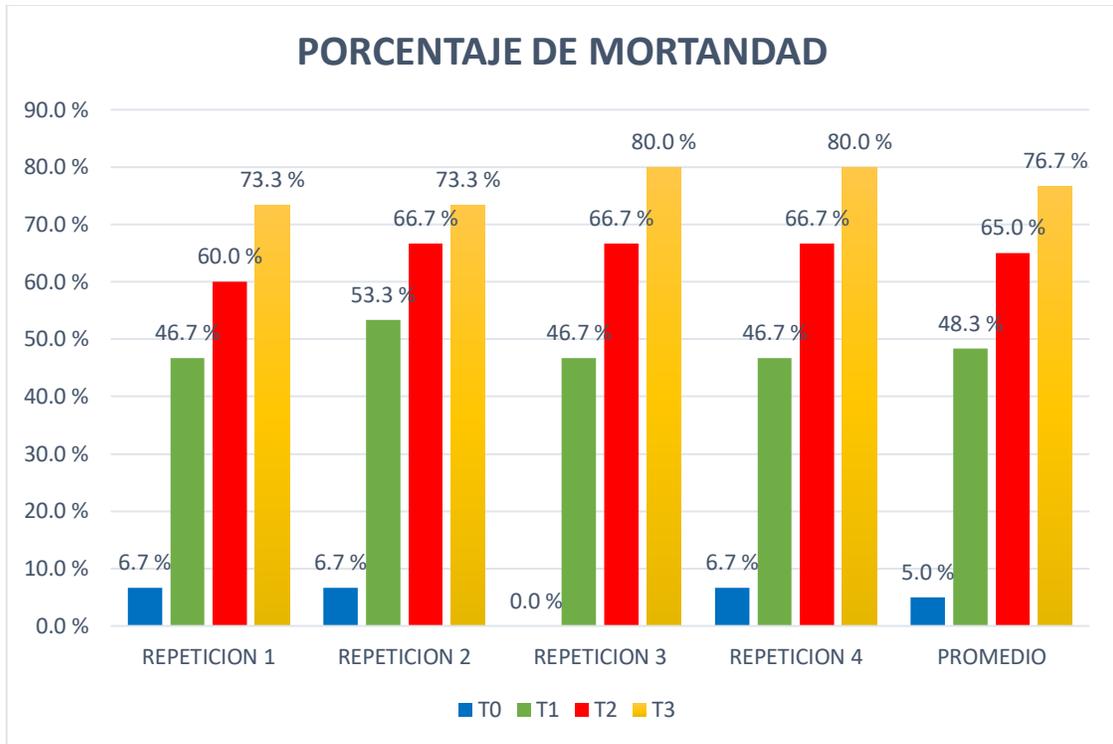


Figura 3: Porcentaje de mortandad por tratamiento en cada repetición

FUENTE: Elaboración propia

El Cuadro 7 muestra el porcentaje promedio de mortandad en larvas y pupas de *C. capitata* Wied., donde se puede observar que los mayores porcentajes de mortandad lo produjeron los tratamiento: T₃ y T₂, representados por las concentraciones más altas de 7000 JIs/1ml y 5000 JIs/1ml con un promedio de 76.7% y 65.0 % y respectivamente, seguidamente se encuentra el T₁ con 3000 JIs/1ml causando un porcentaje de mortandad promedio de 48.3 %, finalmente se observa un porcentaje promedio de mortandad en el T₀ representado con el 5.0 %. De éste modo se puede afirmar que los porcentajes de mortalidad mostraron una tendencia a incrementar a medida en que las concentraciones aumentaron.

ANALISIS DE VARIANZA

Cuadro 8: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (Ceratitis capitata Wiedemann).

ANOVA					
MORTANDAD					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	11821,283	3	3940,428	326,341	,000
Error Experimental	144,895	12	12,075		
Total	11966,178	15			

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

En el Cuadro 8 de análisis de varianza (ANOVA) se observa un estadístico de prueba $F= 326,341$, el mismo que ha dado una significancia $\rho = 0,000$ siendo inferior al nivel de significancia $\alpha=0,05$, lo que indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos.

PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES

Cuadro 9: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (Ceratitis capitata Wiedemann).

MORTANDAD					
Duncan ^a					
TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T ₀	4	5,0250			
T ₁	4		48,3500		
T ₂	4			65,0250	
T ₃	4				76,6500
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

<<Continuación>>

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

El cuadro 9 indica las diferencias significativas en los tratamientos encontrados al realizar la prueba de comparaciones múltiples mediante Duncan, se observa que los 3 tratamientos mantienen diferencias estadísticas, donde el tratamiento T₃ (7000 JIs/1ml) supera estadísticamente en control a los tratamientos T₂ (5000 JIs/1ml) y T₁, (3000 JIs/1ml) por lo tanto se resuelve que el T₃ (7000 JIs/1ml) genera un mayor porcentaje promedio de mortandad en larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

4.3 Porcentaje de mortandad en estadio (larva y pupa) de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

Cuadro 10: Número total de larvas y pupas muertas por tratamientos

ESTADIO	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	TOTAL
LARVA	3	11	17	22	53
PUPA	0	18	22	24	64

FUENTE: Elaboración propia

Cuadro 11: Promedio de larvas y pupas muertas por tratamiento

ESTADIO	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
LARVA	0.75	2.75	4.25	5.50
PUPA	0.00	4.50	5.50	6.00

FUENTE: Elaboración propia

Cuadro 12: Porcentaje de mortandad total en larvas y pupas

ESTADIO	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	TOTAL
LARVA	2.6 %	9.4 %	14.5 %	18.8 %	42.74 %
PUPA	0.0 %	15.4 %	18.8 %	20.5 %	54.70 %

FUENTE: Elaboración propia

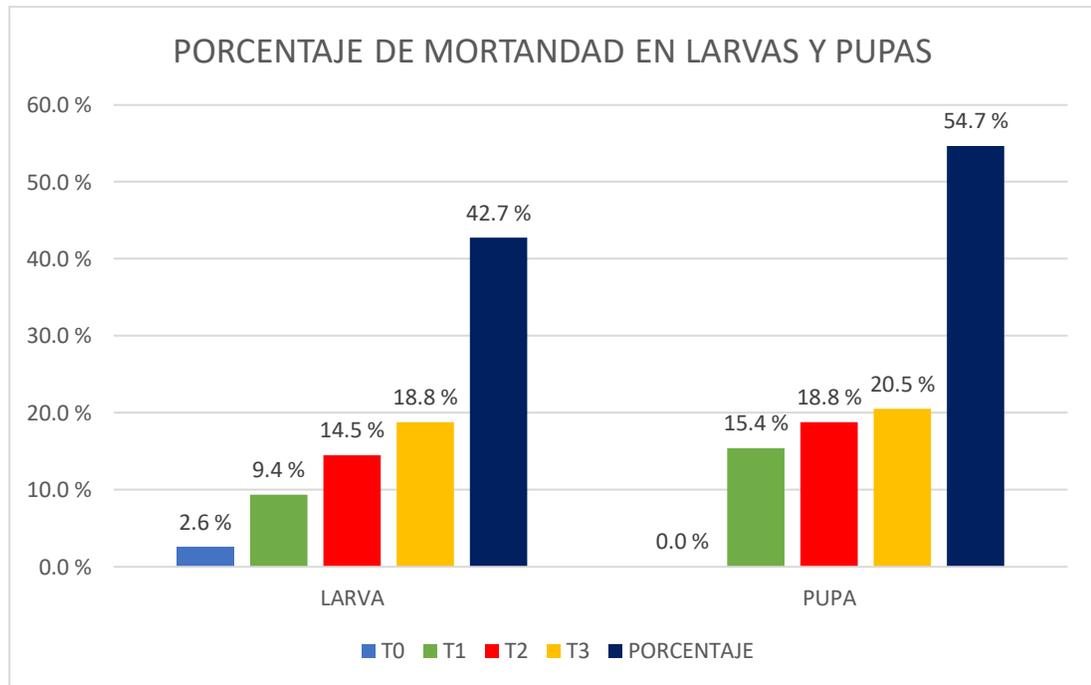


Figura 4: Porcentaje de mortandad total de larvas y pupas

FUENTE: Elaboración propia

En el Cuadro 12 y Figura 4 se observa el porcentaje de mortandad total para cada estadio (larvas y pupas) a causa del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* en distintas concentraciones representados en los tratamientos; donde el mayor porcentaje de mortandad se obtuvo en estadio de pupa con un 54,7 %, a diferencia del porcentaje de mortandad en estadio larva con un de 42.7% a nivel de todos los tratamientos.

El alto porcentaje de mortandad del promedio de individuos de *C. capitata* en estado pupa (54,7%) a causa de la infección del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* se puede deber porque se emplearon larvas del tercer estadio iniciales y tardías, estando éstas últimas más próximas a empupar que las primeras por lo que se puede afirmar que si bien la patogenicidad se manifestó en estado pupa, la infectividad se produjo en estadio de larva. Esto se relaciona con lo experimentado por Toledo, Pérez, Pablo, & Jorge (2005) quienes determinaron que las larvas de tercer estadio en edad inicial de *A. obliqua* eran más susceptible al nematodo *H. bacteriophora* que las larvas tardía, esto se debía a que éstas últimas se transformaron en pupas en menor de tiempo y, una vez que ha ocurrido el proceso de pupación; a pesar que el pupario posee espiráculos, éste actúa como una barrera que impide de alguna manera la penetración de los nematodos, pero finalmente los nematodos habían logrado infectarlas.

PORCENTAJE DE MORTANDAD EN LARVAS

Cuadro 13: Número de larvas muertas por tratamiento en cada repetición

NÚMERO DE LARVAS MUERTAS				
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
REPETICION 1	1	3	4	6
REPETICION 2	1	3	5	4
REPETICION 3	0	3	3	5
REPETICION 4	1	2	5	7
TOTAL	3	11	17	22

FUENTE: Elaboración propia

Cuadro 14: Porcentaje de mortandad en larvas por tratamiento en cada repetición

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
REPETICION 1	6.7 %	20.0 %	26.7 %	40.0 %
REPETICION 2	6.7 %	20.0 %	33.3 %	26.7 %
REPETICION 3	0.0 %	20.0 %	20.0 %	33.3 %
REPETICION 4	6.7 %	13.3 %	33.3 %	46.7 %
PROMEDIO	5.0 %	18.3 %	28.3 %	36.7 %

