

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA



“EFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE *Heterorhabditis bacteriophora* PARA CONTROL DE *Elasmopalpus lignosellus* EN LABORATORIO Y CAMPO DE ESPÁRRAGO, CASMA 2021”.

PRESENTADO POR Bach. CRUZ BANCES DANNIA GABRIELA

**Bach. MARQUINA ZA VALETA LADY KIOKO HANA KO
YRMA**

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

NUEVO CHIMBOTE-PERÚ

2021



FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL INGENIERÍA AGRÓNOMA

CONFORMIDAD DEL JURADO EVALUADOR DE TESIS

Damos la conformidad del presente Informe, desarrollando el cumplimiento del objetivo propuesto y presentado conforme al Reglamento General para obtener el Título Profesional en la Universidad Nacional del Santa (R.N° 492-2017-CU-R-UNS) titulado:

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO EN
INGENIERÍA AGRÓNOMA:**

**EFFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE Heterorhabditis bacteriophora PARA
CONTROL DE Elasmopalpus lignosellus EN LABORATORIO Y CAMPO DE
ESPÁRRAGO, CASMA 2021**

**BACHILLERES : CRUZ BANCES DANNIA GABRIELA
MARQUINA ZAVALA LADY KIOKO HANAKO YRMA**

Nuevo Chimbote, setiembre 30 de 2021

Ms. Pedro Antonio Vargas Linares
PRESIDENTE

Ms. Santos Herrera Cherras
SECRETARIO

Ms. José Ismael Pérez Cotrina
INTEGRANTE

ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL INFORME FINAL DE TESIS

Siendo las 7:00 p.m. del día 30 de setiembre del año dos mil veintiuno, el Jurado Evaluador integrado por los docentes: Ms. Pedro Antonio Vargas Linares (Presidente), Ms. Santos Herrera Cherras, (Secretario), Ms. José Ismael Pérez Cotrina (Integrante), en cumplimiento a la Resolución N° 301-2021-UNS-CFI y Resolución Decanal N°511 -2021-UNS-FI, mediante la plataforma virtual ZOOM, en concordancia con la Directiva N° 003-2020-UNSVRAC, aprobada con Resolución N° 306-2020-CU-R-UNS de fecha 12.06.2020, se da inicio a la sustentación de la Tesis titulada: **“EFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE Heterorhabditis bacteriophora PARA CONTROL DE Elasmopalpus lignosellus EN LABORATORIO Y CAMPO DE ESPÁRRAGO, CASMA 2021”**, perteneciente a las bachilleres: **CRUZ BANCES DANNIA GABRIELA con código de matrícula N° 0201115018 y MARQUINA ZAVALA LADY KIOKO HANAOKO YRMA con código de matrícula N° 0201115044**, quienes fueron asesoradas por el Ms. José Ismael Pérez Cotrina, según Resolución Decanal N° 381-2020-UNS-FI.

El Jurado Evaluador, después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes en concordancia con el Reglamento General para Obtener el Grado Académico de Bachiller y el Título Profesional en la Universidad Nacional del Santa, declaran aprobar:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
CRUZ BANCES DANNIA GABRIELA	17	MUY BUENO

Siendo las 8:15 p.m. del mismo día, se dio por terminado el acto de sustentación, firmando la presente acta en señal de conformidad.

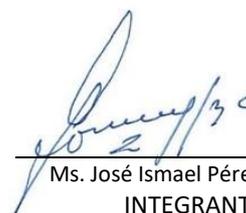
Nuevo Chimbote, setiembre 30 de 2021



Ms. Pedro Antonio Vargas Linares
PRESIDENTE



Ms. Santos Herrera Cherras
SECRETARIO



Ms. José Ismael Pérez Cotrina
INTEGRANTE

ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL INFORME FINAL DE TESIS

Siendo las 7:00 p.m. del día 30 de setiembre del año dos mil veintiuno, el Jurado Evaluador integrado por los docentes: Ms. Pedro Antonio Vargas Linares (Presidente), Ms. Santos Herrera Cherras, (Secretario), Ms. José Ismael Pérez Cotrina (Integrante), en cumplimiento a la Resolución N° 301-2021-UNS-CFI y Resolución Decanal N°511 -2021-UNS-FI, mediante la plataforma virtual ZOOM, en concordancia con la Directiva N° 003-2020-UNSVRAC, aprobada con Resolución N° 306-2020-CUR-UNS de fecha 12.06.2020, se da inicio a la sustentación de la Tesis titulada: **“EFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE Heterorhabditis bacteriophora PARA CONTROL DE Elasmopalpus lignosellus EN LABORATORIO Y CAMPO DE ESPÁRRAGO, CASMA 2021”**, perteneciente a las bachilleres: **CRUZ BANCES DANNIA GABRIELA con código de matrícula N° 0201115018 y MARQUINA ZAVALA LADY KIOKO HANA KO YRMA con código de matrícula N° 0201115044**, quienes fueron asesoradas por el Ms. José Ismael Pérez Cotrina, según Resolución Decanal N° 381-2020-UNS-FI.

El Jurado Evaluador, después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes en concordancia con el Reglamento General para Obtener el Grado Académico de Bachiller y el Título Profesional en la Universidad Nacional del Santa, declaran aprobar:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
MARQUINA ZAVALA LADY KIOKO HANA KO YRMA	17	MUY BUENO

Siendo las 8:15 p.m. del mismo día, se dio por terminado el acto de sustentación, firmando la presente acta en señal de conformidad.

Nuevo Chimbote, setiembre 30 de 2021



Ms. Pedro Antonio Vargas Linares
PRESIDENTE



Ms. Santos Herrera Cherras
SECRETARIO



Ms. José Ismael Pérez Cotrina
INTEGRANTE

DEDICATORIA

A Dios quien me brinda su infinito amor, sabiduría y salud día a día y es él quien me ha ayudado siempre dándome la fortaleza para cumplir los deseos de mi corazón.

A mis amados padres: Juan Cruz y Gladys Bances por su amor e incondicional apoyo.

A mi amado esposo Jaime Barreto, mi compañero de vida, quien es mi apoyo incondicional, mi fuerza y mi sostén.

A mi hermosa hija Zoe Gabriela quien es una gran bendición y la alegría de mi vida.

A mi hermana Eliana Cruz quien siempre me da su apoyo invaluable y su cariño.

A mis hermanos: Paola, Juan, Sarita con todo mi amor para ellos.

Dannia Gabriela Cruz Bances

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme tener y disfrutar de mi familia, por darme claridad y sabiduría.

A mis padres, por su esfuerzo y dedicación en mi formación personal y profesional, por siempre estar a mi lado apoyándome.

A mi hermana, por estar siempre presente, acompañándome.

A mi tía Margot Marquina, mis abuelos y tíos, por sus consejos y saber guiarme en cada etapa de mi vida.

A J. Ramírez, por motivarme a seguir adelante en cada una de mis metas, y brindarme su confianza y amor.

A mi alma mater “UNS” y mis profesores por sus conocimientos, comprensión y paciencia durante mi etapa universitaria.

Lady Kioko Hanako Yrma Marquina Zavaleta

AGRADECIMIENTO

A Dios porque todo es posible gracias a él.

A nuestros padres por darnos la educación como regalo de vida, por inculcarnos valores e impulsarnos constantemente a culminar la etapa universitaria.

A nuestro asesor, Ing. Jose Perez Cotrina por brindarnos sus conocimientos, su dedicación y apoyo en la ejecución de nuestra tesis.

Al Ing. Antonio Vargas Linares por su paciencia y apoyo en el proceso.

A los agricultores de la zona de Casma quienes nos abrieron las puertas de sus predios y nos dieron la confianza y apoyo.

A nuestra alma mater la Universidad Nacional del Santa que nos abrió las puertas en este proceso importante.

A nuestros docentes y compañeros de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma con quienes compartimos conocimientos e inmemorables momentos de vida.

Bach. Cruz Bances Danna Gabriela

Bach. Marquina Zavaleta Lady Kioko Hanako Yrma

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Ciencias y Ecología de la Universidad Nacional del Santa en Nuevo Chimbote-Santa-Ancash y en campo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago” situado en Casma-Ancash, durante los meses de enero a marzo 2021. Teniendo como objetivo probar el efecto de tres concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar en el control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”.

En laboratorio se experimentó con 192 prepupas y 192 pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”, de igual manera se experimentó en campo con 192 prepupas y 192 pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” con tres tratamientos a concentraciones de 1500, 3000 y 5000 Nematodos Entomopatógenos (NEP's)/mL. Se usó un diseño completamente al azar (DCA) experimentando tres tratamientos con cuatro repeticiones por estadío, y se consideró un testigo por repetición.

Las evaluaciones se hicieron a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la inoculación de las concentraciones de los NEP's, el número de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a evaluar por tratamiento fueron 12, de las cuales se registraron las prepupas y pupas parasitadas y nematodos infectivos encontrados. En laboratorio, las prepupas presentaron una mortalidad de 45.8, 60.4 y 81.3%, en pupas 41.7, 58.3 y 72.9% a las dosis de 1500, 3000 y 5000 NEP's/mL de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. En campo el control de prepupas fue de 39.6, 50.0 y 68.8% y en pupas 35.4, 45.8 y 60.4 % a las mismas dosis.

Palabra clave: Nematodos entomopatógenos, *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”, *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”, parasitadas, mortalidad, nematodos infectivos.

ABSTRACT

This research work was carried out in the Laboratory of Sciences and Ecology of the National University of Santa in Nuevo Chimbote-Santa-Ancash and in the field of *Asparagus officinalis* Linnaeus "asparagus" located in Casma-Ancash, during the months of January to March 2021. Aiming to test the effect of three concentrations of *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar in the control of prepupae and pupae of *Elasmopalpus lignosellus* Zeller "biting worm".

In the laboratory, 192 prepupae and 192 pupae of *Elasmopalpus lignosellus* Zeller "biting worm" were experimented, in the same way, 192 prepupae and 192 pupae of *Elasmopalpus lignosellus* Zeller "biting worm" were experimented with three treatments at concentrations of 1500, 3000 and 5000 Entomopathogenic Nematodes (NEP's) / mL. For this, a completely randomized design (DCA) was used, employing three treatments with 3 repetitions per stage, considering a control per repetition.

Evaluations were made at 24, 48, 72, 96 and 120 hours after the inoculation of the NEP's concentrations, the number of prepupae and pupae of *Elasmopalpus lignosellus* Zeller "biting worm" to be evaluated by treatment were 12, of which were they recorded the parasitized prepupae and pupae and infective nematodes found. In the laboratory, the prepupae showed a mortality of 45.8, 60.4 and 81.3%, in pupae 41.7, 58.3 and 72.9% at the doses of 1500, 3000 and 5000 NEP's / mL of *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. In the field the prepupal control was 39.6, 50.0 and 68.8% and in pupae 35.4, 45.8 and 60.4% at the same doses.

Key word: Entomopathogenic nematodes, *Elasmopalpus lignosellus* Zeller "biting worm"., *Asparagus officinalis* Linnaeus "asparagus", parasitized, mortality, infective nematodes.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	18
1.1. Antecedentes	21
1.2. Formulación del problema	27
1.3. Objetivos	28
1.4. Hipótesis	28
1.5. Importancia y Justificación	29
1.6. Limitaciones del trabajo de investigación.....	29
II. MARCO TEORICO	30
2.1. Cultivo de <i>Asparagus officinalis</i> Linnaeus “espárrago”	30
2.2. La especie <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”	39
2.3. Nematodos Entomopatógenos.....	45
III. MATERIALES Y MÉTODOS	53
3.1. Materiales.....	53
3.2. Población y muestra.....	54
3.3. Variables en estudio	55
3.4. Tratamientos	56
3.5. Características del área experimental.....	57
3.6. Unidad experimental	58
3.7. Metodología	58
3.7.1. Ubicación del experimento.....	58
3.7.2. Obtención de material biológico.....	59
3.7.3. Determinación del número de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar	61
3.7.4. Conservación de la solución madre de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar.	61
3.7.5. Sustrato de los tratamientos	62
3.8. Control de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a diferentes concentraciones de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar.	62
3.9. Técnicas e instrumentos de medición	64
3.9.1. Evaluación de control de nematodos <i>Heterorhabditis bateriophora</i> Poinar a diferentes concentraciones	64
3.9.2. Determinación de control de prepupas y pupas infectadas.....	66
3.9.3. Cuento de nematodos <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en prepupas y pupas controladas	66
3.10. Técnicas para el procesamiento de datos	67

IV. RESULTADOS	68
4.1. Resultados de estadio de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio	68
4.1.1. Promedio de prepupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de laboratorio	68
4.1.2. Porcentaje de mortandad de prepupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de laboratorio.....	68
4.1.3. Promedio de prepupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de laboratorio	70
4.1.4. Porcentaje de prepupas de controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de laboratorio	70
4.1.5. Promedio de nematodos por prepupas a nivel de laboratorio.....	70
4.2. Resultados de estadio de pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller a nivel de Laboratorio	70
4.2.1. Promedio de pupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de laboratorio	70
4.2.2. Porcentaje de mortandad de pupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de laboratorio	71
4.2.3. Promedio de pupas de controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de laboratorio	72
4.2.4. Porcentaje de pupas de controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de laboratorio	73
4.2.5. Promedio de nematodos por pupas a nivel de laboratorio.....	73
4.3. Resultados de estadio de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller a nivel de campo	73
4.3.1. Promedio de prepupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de campo	73
4.3.2. Porcentaje de mortandad de prepupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de campo.....	74
4.3.3. Promedio de prepupas de controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de campo	75
4.3.4. Porcentaje de prepupas de controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de campo	76
4.3.5. Promedio de nematodos por prepupas a nivel de campo.....	76
4.4. Resultados de estadio de pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller a nivel de campo.....	76
4.4.1. Promedio de pupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de campo	76
4.4.2. Porcentaje de mortandad de pupas controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de campo	77
4.4.3. Promedio de pupas de controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de campo	78

4.4.4. Porcentaje de pupas de controladas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de campo	79
4.4.5. Promedio de nematodos por pupas a nivel de campo.....	79
V. DISCUSIONES	80
VI. CONCLUSIONES.....	89
VII. RECOMENDACIONES.....	90
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
IX. ANEXOS.....	96

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Parámetros en laboratorio.....	55
Tabla 2: Parámetros en campo de <i>Asparagus officinalis</i> Linnaeus “espárrago”.....	55
Tabla 3: Descripción de los tratamientos.....	56
Tabla 4: Promedio de prepupas muertas por tratamiento en laboratorio.....	68
Tabla 5: Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento en laboratorio.....	68
Tabla 6: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en laboratorio.....	68
Tabla 7: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en laboratorio.....	69
Tabla 8: Promedio de prepupas muertas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio....	70
Tabla 9: Porcentaje mortandad de prepupas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio.....	70
Tabla 10: Promedio de nematodos por prepupas por tratamiento en laboratorio.....	70
Tabla 11: Promedio de pupas muertas por tratamiento en laboratorio.....	71
Tabla 12: Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento en laboratorio.....	71
Tabla 13: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en laboratorio.....	71
Tabla 14: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en laboratorio.....	72
Tabla 15: Promedio de prepupas muertas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio..	73
Tabla 16: Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio.....	73
Tabla 17: Promedio de nematodos en pupas por tratamiento en laboratorio.....	73
Tabla 18: Número promedio de prepupas muertas por tratamiento en campo.....	74
Tabla 19: Porcentaje de mortandad a nivel de prepupas por tratamiento en campo.....	74
Tabla 20: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en campo.....	74
Tabla 21: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en campo.....	75
Tabla 22: Promedio de prepupas muertas por tratamiento en campo.....	75
Tabla 23: Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento en campo.....	76
Tabla 24: Promedio de nematodos en prepupas por tratamiento en campo.....	76
Tabla 25: Promedio de pupas muertas por tratamiento en campo.....	76
Tabla 26: Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento en campo.....	77
Tabla 27: Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en campo.....	77
Tabla 28: Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en campo.....	77
Tabla 29: Promedio de prepupas muertas por tratamiento en campo.....	78
Tabla 30: Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento en campo.....	79
Tabla 31: Promedio de nematodos en pupas por tratamiento en campo.....	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diseño del área experimental para laboratorio.....	57
Figura 2: Diseño del área experimental para campo.....	57
Figura 3: Medias marginales estimadas de muertes de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller en laboratorio.....	69
Figura 4: Medias marginales estimadas de muertes de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” en laboratorio.....	71
Figura 5: Medias marginales estimadas de muertes de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”.	75
Figura 6: Medias marginales estimadas de muertes de prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller en campo.....	78