FUENTE: Elaboración propia

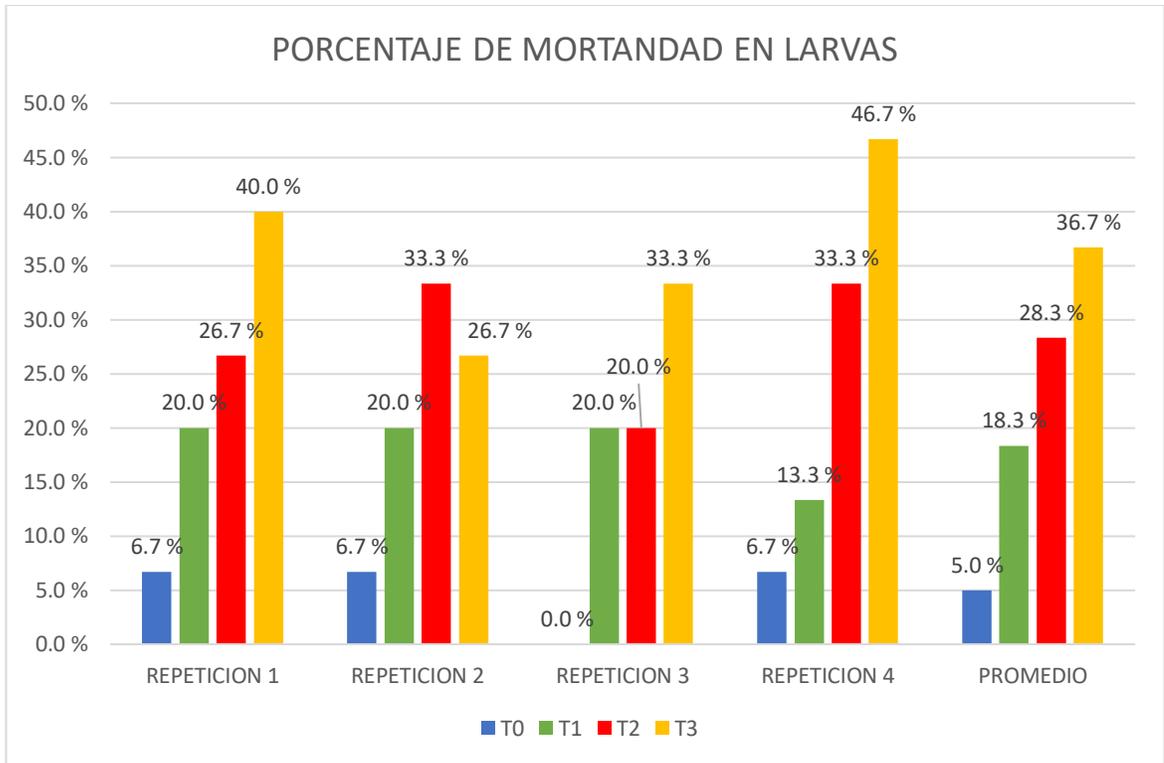


Figura 5: Porcentaje de mortandad en larvas por tratamiento en cada repetición

FUENTE: Elaboración propia

El porcentaje de mortandad más alto a nivel de larva lo representa el tratamiento T₃ (7000 JIs/1ml) con un 36.7 %, seguido del tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml) con un 28.3% de mortandad. Por último, el menor porcentaje de mortandad respecto a las concentraciones de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* lo representó el T₁ (3000 JIs/1ml) con 18.3 %. Lo que se interpreta que con la concentración más alta se obtuvo el mayor porcentaje de mortandad sobre larvas de *C. capitata* Wied. (Cuadro 14 y Figura 5).

ANÁLISIS DE VARIANZA

Cuadro 15: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de mortandad de larvas de la mosca mediterránea de la fruta (Ceratitis capitata Wiedemann).

ANOVA					
MORTANDAD					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	2227,947	3	742,649	21,671	,000
Error experimental	411,230	12	34,269		
Total	2639,178	15			

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Se puede observar en el Cuadro 15 de análisis de varianza (ANOVA) un estadístico de prueba $F= 21,671$, con una significancia $\rho = 0,000$, la que es inferior al nivel de significancia $\alpha=0,05$. De tal modo se afirma que existe diferencia estadística entre los tratamientos.

PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES

Cuadro 16: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de larvas de la mosca mediterránea de la fruta (Ceratitis capitata Wiedemann).

MORTANDAD				
Duncan ^a				
TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
T ₀	4	5,0250		
T ₁	4		18,3250	

<<Continuación>>

T ₂	4			28,3250
T ₃	4			36,6750
Sig.		1,000	1,000	,067

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Al realizar las comparaciones múltiples mediante la prueba de Duncan indicado en el Cuadro 16 se ha determinado que el tratamiento T₃ (7000 JIs/1ml) supera estadísticamente al tratamiento T₁ (3000 JIs/1ml), pero no muestra diferencia significativa con el tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml), sin embargo numéricamente el tratamiento T₃ (7000 JIs/1ml) muestra mayor porcentaje de mortandad que el tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml). Además se observa que el tratamiento T₁ (3000 JIs/1ml) es diferente del tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml). Por ende, se puede recomendar el T₃ (7000 JIs/1ml) para control de larvas de III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

PORCENTAJE DE MORTANDAD EN PUPAS

Cuadro 17: Número de pupas muertas por tratamiento en cada repetición

MORTANDAD EN PUPAS				
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
REPETICION 1	0	4	5	5
REPETICION 2	0	5	5	7
REPETICION 3	0	4	7	7
REPETICION 4	0	5	5	5
TOTAL	0	18	22	24

FUENTE: Elaboración propia

Cuadro 18: Porcentaje de mortandad en pupas por tratamiento en cada repetición

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
REPETICION 1	0.0 %	26.7 %	33.3 %	33.3 %
REPETICION 2	0.0 %	33.3 %	33.3 %	46.7 %
REPETICION 3	0.0 %	26.7 %	46.7 %	46.7 %
REPETICION 4	0.0 %	33.3 %	33.3 %	33.3 %
PROMEDIO	0.0 %	30.0 %	36.7 %	40.0 %

FUENTE: Elaboración propia

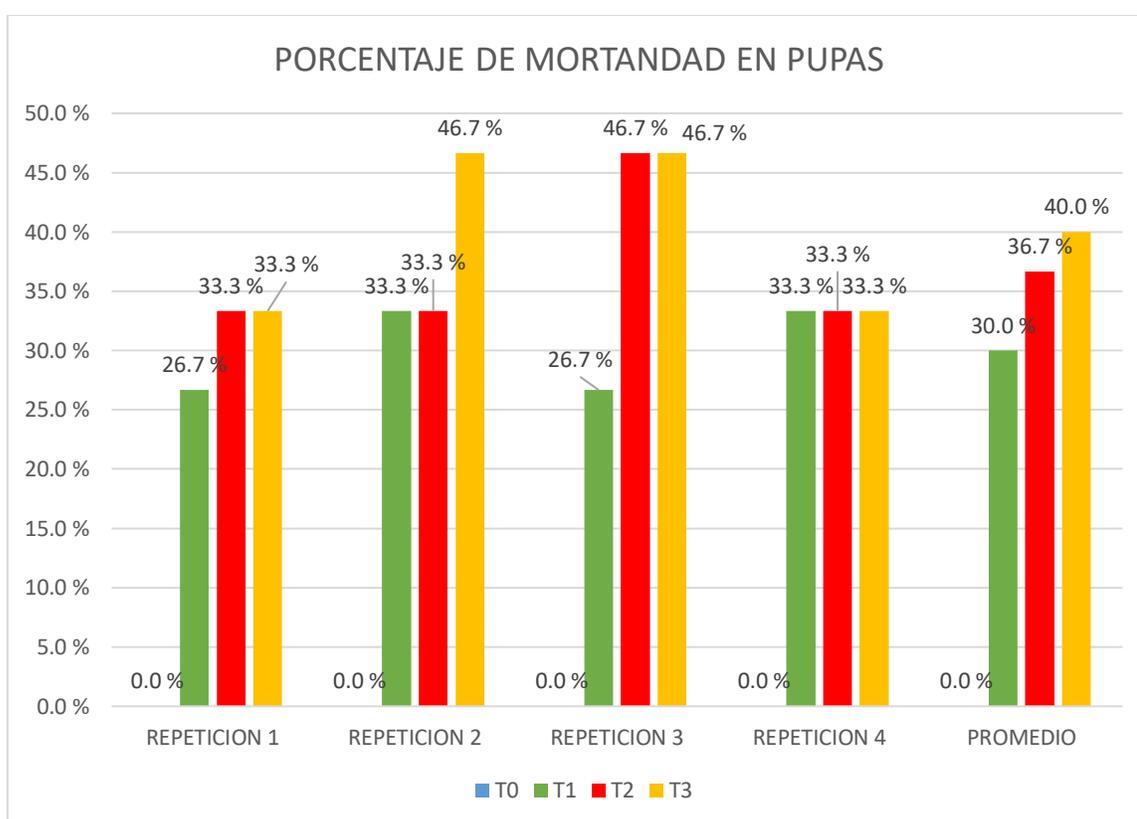


Figura 6: Porcentaje de mortandad en pupas por tratamiento en cada repetición

FUENTE: Elaboración propia

Según el Cuadro 18 y Figura 6 el porcentaje de mortandad más alto a nivel de pupa se obtuvo en el tratamiento T₃ (7000 JIs/1ml) con un 40,0 %, seguido del tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml) con un 36,7 % de mortandad. Por último, el menor porcentaje de

mortandad respecto a las concentraciones de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* lo representó el T₁ (3000 JIs/1ml) con 30,0 %. Lo que se interpreta que a mayor concentración de nematodos entomopatógenos se obtiene mayor porcentaje de mortandad sobre pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

Esto se comprueba con los resultados obtenidos por Reyes, quien al evaluar la mortalidad de larvas y pupas de *Anastrepha ludens* Loew encontró un porcentaje mayor de 48.34 % de mortandad en pupas, comparado con el 22.79 % de mortandad encontrado en larvas, acumulando un total de 71.13 % de mortalidad en larvas y pupas expuestas a 2000 JIs/ml de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis indica*.

ANALISIS DE VARIANZA

Cuadro 19: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de pupas de la mosca mediterránea de la fruta (Ceratitis capitata Wiedemann).

ANOVA					
MORTANDAD					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	3996,682	3	1332,227	44,922	,000
Error experimental	355,878	12	29,656		
Total	4352,559	15			

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Como se puede ver en el Cuadro 19 el análisis de varianza (ANOVA) indica un estadístico de prueba $F= 44,922$, teniendo como significancia $\rho = 0,000$, la que es inferior al nivel de significancia $\alpha=0,05$. De tal manera se afirma que existe diferencia estadística entre los tratamientos.

PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES

Cuadro 20: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de pupas de la mosca mediterránea de la fruta (Ceratitis capitata Wiedemann).

MORTANDAD				
Duncan ^a				
TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
T ₀	4	,0000		
T ₁	4		29,9250	
T ₂	4		36,6500	36,6500
T ₃	4			40,0000
Sig.		1,000	,106	,401

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Al realizar las comparaciones múltiples mediante la prueba de Duncan se precisa en el Cuadro 20 que el tratamiento T₃ (7000 JIs/1ml) supera estadísticamente al tratamiento T₁ (3000 JIs/1ml), pero no muestra diferencia significativa con el tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml), sin embargo el T₃ (7000 JIs/1ml) numéricamente muestra mayor porcentaje de mortandad que el T₂ (5000 JIs/1ml). Asimismo, se observa que el tratamiento T₂ (5000 JIs/1ml) y T₁ (3000 JIs/1ml) no se diferencian estadísticamente.

4.4 Evaluación de la mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) a los 10, 13 y 16 ddi.

Cuadro 21: Mortandad total de individuos por días de evaluación

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	TOTAL
DIA 10	3	12	20	27	62
DIA 13	0	7	6	7	20
DIA 16	0	10	13	12	35

FUENTE: Elaboración propia

Cuadro 22: Promedio de larvas y pupas muertas por días

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	TOTAL
DIA 10	0.8	3.0	5.0	6.8	15.5
DIA 13	0.0	1.8	1.5	1.8	5.0
DIA 16	0.0	2.5	3.3	3.0	8.8

FUENTE: Elaboración propia

Cuadro 23: Porcentaje de mortandad del promedio de larvas y pupas por días

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	TOTAL
DIA 10	2.6 %	10.3 %	17.1 %	23.1 %	53.0 %
DIA 13	0.0 %	6.0 %	5.1 %	6.0 %	17.1 %
DIA 16	0.0 %	8.5 %	11.1 %	10.3 %	29.9 %

FUENTE: Elaboración propia

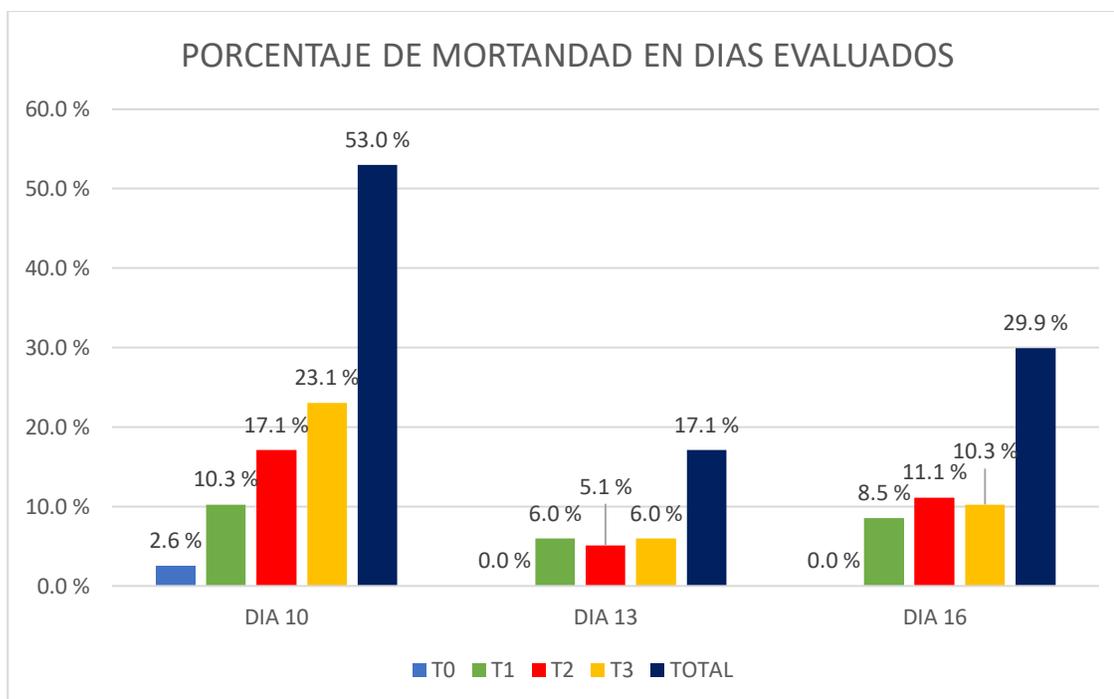


Figura 7: Porcentaje de mortandad del promedio de larvas y pupas por días

FUENTE: Elaboración propia

El Cuadro 23 muestra el porcentaje de mortandad del promedio de larvas y pupas de *C. capitata* Wied. por cada día de evaluación, donde se puede apreciar que el mayor porcentaje de mortandad promedio se presentó en el día 10 de evaluación con un 53.0 %, esto debido a que todas las larvas mostraron estar parasitadas por los nematodos entomopatógenos y que sumado con algunas pupas infectadas en ese día acumuló un alto porcentaje de mortandad; seguido a éste porcentaje se encuentra el alcanzado en el día 16 de evaluación con un 29.9% de mortandad, puesto que fue el último día de evaluación de la mortandad y se corroboró disectando todas las pupas restantes. Finalmente en el día 13 se obtuvo un 17.1% de mortandad de individuos.

4.5 Determinación de las concentraciones letales 50 y 90% (CL50, CL90) de los nemátodos entomopatógenos para el control de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

Los valores de CL50 y CL90 fueron obtenidos mediante el análisis Probit con los datos del porcentaje de mortalidad corregida para larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).

Cuadro 24: Porcentaje de mortandad corregida

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
REPETICION 1	0.0 %	43.9 %	57.9 %	71.9 %
REPETICION 2	0.0 %	50.9 %	64.9 %	71.9 %
REPETICION 3	0.0 %	43.9 %	64.9 %	78.9 %
REPETICION 4	0.0 %	43.9 %	64.9 %	78.9 %
PROMEDIO	0.0 %	45.6 %	63.2 %	75.4 %

FUENTE: Elaboración propia

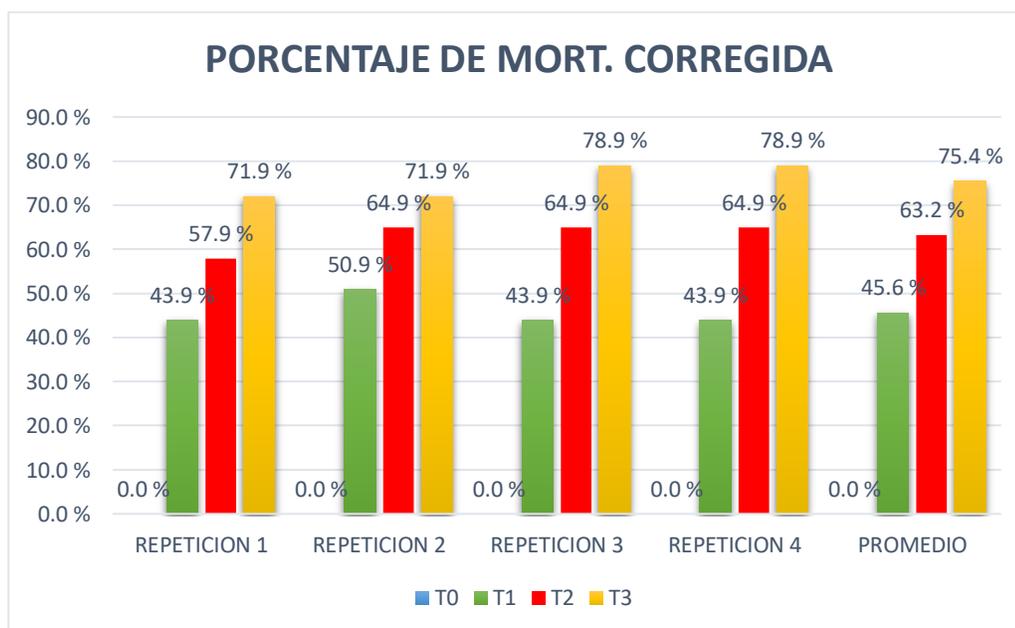


Figura 8: Porcentaje de mortandad corregida por tratamiento en cada repetición

FUENTE: Elaboración propia

Se observa en el cuadro 24 y Figura 8, que al aplicar la fórmula de Abbott para corregir la mortalidad natural de larvas y pupas en el tratamiento testigo se obtiene un valor promedio de 0,0 %. Este valor es correcto según Estay (2015) quien afirma además que la mortalidad natural del testigo no debe exceder el 10 %, siendo en nuestra investigación del 5.0 % antes de la corrección de mortandad.

. Asimismo, se puede notar que los porcentaje de mortandad corregida disminuyen respecto al porcentaje de mortandad antes de aplicar la fórmula de Abbott, teniendo así que los porcentajes promedios del T₁, T₂, T₃ se corrigieron a valores de 45.6 %, 63.2 % y 75.4 % comparado con el 48.6 %, 65.0 % y 76.7% respectivamente antes de la corrección de mortandad del testigo visualizado en el Cuadro 7.

Cuadro 25: Tabla de Predicciones Inversas para Concentraciones letales

<i>Porcentaje</i>	<i>CONCENTRACION</i>	<i>LC Inferior</i>	<i>LC Superior</i>
		<i>95.0%</i>	<i>95.0%</i>
		<i>Límite Conf.</i>	<i>Límite Conf.</i>
0.1	-10444.4	-28826.0	-4989.86
0.5	-8063.27	-23607.7	-3439.72
1.0	-6908.48	-21078.2	-2686.72
2.0	-5646.7	-18315.5	-1862.65
3.0	-4846.15	-16563.7	-1338.86
4.0	-4243.92	-15246.5	-944.222
5.0	-3754.06	-14175.5	-622.737
6.0	-3337.1	-13264.3	-348.707
7.0	-2971.52	-12465.8	-108.089
8.0	-2644.18	-11751.0	107.67
9.0	-2346.48	-11101.3	304.185
10.0	-2072.44	-10503.5	485.355
15.0	-937.863	-8032.12	1239.05
20.0	-36.1342	-6073.9	1844.04
25.0	737.469	-4400.76	2369.91
30.0	1432.19	-2906.9	2850.83
35.0	2075.95	-1534.63	3308.48
40.0	2686.82	-250.53	3760.8

<<Continuación>>

45.0	3277.84	962.167	4228.12
50.0	3859.46	2102.52	4741.05
55.0	4441.07	3144.15	5352.69
60.0	5032.1	4037.29	6139.57
65.0	5642.96	4762.43	7150.85
70.0	6286.72	5372.17	8371.03
75.0	6981.44	5937.46	9780.51
80.0	7755.05	6513.02	11404.0
85.0	8656.77	7149.49	13330.7
90.0	9791.35	7924.67	15780.6
91.0	10065.4	8109.38	16374.9
92.0	10363.1	8309.25	17021.2
93.0	10690.4	8528.21	17732.8
94.0	11056.0	8771.9	18528.3
95.0	11473.0	9048.91	19436.5
96.0	11962.8	9373.34	20504.5
97.0	12565.1	9770.94	21818.8
98.0	13365.6	10297.8	23567.5
99.0	14627.4	11125.5	26326.5
99.5	15782.2	11880.8	28853.8
99.9	18163.3	13434.1	34068.9

FUENTE: Elaboración propia

Se utilizó el software estadístico STATGRAPHICS para realizar el análisis Probit de las diferentes concentraciones letales (CL50 y CL90), obteniendo como resultados un CL50 de 3859.46 JIs y CL90 de 9791.35 JIs para 15 individuos, lo que representa un CL50 igual a 257 JIs y CL90 igual a 653 JIs por larva de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) como se muestra en el cuadro N° 25.

En relación a la concentración letal media CL50 obtenida en la investigación, ésta difiere con la determinada en los trabajos de Lindergren y Vail, citados por Reyes (2003) con un valor de CL50 igual 560, 920 y 1290 nematodos por larvas del tercer estadio de *C. capitata*, *D. dorsalis* y *D. curcubitae* respectivamente utilizando el nematodo entomopatógeno *S. carpocapsae*. Éstos resultados permiten el planteamiento

de dos cuestiones: la primera; si es que el género *S. carpocapsae* es menos virulenta que *Heterorhabditis sp.* y la segunda es que si *Ceratitis capitata Wied.* es más sensible a alguno de los 2 géneros de nematodos entomopatógenos. Lo que si se asegura es que con cualquiera de las 2 especies de nematodos se logra obtener alta mortandad con concentraciones incrementadas.