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Promedio de prepupas muertas por tratamiento en laboratorio	96
Anexo 2: Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento en laboratorio.....	96
Anexo 3: Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio	97
Anexo 4: Promedio de nematodos por prepupas por tratamiento en laboratorio.	97
Anexo5: Promedio de pupas muertas por tratamiento en laboratorio.....	98
Anexo 6: Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento en laboratorio	98
Anexo 7: Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio.	99
Anexo 8: Promedio de nematodos por pupas por tratamiento en laboratorio	99
Anexo 9: Promedio de prepupas muertas por tratamiento en campo.	100
Anexo 10: Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento en campo.....	100
Anexo 11: Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento a diferentes horas en campo.....	101
Anexo 12: Promedio de nematodos por prepupas por tratamiento en campo.	101
Anexo 13: Promedio de pupas muertas por tratamiento en campo	102
Anexo 14: Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento en campo.....	102
Anexo 15: Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento a diferentes horas en campo.	103
Anexo 16: Promedio de nematodos por pupas por tratamiento en campo.	103
Anexo 17: Cartilla de evaluación de control de prepupas y pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller para laboratorio.....	104
Anexo 18: Cartilla de evaluación de control de prepupas y pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller para campo.....	105
Anexo 19: Cartilla de evaluación para población de nematodos juveniles de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en laboratorio.....	106
Anexo 20: Cartilla de evaluación para población de nematodos juveniles de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en campo.....	107
Anexo 21: a) Investigadoras en campo de “espárrago” altamente infestado con <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”. b) Brote de “espárrago” infestado con larvas. c) Recolección manual de larvas en brotes de “espárrago”. d) Acondicionamiento de larvas recolectadas.....	108

Anexo 22: a) Larvas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”. b) Acondicionamiento de brotes para alimento de larvas. c) Acondicionamiento de arena como medio de larvas. d) Separación de larvas de I, II y III, IV estadio de larvas. e) y f) Acondicionamiento de larvas para la crianza en laboratorio.....	108
Anexo 23: a) Esponjas contenidas del nematodo entomopatógeno <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar. b) Estrujado de las esponjas para la obtención de la solución. c) Medición de la solución obtenida. d) Acondicionamiento de larvas de <i>Galleria mellonella</i> Linnaeus “gusano de la cera”. e) Inoculación de la solución de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar a las larvas de <i>Galleria mellonella</i> Linnaeus “gusano de la cera”. f) Recipientes con 500 larvas de <i>Galleria mellonella</i> Linnaeus “gusano de la cera” inoculadas.....	109
Anexo 24: a) Larvas de <i>Galleria mellonella</i> Linnaeus “gusano de la cera” parasitadas por el nematodo entomopatógeno <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar. b) Instalación de cámara White. c) Almacenamiento de la cámara White. d) Obtención de solución madre a partir de larvas de <i>Galleria mellonella</i> Linnaeus “gusano de la cera” parasitadas por el nematodo entomopatógeno <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar.....	109
Anexo 25: a) Preparación del sustrato para ser puesto en el horno. b) Sustrato esterilizado a 120 °C en el horno. c) Acondicionamiento del sustrato en las unidades experimentales para prepupas y pupas de laboratorio y campo.....	110
Anexo 26: a) Obtención de solución madre del nematodo <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar con una alícuota. b) Conteo de nematodos entomopatógenos con microscopio a una vista de 10 X c) Vista microscópica de los nematodos obtenidos de la solución madre.....	110
Anexo 27: a) Prepupas y pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” para ser dispuestas en las unidades experimentales. b) c) y d) Acondicionamiento de prepupas y pupas en las unidades experimentales con sustrato.....	111
Anexo 28: a) Campo experimental de <i>Asparagus officinalis</i> Linnaeus “espárrago” ubicado en Casma. b) y c) Acondicionamiento de las unidades experimentales en campo. d) Inoculación de los diferentes tratamientos en prepupas pupas.....	111
Anexo 29: a) Prepupas de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar dispuestas en láminas para ser evaluadas. b) Pupas de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar dispuestas en láminas para ser evaluadas. c) Prepupas con síntomas característicos de parasitación de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar d) Pupa con síntomas característicos de parasitación de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar. e) Presencia de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis</i>	

<i>bacteriophora</i> Poinar emergiendo de la pupa de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”. f) Presencia de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar emergiendo de la pupa de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”	112
Anexo 30: a) Prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador” experimentadas en campo dispuestas en placas Petri para ser evaluadas. b) Pupas de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar dispuestas en placas Petri para ser evaluadas. c) Prepupas con síntomas características de parasitación de heterorhabditis bacteriophora Poinar d) Pupa con síntomas características de parasitacion de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar. e) Presencia de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar emergiendo de la pupa de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”. f) Presencia de nematodos entomopatógenos <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar emergiendo de la pupa de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”	113
Anexo 31: a) y b) Croquis de distribución de los tratamientos por repeticiones.....	114
Anexo 32: Boleta de venta electrónica de nematodos <i>Heterorabhditis bacteriophora</i> Poinar.....	115
Anexo 33: Informe de resultdos de verificación de calidad de nematodos <i>Heterorabhditis bacteriophora</i> Poinar.....	116
Anexo 34: Informe de resultados de verificacion de TURNITIN.....	117

I. INTRODUCCIÓN

Elasmopalpus lignosellus Zeller también conocido como “gusano picador” perteneciente a la familia Pyralidae del orden Lepidóptera, se encuentra ampliamente distribuida en el continente americano y en nuestro medio. La severidad del daño está relacionada con el incremento de la temperatura y déficit hídrico, además de residuos que deja la quema de rastrojos. La combinación de estos factores acelera el ciclo biológico, aumenta la capacidad de consumo de las larvas y por lo tanto el daño al cultivo. (Salazar Blanco, 2016)

Red Agrícola (2018) sostiene que *Elasmopalpus lignosellus* Zeller, empezó desde hace unos cuatro años atrás a atacar a *Asparagus officinalis* “espárrago” en Ica. Después de la cosecha, este gusano perforador ingresa por el cuello de la planta y comienza a escalar hasta alojarse en la parte central del tallo.

El uso intensivo de agroquímicos sintéticos en la agricultura ha causado diversos problemas en el medio ambiente, como la contaminación del agua, del suelo y de los alimentos, causando posiblemente problemas en la salud de los agricultores y consumidores. (García, 1997).

Las altas concentraciones de agroquímicos acumulados en los agrosistemas han promovido, además, el desarrollo de resistencias en plagas y patógenos, facilitando su rápido resurgimiento, e incluso promueven que plagas secundarias se conviertan en plagas clave al afectar negativamente a sus enemigos y antagonistas naturales. Con el fin de reducir estos riesgos, la Unión Europea (UE) ha intervenido en el modo de uso de los productos fitosanitarios, apostando por su reducción en favor de métodos “no químicos” y en el que se promueven acciones que garanticen, dentro del manejo integrado de cultivos, la aplicación de los principios generales de la gestión integrada de plagas. No obstante, y a pesar de la normativa

vigente, el uso de plaguicidas en la UE se ha incrementado en un 4% entre los años de 2006 y 2016, y recientemente se ha constatado la presencia de residuos de plaguicidas en más del 80% de los suelos agrícolas europeos. Además, el 50% de los cultivos europeos acumulan mezclas de varios de estos productos, cuyo efecto combinado es desconocido y, por tanto, su potencial riesgo para la salud y el medio ambiente es difícil de predecir. Estos datos ponen de manifiesto la necesidad urgente de impulsar el desarrollo de herramientas eficaces y no contaminantes como son el uso y manejo de agentes de control biológico como son, entre otros muchos, los nematodos entomopatógenos. (Campos et al., 2020)

Durante las últimas décadas, aumentado el interés por el uso de los microorganismos benéficos para el control de plagas agrícolas. Muchos investigadores a nivel mundial han estudiado las interacciones que se dan entre el agente patógeno, su hospedero y el medio ambiente; con la finalidad de desarrollar fórmulas de aplicación en campo que sean competitivos con otros métodos de control y puedan ser utilizados en gran escala. Actualmente trabajamos con entomopatógenos y antagonistas. Se denomina entomopatógeno a cualquier agente biótico, normalmente microscópico que origina enfermedades en insectos o arácnidos; pueden ser hongos, bacterias, virus, nematodos y rickettsias. Penetran en la especie plaga a través del tubo digestivo provocando la muerte del hospedante. Asimismo, los antagonistas son microorganismos que interfieren en la supervivencia o desarrollo de los patógenos (enfermedades), pueden ser hongos, bacterias y levaduras. Se caracterizan por su escasa toxicidad y se comercializan como un insecticida convencional (SENASA, 2015)

La incorporación de agentes biológicos para la regulación de insectos y otros organismos plaga se hace cada día más urgente como respuesta a las restricciones cada vez más estrictas para el uso de agroquímicos y a las exigencias de calidad en los productos de origen agrícola en mercados nacionales y aún más en los internacionales. No menos importantes son los requerimientos en lo que tiene que ver con la protección del medio ambiente y la

biodiversidad dentro de la moderna concepción del desarrollo sostenible. El uso de hongos, bacterias y virus entomopatógenos ha cobrado mayor importancia durante las dos últimas décadas y el estudio de los nematodos o entomonematodos, es considerado una alternativa promisoriosa en el control de plagas agrícolas, pecuarias y aún aquellas que afectan instalaciones industriales (Sáenz, 2005) mencionado por (Ángulo, 2015).

El uso de NEP's es una herramienta más para el control de insectos plagas, con las ventajas propias de un organismo de control biológico y la posibilidad de buscar la presa dentro de ambientes crípticos y poco accesibles por otros medios de control, incluyendo los productos químicos. En la medida que se conozca más sobre esta tecnología y aumente su uso, mayores serán las posibilidades de desarrollo, como una herramienta efectiva dentro del control integrado de plagas. (France, 2013)

Los NEP's presentan diferentes medios de adaptación a las condiciones de suelo y clima, entre las que se destacan su habilidad de moverse en el perfil del suelo, en busca de condiciones óptimas de sobrevivencia, de acuerdo a temperatura y humedad, o para buscar un hospedero siguiendo gradientes de excreción, CO₂ o movimiento (Alekseev et al., 2006) mencionado por (France, 2013)

No solo se ha demostrado la efectividad de los NEP's como parásitos obligados y portadores de enfermedades en una amplia variedad de insectos que habitan en el suelo, pero además el que estos organismos presenten la mayoría de los atributos que debe tener un efectivo agente de control biológico: matan su huésped rápidamente, son específicos contra numerosos insectos plagas, inoocuos para vertebrados y plantas, fáciles de propagar y almacenar, capaces de buscar a su huésped por sí mismos, no contaminan el medio ambiente y se adaptan bien a un control integrado de plagas, (Griffin et al., 2005; Koppenhöfer, 2007; Lewis and Clarke, 2012) mencionado por (France 2013)

1.1. Antecedentes

Wagiyana et al. (2019) manifiestan que los NEP's que sirven como agentes de control biológico incluyen *Steinernema spp.* y *Heterorhabditis spp.* *Heterorhabditis indicus* Poinar tiene una alta toxicidad contra las larvas de lepidópteros y coleópteros y se desarrolló con éxito para la producción en masa en el Laboratorio de Control Biológico de la Universidad de Jember. Estos nematodos se formularán como bioplaguicidas sólidos y líquidos. Estas fórmulas se probaron para determinar la patogenicidad y viabilidad de NEP's en las larvas de *Hypothenemus hampei* Ferrari, y *Galleria melonella* Linnaeus “gusano de la miel”. Los resultados mostraron que la patogenicidad del aislamiento de NEP's a las larvas de CBB en Silo fue del 30% después de 24 horas y del 90% después de 48 horas de inoculación in vivo. Sin embargo, la mortalidad de las larvas de broca fue sólo del 10% mediante la pulverización de líquido sobre la baya del café. La viabilidad fue de 524 JIs (juveniles infectivos) en la fórmula líquida empaquetada en una esponja de poliuretano, y fue mayor que la de la fórmula sólida (330 JIs).

Yuksel & Canhilal (2018) evaluaron la eficacia de los aislados locales de NEP's contra el cuarto estadio larvario de *Agrotis ipsilon* Hufnagel, a diferentes concentraciones (10, 25, 50, 100 JIs/larva/placa Petri y 25, 50, 100 JIs / cm² de suelo) en dos entornos experimentales diferentes, incluidos papeles de filtro en placas Petri y suelo en recipientes de plástico en condiciones de laboratorio a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. La mortalidad de las larvas de *Agrotis ipsilon* Hufnagel se registró el primer, segundo, tercer y cuarto día después de la inoculación, donde las tasas de mortalidad aumentaron al aumentar las concentraciones. La tasa máxima de mortalidad (100%) se alcanzó dentro de los 2 días posteriores a la inoculación, inoculando los aislados de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar FLH-4-H y *Heterorhabditis indica* Poinar 216-H a

concentraciones de 50 y 100 JIs/cm², en el experimento del recipiente de plástico. La tasa de mortalidad más alta (90%) se obtuvo con el aislado de *Steinernema carpocapsae* Filipjev E76-S a una concentración de 100 JIs/larva/placa Petri el cuarto día después de la inoculación, en el experimento de placa Petri. Los valores de concentración letal (LC₅₀ y LC₉₀) de la población de larvas de *Agrotis ipsilon* Hufnagel, fueron 52 JIs y 129 JIs, respectivamente, para el aislado de *Steinernema Sentiae* Filipjev E76-S en las pruebas de placa Petri. En el experimento del recipiente de plástico, los valores más bajos de LC₅₀ y LC₉₀ fueron 17 JI y 23 JI, respectivamente, para el aislado de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar FLH-4-H. Los resultados mostraron que todos los aislamientos autóctonos de NEP's tenían un buen potencial en el manejo de *Agrotis ipsilon* Hufnagel.

De Sousa Rodriguez et al. (2017) publicaron en el artículo Potencial de los Nematodos Entomopatógenos del género *Heterorhabditis* para el control de *Stomoxys calcitrans* Linnaeus (Diptera: *Muscidae*) se verificó el potencial patogénico de NEP's del género *Heterorhabditis* (*Heterorhabditis bacteriophora*, aislado HP88 y *Heterorhabditis baujardi* Poinar aislado LPP7) a estadios inmaduros de *Stomoxys calcitrans* Linnaeus en el laboratorio. Todas las concentraciones de NEP's de la cepa *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar HP88 provocaron una mortalidad larvaria media superior al 90 % después de cuatro días. Las concentraciones más altas del aislado de *Heterorhabditis baujardi* Poinar LPP7 (≥ 50 NEP's/larva) eliminaron más del 70 % de las larvas después de 6 días con la concentración 200 NEP's/larva alcanzando niveles de mortalidad del 93,3 %. La mortalidad de larvas en todas las concentraciones de NEP's (25, 50, 100, 150 y 200 NEP's/larva) para ambas cepas fue significativa ($p < 0,05$) en comparación con los respectivos grupos de control. Los NEP's no causaron una mortalidad considerable cuando se aplicaron directamente a las pupas. El conjunto de resultados observados sugiere que los NEP's del género *Heterorhabditis*, aislados HP88 y LPP7, son una alternativa prometedora en el control de “la mosca del establo”.