4.6 Número de nematodos por larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata Wiedemann*).

Cuadro 26: Número de nematodos promedio en larvas por tratamientos

LARVA			
N°	T ₁	T ₂	T ₃
1	6770	10540	12020
2	7850	11770	12800
3	6540	11010	13000
4	6820	10940	12780
5	6980	10980	12960
PROMEDIO	6992	11048	12712

FUENTE: Elaboración propia

Cuadro 27: Número de nematodos promedio en pupas por tratamientos

PUPA			
N°	T ₁	T ₂	T ₃
1	4870	9740	10390
2	5000	8490	11200
3	5010	9700	11120
4	4950	9040	10010
5	5040	8990	10190
6	5440	9010	10230
7	5030	8920	10980
PROMEDIO	5049	9127	10589

FUENTE: Elaboración propia

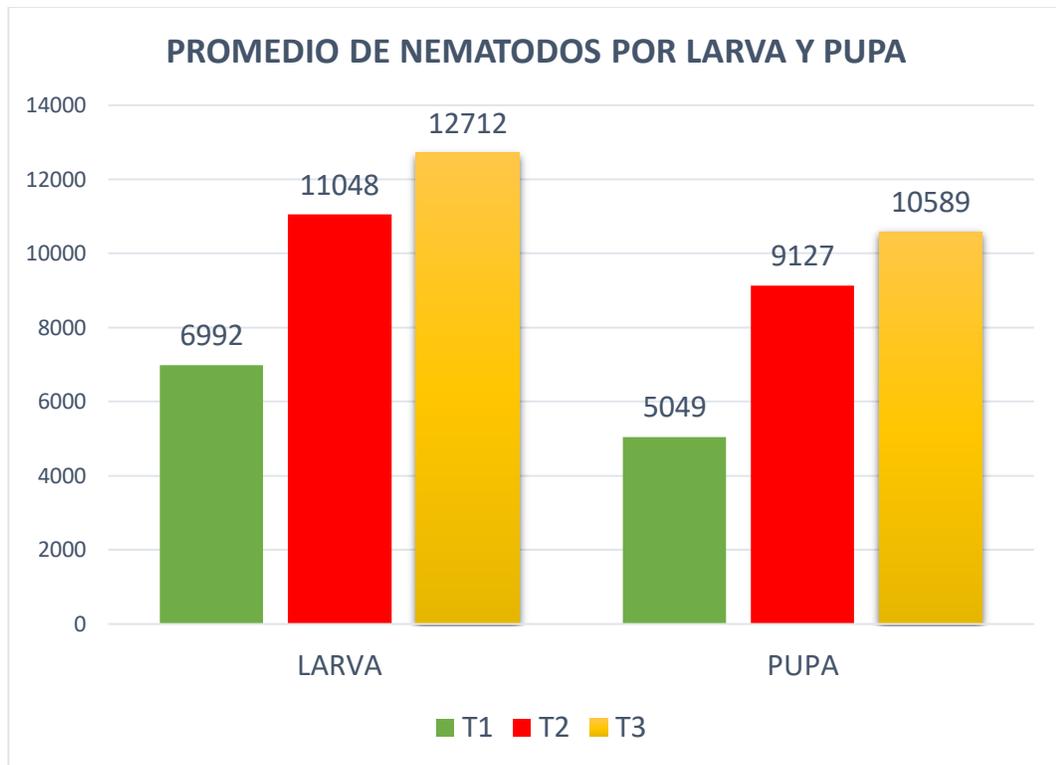


Figura 9: Promedio de nematodos en larvas y pupas por tratamientos

FUENTE: Elaboración propia

En la Figura 9 se obtuvo en el tratamiento T₃ un promedio de 12712 nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* por larva a diferencia de los 10589 nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* promedio hallados por pupa; el tratamiento T₂, presentó 11048 nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* promedio por larva versus una cantidad menor de 9127 nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* promedio por pupa; el tratamiento T₁, mostró una mayor cantidad promedio de 6992 por larva a diferencia de los 5049 nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* promedio hallados por pupa, éste tratamiento fue el que mostró un menor número de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.*.

Como se puede observar las larvas registraron un mayor número de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* en su interior a diferencia de las pupas, esto se puede deber a que las larvas estuvieron más expuestas al nematodo basándose en lo enunciado por Guillén (2004): “Las larvas tienen diferentes aberturas naturales tales como: espiráculos anteriores con prolongaciones tubulares perforados en el ápice, las mandíbulas que son unos ganchos esclerosados paralelos ubicados en la abertura oral, dos pares de espiráculos posteriores hundidos cada uno con tres aberturas”, todas estas aberturas naturales han facilitado el ingreso de los nematodos entomopatógenos hacia el interior de las larvas de *C. capitata* Wied. respecto a las que lograron empupar, quienes estuvieron menos expuestas al nematodo pero de igual manera la infección se produjo evidenciando lo referido por Fraenklen & Bnaskaran, citado por Reyes (2003) donde menciona que la patogenicidad de los nematodos en pupa es el producto de la penetración en las membranas intersegmentales antes de que la cutícula se esclerotice.

V. CONCLUSIONES

- Todas las diferentes concentraciones aplicadas del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* (3000, 5000 y 7000 JIs/1ml) ocasionaron distintos porcentajes de mortandad en larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio.
- El mayor porcentaje de mortandad en larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) lo produjo el T₃ con una concentración de 7000 JIs/1ml y el menor porcentaje de mortandad lo ocasionó el T₁ con una concentración de 3000 JIs/1ml.
- Estadísticamente existe diferencias significativas entre los 4 tratamientos, siendo el tratamiento T₃ (7000 JIs/1ml) el que genera un mayor porcentaje promedio de mortandad en larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).
- La concentración letal media (CL50) de *Heterorhabditis sp.* es de 257 JIs/larva mientras que la concentración que produce el 90% de mortandad (CL90) es igual a 653 JIs/larva del III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).
- El mayor número de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* promedio obtenidos fue en el tratamiento T₃, en larva con 12712 nematodos y en pupa con 10589 nematodos; seguido del tratamiento T₂, en larva con 11048 nematodos y en pupa con 9127; el menor

número promedio de nematodos se encontró en el tratamiento T₁, en larva con 6992 nematodos y en pupa con 5049 nematodos.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda experimentar ésta investigación bajo condiciones de campo para comprobar la mortandad de larvas de III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) ocasionada por nematodos del género *Heterorhabditis sp.*
- Estudiar concentraciones por hectárea del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp.* para la efectividad sobre la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).
- Se recomienda experimentar dosis de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis sp.* así como de otros géneros para su aplicación para su aplicación vía sistema riego tecnificado por goteo para el control de larvas de III estadio y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann).
- Utilizar el método de la dilución volumétrica empleado en ésta investigación para facilitar la contabilización de nematodos y poder experimentar su efectividad sobre otras especies plaga.
- Al momento de contabilizar los nematodos utilizando la micropipeta, se recomienda cambiar las puntas por cada micro gota extraída. Asimismo, contabilizar los posibles nematodos atrapados en las puntas después de la expulsión de la microgota.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angulo, K. (2015). *Uso de nematodos entomopatogenos en el control biológico de insectos*. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo.
- Barrera, J., Carrascal, J., Numa, S., Rodríguez, D., & Cantor, F. (2013). *Compatibilidad de Encarsia formosa (Hymenoptera: Aphelinidae) con productos comerciales en condiciones de laboratorio*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Bengonchea, P., Garzón, A., & Hiernaux, L. (2014). *Prevención del estado sanitario de cultivos ecológicos y aplicación de productos*. España: Paraninfo.
- Campos, R. (2015). *Nematode pathogenesis of insects and others pests*. Switzerland: Springer.
- Carballo, M., & Guharay, F. (2004). *Control biológico de plagas agrícolas*. Managua, Nicaragua: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Castellón, M., Gonzáles, J., & Pozo, E. (2014). *Susceptibilidad de larvas y pupas de Typophorus nigrinus F. al nematodo entomopatógeno Heterorhabditis indica Poinar*. Cuba: Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT).
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. (1987). *Plagas y enfermedades de carácter epidémico en cultivos frutales de la región centroamericana*. Panamá: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Cisneros, F. (2010). *El Manejo Integrado de Plagas. Control de plagas agrícolas*. Recuperado de:
[https://hortintl.cals.ncsu.edu/sites/default/files/articles/Control de Plagas Agrícolas MI
P Ene 2010.pdf](https://hortintl.cals.ncsu.edu/sites/default/files/articles/Control%20de%20Plagas%20Agricolas%20MI%20P%20Ene%202010.pdf)

Cortes, C. (2009). *Actividad entomopatógena de Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae y Heterorhabditis sp. sobre Prodiplosis longifila (Gagné) en condiciones de campo y laboratorio*. (Tesis de grado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

Del Cañizo, J. (1952). *La mosca de las frutas*. Madrid, España: Ministerio de Agricultura.

Esquivel, A. (1996). *Influencia del suelo sobre las poblaciones de nematodos*. Costa Rica:
Universidad Nacional de Costa Rica.

Estay, P. (2015). *Control Químico : Protocolo de ensayo de evaluación de eficacia de los insecticidas sobre Lobesia botrana en ensayos de campo en vid (Vitis vinífera), con infestación controlada*. Chile: INIA.

Feicán, C., Encalado, C., & Larriva, W. (1999). *Manejo Integrado de las Mosca de la Fruta*. Chuquipata, Ecuador: Instituto Nacional Autonomo de Investigaciones.

France, A. (s.f). *Uso de nemátodos entomopatógenos para el control de insectos*. Chillán, Chile:
Instituto Nacional de Investigación Agraria.

Galán, V. (2009). *El cultivo de mango*. 2a ed. Tenerife, España: Mundi-Prensa.

García, A., Messias, C., Souza, M., & PiedraBuena, A. (1984). *Patogenicidad de Metarhizium anisopliae var. anisopliae a Ceratitis capitata (Wiedeman, Diptera: Tephritidae)*. Brasil. Revista Brasileira de Entomología.

García del Pino, F. (1994). *Los Nematodos Entomopatógenos (Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae) presentes en Cataluña y su utilización para el Control Biológico de Insectos*. España.

García, D. (2011). *Caracterización del perfil proteico de una cepa entomopatógena de Bacillus pumilus*. Granada, España.

González, E. (1998). *Efecto de la concentración de nematodos entomopatógenos, sobre mortalidad de Anastrepha ludens*. Mexico: Universidad de Colima.

González, M. (2006). *Presencia, identificación y patogenicidad de nemátodos entomopatógenos (Rhabditidae: Heterorhabditidae, Steinernematidae) asilados de suelos del pacífico centro Mexicano*. (Tesis de grado). Colima, Mexico: Universidad de Colima.

Guillén, J. (2004). *APÉNDICE TÉCNICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MOSCAS DE LA FRUTA*. México: Servicio Nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria.

Helmuth, R. (2000). *Manejo Integrado de Plagas en Cultivos de la Amazonía Ecuatoriana*. Quito, Ecuador: MOSSAICO.

Hernández, F. (2016). *Etapas de la erradicación y manejo integrado de la mosca de la fruta (Ceratitis capitata Wied) en la región Ica*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú.

Hernández, J. (2011). Portalfrutícola. *Una mirada a la fruticultura en Perú*. Recuperado de: <https://www.portalfruticola.com/noticias/2011/11/18/la-fruticultura-en-peru/>

Instituto Colombiano Agropecuario & Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (1989). *Curso sobre moscas de la fruta*. Antioquia, Colombia: Ministerio de Agricultura

Instituto Colombiano Agropecuario. (2005). *Las moscas de la fruta*. Bogotá, Colombia: Lineas Digitales Ltda.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (1989). *Curso sobre mosca de la Fruta*. (C. Wandemberg, E. Rieger, & C. Villamizar, Edits.) Quito, Ecuador: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.

Jiménez, E. (2009). *“Métodos de Control de Plagas”*. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria.

Lezama, R., Molina, J., Contreras, O., Gonzales, M., Trujillo, A., & Rebolledo, O. (1996). *Susceptibilidad de larvas de Anastrepha ludens (Díptera: Tephritidae) a diversos nemátodos entomopatógenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae)*. Colima, México: Universidad de Colima.

Lira Segura, J. (15 de Setiembre de 2017). Producción agropecuaria fue el sector que más aportó al crecimiento del PBI de julio. *Gestión*, p. 2.

Mayta, S. (2011). *Patogenicidad de Heterorhabditis sp. y algunos hongos entomopatógenos en Anomala testaceipennis Blanchard, 1850 (Coleoptera - Scarabaeidae) bajo condiciones de laboratorio*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Merino, L., & France, A. (2009). *Nemátodos entomopatógenos: Control biológico de insectos plaga de importancia económica*. Chillán, Chile: Instituto Nacional de Investigación Agraria

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (1989). *Curso sobre control de moscas de la fruta*. Quito, Ecuador. Ministerio de Agricultura y Ganadería

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2009). *Mis buenas prácticas agrícolas*. Bogotá, Colombia: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO (MINAGRI). (2015). *IV CENSAGRO*. Recuperado de: <http://www.minagri.gob.pe/portal/especial-iv-cenagro/31-sector-agrario/lineas-de-cultivos-emergentes>

Molina, C. (2007). *Patogeneidad de nemátodos del género Rhabditis y Heterorhabditis como posibles agentes de control biológico de larvas de Lepidóteros*. (Tesis de grado). Universidad Zamorano, Zamorano, Honduras.

- Morgan, J., Kunzenlman, V., Tavenor, S., Ousley, M., & Winstanley, C. (1997). *Survival of Xenorhabdus nematophilus and Photorhabdus luminiscens in water and soil*. United Kingdom: Journal of Applied Microbiology.
- Morton, A. (2009). *Los nematodos entomopatogenos (Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae) para el control de gusano cabezudo, Capnodis tenebrionis (Coleoptera: Buprestidae)*. (Tesis de grado). Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Nicholls, C. (2008). *Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico*. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquía.
- Organismo Internacional de Energía Atómica. (2005). *GUÍA PARA EL TRAMPEO EN PROGRAMAS DE CONTROL DE MOSCAS DE LA FRUTA EN AREAS LIMPIAS*. Viena, Austria: Organismo Internacional de Energía Atómica.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2012). *Manual de buenas practicas agrícolas para el productor hortofruticola (2° ed.)*. Santiago de Chile, Chile: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Pacheco, D. (2014). *Patogenicidad de dos nemátodos entomopatógenos (Heterorhabditis sp y Steinernema sp) sobre las larvas y pupas de prodiplosis longifila en cultivos de tomate (Lycopersicum sculentum Miller)*. (Tesis de grado). Univerdad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

Parada, O. (2014). *Efecto del tipo de suelo en la persistencia de nematodos entomopatógenos y patogenicidad sobre el salivazo de la caña de azúcar*. Mexico: INSTITUTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRICOLAS.

Panisello, P., Roig, J., & Ramoneda, J. (s.f). *Situación Actual del Control de la Mosca de la Fruta*. Valencia, España: Probodelt.

Pinochet, J. (Ed.). (1987). *Plagas y enfermedades de carácter epidémico en cultivos frutales de la región centroamericana*. Panamá: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.

Quinteros, M. (2003). *COMPARACION EN LABORATORIO DE LA PATOGENICIDAD DE TRES ESPECIES NATIVAS DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS (RHABDITIDA) SOBRE LARVAS DE TERCER INSTAR DE Phyllophaga menetriesi (BLANCHARD) (COLEOPTERA: SCARABAEIDAE)*. Colombia: UNIVERSIDAD DEL VALLE.

Poinar GO. (2012). History of Entomopathogenic Nematology. *The Journal of Nematology*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3578475/>

Reyes, M. (2003). *Patogenicidad de nematodos entomopatógenos (nematoda: Steinemematidae, Heterorhabditidae) en larvas y pupas de mosca de la fruta Anastrepha ludens*. (Tesis de grado). Universidad de Colima, Tecomán, México.

- Rohde, C., Moino, A., Carvalho, F., & Da Silva, M. (2012). *Selección de nematodos entomopatógenos para el control de la mosca de las frutas Ceratitis capitata (Diptera: Tephritidae)*. Brasil: Revista Brasileña de Ciencias Agrarias.
- Rohde, C., Tramontin, M., Duarte, F., & Moino, A. (2012). *Efecto de Heterorhabditis sp. y Steinernema carpocapsae aplicados en diferentes periodos de infestación del suelo con larvas de Ceratitis capitata (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)*. Brasil: Investigación Aplicada & Agrotecnología.
- Romero, F. (2004). *Manejo integrado de Plagas: Las bases, los conceptos, su mercantilización*. Tezcoco, Mexico: Universidad Autónoma Chapingo.
- Ros, P. (1988). *LA MOSCA MEDITERRANEA DE LA FRUTA, Ceratitis capitata Wied. Biología y métodos de control*. Madrid, España: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.
- Ruiz, F. (2009). *Mejoramiento a la tolerancia al calor y a la desecación de tres nemátodos entomopatógenos*. (Tesis de grado). Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca, Mexico.
- Sáenz, A., & López, J. (2011). Ciclo de vida y patogenicidad del aislamiento nativo Heterorhabditis sp. SL0708. *Revista Colombiana de Entomología*, p. 44.
- Sánchez, E. (2012). *Cultivemos Frutales*. Instituto de Desarrollo y Medio ambiente. Recuperado de: <http://idmaperu.org/idma/wp-content/uploads/2014/07/CULTIVEMOS-FRUTALES.pdf>.

Servicio Nacional de Sanidad Agraria. (2001). *Manual del sistema nacional de detección de moscas de la fruta*. Perú: SENASA.

SENASA. (2006). *Manual de procedimientos para la verificación de notificaciones sobre ocurrencia de plagas*. Perú: SENASA.

SENASA. (2008). *Erradicación de moscas de la fruta (Ceratitis capitata y Anastrepha spp.) en las regiones de Lima, Áncash y La Libertad*. Lima, Perú: Servicio Nacional de Sanidad Agraria.

SENASA. (2015). *Unidad de Control Integrado de la Subdirección de Moscas de la Fruta y Proyectos Fitosanitarios*. Recuperado de: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/control-integrado/>

SENASA. (2016). *Áncash: Control integrado de mosca de la fruta*. Recuperado de: <https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/ancash/>

SENASA. (2016). *Conociendo a la mosca de la fruta: Ceratitis capitata*. Perú: SENASA.

SENASA. (s.f). *Unidad de Vigilancia de la Subdirección de Moscas de la Fruta y Proyectos Fitosanitarios*. Recuperado de: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/vigilancia/>

Suarez, P., Hernández, A., Serrano , R., & De Armas, A. (s.f). *Heterorhabditis bacteriophora*. Recuperado de: http://www.ecured.cu/index.php/Heterorhabditis_bacteriophora

- Toledo, J., Pérez, C., Liedo, P., & Ibarra, J. (2005). *Susceptibilidad de larvas de Anastrepha obliqua Macquart (Díptera: Tephritidae) a Heterorhabditis bacteriophora (Poinar) (Rhabditida: Heterorhabditidae) en condiciones de laboratorio.* (Tesis de grado). Universidad Autónoma de Chiapas, Chiapas, México.
- Torres, D., Castillo, M., & Pérez, Q. (2006). *Guía para el manejo integrado de moscas de las frutas.* República Dominicana: Comité Nacional para la Aplicación de las Medidas Sanitarias y Fitosanitarias.
- Vázquez, E. (2012). *Caracterización de nemátodos entomopatógenos aislados del Valle de Guasave, Sinaloa, México.* (Tesis de grado). Instituto Politécnico Nacional, Sinaloa, México.
- Wendemberg, Cesar; Rieger, Enrique; Villamizar, Ciro. (1993). *Curso sobre moscas de la fruta.* Ecuador: Centro Interamericano de Documentación e Información Agrícola.

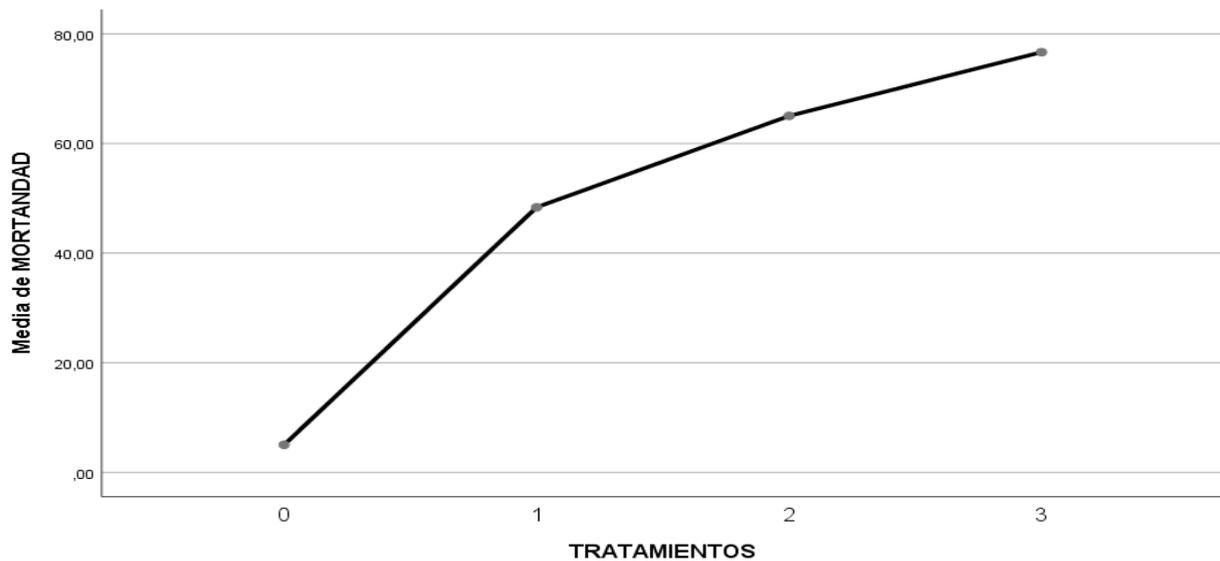
VIII. ANEXOS

Anexo 1: Estadísticos descriptivos para porcentaje de mortandad en larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (Ceratitis capitata Wiedemann) sometidos a cada tratamiento

Descriptivos								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínim o	Máxim o
					Límite inferior	Límite superior		
T ₀	4	5,0250	3,35000	1,67500	-,3056	10,3556	,00	6,70
T ₁	4	48,350 0	3,30000	1,65000	43,0990	53,6010	46,70	53,30
T ₂	4	65,025 0	3,35000	1,67500	59,6944	70,3556	60,00	66,70
T ₃	4	76,650 0	3,86825	1,93412	70,4948	82,8052	73,30	80,00
Total	16	48,762 5	28,24438	7,06110	33,7121	63,8129	,00	80,00

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Anexo 2: Gráfico de medias de los porcentajes de mortandad de larvas y pupas de la mosca mediterránea de la fruta (Ceratitis capitata Wiedemann) para cada tratamiento.