Alvarado & Noriega (2018) en su investigación determinaron la mortalidad de prepupas y pupas de *Spodoptera frugiperda* Smith por efecto de tres concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. En laboratorio se trabajó en total con 60 prepupas y 60 pupas del insecto a concentraciones de 1 000, 3 000 y 5 000 NEP's/mL, se realizaron 3 repeticiones y un testigo. En el invernadero se usó una parcela de 60 m sembraron coronas de *Asparagus officinalis* Linnaeus en 4 surcos de 15 m, 0.20 m entre planta y planta, 2.5 m entre surco y surco. Se realizaron tres tratamientos con un testigo, se utilizaron 12 sectores de surcos de 3 m, en cada sector se colocaron al azar 20 prepupas y 20 pupas por la técnica del insecto trampa, para cada tratamiento se inoculó el nematodo a las mismas concentraciones en una mochila de inyección 10 L de agua. Se determinaron porcentajes de mortalidad, se realizó Análisis de Varianza y Prueba de Tukey, con un nivel de confianza de 95 %. En ambos lugares se evaluó a las 24 y 48 horas y de 24, 48, 72. 96 y 120 horas para prepupas y pupas respectivamente. En laboratorio, las pre pupas presentaron una mortalidad de 75, 87 y 92 %, en pupas 55. 70 y 80 % a la dosis de 1 000, 3 000 y 5 000 NEP's mL, respectivamente. En invernadero la mortalidad de prepupas fue de 68, 70 y 78 % y en pupas 48 53 y 62 %, a las mismas dosis. Se encontraron diferencias significativas a 1 000 y 5 000 NEP's mL en pre pupas y 1 000 NEP's mL en pupas en laboratorio en invernadero solo se encontró diferencia estadística a 5000 NEP's mL en pupas, no presentaron diferencias significativas en prepupas, en los tiempos se encontraron diferencias significativas en ambos estudios. concluye que en laboratorio e invemadero la dosis más eficiente en la mortalidad de prepupas y pupas de *Spodoptera frugiperda* Smith fue de 5000 NEP's/ mL. de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

DRMIC, et al. (2020) demostraron la eficacia de los NEP's *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 JIs en el “gorgojo de la remolacha azucarera” (*Bothynoderes punctiventris* Germar en larvas y evaluar su potencial de uso en la práctica. En experimentos

de campo, se utilizaron tres dosis de nematodos y un control sin tratar. En las condiciones de ataque larvario moderado (infestación promedio de 0.28 larvas por planta), los NEP's mostraron una clara respuesta a la dosis siendo altamente efectivos (92,86 % de control) cuando se aplicaron en la dosis más alta. Aunque los resultados indicaron que *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar podría tener un efecto de mortalidad satisfactorio en las larvas del “gorgojo de la remolacha azucarera”, se necesitan más investigaciones para determinar mejor la dosis óptima y el momento de aplicación.

Torrini et al. (2017) realizaron por primera vez bioensayos de laboratorio para evaluar la susceptibilidad de las pupas de *Bactrocera oleae* Rossi a con especies de NEP's, *Steinernema carpocapsae* Filipjev y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. Los nematodos probados causaron una mortalidad de pupas de 62,5 % y 40,6 %, respectivamente. El resultado más destacable se obtuvo con *Steinernema carpocapsae* Filipjev, que logró infectar al 21,9 % de los adultos emergidos. Dado que esta mosca tefrítida pasó varios meses en el suelo como pupa, el uso de NEP's podría ser un método prometedor para controlar esta plaga.

Crisanto (2016) determinó la capacidad de propagación del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar en larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera”, *Spodoptera eridania* Cramer y *Oxydia vesulia* Cramer. El trabajo se realizó en el Laboratorio de Entomología de La Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, de mayo a noviembre del 2015. Se usaron larvas del instar V, La parasitación fue de 150 nematodos/larva en cada hospedero, la unidad experimental fue de 20 individuos infectados, con cinco repeticiones. La mayor propagación se obtuvo de larvas de *Oxydia vesulia* Cramer que fue de $217\,550 \pm 22\,772$ JIs/larva, seguido de *Spodoptera eridania* Cramer, y de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera” con un promedio de 162950 ± 19461 JIs/larva y 123850 ± 18076 JIs/larva, respectivamente.

Pachecho (2014) observó la patogenicidad de tres cepas de NEP's M2 y MH aislados del distrito de Monsefú de la región Lambayeque y *Heterorhabditis sp* (nativo) donado por el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) Vista Florida Lambayeque, al realizar la prueba de patogenicidad de las tres cepas M2, MH y *Heterorhabditis sp* (nativo) sobre larvas de *Gallería mellonella* Linnaeus “gusano de cera” para ver la calidad de los NEP's, M2 y MH presentaron muy baja patogenicidad con un porcentaje de 67 % cada cepa a comparación de *Heterorhabditis sp*. (nativo) que presentó una patogenicidad de 89 %. En el ensayo de patogenicidad con el nematodo más patógeno *Heterorhabditis sp* (nativo) en larvas de último estadio y pupas de la plaga del tomate *Prodiplosis longifila* Gagné “mosquilla de los brotes” presentó una elevada patogenicidad, en larvas concentración letal medio (CL₅₀) fue 108466 nematodos a 24 horas y 33767 nematodos a 48 horas. En las pupas la concentración letal medio (CL₅₀) fue 153064 nematodos a 24 horas y 4687 nematodos a 48 horas. De acuerdo a estos resultados el nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp*. (nativo) tiene un gran potencial para el control de pupas de *Prodiplosis longifila* Gagné “mosquilla de los brotes”, y en caso de las larvas estas presentaron una forma de resistencia denominada "salto larval".

Diaz & Rodriguez (2018) investigaron el efecto del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis sp* con la aplicación de tres concentraciones (3000, 5000 y 7000 JIs/mL). para el control biológico de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) bajo condiciones de laboratorio. Se realizaron evaluaciones a los 10, 13 y 16 días después de la inoculación 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/mL) con un porcentaje de mortandad igual a 76.7 % seguido del tratamiento T₂ (5000 JIs/mL) con un porcentaje de mortandad de 65.0 %,

finalmente el tratamiento T₁ (3000 JIs/mL) muestra un porcentaje de mortandad inferior a los anteriores igual a 48.3 %.

Calle (2019) mediante la inoculación de concentraciones de 10, 100 y 200 nematodos/mL sobre los estadios larvales II, III, IV y V de *Spodoptera frugiperda* Smith con aspersiones dirigidas. Evaluó el porcentaje de mortalidad a los 24, 48, 72 y 96 horas después de la inoculación; así mismo, se determinó el porcentaje de eficacia de control. Las larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith inoculadas con *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar presentaron mortalidad en sus distintos estadios larvales; los estadios con mayor porcentaje de muerte fueron IV y V. Las concentraciones más efectivas que causaron mayor porcentaje de mortalidad fueron 100 y 200 individuos mL. *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar causó la mortalidad en gran porcentaje de larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith, logrando provocar la muerte de hasta el 75 % de la población evaluada del V estadio. Por lo que existe una relación directa entre la concentración del nematodo y el porcentaje de mortalidad en larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith; la concentración de 200 nematodos mL logró el más alto control de *Spodoptera frugiperda* Smith. Los estadios larvales IV y V son los más sensibles a la aplicación del nematodo.

Asimismo, Sánchez et al. (2019) con el propósito de determinar el control biológico de *Spodoptera frugiperda* Smith en el cultivo de maíz con NEP's, propusieron realizar pruebas en los invernaderos del (INIA), utilizando NEP's (*Heterorhabditis sp.*) con cuatro diferentes concentraciones (200, 300, 500 y 750 juveniles infectivos por tratamiento), lo que permitió determinar la concentración letal media (CL₅₀₋₄₈), porcentaje de mortandad además de daño en plantas de maíz por dicha plaga. Mediante análisis Probit al 95.0 % se obtuvo que la CL₅₀₋₄₈, para *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar fue 18258 JIs/larva y para *Heterorhabditis sp* (nativo), fue 26268 JIs/larva. La prueba de Anova y de comparación simultánea de Tuckey encontró diferencias significativas ($p = 0.005$) entre algunas concentraciones de los

tratamientos, estableciendo que el mejor nematodo para combatir las larvas de cogollero fue *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, con el menor porcentaje de daño en planta (53.3 %) y la mayor mortalidad (84.4 %) en una concentración de 750 JIs/larva. A comparación del tratamiento con *Heterorhabditis sp.* (nativo), que obtuvo mayor porcentaje de daño en planta (83.3 %) y la menor mortalidad (46.6 %) en una concentración de 200 JIs/larva.

1.2. Formulación del problema

Elasmopalpus lignosellus Zeller “gusano picador” es una plaga polífaga y de importancia económica en el cultivo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”, a nivel nacional y específicamente en el valle de Casma; es una plaga clave en el cultivo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”, su presencia causa pérdidas considerables en el cultivo restándoles rentabilidad y calidad al producto afectando la economía de los pequeños productores del valle de Casma.

El control de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” actualmente se basa en el control químico dirigido al control de adultos y larvas; método que ha resultado ser poco eficaz para el control de la plaga; e incluso la aplicación constante de productos químicos podría estar generando resistencia de la plaga, e incluso podría estar afectando la inocuidad del producto, así mismo, puede estar afectando el ecosistema y los controladores biológicos naturales.

Actualmente los métodos de control no están dirigidos a las prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”, así mismo, no se está considerando el uso de agentes de control biológico como el *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar para el control de la plaga a nivel de estos estadios. La información sobre el uso de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar es escasa y poco disponible e incluso inexistente para las condiciones del valle de Casma, al no existir mucha información disponible sobre el uso de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar.

A nivel de estadios biológico de pupas y prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” se plantea el presente trabajo de investigación con el uso de diferentes concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar para el control de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de prepupas y pupas.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA: considerando la problemática de la investigación nos formulamos lo siguiente:

¿Cuál será el efecto en el control de pupas y prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” de tres concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar?

1.3. Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el efecto de tres concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar para control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio y campo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto de tres concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar más eficiente en el control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio.
- Determinar el efecto de tres concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar más eficiente en el control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en campo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”.

1.4. Hipótesis

La dosis de mayor concentración de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar tendrá mayor control sobre prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio y a nivel de campo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”.

1.5. Importancia y Justificación

Esta investigación tiene como propósito proporcionar nuevos conocimientos acerca de una nueva alternativa de control ecológico de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller a nivel de prepupas y pupas en el cultivo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”, por lo que existe escasa información acerca del control en dichos estadios de la plaga, así mismo, esta nueva alternativa generaría productos inocuos para el ser humano y el medio ambiente.

El control biológico es una excelente opción para controlar *Elasmopalpus lignosellus* Zeller en campos de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”, mediante el uso de microorganismos existentes poco conocidos por los productores del valle de Casma, así mismo se generaría más información acerca del uso de organismos entomopatógenos para obtener resultados favorables en los campos agrícolas.

Con la investigación se pretende aportar información y conocimientos que beneficien a técnicos, estudiantes y principalmente a los productores del cultivo de espárrago del valle de Casma, que se encuentren afectados por *Elasmopalpus lignosellus* Zeller, así mismo motivaría a investigadores a realizar nuevas investigaciones dentro del manejo integrado de plagas, como es el control biológico haciendo uso de nematodos entomopatógenos como *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, en otras plagas que afecten a los productores del interior del país.

1.6. Limitaciones del trabajo de investigación

La limitación durante el desarrollo de la investigación fue la disponibilidad de larvas de II, III, III y IV de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”. Por el hábito de la plaga y dificultad de extraerlas del campo.

II. MARCO TEORICO

2.1. Cultivo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”

- Generalidades

El cultivo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago” tuvo sus inicios en Perú a comienzos de la década del 50. Los primeros sembríos se dieron en el Valle de Virú, comenzando de un proyecto familiar para exportación de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”, el crecimiento fue lento, dentro del departamento de La Libertad y en parte a causa de la reforma agraria en 1972. La producción lograda en *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago” verde y blanco desde sus inicios fue elevada, debido a las buenas condiciones climáticas y a los suelos sueltos de la costa peruana, y por ello se consiguió dos cosechas en algunos valles y tres cosechas en dos años en otros valles, logrando en los mejores casos un rendimiento de 2 tn/ha/año. (O'Brien & Díaz, 2004, p. 9)

Según Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas (IPEH, 2014) seguido de China, el Perú ocupa el segundo lugar como el país con mayor producción. Los distintos procesos de calidad aplicados en la producción de espárragos lo ubican como una de los mejores en América Latina. En los últimos años la producción ha ido aumentando, por el incremento de mercado en países europeos (Inglaterra, Holanda, etc.) y Estados Unidos; además de iniciando el proceso y las gestiones para el acceso al mercado asiático (China). Aunque la población peruana no evidencia hábito de consumo considerable, ya se observan las ofertas en los supermercados. (p.7)

Morfología

Moreira & Gonzáles (2002) describen en su investigación que:

Asparagus officinalis Linnaeus “espárrago” es una planta dioica perenne. La planta masculina posee flores elongadas con estambres y en general, produce mayor número de turiones o tallos, pero de menor diámetro que la femenina. La planta femenina posee flores redondeadas, más pequeñas y posee un menor número de turiones, pero de mayor diámetro. Los frutos inmaduros son de color verde y rojos en la madurez conteniendo seis semillas de forma triangular, la corona de la planta es un rizoma o tallo modificado subterráneo, el cual posee yemas que al desarrollarse forman los tallos aéreos.

Sistema radicular

Describe el Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas (IPEH, 2014)

Se caracteriza por ser muy desarrollado en la medida que se va incrementando permanentemente, y también por ser profundo, ya que está conformado por raíces perennes que pueden alcanzar una extensión de hasta 1,5 m de largo. Se estima que el 75 % del sistema radicular se ubica hasta una profundidad de 0,75 m. Las raíces son cilíndricas, fibrosas, delgadas y carnosas. A partir de ellas se forma una masa radicular con muchas raicillas, a lo que se le denomina corona; en el centro y arriba de aquella, se encuentran las yemas que dan origen a los tallos. Las raíces tienen la facultad de acumular reservas (agua y nutrientes) para la próxima producción de turiones describe. (p.13)

Rizoma

El Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas (IPEH, 2014), lo escribe así:

El espárrago consta de un tallo subterráneo horizontal denominado corona o rizoma; de aquí surgen yemas que se agrupan y se alargan hasta formar turiones.

La corona se presenta como el punto de unión del conjunto de raíces con la parte aérea de la planta (tallos aéreos, hojas, flores y frutos). (p.13)

Tallo

Sánchez & Sánchez (2008) describen al tallo:

Son brotes alargados que crecen desde la corona gracias a las reservas almacenadas en el sistema radicular. A través del tallo circula el agua y las sustancias nutritivas, por ser de color verde desempeñan funciones de asimilación para la nutrición de la planta. El tallo inicial y forma parte de la corona, constituyendo esencialmente un rizoma de desarrollo horizontal a partir del cual se producen las yemas, estas al crecer darán origen, cuando haya una gran acumulación de sustancias de reserva, los tallos suculentos que inicialmente no se ramifican son denominados turiones y se cosechan tiernos. (p.18)

Hojas

Sánchez & Sánchez (2008) describen al tallo:

Las escamas de forma triangular de las yemas son las hojas correspondientes. Las yemas laterales van creciendo a medida que el turion empieza a madurar, dando un aspecto de florido o cabeza abierta el brotamiento normal del turión, es de 15 cm hasta 20 cm de altura. Las hojas se lignifican, para dar lugar a las hojas cortas y finas las cuales son llamadas filocladios. (p.18)

Flores

Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas (IPEH, 2014) declara y describe que:

El espárrago es una planta en su mayoría dioica por tener presente en su morfología floral estructuras masculinas y femeninas. En otro caso de plantas las masculinas solo presenta flores estaminadas y la femenina solo pistiladas. Las flores son de forma acampanada y color verde bajo. En las plantas masculinas se denotan brotes mas pequeños, delgados, y abundantes. En distinción las plantas femeninas emiten brotes largos y gruesos. Estas condiciones determinan que las masculinas tengan un mayor número de turiones y que su peso por planta y por hectárea sea mayor, de otra manera que las plantas femeninas presenan turiones más grandes y de mayor diámetro. (p. 14)

Fruto

Sánchez & Sánchez (2008) aseguran en su descripción del fruto:

El fruto es de forma esférica conformada por mesocarpio y endocarpio. Su color es verde en sus inicios, rojo en la maduración y naranja cuando termina la maduración. El fruto mide aproximadamente 6 mm de diámetro. (p. 19)

Semillas

El Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas (IPEH, 2014), afirma que:

“estas tienen de 2 mm a 3 mm de diámetro. Son normalmente redondeadas y de color negro” (p.14).

Fenología

El cultivo presenta etapas de crecimiento y desarrollo muy marcadas, Alva & León (citados por Fernández, 2015) puntualizan:

Brotamiento

En los inicios fenológicos del cultivo es cuando la yema madura se estimula y comienza el crecimiento lentamente (6 - 8 días la yema madura hasta la superficie del suelo). La altura del brote antes de ramificarse depende de diversos factores: reservas, temperatura, humedad, calibre de brote, etc.