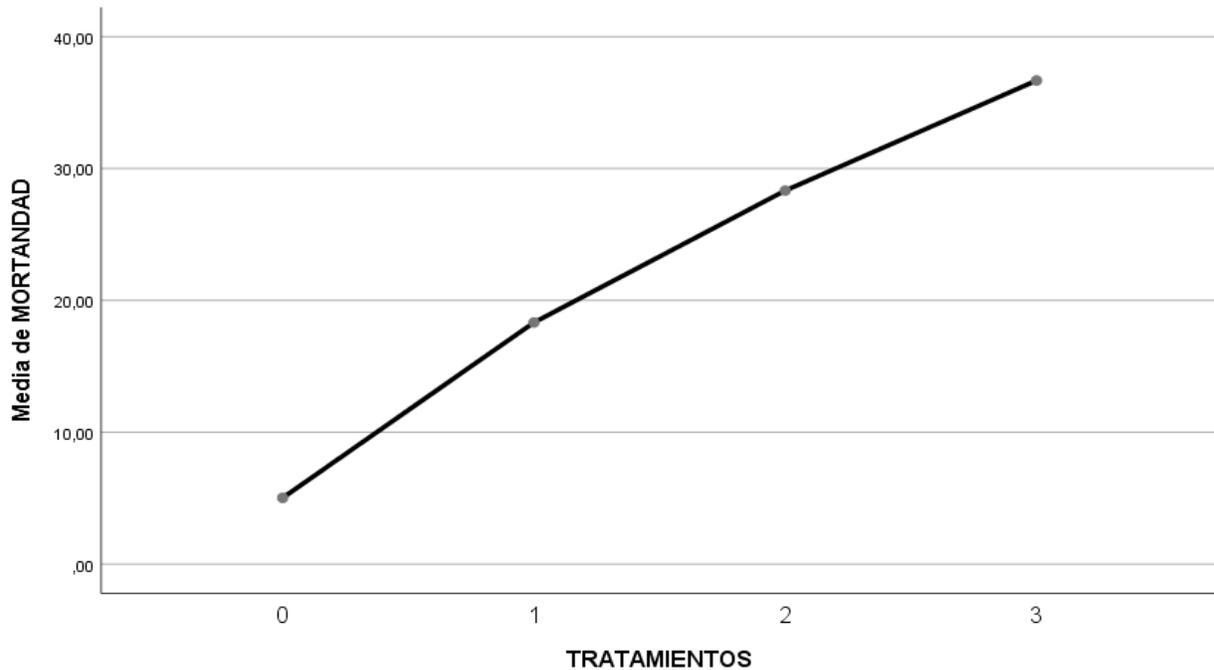
FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Anexo 3: Estadísticos descriptivos para porcentaje de mortandad en larvas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) sometidos a cada tratamiento.

Descriptivos								
MORTANDAD								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínim o	Máxim o
					Límite inferior	Límite superior		
T ₀	4	5,0250	3,35000	1,67500	-,3056	10,3556	,00	6,70
T ₁	4	18,325 0	3,35000	1,67500	12,9944	23,6556	13,30	20,00
T ₂	4	28,325 0	6,36259	3,18129	18,2007	38,4493	20,00	33,30
T ₃	4	36,675 0	8,61099	4,30550	22,9730	50,3770	26,70	46,70
Total	16	22,087 5	13,26443	3,31611	15,0194	29,1556	,00	46,70

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Anexo 4: Gráfico de medias de los porcentajes de mortandad en larvas de la mosca mediterránea de la fruta (*C. capitata* Wiedemann) para cada tratamiento.



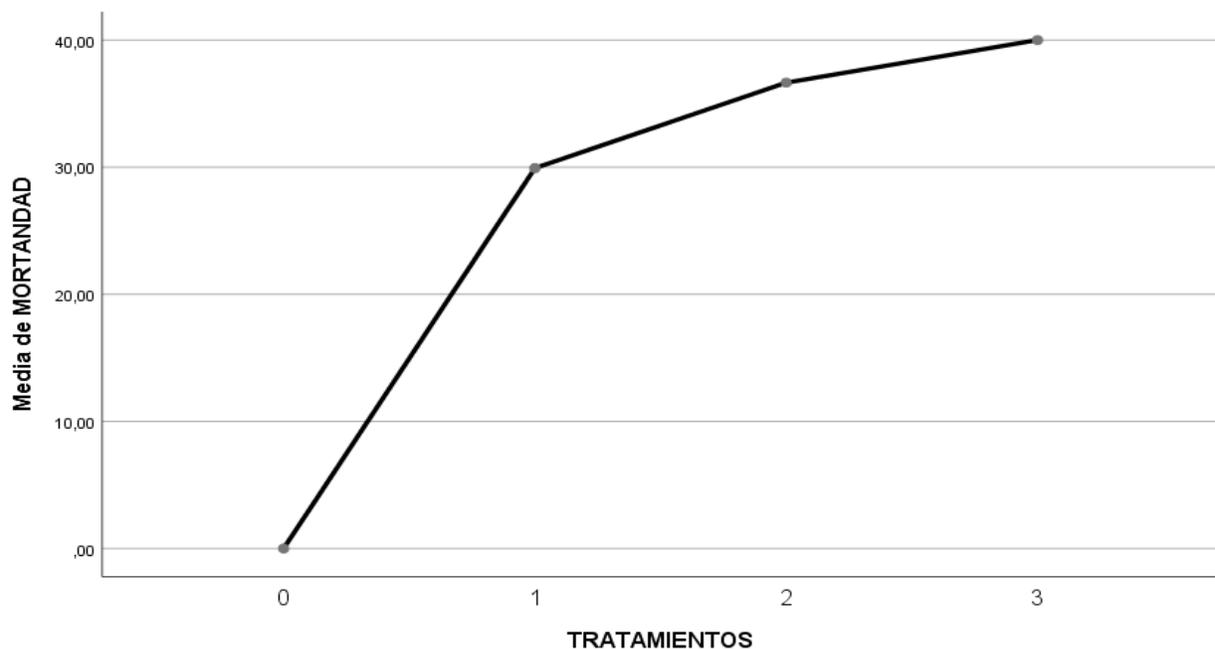
FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Anexo 5: Estadísticos descriptivos para porcentaje de mortandad en pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) sometidos a cada tratamiento.

Descriptivos								
MORTANDAD								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínim o	Máxim o
					Límite inferior	Límite superior		
T ₀	4	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
T ₁	4	29,925 0	3,72592	1,86296	23,9962	35,8538	26,70	33,30
T ₂	4	36,650 0	6,70000	3,35000	25,9888	47,3112	33,30	46,70
T ₃	4	40,000 0	7,73649	3,86825	27,6895	52,3105	33,30	46,70
Total	16	26,643 8	17,03440	4,25860	17,5668	35,7207	,00	46,70

FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Anexo 6: Gráfico de medias de los porcentajes de mortandad en pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) para cada tratamiento.



FUENTE: Software de análisis estadístico IBM SPSS Statistics versión 25

Anexo 7: Cartilla de evaluación para número de individuos infectados al 10°, 13°, 16 días después de la aplicación.

CARTILLA DE EVALUACIÓN DE MORTANDAD																					
N° REPETICIONES		Repetición I				SUB TOTAL	Repetición II				SUB TOTAL	Repetición III				SUB TOTAL	Repetición IV				SUB TOTAL
FECHA DE INOCULACION		12 de Enero de 2019					T2	T3	T1	T0		T3	T2	T0	T1		T1	T0	T3	T2	
UNIDADES		T0	T1	T2	T3	T2	T3	T1	T0	T3	T2	T0	T1	T1	T0	T3	T2				
10 dda	Larvas																				
	Pupas																				
13 dda	Larvas																				
	Pupas																				
16 dda	Larvas																				
	Pupas																				
PROMEDIO																					

Anexo 8: Cuadro con datos registrados de mortandad

CUADRO DE EVALUACIÓN PARA INFECCIÓN DE NEMATÓDOS	N° REPETICIONES		Repetición I				SUB TOTAL	Repetición II				SUB TOTAL	Repetición III				SUB TOTAL	Repetición IV				SUB TOTAL
	FECHA DE		12 de Enero de 2019					T2	T3	T1	T0		T3	T2	T0	T1		T1	T0	T3	T2	
	UNIDADES		T0	T1	T2	T3	T2	T3	T1	T0	T3	T2	T0	T1	T1	T0	T3	T2				
	10 dda	Larvas	1	3	4	6	14	5	4	3	1	13	5	3	0	3	11	2	1	7	5	15
Pupas		0	0	1	1	2	0	1	0	0	1	1	1	0	0	2	1	0	2	1	4	
13 dda	Larvas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Pupas	0	2	2	1	5	1	3	2	0	6	2	2	0	1	5	2	0	1	1	4	
16 dda	Larvas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Pupas	0	2	2	3	7	4	3	3	0	10	4	4	0	3	11	2	0	2	3	7	
SUB TOTAL		1	7	9	11	28	10	11	8	1	30	12	10	0	7	29	7	1	12	10	30	

Anexo 9: Cuadro de mortandad corregida al uno por ciento para análisis Probit

MORTANDAD CORREGIDA PARA PROBIT			
T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
0.0	0.4	0.6	0.7
0.0	0.5	0.6	0.7
0.0	0.4	0.6	0.8
0.0	0.4	0.6	0.8

Anexo 10: Cartilla de evaluación para población de nematodos en larvas y pupas

CUADRO DE EVALUACIÓN PARA POBLACIÓN DE NEMATODOS JUVENILES				
N° REPETICIONES	UNIDADES EXPERIMEN TALES	NUMERO DE NEMATODOS		
		MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
		Larva/Pupa	Larvas/Pupa	Larva/Pupa
Repetición I	T0			
	T1			
	T2			
	T3			
TOTAL				
Repetición II	T2			
	T3			
	T1			
	T0			
TOTAL				
Repetición III	T3			
	T2			
	T0			
	T1			
TOTAL				
Repetición IV	T1			
	T0			
	T3			
	T2			
TOTAL				

Anexo 11: Cuadro con datos registrados de número de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis sp.* por larva y pupa

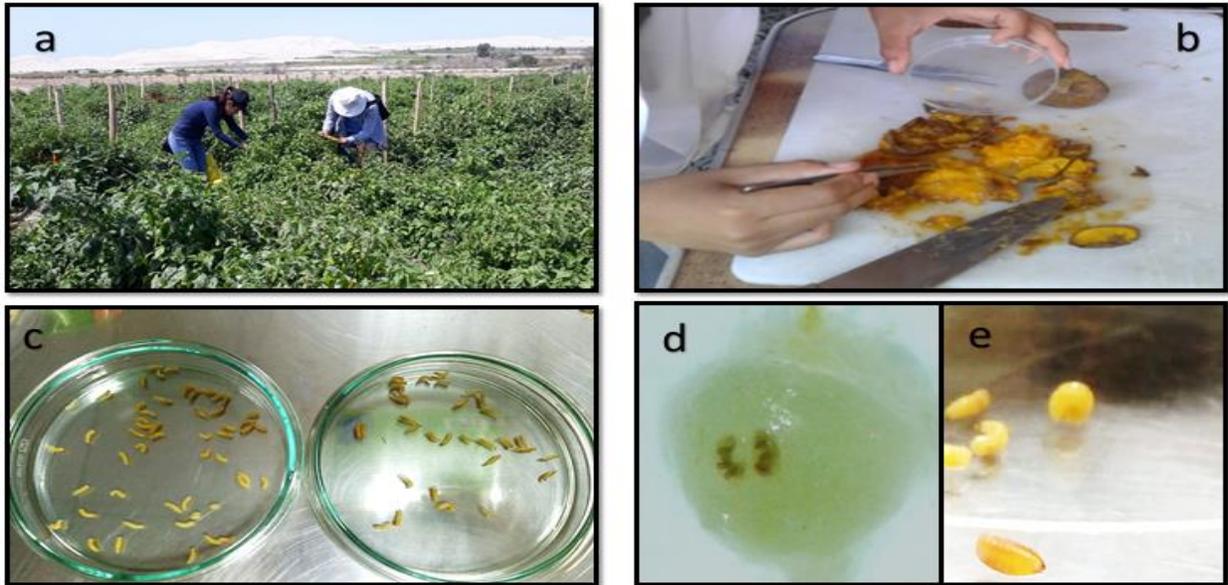
CUADRO DE EVALUACIÓN PARA POBLACIÓN DE NEMATODOS JUVENILES				
N° REPETICIONES	UNIDADES	NUMERO DE NEMATODOS		
	EXPERIMEN	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
	TALES	Larva/Pupa	Larvas/Pupa	Larva/Pupa
Repetición I	T0	-	-	-
	T1	6770 (L)	7850 (L)	4870 (P)
	T2	10540 (L)	11770 (L)	9740 (P)
	T3	12020 (L)	12800 (L)	10390 (P)
Repetición II	T2	8490 (P)	9700 (P)	9040 (P)
	T3	11200 (P)	11120 (P)	13000 (L)
	T1	6540 (L)	5000 (P)	5010 (P)
	T0	-	-	-
TOTAL				
Repetición III	T3	12780 (L)	10010 (P)	10190 (P)
	T2	8990 (P)	11010 (L)	10940 (L)
	T0	-	-	-
	T1	6820 (L)	4950 (P)	5040 (P)
TOTAL				
Repetición IV	T1	5440 (P)	5030 (P)	6980 (L)
	T0	-	-	-
	T3	12960 (L)	10230 (P)	10980 (P)
	T2	10980 (L)	9010 (P)	8920 (P)
TOTAL				

Anexo 12: Cuadro de datos meteorológicos

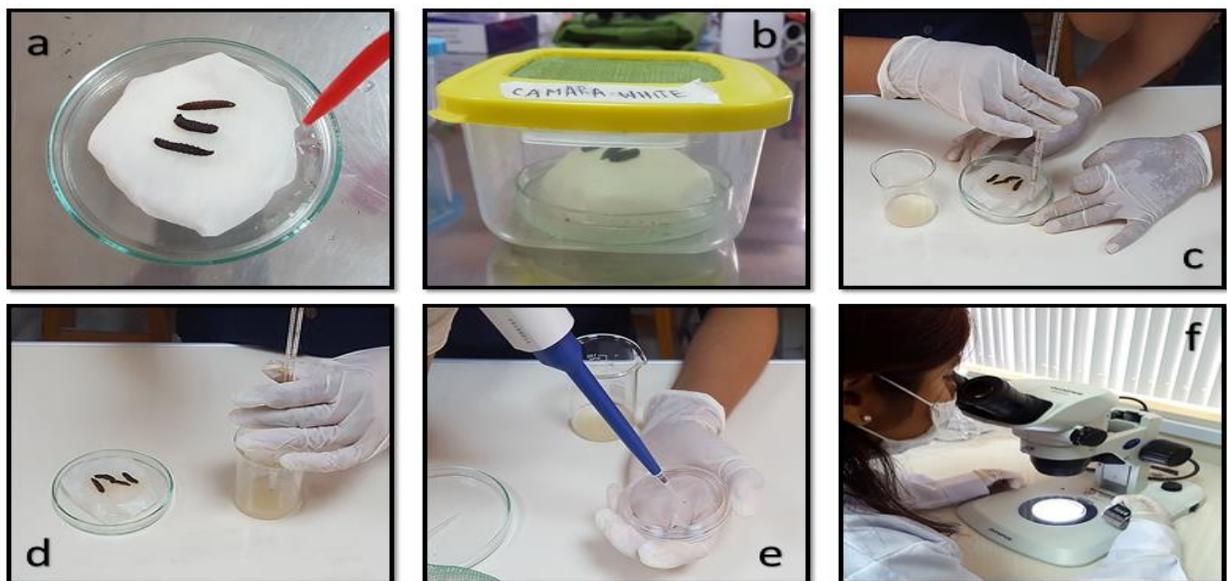
C U A D R O D E D A T O S M E T E O R O L O G I C O S	N° REPETICIONES		Repetición I				PROMEDIO	Repetición II				PROMEDIO	Repetición III				PROMEDIO	Repetición IV				PROMEDIO	PROMEDIO TOTAL
	FECHA DE INOCULACIÓN		12 de Enero de 2019					12 de Enero de 2019					23 de Enero de 2019					31 de Enero de 2019					
	TRATAMIENTOS		T0	T1	T2	T3	T2	T3	T1	T0	T3	T2	T0	T1	T1	T0	T3	T2					
	Dia de inoculación	T° Int. (°C)	25.4	25.1	25.1	25.3	25.2	27	27	26.9	26.9	27.0	26.3	26.7	26.8	26.6	26.6	26.7	28	27.6	28	27.6	26.6
	T° Ext. (°C)	25.1	25.1	25.1	25.1	25.1	26.8	26.8	26.8	26.8	26.8	26.3	26.3	26.3	26.3	26.3	26.7	26.7	26.7	26.7	26.7	26.7	
	HR (%)	64	67	64	65	65.0	68	69	69	68	68.5	67	66	67	67	66.8	67	69	67	68	67.8	67.0	
1° ddi	T° Int. (°C)	25.2	26.2	26.2	25.2	25.7	25.8	25.9	25.8	26	25.9	26.3	26.5	26.4	26.2	26.4	28.3	28	27.9	28	28.1	26.5	
	T° Ext. (°C)	25.2	25.2	25.2	25.2	25.2	25.8	25.8	25.8	25.8	25.8	26	26	26	26	26.0	27.8	27.8	27.8	27.8	27.8	26.2	
	HR (%)	65	63	64	66	64.5	68	67	66	69	67.5	69	68	66	67	67.5	68	69	69	68	68.5	67.0	
2° ddi	T° Int. (°C)	25.4	25.3	26.1	25.6	25.6	25.6	25.7	25.5	26	25.7	26.2	26	26.4	26	26.2	25.8	26.9	27	25.4	26.3	25.9	
	T° Ext. (°C)	25.3	25.3	25.3	25.3	25.3	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.8	25.8	25.8	25.8	25.8	25.2	25.2	25.2	25.2	25.2	25.5	
	HR (%)	65	65	64	66	65.0	69	69	68	67	68.3	67	66	68	67	67.0	65	69	69	68	67.8	67.0	
3° ddi	T° Int. (°C)	25.5	25.4	25.5	25.5	25.5	25.5	26	25.4	25.7	25.7	25.7	26.1	26.2	26	25.8	26.0	25.3	26	25.8	26	25.7	
	T° Ext. (°C)	25.3	25.3	25.3	25.3	25.3	25.4	25.4	25.4	25.4	25.4	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	24.9	24.9	24.9	24.9	24.9	25.3	
	HR (%)	65	66	65	64	65.0	66	65	67	68	66.5	68	67	66	67	67.0	66	68	65	67	66.5	66.3	
4° ddi	T° Int. (°C)	25.8	25.9	25.8	25.8	25.8	28	28.3	28.1	27.8	28.1	25.3	25.4	26	26.4	25.8	26	27	26.9	26.2	26.5	26.5	
	T° Ext. (°C)	25.8	25.8	25.8	25.8	25.8	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	25	25	25	25	25.0	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	25.5	
	HR (%)	67	67	66	66	66.5	66	66	68	67	66.8	68	69	66	66	67.3	69	69	68	69	68.8	67.3	
5° ddi	T° Int. (°C)	25.8	25.5	26	25.6	25.7	25.9	26	25.6	25.7	25.8	26	26.2	26.5	25.9	26.2	27.1	27.3	26.9	26.3	26.9	26.1	
	T° Ext. (°C)	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	26.3	26.3	26.3	26.3	26.3	25.8	
	HR (%)	65	65	66	66	65.5	64	65	66	65	65.0	64	66	65	64	64.8	68	67	68	66	67.3	65.6	
6° ddi	T° Int. (°C)	25.8	26.1	25.9	25.8	25.9	26.8	27	27.1	27.2	27.0	27	26.8	26.9	27.3	27.0	26.3	27	27.5	27.6	27.1	26.8	
	T° Ext. (°C)	25.8	25.8	25.8	25.8	25.8	26.8	26.8	26.8	26.8	26.8	26.1	26.1	26.1	26.1	26.1	25.9	25.9	25.9	25.9	25.9	26.2	
	HR (%)	65	64	67	67	65.8	68	68	68	68	68.0	65	66	64	63	64.5	66	68	68	69	67.8	66.5	
7° ddi	T° Int. (°C)	25.2	25.4	25.5	25.3	25.3	26.4	26.5	26.7	26.8	26.6	27.4	27.9	28	26.9	27.6	25.3	26	25.9	26	25.8	26.3	
	T° Ext. (°C)	25.1	25.1	25.1	25.1	25.1	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	27.4	27.4	27.4	27.4	27.4	24.9	24.9	24.9	24.9	24.9	25.9	
	HR (%)	67	69	68	69	68.3	69	69	68	68	68.5	66	64	66	67	65.8	69	66	68	69	68.0	67.6	
8° ddi	T° Int. (°C)	25.4	25.7	25.5	25.7	25.6	26.6	26.5	27	26.9	26.8	26.9	26.3	27.1	27	26.8	27	27.9	26.5	26	26.9	26.5	
	T° Ext. (°C)	25.3	25.3	25.3	25.3	25.3	26.4	26.4	26.4	26.4	26.4	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	26	26	26	26	26.0	26.0	
	HR (%)	67	69	69	67	68.0	68	69	69	69	68.8	65	63	65	64	64.3	66	68	69	66	67.3	67.1	
9° ddi	T° Int. (°C)	27	26.8	26.9	27.2	27.0	27	26.8	26.9	28	27.2	25.9	26.2	27	26.9	26.5	26.1	26.9	27	27	26.8	26.9	
	T° Ext. (°C)	26.8	26.8	26.8	26.8	26.8	26.8	26.8	26.8	26.8	26.8	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	26.2	
	HR (%)	69	69	69	68	68.8	67	69	69	68	68.3	66	65	66	64	65.3	68	67	67	69	67.8	67.5	
10° ddi	T° Int. (°C)	26.1	25.8	26.5	25.6	26.0	25.8	25.9	26	26.2	26.0	25.1	25.5	26	26.9	25.9	26.5	26.7	26.4	26.5	26.5	26.1	
	T° Ext. (°C)	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	24.9	24.9	24.9	24.9	24.9	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	25.6	
	HR (%)	66	65	67	66	66.0	66	67	67	68	67.0	63	63	66	64	64.0	66	67	66	68	66.8	65.9	
11° ddi	T° Int. (°C)	25.9	26.4	27	26.5	26.5	27.4	28	27	27	27.4	27	26.9	25.9	27.1	26.7	26	26.3	25.7	26.8	26.2	26.7	
	T° Ext. (°C)	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	27	27	27	27	27.0	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	26.2	
	HR (%)	67	68	66	67	67.0	66	66	68	67	66.8	65	64	63	66	64.5	67	67	68	66	67.0	66.3	
12° ddi	T° Int. (°C)	25.8	26	26.2	27.3	26.3	26.7	27	27.2	26.5	26.9	26.1	26.9	27	26.5	26.6	25.7	25.8	25.7	25.6	25.7	26.4	
	T° Ext. (°C)	25.8	25.8	25.8	25.8	25.8	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	25.9	25.9	25.9	25.9	25.9	25.5	25.5	25.5	25.5	25.5	25.9	
	HR (%)	68	68	66	66	67.0	63	63	63	64	63.3	64	65	63	64	64.0	65	65	66	67	65.8	65.0	
13° ddi	T° Int. (°C)	26	25.8	25.6	26	25.9	27.2	27.2	27.1	27.1	27.2	27	27.5	26	26.9	26.9	26.5	26.7	27	27.5	26.9	26.7	
	T° Ext. (°C)	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	27.1	27.1	27.1	27.1	27.1	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	26.1	
	HR (%)	68	67	67	69	67.8	65	65	66	67	65.8	66	64	66	64	65.0	65	66	67	66	66.0	66.1	
14° ddi	T° Int. (°C)	25.6	25.5	25.7	26	25.7	25.8	25.8	26	26.1	25.9	27	27.3	26.9	27	27.1	26	26.2	26.7	26.6	26.4	26.3	
	T° Ext. (°C)	25.4	25.4	25.4	25.4	25.4	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	26.1	26.1	26.1	26.1	26.1	25.8	25.8	25.8	25.8	25.8	25.8	
	HR (%)	65	66	66	67	66.0	66	65	66	67	66.0	65	66	63	64	64.5	66	65	66	66	66.0	65.6	
15° ddi	T° Int. (°C)	25.8	26	25.9	25.7	25.9	25.7	25.8	26	25.8	25.8	26.1	26.9	27.1	27.8	27.0	25.7	25.6	26	26.2	25.9	26.1	
	T° Ext. (°C)	25.3	25.3	25.3	25.3	25.3	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	25.9	25.9	25.9	25.9	25.9	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	
	HR (%)	67	68	66	67	67.0	67	66	66	65	66.0	67	66	66	67	66.5	64	66	65	66	65.3	66.2	