Ramificación

Para el crecimiento lateral, es determinante el crecimiento de las ramas laterales y para formar una apropiada estructura de la planta, en esta etapa aun la planta depende de las reservas, presenta susceptibilidad a enfermedades y plagas entomopatógenas.

Apertura

Los filocladios presentes indican que esta etapa fenológica ya comenzó, el crecimiento de este es mayor antes de separarse totalmente de la rama posteriormente hay un crecimiento, pero es inferior. La estructura de la planta queda determinada en esta etapa. La expansión foliar se expresa al máximo en esta etapa.

Floración

Las flores masculinas están presentes desde la apertura y su crecimiento se da posteriormente. Las plantas con flores masculinas son más precoces que las femeninas, iniciando antes su apertura floral.

Maduración

Las flores caen, los frutos cuajan e inician su madurez, tornándose de color rojo intenso al final. El color verde de la planta empieza a tener otra tonalidad de color verde a verde oscuro, incrementándose la materia seca (mayor de 30.0 %, en brote es menor 7.0 %). En la semana 12 y 17 se incrementa la tasa de fotosíntesis siendo mas eficiente, posteriormente es menor.

- Principales plagas

***Prodiplosis longifilla* Gagné “mosquilla de los brotes”**

Fernandez (2015) manifiesta y describe que en los primeros 60 días de la planta, esta plaga es de mucha importancia. Es una plaga polífaga muy distribuida largo de todo el Perú que ha encontrado las condiciones óptimas en *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago” para poder adaptarse. Ha encontrado las condiciones favorables en el cultivo y temperatura que le ofrece. Los adultos son de aspecto frágil, tienen patas y antenas alargadas, y suelen ocultarse durante el día, a la sombra, protegidos del viento y favorecidos por condiciones de humedad. Las hembras viven 4 a 6 días, no se alimentan, y ovipositan en los brotes, debajo de las brácteas. Las larvas son casi transparentes se vuelven blanco cremosas, y se desarrollan ocultas en el brote en un medio relativamente húmedo. El desarrollo de huevo a adulto toma 9 a 11 días en verano y 19 a 21 días en invierno. Las larvas provocan la distorsión de los brotes, incluyendo los turiones del espárrago verde que se deforman y pierden valor comercial.

Asimismo, IPEH (2014) sostiene que en el inicio de las etapas de desarrollo fenológico como brotamiento, rameado y apertura, el cultivo se ve en peligro por las larvas que comienzan a raspar sus tejidos, causando la distorsión y la deformación de los brotes. Como el espárrago verde donde estos daños causan pérdidas en su valor comercial.

***Spodoptera frugiperda* Smith “gusano cogollero”**

Fernandez (2015) indica que la plaga es polífaga, en el estadio larval come y raspa la parte verde de la planta de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago” logrando devorar la corteza y exponiendo la parte leñoza la cual se muestra de color blanco. Los adultos de *Spodoptera frugiperda* Smith son polillas de color pajizo, con algunas tonalidades ligeramente más oscuras en las alas anteriores; las alas posteriores son blancas. Las hembras ponen sus huevos en masas. Las larvas son grisáceas con franjas longitudinales y triángulos oscuros dispuestos a ambos lados del dorso, de manera característica. El ciclo de desarrollo (huevo-larva-pupa) toma de 5 a 6 semanas en verano y 10 semanas en invierno. La longevidad del adulto es de 2 a 3 días.

Sánchez & Sánchez (2008) describen en su investigación que las larvas mastican los brotes nuevos, perforando los tallos y como consecuencia de este tipo de alimentación los tallos nuevos dañados no continúan con su desarrollo, pudiendo destruir todos los brotes nuevos y los tallos perforados se secan, este es el tipo de daño más importante de esta plaga especie. Cuando los tallos han completado su desarrollo generalmente las larvas raspan la superficie de estos dando apariencia blanquecina al inicio y marrón claro la cual posteriormente afecta a la normal translocación de la planta.

***Heliothis virescens* Fabricius “gusano bellotero”**

Fernández (2015) afirma en su investigación que en *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”, perfora tallos y come frutos, pero también roe la corteza de la planta como otros noctuidos del follaje. Los tallos perforados, o con la corteza roída, terminan por secarse. Los adultos son polillas de color pajizo con tres franjas transversales paralelas en las alas anteriores. Las larvas varían de desde color verde claro hasta casi negro con franjas dorsales y laterales, más claras. Empupa en el suelo. El ciclo de desarrollo (huevo, larva, pupa, emergencia de

adulto), toma un mes en el verano. Las altas temperaturas y presencia de flores favorecen el incremento del *Heliothis virescens* Fabricius. Los huevos son puestos en tejidos tiernos y flores, de manera individual

Asimismo, Sanchez & Sanchez (2008) describen en su investigación que inicialmente la larva se alimenta de los pétalos de las flores debido a la suavidad y succulencia de los tejidos, aparentemente también consumen el polen de las flores, posteriormente migran hacia los frutos des que son perforados o raspan los tallos desarrollados, heridas que al secarse le dan la apariencia blanquecina o pajiza al tallo. Después cuando se ha producido un nuevo brote migran hacia este para alimentarse.

- Condiciones agroclimáticas que intervienen en el desarrollo del *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”

Sánchez & Sánchez (2008) han suscrito que la temperatura cuando es muy alta propicia la tropicalización de *Asparagus officinalis* “espárrago” con escasa acumulación de reservas y cuando es muy baja las plantas no emiten brotes nuevos. La radiación solar, los vientos, etc. Puede afectar seriamente el agroecosistema del “espárrago”. La alta humedad ambiental juntamente con temperaturas apropiadas, pueden ser favorables para el desarrollo de enfermedades. La llovizna o la lluvia que se presentan entre Ica y La Libertad durante los meses de invierno o verano, donde se presentan humedades ambientales superiores al 90 % favorece la incidencia de patógenos foliares.

Moreira & Gonzáles (2002) describen:

Que la temperatura, es uno de los factores más importantes que afectan el comportamiento de la planta. El crecimiento de yemas se inicia cuando las temperaturas son superiores a 10°C. A temperaturas inferiores a esta, el crecimiento de las yemas o tallos se detiene, o sea, la planta entra en latencia.

La tasa de crecimiento de los tallos o turiones aumenta en forma línea conforme la temperatura se incrementa entre los 10 a 31°C. En zonas con temperatura arriba de los 31°C por periodos prolongados y donde no exista una marcada diferencia entre la temperatura máxima diurna y mínima nocturna, se pueden presentar problemas de calidad, como turiones fibrosos o apertura de la cabeza de los turiones antes de alcanzar el tamaño adecuado para el mercado. En forma general, se considera que las temperaturas óptimas para la producción de espárragos en condiciones tropicales esta entre los 20 y 28°C. Se recomienda mantener la humedad del suelo entre un 50.0 % y un 75.0 % de la capacidad de campo. La baja humedad por largos periodos causa bajas significativas en la producción en cosecuencia a la formación de brotes pequeños, con poco diámetro y mas fibrosos. En zonas de alta precipitación se debe proveer un drenaje eficiente, ya que los excesos de humedad en el suelo afectan al sistema radicular del cultivo y favorecen la proliferación en enfermedades de tipo fungoso o bacterial. (p.12)

IPEH (2014) reporta que al igual que el riego convencional realizado en los valles costeros, y el riego por goteo que se realiza en las pampas eriazas, la calidad y la cantidad del agua de riego por goteo son de suma importancia. La relación de absorción de sodio (SAR) debe ser lo más bajo posible para evitar una posterior sodificación de los suelos francos y arcillosos, principalmente. *Asparagus officinalis* “espárrago” es exigente en agua, tanto para la etapa de desarrollo vegetativo como durante el periodo de cosecha. Tratándose de una planta que tiene en sus brotes más de 90.0 % de agua, se entiende que la presencia de esta es necesaria, de allí que no debe ser salina, pues una alta concentración de sales causaría quemaduras en los brotes tiernos y bloquearía la absorción de nutrientes al taponar las raíces absorbentes.

No existe una influencia directa gravitante de la humedad relativa en el crecimiento del espárrago. En la costa, en el periodo otoño-invierno, donde la humedad relativa es usualmente mayor a 95.0 %, se observa que, aunque la planta retrasa un poco su crecimiento, lo más importante es que se genera un microclima en su interior, favorable para la proliferación de enfermedades foliares y para algunos estados de desarrollo de ciertos insectos. De esta manera, la humedad ambiental adecuada debe ser baja en el periodo de crecimiento de la planta a fin de evitar la incidencia de enfermedades foliares, y alta en la época de cosecha, con el objetivo de evitar la deshidratación rápida de los turiones por cosechar y, por consiguiente, la apertura de los brotes (IPEH, 2014).

2.2. La especie *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”

- Generalidades

Salazar Blanco (2016) da a conocer que esta especie de la familia *Pyralidae* del orden Lepidóptera, *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” también es conocido como “gusano picador”. Esta ampliamente distribuida en todo el continente de America y en nuestro ecosistema. La complejidad de los daños es proporcional al incremento de la temperatura y la deficiencia de agua en el cultivo, agregado a la quema y requema de cultivos. La combinación de estos factores acelera el ciclo biológico, aumenta la capacidad de consumo de las larvas y por lo tanto el daño al cultivo.

Red Agrícola (2018) sostiene que *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”, empezó desde hace unos cuatro años atrás a atacar a *Asparagus officinalis* “espárrago” en Ica. Tras la cosecha, este gusano perforador ingresa por el cuello de la planta y comienza a escalar hasta alojarse en la parte central del tallo. Los productores no se dan cuenta de cuándo ha ingresado, básicamente porque el cultivo sigue desarrollándose con normalidad, pero cuando se comienza a formar el follaje se observan marchitamientos. “Al inicio se pensó que era

Fusarium sp., por los síntomas, pero cuando se hicieron los muestreos mostraron que se trataba de un barrenador. Es una plaga muy agresiva, sobre todo, en la zona donde hay suelos arenosos”, explican.

- Ciclo biológico

Capinera (2020) afirma que el ciclo completo generalmente requiere de 30 días en verano y hasta 50 días en invierno y lo describe de la siguiente manera:

Huevo

El huevo es ovalado, mide aproximadamente 0,6 mm de largo y 0,4 mm de ancho. Cuando se deposita por primera vez, el huevo es verdoso, pronto se vuelve rosado y eventualmente rojizo. La hembra deposita casi todos sus huevos debajo de la superficie del suelo, adyacente a las plantas. Algunos, sin embargo, se colocan en la superficie o en hojas y tallos. Duración del huevo la etapa es de 3 días en verano 6 días en invierno. (Capinera, 2020, p. 50)

Larva

Las larvas viven en el suelo, construyendo túneles de tierra y excrementos estrechamente entrelazados con seda. Estas dejan el túnel para alimentarse en el área del tallo basal o justo debajo la superficie del suelo, volviendo y construyendo nuevos túneles conforme maduran. Por lo tanto, los túneles a menudo irradian desde el tallo de la fuente de alimento, justo debajo de la superficie del suelo, a una profundidad de aproximadamente 2,5 cm. Durante los primeros estadios, las larvas son de color verde amarillento, con pigmentación rojiza en el dorso, formando bandas transversales. A medida que la larva madura, las rayas longitudinales se desarrollan, de modo que en el

quinto estadio se pronuncian. La larva madura es de color verde azulado, pero tiende a marrón rojizo, con franjas de color blanco amarillento bastante distintas en el dorso. El tiempo total de desarrollo larvario varía ampliamente pero normalmente tiene un promedio de 10 días en verano hasta 20 días en invierno. (Capinera, 2020, p. 50)

Prepupa

El estado de prepupa inicia cuando la larva está en su último instar y se vuelve inactiva, forman capullo para empupar, se observa claramente sobre el dorso una coloración rojiza oscura, y en la parte ventral un color verde, su tamaño se reduce a 12,2 mm de longitud en promedio.

Después de haber completado sus cinco estadios, la larva baja al suelo y se esconde debajo de residuos y suelo, por un periodo de 2 días en verano a 5 días en invierno. (Castillo, 2005, p. 76)

Pupa

En la madurez, la larva construye una celda de pupa de arena y seda al final de uno de los túneles. La pupa mide unos 16 mm de largo y 6 mm de ancho. La pupa es amarillenta inicialmente, volviéndose marrón y luego casi negro sólo antes de que emerja el adulto. La punta del abdomen está marcada por una fila de seis espinas en forma de gancho. El tiempo de desarrollo de la pupa promedia aproximadamente 7 días en verano a hasta 10 días en invierno. (Capinera, 2020, p. 51)

Adulto

Las polillas son bastante pequeñas, miden entre 17 y 22 mm de envergadura. El dimorfismo sexual es pronunciado. El ala delantera de la polilla macho es amarillenta en el centro, bordeado por una amplia banda oscura con escamas violáceas. En las hembras, sin embargo, toda el ala delantera es oscura, a veces casi negra, pero también tiene escamas rojizas o violáceas. El tórax es ligero en los machos, pero oscuro en las hembras. Las alas traseras de ambos sexos son transparentes con un tinte plateado. Los adultos son más activos por la noche cuando la temperatura supera los 27 °C, la humedad relativa es alta, y hay poco movimiento de aire. Tales condiciones son óptimas para el apareamiento y la oviposición. La longevidad y fecundidad adultas van en relación con la temperatura. Con un promedio de unos 200 huevos por hembra. La longevidad adulta bajo condiciones de campo se estima en unos 10 a 15 días. (Capinera, 2020, p. 51)

- Comportamiento y daños

Red Agrícola (2018) menciona en su investigación que durante el lapso de infestación la larva mata a la planta, destruyendo los haces vasculares de subida y bajada del tallo. En algunos casos, la plaga ha llegado a afectar hasta un 70.0 % de los campos. Lo más recomendable es realizar un correcto manejo del follaje y las malezas, que es donde suele esconderse esta plaga, sobre todo porque muchos fundos de esta zona productiva dejan el follaje o maleza en el campo.

Por otro lado, Sánchez & Sánchez (2008) han demostrado que las infestaciones en *Asparagus officinalis* Poinar “espárrago” comienzan de inmediato cuando empiezan a aparecer los primeros brotes, las larvas inicialmente raspan el tallo, generalmente a la altura del cuello de los brotes o tallos nuevos y posteriormente perfora e ingresa al interior donde barrena hacia

arriba. En cosecha de esparrago blanco pica la parte apical de los brotes, afectando la calidad de estos, los cuales no son comercializados. El proceso del daño es lento y los tallos se va secando por completo luego de varios días pasados desde que la larva se alimentó, señalan.

Urretaviskaya et al. (2010) describen mediante su investigación que los síntomas del ataque al cultivo son: clorosis, marchitamiento, caída de plantas al verse afectado el sostén del vegetal y diferencias resaltantes en el rendimiento de la producción, al disminuir substancialmente la circulación de savia. El tubo de seda que comunica con el orificio de entrada al tallo es un buen indicio para diferenciar el ataque de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” del de *Diatraea saccharalis* Fabricius.

- Factores que favorecen a *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”

Sánchez & Sánchez (2008) describen que la temperatura ejerce una marcada influencia en la duración del ciclo de desarrollo sobre la abundancia de esta especie fitófaga, para las condiciones de la costa peruana, las infestaciones se incrementan a partir de octubre, como consecuencia del incremento de la temperatura, alcanzando los más altos niveles de población, así como de sus daños entre enero y marzo que son los meses de mayor temperatura. La especie muestra una mayor incidencia en suelos sueltos y arenoso que en suelos pesados, debido a que estos dificultan en movimiento de las larvas.

Sin olvidar que la humedad del suelo está relacionada al tipo de suelo y grado de tecnificación del sistema de riego, así en suelos arenoso y sueltos cuando la línea de riego esta por el centro de surco, la infestación es menor, sin embargo, cuando la línea de riego se ubica a un lado de las plantas la infestación se incrementa y se observa un mayor daño en los tallos que no están en contacto en la humedad. (Sánchez & Sánchez, 2008)

- Hospederos

Molinari & Gamundi (2010) han observado y reportado que la especie *Elasmopalpus linosellus* Zeller “gusano picador” habitualmente se encuentra con niveles de poblaciones bajos, en zonas donde predominan suelos sueltos o ligeramente arenosos. Cuando ocurren períodos prolongados de sequía y temperaturas elevadas, su abundancia se incrementa y adquiere categoría de plaga. Es un barrenador polífago que ataca numerosos cultivos: espárrago, maíz, sorgo, trigo, alfalfa, caña de azúcar, maní, arroz, y otras especies hortícolas; se encuentra además en una diversidad de malezas, que se consideran hospederas alternativas.

- Métodos de control

Narrea (2012) recomienda las siguientes medidas de control:

- Buena preparación del terreno.
- Buena nivelación del terreno.
- Buen uso del agua de riego.
- Eliminación de restos.
- Manejar el entorno de los campos vecinos de campos hospederos.
- Trampas de luz con plásticos amarillos fijos y móviles para captura de adultos.
- Trampas de melaza y hembras vírgenes.

Salazar Blanco (2016) en su trabajo reporta a “una importante cantidad de enemigos naturales como parasitoides de larvas y hongos y/o bacterias que provocan enfermedades después del riego” (p. 42).

Suárez et al. (1989) recomiendan que “su control químico, debe hacer aplicando un insecticida granulado sistémico, que además actúe como fumigante antes o con la siembra, para así proteger las plantas en los primeros días, donde hay mayor susceptibilidad” (p.17).

2.3. Nematodos Entomopatógenos

- Generalidades

Los nematodos entomopatógenos que han mostrado mejores resultados en el control biológico de plagas pertenecen a las familias *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*, cuyos miembros están mutualísticamente asociados (tipo de asociación entre dos individuos en que ambos obtienen beneficio) con bacterias de los géneros *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* que ocasionan septicemia (condición mórbida causada por la invasión y multiplicación de microorganismos en la sangre) y otros tipos de afecciones letales en sus huéspedes. (Sáenz, 2005)

Los nematodos entomopatógenos poseen características como la gran capacidad de adaptación a nuevos ambientes y a condiciones adversas, resistencia a productos químicos, alta especificidad por insectos, inocuidad al ambiente y mamíferos y compatibilidad con otros entomopatógenos, resaltando su importancia en programas de manejo integrado de plagas. (Sáenz, 2005)

Los nematodos entomopatógenos son parásitos obligados de insectos que presentan una relación simbiótica con una bacteria que les confiere las particulares características de complejo nematodo-bacteria y enorme potencialidad como bioinsecticidas, recientemente estos nematodos están recibiendo una mayor atención debido al desarrollo de métodos de producción económicamente razonable que han permitido su utilización generalizada como bioinsecticidas mediante estrategias inundativas o estacionales. Otro aspecto que incide en el interés despertando por este agente biológico de control de plagas es que pueden ser manipulados para mejorar su patogenicidad y su persistencia y algunas de las toxinas que producen pueden ser transferidas o expresadas en plantas cultivables o en otros microorganismos. (Jacaset et al. 2005)

“De todos los nematodos conocidos como biorreguladores de insectos, los nematodos entomopatógenos de las familias *Steinernematidae* Chitwood y Chitwood, 1937 y *Heterorhabditidae* Poinar, 1976; constituyendo los de mayor relevancia” (Sánchez, 2001, p.23).

- Morfología de nematodos entomopatógenos

Campos et al.(2020) resuelven en su investigación “que los nematodos son los animales más abundantes de la tierra. Su morfología es por lo general, filiforme, y su tamaño, salvo excepciones, oscila entre 0,1 y 1,5 mm” (p.44)

- Ecología de nematodos entomopatógenos

Campos et al.(2020) relatan en su investigación

Los nematodos son organismos acuáticos por naturaleza, pero se han adaptado a vivir también en ambientes terrestres, bien en el suelo o como parásitos dentro de otros organismos. Los NEP's se encuentran en el suelo en su estadio de resistencia denominado “juvenil infectivo” (JI), con capacidad de localizar de forma activa a su hospedador reconociendo distintas señales que delaten su presencia (vibraciones, incremento significativo de la concentración de CO₂, volátiles específicos producidos por las plantas dañadas por herbivoría, etc.). Los NEP's están presentes de forma natural en los suelos de zonas naturales y agrícolas de todos los continentes (exceptuando la Antártida). Su capacidad infectiva y de supervivencia está mediada por factores abióticos (tipo de suelo, humedad, temperatura, etc.), y bióticos (competencia inter e intraespecífica, enemigos naturales, depredadores, etc.). Muchas de las prácticas agrícolas, como, por ejemplo, el laboreo tradicional, exponen a los NEP's a condiciones extremas (de temperatura, luz ultravioleta, etc.) que reducen significativamente

su capacidad de movimiento y eficacia infectiva, hasta el punto de poder llevar a poblaciones enteras a la extinción en nuestros cultivos. (p.44)

Indican Molina & López (2003) que los NEP's nos demuestran grandes potencialidades para controlar plagas presentes en el suelo y con hábitos criptico, no obstante el factor la humedad logra disminuir considerablemente o absolutamente su eficacia. Así mismo varios factores afectan también la supervivencia del JI como son la radiación ultravioleta, la textura del suelo, el pH y la temperatura extrema en campo.

- Ciclo de vida

López & Saénz (2011) han investigado que *Heterorhabditis sp.* presenta dos ciclos uno largo con dos generaciones y uno corto con una generación, pero esto depende del número de JI que inicialmente invade el hospedero y la disponibilidad de nutrientes para los estados de desarrollo. Este nematodo nativo presenta ocho estados de desarrollo: huevo, cuatro estados juveniles (J1, J2, J3, J4), separados por mudas y adultos hermafroditas, machos y hembras.

Todos los estados son morfológicamente distintos. El J4 muda formando la primera generación de adultos hermafroditas jóvenes entre las 68 y 72 horas después de la inoculación. Se caracterizan por tener órganos reproductivos (ovarios, oviductos) visibles en sus cuerpos semitransparentes y vulva no desarrollada. Al madurar en un periodo de 18 a 22 horas, las hembras hermafroditas están llenas de huevos y su vulva es sobresaliente. Los huevos son transparentes y ovales, descienden dentro del útero y son fertilizados por el esperma localizado en el receptaculum seminis que está ubicado entre el ovario y útero y dirigiéndose hacia el centro del útero. Los huevos maduros se observan entre las 90-94 horas, se localizan cerca a la abertura de la vulva y en su interior se visualiza el primer estado J1. (López & Saénz, 2011)

El JI es el único estadio de vida que puede sobrevivir fuera del insecto y su rol es la dispersión en el suelo e infección de nuevos hospedadores. Éste no se alimenta y depende únicamente de las reservas de energía para la supervivencia y la infectividad. Por esta razón, es el estadio utilizado para almacenamiento en el laboratorio y la base de las formulaciones de

productos insecticidas. Minimizar la mortalidad de los JIs durante el almacenamiento prolonga la vida útil (Grewal, 2002) citado por (Eliceche, 2018)

- Hospederos de nematodos entomopatógenos

En el laboratorio, la mayoría de las especies de nematodos entomopatógenos infectan una gran variedad de insectos cuando existe un contacto seguro entre ambos, las condiciones ambientales son óptimas y no hay barreras ecológicas o comportamentales para la presencia de la infección. (Kaya, 1993)

En el campo, los nematodos entomopatógenos atacan un limitado rango de huéspedes más que en laboratorio. Además, están adaptados al ambiente suelo, dado que los principales huéspedes son insectos que habitan en él. Los nuevos aislamientos de especies o cepas de nematodos se hacen usando larvas de la polilla mayor de las colmenas *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) (Sáenz, 1999). Sin embargo, algunas especies de nematodos han sido aisladas de cadáveres de huéspedes hallados en campo y tienen un rango de éstos limitado como *S. kushidai* y *S. scarabaei* adaptados a larvas de escarabajos. (Sáenz, 2005).

- Relación nematodo-bacteria

Sáenz (2005) mediante su investigación sostiene que los NEP's que han mostrado mejores resultados en el control biológico de plagas pertenecen a las familias *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*, cuyos miembros están mutualísticamente asociados (tipo de asociación entre dos individuos en que ambos obtienen beneficio) con bacterias de los géneros *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* que ocasionan septicemia (condición mórbida causada por la invasión y multiplicación de microorganismo en la sangre) y otros tipos de afecciones letales en sus huéspedes. Dentro de las características que hacen de éste un grupo promisorio de controladores biológicos pueden destacarse las siguientes: alta virulencia y rápida acción al matar al huésped, el tercer estadio juvenil infectivo no se alimenta, está morfológica y fisiológicamente adaptado para sobrevivir por largos períodos en el suelo en ausencia de su huésped, tienen alto potencial reproductivo y muestran respuesta numérica con respecto al

huésped, pueden criarse en forma masiva en laboratorio y tienen un amplio rango de acción aunque algunos son muy poco específicos.

El JI es el único estadio de vida que puede sobrevivir fuera del insecto y su rol es la dispersión en el suelo e infección de nuevos hospedadores. Éste no se alimenta y depende únicamente de las reservas de energía para la supervivencia y la infectividad. Por esta razón, es el estadio utilizado para almacenamiento en el laboratorio y la base de las formulaciones de productos insecticidas. Minimizar la mortalidad de los JIs durante el almacenamiento prolonga la vida útil (Grewal, 2002) citado por (Eliceche, 2018).

- Familia *Heterorhabditis*

Generalidades

Esta familia consta de un único género, fue descrita por Poinar en 1976, quien describió la especie tipo *Heterorhabditis bacteriophora*. Son patógenos obligados que matan a su hospedante. Desarrollan dos generaciones en el insecto. Son hermafroditas en la primera generación y anfimicticas 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 una 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

El ciclo de vida de *Heterorhabditis sp.*, inicia cuando el estadio juvenil infectivo (JI) busca e ingresa al insecto por las aberturas naturales (espiráculos, boca, ano) o por áreas delgadas de la cutícula. El JI viaja por la hemolinfa y regurgita a la bacteria *Photorhabdus* desde el interior de su intestino, probablemente como respuesta al reconocimiento y ataque por parte del sistema inmune del insecto hacia el nematodo. La bacteria prolifera en el hemocele y produce toxinas que matan al insecto, enzimas que degradan los tejidos, antibióticos que preservan el cadáver del ataque de otros microorganismos y señales o nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de *Heterorhabditis*. Después de uno a tres generaciones del nematodo, los nutrientes empiezan a disminuir y el estadio JI con la bacteria simbiote en su intestino abandona la larva y permanece en el suelo hasta encontrar un hospedero adecuado. (Revista de Agronomía Costarricense, 2015)

- Forma de aplicación

Entre los métodos de aplicación de nematodos entomopatógenos se encuentran: uso de cadáveres de insectos parasitados que contienen un elevado número de juveniles infectivos (JIs), aspersiones con mochila de palanca o motopulverizadoras, inyección por los sistemas de irrigación por goteo solos o juntamente con fertilizantes líquidos. Estos equipos de aplicación deben utilizarse sin filtros y las boquillas deben tener como mínimo una abertura de 500 micrones con descargas de 120 a 190 cc/mm y 20 a 40 PSI. (Lara & López, 2005)

En relación con la dosis y frecuencia de aplicación en cultivos de corto periodo o anuales como camote, maíz, repollo, calabaza y tomate se deben hacer de dos a tres aplicaciones por campaña mientras que, en cultivos perennes como cafeto, piña y otros, la frecuencia depende del ciclo de la plaga, fenología del cultivo, entre otros. Lo recomendable es inundar con altas concentraciones (1×10^5 - 1×10^6 juveniles infectivos por m^2). (Rodríguez et al. 2012)

- Crianza de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar en laboratorio

Bajo las condiciones de laboratorio la supervivencia de nematodos es relativamente baja; debido a que existen dificultades de almacenamiento que constituyen uno de los principales obstáculos para expandir, el uso de nematodos entomopatógenos como: bioinsecticidas, la alta demanda de oxígeno, la sensibilidad de algunas especies a las variaciones de temperatura, la susceptibilidad a contaminantes microbianos, y la toxicidad de los agentes antimicrobianos son factores que influyen en la calidad de almacenamiento del nematodo en agua. Son muy pocas las investigaciones acerca de los tipos de conservación de nematodos; la metodología usada es la conservación por esponja, debido a que el número de los nematodos oscila de 500 a 1000 JI/cm² y que normalmente en una sola lámina se inoculan de 5 a 25 x10⁶ (Grewall, 1998 citado por Cajusol & Requejo, 2016)

Ademas otra forma de reproducir los nematodos entomopatógenos en mayores cantidades es utilizando como sustrato algún insecto que sea fácil de reproducir masivamente en el laboratorio. En gran cantidad de paises, y también en nuestro país, es utilizada la polilla de la cera (*Galleria mellonella* Linnaeus). Por cada larva de polilla, se puede lograr obtener hasta 200000 juveniles infectivos de nematodos entomopatógenos aproximadamente. (Rosales et al. 2009).

- Conservación de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

Conservación en suelo

Los nematodos, específicamente los infectivos juveniles, son habitantes del suelo. La actividad de los nematodos entomopatógenos es fuertemente influida por las características del suelo, tales como: pH, conductividad eléctrica, densidad aparente, densidad real, y materia orgánica (Sánchez et al, 2012, citado por Cajusol & Requejo, 2016)

Conservación en agar

La solución de nematodos en agar es utilizada para mostrar la eficacia de los nematodos en pruebas de extensión tanto en laboratorio como en invernadero. La formulación en agar mejora significativamente la eficacia mediante el aumento de la supervivencia de nematodos, la reducción de la desecación en comparación con formulación a base de agua (Gelbic, 2012 citado por Cajusol & Requejo, 2016)

Conservación en esponja

Grewal, 1998 citado por Cajusol & Requejo (2016), prueba la conservación de nematodos con esponja. Estas esponjas fueron de polieter poliuretano. Planteó que el número de los nematodos en esponjas oscila de 500 a 1000 JI/cm² y que normalmente en una sola lámina se inoculan de 5 a 25 x10⁶. Estas láminas son introducidas después en bolsas plásticas y los nematodos en estas esponjas pueden ser almacenados de 1 a 3 meses a una temperatura entre 5°C y 10°C. Para preparar el producto a aplicar en el campo las esponjas se colocan en agua y los nematodos son removidos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Los materiales utilizados para el desarrollo de la investigación fueron:

a. Material biológico

- Juveniles infectivos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar
- Larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera”
- Prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”
- Pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”

b. Materiales de oficina

- Plumones negros
- Lapiceros azules
- Cinta masking gruesa
- Regla de 30 cm
- Tijeras

c. Materiales de laboratorio

Equipos e instrumentos

- Microscopio óptico de 8X-100X
- Estufa eléctrica
- Refrigeradora
- Computadora personal (Laptop).

Material y reactivos

- Probetas de 500 cc
- Micropipeta 0.1 cc
- Pinzas
- Bisturís

- Papel toalla
- Porta objetos
- Agua destilada
- Jeringas de 20 cc
- Placas Petri de vidrio
- Baldes plásticos de 5 L
- Recipientes de plástico de 0.5 L
- Recipientes de plástico de 5 L
- Malla antiáfida
- Arena esterilizada.

3.2. Población y muestra

- Población

Población: La población estuvo constituida por prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller presentes en el cultivo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago” ubicados en Casma.

- Muestra

Muestra: La muestra estuvo conformada por 384 prepupas y 384 pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller.

El tamaño de la muestra a nivel de laboratorio presenta las siguientes características:

Tabla 1:

Parámetros experimentales a nivel de laboratorio.