PROMEDIO GENERAL	T° Int. (°C)	26.4
	T° Ext. (°C)	25.9
	HR (%)	66.5

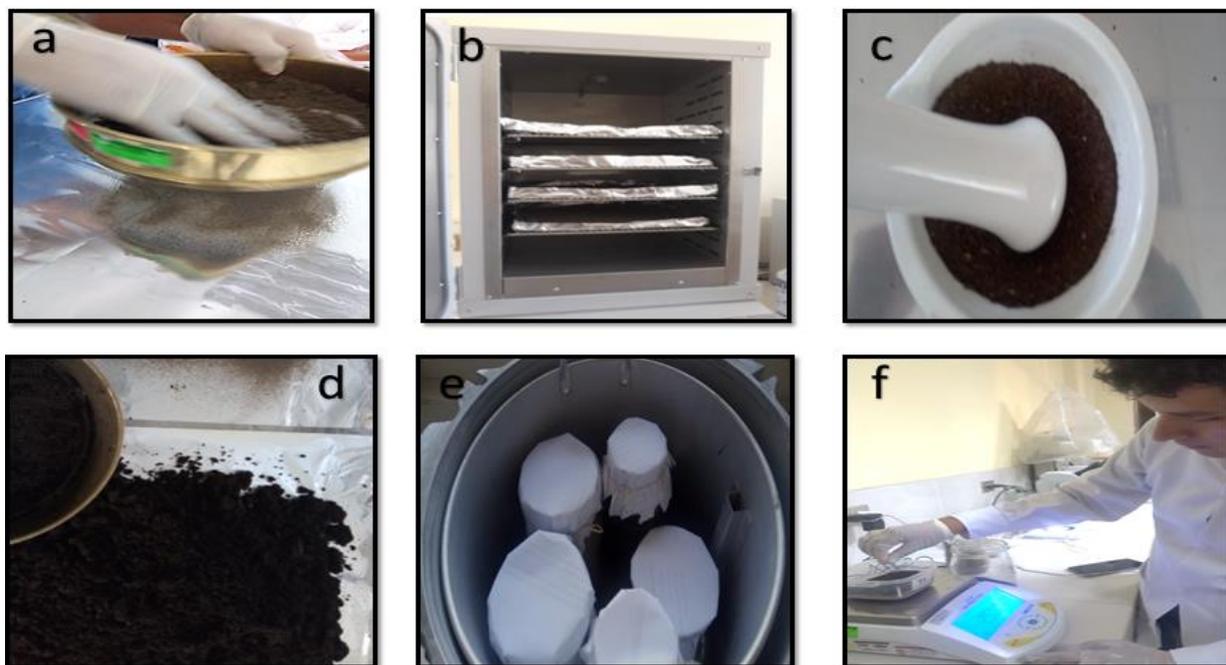
Anexo 13: a) Recolección de frutos infectados por mosca de la fruta. b) Disección de frutos y extracción de larvas de III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann). c) Separación de larvas determinadas por el género de *C. capitata* Wied. de III estadio. d) Determinación de larva de *C. capitata* a través de espiráculos. e) Determinación de *C. capitata* III estadio por la característica contracción para realizar saltos.



Anexo 14: a) y b) Larvas colocadas en trampas White. c) Cosecha de nematodos juveniles infectivos emergidos de larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus. d) Almacenamiento de la solución con nematodos en un vaso de precipitación. e) Extracción y colocación a una placa Petri cuadrículada 5 microgotas de la solución con nematodos utilizando una micropipeta de 10 ul. f) Contabilización de nematodos utilizando un estereoscopio y un contómetro



Anexo 15: a) Tamización de la arena. b) Secado del humus a estufa. c) Disgregación de las partículas del humus con mortero. d) Tamización del humus. e) Esterilización de la arena y humus en autoclave. f) Pesaje y mezcla del sustrato.



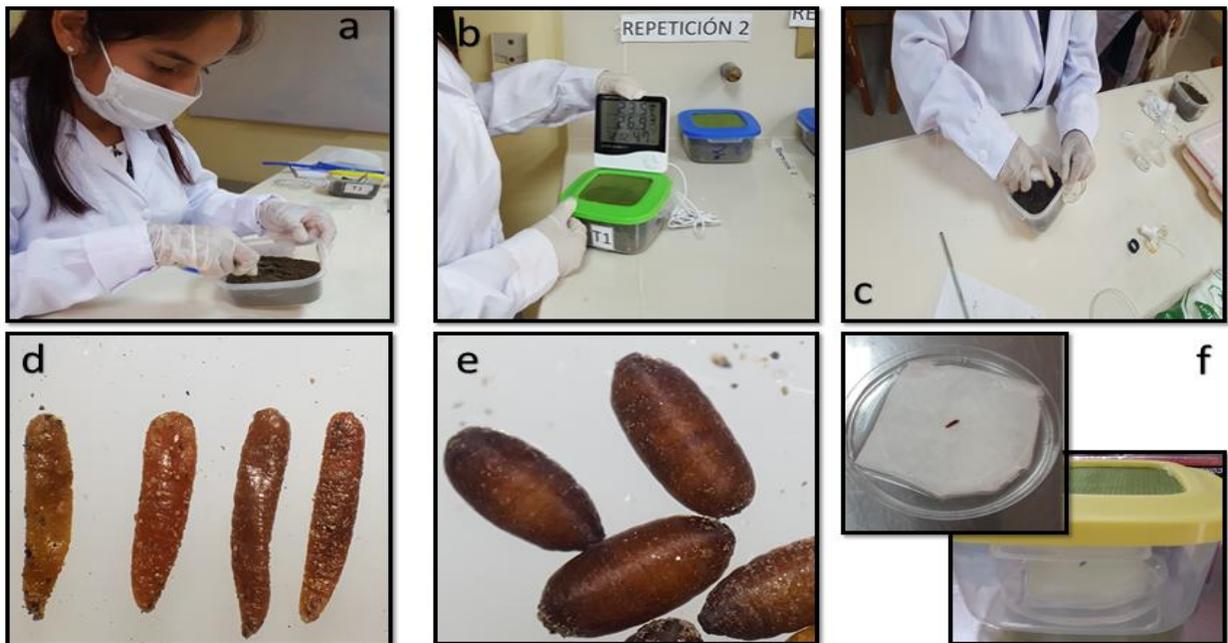
Anexo 16: Croquis de distribución de los tratamientos por repeticiones



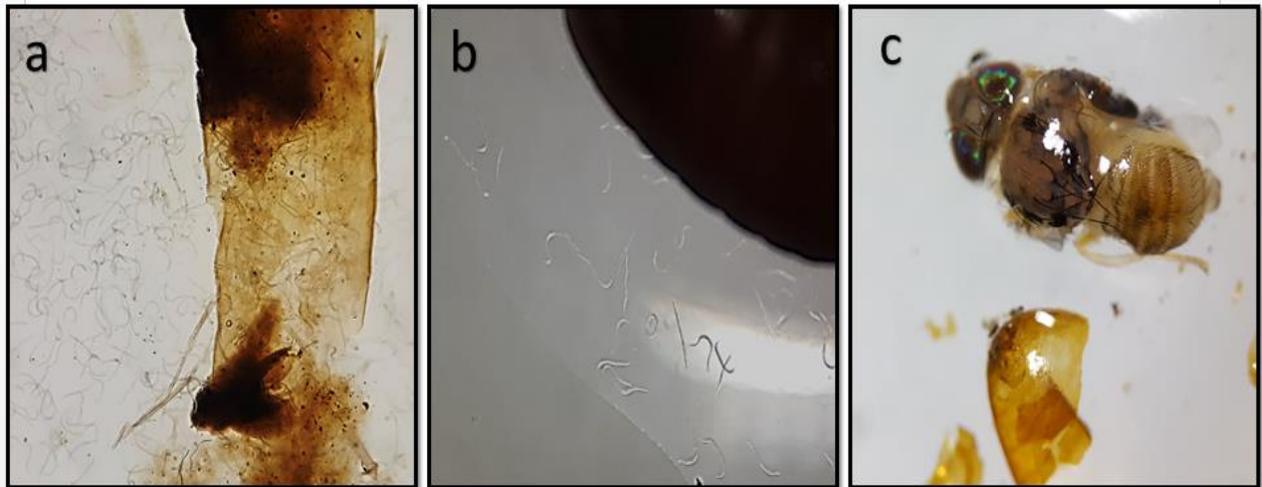
Anexo 17: a) Humedecimiento del sustrato para llevarlo a Capacidad de campo. b) Enjuague de las 15 larvas del III estadio de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) c) Distribución de las larvas en sus respectivos tratamientos. d) Inoculación de las concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* sp. a larvas de *C. capitata* Wied.



Anexo 18: a) Observación diaria de larvas y pupas. b) Toma de datos de: temperatura y HR. c) Adición de agua por pulverización para mantener al sustrato en CC. d) y e) Larvas y pupas infectadas por *Heterorhabditis* sp. respectivamente. f) Colocación de larvas y pupas a trampas white



Anexo 19: a) Larvas con presencia de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* sp. b) Nematodos entomopatógenos emergiendo de las pupas de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) c) Adulto de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) encontrada en una pupa disectada.



Anexo 20: Certificado de características del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* sp.



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

Servicio Nacional
de Sanidad Agraria
SENASA

Dirección
de Sanidad Vegetal

“Año del Diálogo y la Reconciliación”

CERTIFICADO

Por intermedio de la presente, se CERTIFICA que la cepa *Heterorhabditis* sp.CCB-LNH1001 presenta las siguientes características:

Material biológico : *Heterorhabditis* sp. Poinar (Rhabditida: Heterorhabditidae)
Nematodo entomopatógeno utilizado en el control de insectos plaga en cultivos agrícolas

Procedencia: Centro de Control Biológico de la SCB – SENASA, Lima Perú

Origen del material: Sayán, Huaura, Lima

Hospedero: *Proarna bergyi* (Hemiptera : Cicadidae)

Características biológicas: aislamiento nativo

Estado de desarrollo del agente biológico: Juveniles Infeccivos (JI₃) en larvas de *Galleria mellonella*

Estado sanitario: Libre de contaminantes

Vitarte, 14 de marzo de 2019



Anexo 21: Caracterización del sustrato utilizado



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES
ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION



Solicitante : PEDRO MIGUEL DIAZ JAIME

Departamento : ANCASH
 Distrito : NUEVO CHIMBOTE
 Referencia : H.R. 67069-021C-19

Bolt.. 2546

Provincia : DEL SANTA
 Predio : FUNDO ANGEL
 Fecha : 18/02/19

Número de Muestra		pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
Lab	Claves							Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ + H ⁺			
789		8.00	4.16	0.90	4.67	304.8	894	92	8	0	A	13.15	6.17	3.63	2.16	1.18	0.00	13.15	13.15	100

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso



Dr. Sady García Bendeza
 Jefe del Laboratorio