Detalle a nivel de laboratorio	Prepupas	Pupas
Número de tratamientos	3	3
Número de repeticiones/tratamiento	4	4
Testigo control	1	1

Número de unidades experimentales	16	16
Número de larvas por tratamiento	12	12
Número total de prepupas y pupas	192	192

El tamaño de la muestra a nivel de campo presenta las siguientes características:

Tabla 2:

Parámetros experimentales a nivel de campo de Asparagus officinalis Linnaeus “espárrago”

Detalle a nivel de campo de <i>Asparagus officinalis</i> Linnaeus “espárrago”	Prepupas	Pupas
Numero de tratamientos	3	3
Número de repeticiones/tratamiento	4	4
Testigo control	1	1
Número de unidades experimentales	16	16
Numero de larvas por tratamiento	12	12
Número total de prepupas y pupas	192	192

3.3. Variables en estudio

- Variable independiente:

Concentraciones (c) de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

c₁: 1500 JI/mL de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

c₂: 3000 JI/mL de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

c₃: 5000 JI/mL de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

- Variable dependiente:

Control (k) de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller, a nivel de:

k₁: Prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller

k₂: Pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller

3.4. Tratamientos

Tabla 3:

Descripción de los tratamientos estudiados

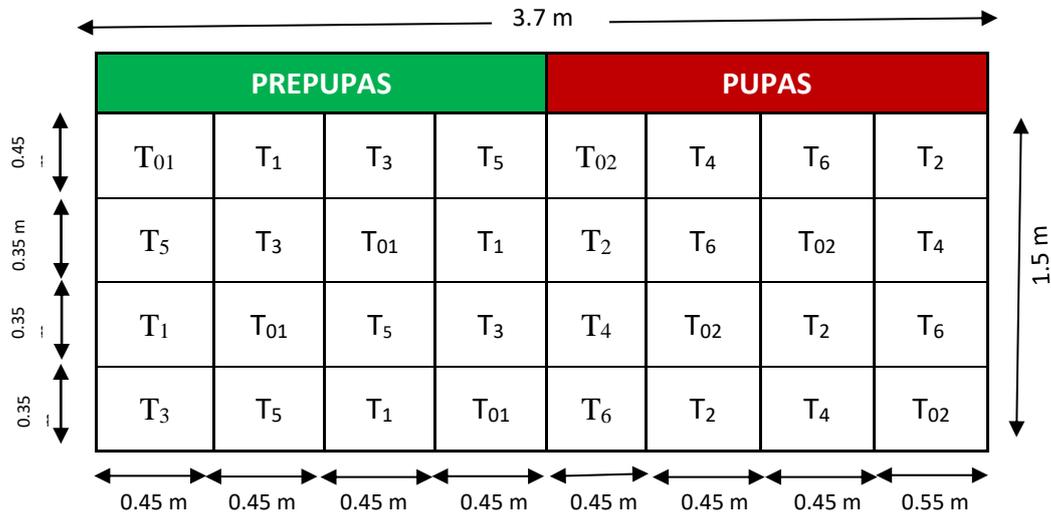
Tratamientos	Clave	Descripción
T₀₁		Testigo para prepupas <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”
T₀₂		Testigo para pupas <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”
T₁	c ₁ k ₁	1500 JIs/mL de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en Prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”
T₂	c ₁ k ₂	1500 JIs/mL de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en Pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”
T₃	c ₂ k ₁	3000 JIs/mL de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en Prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”
T₄	c ₂ k ₂	3000 JIs/mL de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en Pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”
T₅	c ₃ k ₁	5000 JIs/mL de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en Prepupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”
T₆	c ₃ k ₂	5000 JIs/mL de <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar en Pupas de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> Zeller “gusano picador”

3.5. Características del área experimental

a. Croquis a nivel de laboratorio

Figura 1:

Diseño del área experimental para laboratorio



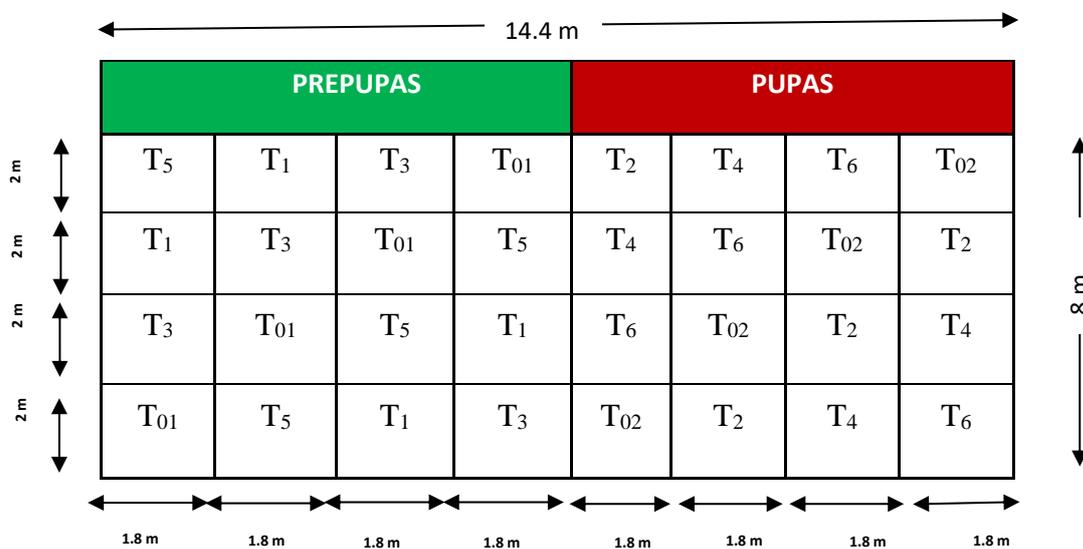
Diseño del área experimental en laboratorio el cual fue realizado sobre una mesa de madera.

El área total fue de 5.6 m² con 3.7 m de ancho y 1.5 m de largo. Dividido en 2 áreas de 2.9 m² (1.9 m de ancho y 1.5 m de largo) para prepupas y pupas respectivamente.

b. Croquis a nivel de campo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”.

Figura 2:

Diseño del área experimental para campo.



Diseño del área experimental para campo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”.

El área total fue de 115.2 m² con 14.4 m de ancho y 8 m de largo. Dividido en 2 áreas de 57.6 m² (7.2 m de ancho y 8 m de largo) para prepupas y pupas respectivamente.

3.6. Unidad experimental

a. A nivel de laboratorio

Para la unidad experimental se utilizó recipientes de plástico de 5.0 L (0.35 m x 0.25 m x 0.15 m), contenidos de 1.0 kg de arena esterilizada y humedecida. El total de unidades experimentales fue de 32 (cuatro repeticiones por cada tratamiento), cada una de ellas con 12 prepupas o pupas.

b. A nivel de campo

Para la unidad experimental se utilizó recipientes de plástico de 0.5 L (10 cm x 20 cm) contenidos de 0.5 kg de arena esterilizada y humedecida. El total de unidades experimentales fue de 32 (cuatro repeticiones por cada tratamiento), cada una de ellas contuvo 12 prepupas o pupas.

3.7. Metodología

3.7.1. Ubicación del experimento

El experimento se realizó en laboratorio y en campo definitivo.

A nivel de laboratorio 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:

Zona: 17 L

Coordenada este: 773456.09 m E

Coordenada norte: 8990795.59 m S

Y a nivel de campo fue realizado en la Parcela “Doña María” del Sr. Ever Chinchay Ramírez ubicada en la Panamericana Norte, Comandante Noel-Casma-Ancash. Zona:

17 L

Coordenada este: 789759.02 m E

Coordenada norte: 8957103.93 m S

3.7.2. Obtención de material biológico

a. Larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera”

Se utilizó un millar de larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera” provenientes del laboratorio de control biológico, de “BIOVERDE AMBIENTAL S.A.C”, las cuales fueron llevadas en una caja de tecnopor hacia el laboratorio de Ciencias y Ecología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa.

b. Prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller

Se recolectó larvas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” de campos de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago” altamente infestados en zonas de la provincia de Casma, por las investigadoras. La recolección de larvas se realizó de forma manual, extraídas de brotes y tallos infestados de “espárrago” en los estadios larvales I, II, III, y IV, las larvas colectadas en campo fueron puestas en recipientes de 0.5 L los cuales en su interior contenían arena y brotes frescos y fueron trasladados al laboratorio de Ciencias y Ecología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa.

Se realizó la crianza de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio, se pusieron juntas las larvas de I y II estadio en un recipiente de 0.5 L contenido de brotes frescos de “espárrago” y de arena los cuales sirvieron como alimento y soporte para las larvas. De la misma manera se acondicionó otro recipiente para las larvas de III y IV. Se cambió los brotes interdiariamente. El proceso se realizó a temperatura ambiente.

De las larvas de I y II estadio en 8 días se obtuvieron las prepupas requeridas, y de las larvas de III y IV estadio en un tiempo de 8 días se obtuvieron las pupas requeridas para el ensayo.

c. Producción de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

Para iniciar la producción se realizó la compra de una solución de doscientos mil nematodos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar contenidos en una esponja embebida con agua destilada provenientes del laboratorio de control biológico, “BIOCONTROL AGRÍCOLA E.I.R.L”, dicha solución se inoculó en las larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera” la cual se realizó siguiendo el procedimiento del manual de Protocolos de Crianza de Controladores Biológicos, INIA (2020), con ayuda de una jeringa se agregó 4.0 mL de agua destilada con la proporción de 100 nematodos por larva a infestar. Se colocó en la base de cada recipiente plástico seis hojas de papel toalla y se distribuyó las 1000 larvas en dos recipientes de 5.0 L en cada superficie se colocó 500 larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera” del último estadio larval. Se esparció uniformemente 50.0 % de la solución con una jeringa de 20.0 mL, se cubrió con tres hojas de papel toalla y se terminó de distribuir el 50.0 % restante de la solución sobre toda la superficie. Luego se taparon los recipientes asegurando la oxigenación. A partir del tercer día, las larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera” cambiaron de color a un marrón rojizo (característico del género *Heterorhabditis*), se mantuvo en un ambiente oscuro a temperatura ambiente.

d. Obtención de solución madre de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

Al quinto día de la inoculación se procedió a separar los nematodos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar del interior de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera” para ello las larvas fueron colocadas dentro de trampas White adaptadas por Woodring y Kaya (modificada por INIA, 2020), y consistió en poner las 1000 *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera”, en dos grupos de 500 larvas infestadas sobre lechos elaborados con malla antiáfida sostenidos por seis recipientes plásticos de 0.1 L, las que fueron sumergidas en 0.5 L de agua destilada dentro de recipientes de 5.0 L.

Se cosechó por 7 días los nematodos que emergieron de la trampa y se cambió diariamente el agua destilada de la trampa White.

3.7.3. Determinación del número de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

Después de obtener la solución madre, se determinó la concentración de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar por el método de la dilución volumétrica de Leucoma (1996), el que consistió en tomar una alícuota de 0.1 mL y colocar en una placa Petri de 4.0 cm de radio (marcada en su interior con cuadrantes de 1.0 cm²), y se diluyó en 1.0 mL de agua destilada para facilitar el conteo de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, se observó con ayuda de un microscopio a un aumento de 10X, repitiéndose este procedimiento por tres veces para obtener un promedio finalmente.

La concentración de nematodos en la solución madre se determinó mediante la siguiente fórmula proporcionada por INIA (2020).

$$N = V * n/v$$

N = Número de nematodos de la solución madre.

n = Número de nematodos en la muestra.

V = Volumen total de la solución madre

v = Volumen de la muestra.

Luego, se diluyó a cada concentración del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar contenidos en un 1 mL en 9.0 mL de agua destilada y se formó una nueva dilución de 10.0 mL (1 en 9) aplicable según a cada uno de los tratamientos. (Díaz & Rodríguez, 2018)

3.7.4. Conservación de la solución madre de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar

Siguiendo el procedimiento de INIA (2020) la solución madre de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar obtenidos de la trampa White, se colocó en un recipiente plástico de 5.0 L de capacidad, la solución madre se cubrió con una tapa previamente cortada por el centro y

adherida a una tela poliseda, la cual ayudó a la oxigenación. Se conservó durante 10 días a temperatura y humedad del ambiente.

3.7.5. Sustrato de los tratamientos

Se usó arena proveniente del cultivo de “esparrago” del valle de Casma el cual fue utilizado como sustrato y dispuesto en la unidad experimental (1.0 kg en laboratorio y 0.5 kg en campo). Previamente al ensayo experimental se procedió a esterilizar la arena para su uso a nivel de laboratorio, la cual fue sometida a una temperatura de 120 ° C en el horno por 1 hora, para asegurar la no existencia de otros agentes patógenos en el experimento. El sustrato esterilizado se colocó en las unidades experimentales, agregando agua destilada para completar la capacidad de campo del sustrato (25- 30 % de humedad)

3.8. Control de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a diferentes concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar.

a. A nivel de laboratorio

- Control de prepupas

Se incorporó por cada unidad experimental 12 prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a profundidad de 3.0 cm desde la superficie. Luego, a cada recipiente según el tratamiento que le correspondía se le inoculó las concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (1500 JI/mL, 3000 JI/mL, 5000 JI/mL) y el tratamiento control 0.0 JI/mL contenidos en los 10.0 mL de la nueva dilución y se distribuyó homogéneamente por todo el sustrato que contenía las prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” usando una jeringa de 20 mL. Se realizó la marca respectiva.

- Control de Pupas

Se incorporó por cada unidad experimental 12 pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” (cada una en su cocón), a profundidad de 3.0 cm desde la superficie.

Luego, a cada recipiente según el tratamiento que le correspondía se le inoculó las concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (1500 JI/mL, 3000 JI/mL, 5000 JI/mL) y el tratamiento control 0.0 JI/mL contenidos en los 10.0 mL de la nueva dilución y se distribuyó homogéneamente por todo el sustrato que contuvo las prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” usando una jeringa de 20.0 mL. Se realizó la marca respectiva.

b. A nivel de campo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”

Las prepupas y pupas (cada una en su cocón), se colocaron dentro de la unidad experimental a profundidad de 5.0 cm desde la superficie. La unidad experimental se hundió en el suelo sin ser cubierta. Con su marca respectiva.

- Control de prepupas

Se inoculó las concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (1500 JI/mL, 3000 JI/mL, 5000 JI/mL) y el tratamiento control 0.0 JI/mL contenidos en los 10.0 mL de la nueva dilución, se distribuyó homogéneamente por todo el sustrato contendido con las prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” usando una jeringa de 20.0 mL. La aplicación se realizó en horas del día con intensidad lumínica baja.

- Control de pupas

Se inoculó las concentraciones del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (1500 JIs/mL, 3000 JIs/mL, 5000 JIs/mL) y el tratamiento control 0 JIs/mL contenidos en 10.0 mL de la nueva dilución, se distribuyó homogéneamente por todo el sustrato con pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” usando una jeringa de 20.0 mL. La aplicación se realizó en horas del día cuando con intensidad lumínica baja.

3.9. Técnicas e instrumentos de medición

3.9.1. Evaluación de control de nematodos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar a diferentes concentraciones

Según INIA (2020) para confirmar la muerte de las larvas por acción de los nematodos, se consideró a las larvas parasitadas aquellas que presentaron apariencia flácida y que cambiaron a color café o rojo ladrillo, púrpura o naranja, luego se procedió a diseccionarlas y examinarlas bajo el microscopio. Los tiempos para la evaluación fueron designados de acuerdo con las horas evaluadas por Alvarado & Noriega (2018), a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la inoculación de los tratamientos,

a. A nivel de laboratorio

- Evaluación del control de prepupas

La evaluación de prepupas a nivel de laboratorio se realizó a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la inoculación, para cada evaluación se separó con pinzas las prepupas del sustrato y se observó, las prepupas que presentaron los síntomas ya mencionados fueron separadas para la confirmación y las que no presentaron síntomas se devolvieron a sus respectivas macetas.

Para la confirmación del control de las prepupas por acción de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar se colocaron a cada prepupa en una placa Petri añadido de 1.0 mL de agua destilada y se disectó con ayuda de un bisturí y pinza. Se observó y contabilizó la presencia de individuos de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar con el microscopio a una vista de 10X. Los datos obtenidos fueron anotados en formatos.

- Evaluación del control Pupas

Debido a la biología de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en el estadio de pupa, este se encontró cubierto en su túnel de seda “cocón” obstaculizando la observación

a distintas horas para ello se observó a partir de las 120 horas después de la inoculación, se procedió a separar con pinzas a todas las pupas del sustrato.

Se realizó la confirmación del control de las pupas por acción de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar para ello se colocó a cada prepupa en una placa Petri y se retiró de su “cocón”. Las pupas que presentaron los síntomas fueron disectadas con ayuda de un bisturí y pinza, se añadió 1.0 mL de agua destilada, luego se observó la presencia de individuos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar con el microscopio a una vista de 10X. Los datos obtenidos fueron anotados en formatos.

b. A nivel de campo de *Asparagus officinalis* Linnaeus “espárrago”

- Evaluación del control de prepupas

La evaluación de prepupas a nivel de campo se realizó a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la inoculación, para cada evaluación se separó con pinzas las prepupas del sustrato y se observó, las prepupas que presentaron los síntomas ya mencionados fueron separadas y llevadas en placas Petri al laboratorio, para la confirmación y las que no presenten síntomas se devolvieron a sus respectivos recipientes.

La confirmación del control de las prepupas por acción de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar consistió en colocar a cada prepupa en una placa Petri y se añadió de 1.0 mL de agua destilada y fue disectada con ayuda de un bisturí y pinza. Se observó y contabilizó la presencia de individuos de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar con el microscopio a una vista de 10X. Los datos obtenidos fueron anotados en formatos.

- Evaluación del control de pupas

Debido a la biología de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en el estadio de pupa, este se encontró cubierto de su túnel de seda “cocón” obstaculizando la observación a distintas horas para ello partir de las 120 horas después de la inoculación, se procedió a

separar con pinzas a todas las pupas del sustrato y fueron puestas en placas Petri y fueron llevadas al laboratorio.

Se realizó la confirmación del control de las pupas por acción de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar para ello se colocó a cada pupa en una placa Petri y se retiró de su “cocón”. Las pupas que presentaron los síntomas fueron disectadas con ayuda de un bisturí y pinza, añadiendo 1.0 mL de agua destilada, luego se observó la presencia de individuos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar con el microscopio a una vista de 10X. Los datos obtenidos fueron anotados en formatos.

3.9.2. Determinación de control de prepupas y pupas infectadas

La determinación del control se realizó mediante el porcentaje de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” que presentaron control por presencia de juveniles infectivos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar con la siguiente formula de Duso et al. (2008)

$$\% K T = \frac{NCF}{NVI} \times 100$$

Donde

$\% K T$ = Porcentaje de control del tratamiento

$N C F$ = Individuos Controlados al final del tratamiento

$N V I$ = Número de individuos vivos antes del tratamiento

3.9.3. Conteo de nematodos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar en prepupas y pupas controladas

Para determinar la intensidad de la infección (número de nematodos entomopatógenos por prepupa y pupa de cada muestra sometida a algún tratamiento se procedió a contar el número de nematodos emergidos de cada individuo previamente disectado, de cada tratamiento a nivel de laboratorio y campo se contó tres individuos de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a vista de 10X en el laboratorio.

3.10. Técnicas para el procesamiento de datos

Los datos se registraron en formatos propiamente elaborados en el programa Excel, y fueron analizados con el Software estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 25, y fueron sometidos a un análisis de varianza ANOVA usando la prueba la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad y mediante el registro de evaluación de control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” (ANEXO 17 Y 18), registro de población de nematodos juveniles de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (ANEXO 19 Y 20).

IV.RESULTADOS

4.1. Resultados de estadio de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio

4.1.1. Promedio de prepupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de laboratorio

Tabla 4:

Promedio de prepupas muertas por tratamiento en laboratorio

REPETICIONES	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅
REPETICIÓN 1	2.0	6.0	8.0	9.0
REPETICIÓN 2	0.0	5.0	7.0	9.0
REPETICIÓN 3	1.0	5.0	7.0	10.0
REPETICIÓN 4	0.0	6.0	7.0	11.0
TOTAL	3.0	22.0	29.0	39.0
OPROMEDIO	0.8	5.5	7.3	9.8

4.1.2. Porcentaje de mortandad de prepupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de laboratorio

Tabla 5:

Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento en laboratorio

REPETICIONES	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅
REPETICIÓN 1	16.7	50.0	66.7	75.0
REPETICIÓN 2	0.0	41.7	58.3	75.0
REPETICIÓN 3	8.3	41.7	58.3	83.3
REPETICIÓN 4	0.0	50.0	58.3	91.7
PROMEDIO	6.3	45.8	60.4	81.3

ANALISIS DE VARIANZA

Tabla 6:

*Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio.*

Concentración	<i>Estadísticos descriptivos^a</i>		
	Media	Desviación estándar	N
T ₀₁	6.250	7.990	4.000
T ₁	45.850	4.790	4.000
T ₃	60.400	4.200	4.000
T ₅	81.250	7.990	4.000

Total	48.400	28.900	16.000			
<i>Pruebas de efectos inter-sujetos^a</i>						
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Concentración	12024.900	3.000	4008.322	95.272	0.000	0.960
Error	504.800	12.000	42.073			
Total corregido	12529.800	15.000				

PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES

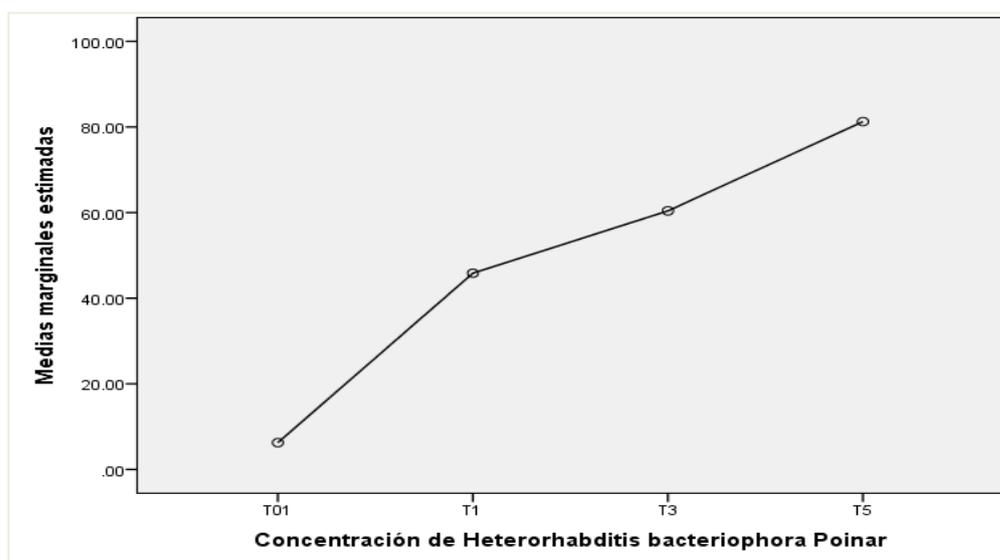
Tabla 7:

Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de prepupas de Elasmopalpus lignosellus Zeller “gusano picador” en laboratorio

<i>Comparaciones múltiples - HSD Tukey</i>						
(I) Concentración	(J) Concentración	(I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
T5	T ₀₁	75.000*	4.586	0.000	61.383	88.617
	T ₁	35.400*	4.586	0.000	21.783	49.017
	T ₃	20.850*	4.586	0.003	7.233	34.467

Figura 3:

Medias marginales estimadas de muertes de prepupas de Elasmopalpus lignosellus Zeller “gusano picador” en laboratorio



4.1.3. Promedio de prepupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de laboratorio

Tabla 8:

Promedio de prepupas muertas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio

TIEMPO	T₀₁	T₁	T₃	T₅
24 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
48 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
72 HORAS	1.0	21.0	25.0	31.0
96 HORAS	2.0	1.0	4.0	8.0
120 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0

4.1.4. Porcentaje de prepupas de controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de laboratorio

Tabla 9:

Porcentaje mortandad de prepupas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio

TIEMPO	T₀₁	T₁	T₃	T₅
24 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
48 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
72 HORAS	33.3	95.5	86.2	79.5
96 HORAS	66.7	4.5	13.8	20.5
120 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0

4.1.5. Promedio de nematodos por prepupas a nivel de laboratorio

Tabla 10:

Promedio de nematodos por prepupas por tratamiento en laboratorio

REPETICIONES	T₁	T₃	T₅
REPETICIÓN 1	24.0	30.0	64.0
REPETICIÓN 2	28.0	44.0	41.0
REPETICIÓN 3	23.0	39.0	54.0
REPETICIÓN 4	21.0	31.0	35.0
PROMEDIO	24.0	36.0	48.0

4.2. Resultados de estadio de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller a nivel de Laboratorio

4.2.1. Promedio de pupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de laboratorio

Tabla 11:*Promedio de pupas muertas por tratamiento en laboratorio*

REPETICIONES	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆
REPETICIÓN 1	1.0	4.0	7.0	9.0
REPETICIÓN 2	0.0	5.0	6.0	8.0
REPETICIÓN 3	0.0	5.0	7.0	9.0
REPETICIÓN 4	1.0	6.0	8.0	9.0
TOTAL	0.0	20.0	28.0	35.0
PROMEDIO	0.5	5.0	7.0	8.8

4.2.2. Porcentaje de mortandad de pupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de laboratorio

Tabla 12:*Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento en laboratorio*

REPETICIONES	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆
REPETICIÓN 1	8.3	33.3	58.3	75.0
REPETICIÓN 2	0.0	41.7	50.0	66.7
REPETICIÓN 3	0.0	41.7	58.3	75.0
REPETICIÓN 4	8.3	50.0	66.7	75.0
PROMEDIO	4.2	41.7	58.3	72.9

ANÁLISIS DE VARIANZA

Tabla 13:*Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio*

<i>Estadísticos descriptivos^a</i>						
Concentración	Media	DE	N			
T ₂	41.675	6.817	4.000			
T ₄	58.325	6.817	4.000			
T ₆	72.925	4.150	4.000			
T ₀₂	4.150	4.792	4.000			
Total	44.268	27.005	16.000			
<i>Pruebas de efectos inter-sujetos^a</i>						
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Concentración	10540.002	3.000	3513.334	105.544	0.000	0.963
Error	399.453	12.000	33.288			
Total, corregido	10939.454	15.000				

PRUEBA DE COMPARACIONES MULTIPLES

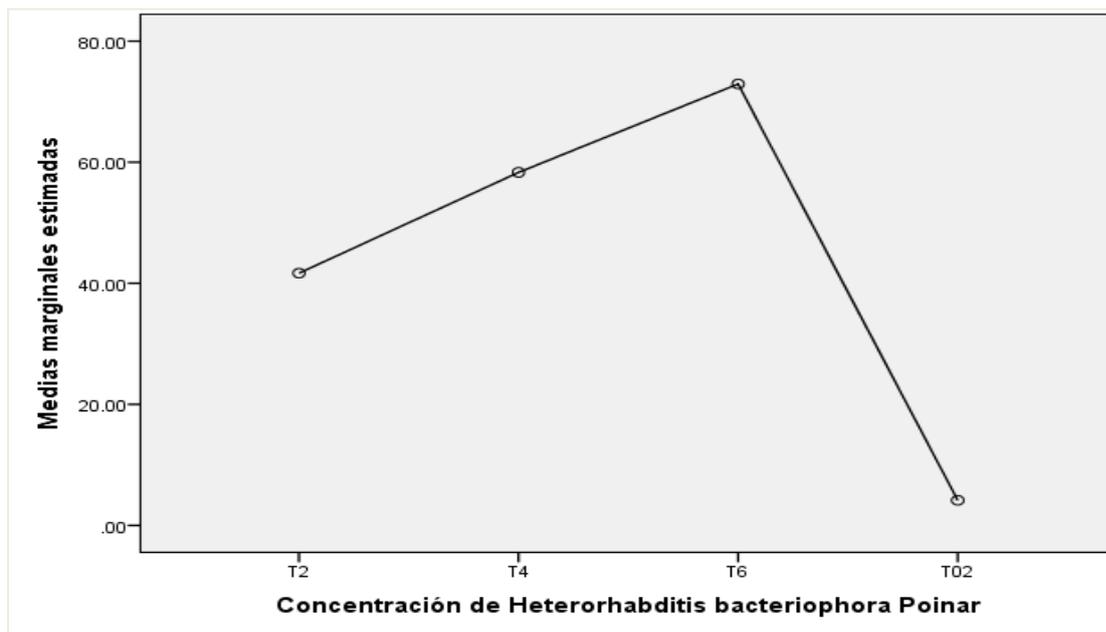
Tabla 14:

*Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio*

<i>Comparaciones múltiples - HSD Tukey</i>						
(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
T ₆	T ₂	31.250*	4.079	0.000	19.137	43.362
	T ₄	14.600*	4.079	0.017	2.487	26.712
	T ₀₂	68.775*	4.079	0.000	56.662	80.887

Figura 4:

*Medias marginales estimadas de muertes de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio*



4.2.3. Promedio de pupas de controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de laboratorio

Tabla 15:*Promedio de prepupas muertas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio*

TIEMPO	T₀₂	T₂	T₄	T₆
24 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
48 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
72 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
96 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
120 HORAS	2.0	20.0	27.0	34.0

4.2.4. Porcentaje de pupas de controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de laboratorio

Tabla 16:*Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento a diferentes horas en laboratorio*

TIEMPO	T₀₂	T₂	T₄	T₆
24 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
48 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
72 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
96 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
120 HORAS	100.0	100.0	100.0	100.0

4.2.5. Promedio de nematodos por pupas a nivel de laboratorio

Tabla 17:*Promedio de nematodos en pupas por tratamiento en laboratorio*

REPETICIONES	T₂	T₄	T₆
REPETICION 1	25.0	42.0	56.0
REPETICION 2	35.0	60.0	52.0
REPETICION 3	35.0	63.0	64.0
REPETICION 4	44.0	46.0	77.0
PROMEDIO	35.0	53.0	62.0

4.3. Resultados de estadio de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller a nivel de campo

4.3.1. Promedio de prepupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de campo

Tabla 18:*Número promedio de prepupas muertas por tratamiento en campo*

REPETICIONES	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅
REPETICIÓN 1	1.0	5.0	6.0	8.0
REPETICIÓN 2	0.0	5.0	7.0	8.0
REPETICIÓN 3	1.0	4.0	5.0	8.0
REPETICIÓN 4	0.0	5.0	6.0	9.0
TOTAL	2.0	22.0	24.0	33.0
PROMEDIO	0.5	4.8	6.0	8.3

4.3.2. Porcentaje de mortandad de prepupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de campo

Tabla 19:*Porcentaje de mortandad a nivel de prepupas por tratamiento en campo*

REPETICIONES	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅
REPETICIÓN 1	8.3	41.7	50.0	66.7
REPETICIÓN 2	0.0	41.7	58.3	66.7
REPETICIÓN 3	8.3	33.3	41.7	66.7
REPETICIÓN 4	0.0	41.7	50.0	75.0
PROMEDIO	4.2	39.6	50.0	68.8

ANÁLISIS DE VARIANZA

Tabla 20:*Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en campo*

<i>Estadísticos descriptivos^a</i>						
Concentración	Media	DE	N			
T ₀₁	4.150	4.792	4.000			
T ₁	39.600	4.200	4.000			
T ₃	50.000	6.776	4.000			
T ₅	68.775	4.150	4.000			
Total	40.631	24.709	16.000			

<i>Pruebas de efectos inter-sujetos^a</i>						
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Concentración	8847.157	3.000	2949.052	113.696	0.000	0.966
Error	311.258	12.000	25.938			
Total, corregido	9158.414	15.000				

PRUEBA DE COMPARACIONES MULTIPLES

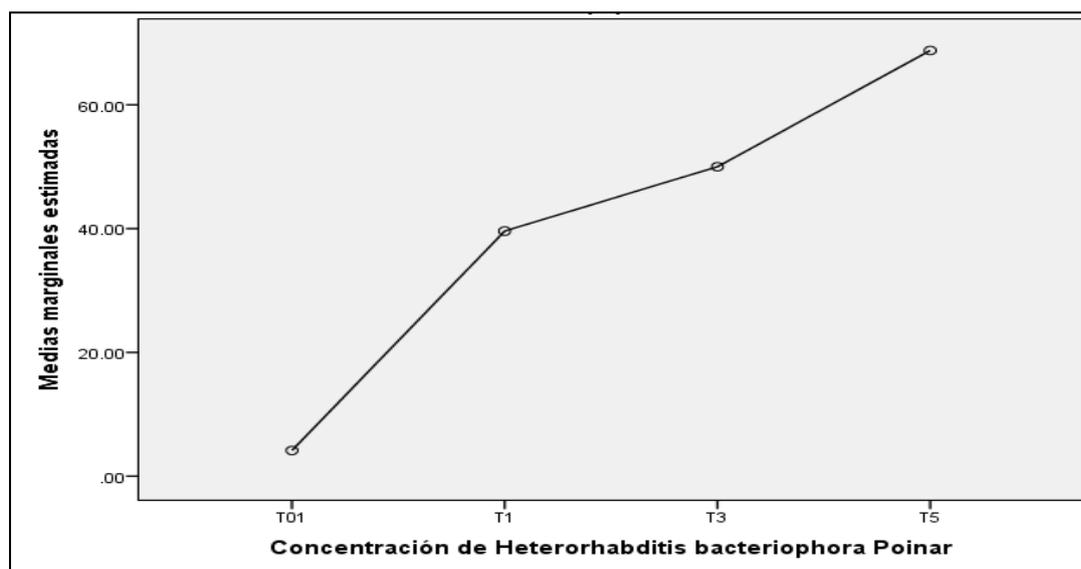
Tabla 21:

*Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en campo*

Comparaciones múltiples - HSD Tukey						
(I) Concentración	(J) Concentración	(I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
T ₅	T ₀₁	64.625*	3.601	0.000	53.900	75.316
	T ₁	29.175*	3.601	0.000	18.500	39.866
	T ₃	18.775*	3.601	0.001	8.100	29.466

Figura 5:

*Medias marginales estimadas de muertes de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”*



4.3.3. Promedio de prepupas de controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de campo

Tabla 22:

Promedio de prepupas muertas por tratamiento en campo

TIEMPO	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅
24 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
48 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
72 HORAS	1.0	18.0	21.0	25.0

96 HORAS	1.0	1.0	3.0	8.0
120 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0

4.3.4. Porcentaje de prepupas de controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de campo

Tabla 23:

Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento en campo

TIEMPO	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅
24 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
48 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
72 HORAS	50.0	94.7	87.5	76.0
96 HORAS	50.0	5.3	12.5	24.0
120 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0

4.3.5. Promedio de nematodos por prepupas a nivel de campo

Tabla 24:

Promedio de nematodos en prepupas por tratamiento en campo

REPETICIONES	T ₁	T ₃	T ₅
REPETICION 1	19.0	26.0	36.0
REPETICION 2	21.0	36.0	34.0
REPETICION 3	18.0	23.0	54.0
REPETICION 4	19.0	26.0	35.0
PROMEDIO	19.0	28.0	40.0

4.4. Resultados de estadio de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller a nivel de campo

4.4.1. Promedio de pupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de campo

Tabla 25:

Promedio de pupas muertas por tratamiento en campo

REPETICIONES	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆
REPETICIÓN 1	1.0	4.0	5.0	7.0
REPETICIÓN 2	0.0	4.0	6.0	7.0
REPETICIÓN 3	0.0	4.0	5.0	7.0
REPETICIÓN 4	0.0	5.0	6.0	8.0
TOTAL	0.0	17.0	22.0	29.0
PROMEDIO	0.3	4.3	5.5	7.3

4.4.2. Porcentaje de mortandad de pupas controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a las diferentes concentraciones a nivel de campo

Tabla 26:

Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento en campo

REPETICIONES	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆
REPETICIÓN 1	8.3	33.3	41.7	58.3
REPETICIÓN 2	0.0	33.3	50.0	58.3
REPETICIÓN 3	0.0	33.3	41.7	58.3
REPETICIÓN 4	0.0	41.7	50.0	66.7
PROMEDIO	2.1	35.4	45.8	60.4

ANÁLISIS DE VARIANZA

Tabla 27:

*Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje promedio de mortandad de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en campo.*

<i>Estadísticos descriptivos^a</i>						
Concentración	Media	DE	N			
T ₂	35.400	4.200	4.000			
T ₄	45.850	4.792	4.000			
T ₆	60.400	4.200	4.000			
T ₀₂	2.075	4.150	4.000			
Total	35.931	22.510	16.000			
<i>Pruebas de efectos inter-sujetos^a</i>						
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Concentración	7374.517	3.000	2458.172	130.293	0.000	0.970
Error	226.397	12.000	18.866			
Total corregido	7600.914	15.000				

PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES

Tabla 28:

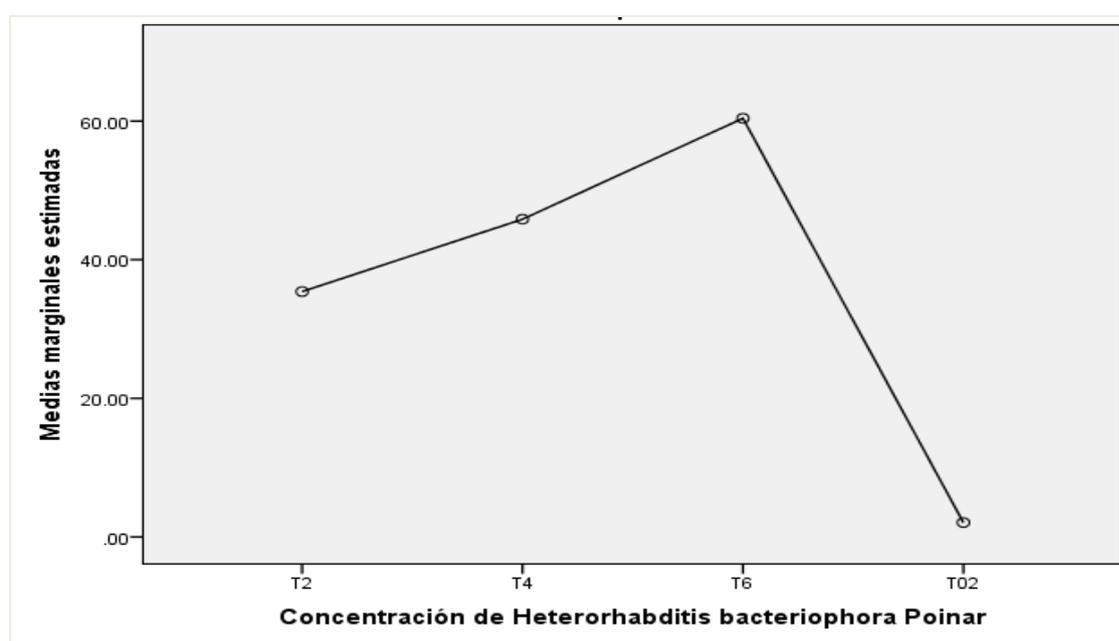
*Prueba de comparaciones múltiples del porcentaje promedio de mortandad de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en campo*

<i>Comparaciones múltiples - HSD Tukey</i>				
(I) Concentración	(J) Concentración	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%

		Diferencia de medias (I-J)			Límite inferior	Límite superior
T ₆	T ₂	25.000*	3.071	0.000	15.881	34.118
	T ₄	14.550*	3.071	0.002	5.431	23.668
	T ₀₂	58.325*	3.071	0.000	49.206	67.443

Figura 6:

*Medias marginales estimadas de muertes de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller en campo*



4.4.3. Promedio de pupas de controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de campo

Tabla 29:

Promedio de prepupas muertas por tratamiento en campo

TIEMPO	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆
24 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
48 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
72 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
96 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
120 HORAS	1.0	17.0	22.0	28.0

4.4.4. Porcentaje de pupas de controladas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a los diferentes tiempos a nivel de campo

Tabla 30:

Porcentaje de mortandad de pupas por tratamiento en campo

TIEMPO	T₀₂	T₂	T₄	T₆
24 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
48 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
72 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
96 HORAS	0.0	0.0	0.0	0.0
120 HORAS	100.0	100.0	100.0	100.0

4.4.5. Promedio de nematodos por pupas a nivel de campo

Tabla 31:

Promedio de nematodos en pupas por tratamiento en campo

REPETICIONES	T₂	T₄	T₆
REPETICION 1	25.0	40.0	56.0
REPETICION 2	35.0	60.0	43.0
REPETICION 3	35.0	23.0	47.0
REPETICION 4	44.0	47.0	48.0
PROMEDIO	35.0	43.0	49.0

V. DISCUSIONES

- En las tablas 4 y 11 se presentan los resultados del promedio de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller a nivel de laboratorio, de los tratamientos a concentraciones de 1500, 3000 y 5000 NEP's/mL, se observó en la tabla 4, que el T₅ (5000JIs/mL) obtuvo 9.8 de prepupas controladas, un promedio mayor a lo obtenido en la tabla 11, donde el T₆ (5000 NEP's/mL) obtuvo un promedio de 8.8 de pupas controladas. Los datos obtenidos en estadio de prepupa y pupa presentan diferencias entre sí, siendo el estadio de prepupas donde se observó el mayor control a nivel de laboratorio, asimismo Kaya (1993) nos menciona que, en el laboratorio, la mayoría de las especies de nematodos entomopatógenos infectan una gran variedad de insectos cuando existe un contacto seguro entre ambos, las condiciones ambientales son óptimas y no hay barreras ecológicas o comportamentales para la presencia de la infección. Se puede determinar mayor capacidad de control de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar sobre *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en el estadio de prepupa en comparación a pupas en respuesta a todas las concentraciones *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar esto es similar a lo mencionado por Calle (2019), nos explica en su investigación que los estadios larvales V y IV (prepupas) son los más sensibles a la aplicación del nematodo a diferencia de las pupas dando como referencia a Ramirez (1995) quien determinó en su investigación que el estado de pupa fue menos sensible presentando menos control a *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar a una dosis de 120 JIs/pupa, esto debido a que en el estado de pupa el insecto desarrolla la cutícula que es una estructura que le brinda protección hacia nematodos.

- En la tabla 5, se muestra el porcentaje de mortandad de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio. Se observó en la tabla 5 que el mayor porcentaje de mortandad de prepupas fue la concentración del tratamiento 5 (5000JIs/mL), con un 81.3 %, mientras que el menor porcentaje de mortalidad la presentó el tratamiento 1 (1500JIs/mL), con un 45.8 %. En la tabla 6 de análisis de varianza (ANOVA) se observa un estadístico de prueba $F=95.272$, el mismo que ha dado una significancia $\alpha = 0.000$ siendo inferior al nivel de significancia $\alpha=0.050$, lo que indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos y en la tabla 7 indica las diferencias significativas en los tratamientos encontrados al realizar la prueba de comparaciones múltiples mediante Tukey, se puede observar que los tres tratamientos mantienen diferencias estadísticas entre sí, y con el testigo control, donde el tratamiento T₅ (5000 JIs/mL) supera estadísticamente en control a los tratamientos generando un mayor control de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio, esto se relacionado con lo experimentado por Alvarado y Noriega (2017), en su presente trabajo de investigación en laboratorio, donde probaron tres concentraciones (1000. 3000 y 5000) JIs/mL de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar sobre prepupas y pupas de *Spodoptera frugiperda* Smith, donde el mayor porcentaje de control se dió en el estadio de prepupa con 92.0 % a 5000 JIs/mL.
- Esto comprueba la hipótesis planteada en el presente trabajo de investigación, a mayor concentración de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar mayor será el control de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio.
- En la tabla 12 se presenta el porcentaje de mortandad de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picado” a nivel de laboratorio. Se observó en la tabla 12 que el mayor porcentaje de mortandad de prepupas fue la concentración del tratamiento 6 (5000JIs/ml), con un 72.9 %, mientras que que el menor porcentaje de mortalidad la

presentó el tratamiento 2 (1500JIs/mL), con un 41.7 %. En la tabla 13 de análisis de varianza (ANOVA) se observa un estadístico de prueba $F=105.544$, el mismo que ha dado una significancia $\alpha= 0.000$ siendo inferior al nivel de significancia $\alpha=0.050$, lo que indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos.

- En la Tabla 14 indica las diferencias significativas en los tratamientos encontrados al realizar la prueba de comparaciones múltiples mediante Tukey, se puede observar que los tres tratamientos mantienen diferencias estadísticas entre sí, y con el testigo control, donde el tratamiento T_6 (5000 JIs/mL) supera estadísticamente en control a los tratamientos T_4 (3000 JIs/mL) y T_2 (1500 JIs/mL) por lo tanto se concluye que el T_6 (5000 JIs/mL) genera un mayor control de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio, esto es similar a lo descrito por Diaz & Rodriguez (2018), en su investigación nos explican el efecto de la aplicación de tres concentraciones (3000, 5000 y 7000 JIs/mL) del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* sp. en el control biológico de la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann) en condiciones de laboratorio teniendo como resultado en la investigación que el mayor número de individuos muertos lo representa el T_3 (7000 JIs/mL) con un porcentaje de mortandad igual a 76.7 %, siendo este tratamiento su concentración mayor.
- Esto comprueba la hipótesis planteada en el presente trabajo de investigación, a mayor concentración de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar mayor será el control de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio.
- Se puede determinar que el mayor control se pudo observar en el estadio de prepupa (al ser larvas en ultimo estadio) a comparación del estadio de pupa que presento un menor control, porque construye una celda de pupa de arena y seda al final de uno de los

túneles. (Capinera, 2020), nos indica que esto impide parcialmente el acceso del nematodo, así mismo se puede considerar lo mencionado por Calle (2019) en su investigación mediante la inoculación de concentraciones sobre los estadios larvales II, III, IV y V de *Spodoptera frugiperda* Smith con aspersiones dirigidas. Las larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith inoculadas con *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar presentaron mortalidad en sus distintos estadios larvales; los estadios con mayor porcentaje de muerte fueron IV y V. *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar causó la mortalidad en gran porcentaje de larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith, logrando provocar la muerte de hasta el 75.0 % de la población evaluada del V estadio. Los estadios larvales IV y V son los más sensibles a la aplicación del nematodo.

- En las tablas 19 se muestra el porcentaje de mortandad de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de campo. Se observó en la tabla 19 que el mayor porcentaje de mortandad de prepupas fue la concentración del tratamiento 5 (5000JIs/mL), con un 68.8 %, mientras que el menor porcentaje de mortalidad la presentó el tratamiento 1 (1500JIs/mL), con un 39.6 %. En la Tabla 20 de análisis de varianza (ANOVA) se observa un estadístico de prueba $F=113.696$, el mismo que ha dado una significancia $\alpha= 0.000$ siendo inferior al nivel de significancia $\alpha=0.050$, lo que indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos.
- La Tabla 21 indica las diferencias significativas en los tratamientos encontrados al realizar la prueba de comparaciones múltiples mediante Tukey, se puede observar que los tres tratamientos mantienen diferencias estadísticas entre sí, y con el testigo control, donde el tratamiento T₅ (5000 JIs/mL) supera estadísticamente en control a los tratamientos T₃ (3000 JIs/mL) y T₁ (1500 JIs/mL) por lo tanto se concluye que el T₅

(5000 JIs/mL) genera un mayor control de prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de campo.

- En la tabla 26 se muestra el porcentaje de mortandad de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de campo. Se observó en la tabla 26 que el mayor porcentaje de mortandad de pupas fue la concentración del tratamiento 6 (5000JIs/mL), con un 60.4 %, mientras que el menor porcentaje de mortalidad la presentó el tratamiento 2 (1500JIs/mL), con un 35.4 %. En la tabla 27 de análisis de varianza (ANOVA) se observa un estadístico de prueba $F=130.293$, el mismo que ha dado una significancia $\alpha= 0.000$ siendo inferior al nivel de significancia $\alpha= 0.050$, lo que indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos.
- En la Tabla 28 indica las diferencias significativas en los tratamientos encontrados al realizar la prueba de comparaciones múltiples mediante Tukey, se puede observar que los tres tratamientos mantienen diferencias estadísticas entre sí, y con el testigo control, donde el tratamiento T_6 (5000 JIs/mL) supera estadísticamente en control a los tratamientos T_4 (3000 JIs/mL) y T_2 (1500 JIs/mL) por lo tanto se concluye que el T_6 (5000 JIs/mL) genera un mayor control de pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de campo.
- El presente trabajo de investigación afirma lo expuesto por Alvarado y Noriega (2017), en su presente trabajo de investigación, donde probaron tres concentraciones (1000, 3000 y 5000) JIs/mL de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar sobre prepupas y pupas de *Spodoptera frugiperda* Smith, donde el mayor porcentaje de control se dió en el estadio de prepupa con 82.0 % a 5000 JIs/mL y con respecto al control de pupas fue de 62.0 % a 5000 JIs/mL. El menor porcentaje de control en pupas en campo se podría

- deber a lo mencionado por Morris (1985) donde explica que las pupas son menos susceptibles debido a que proporcionan un acceso limitado a la infección de nematodos, como reducir la liberación de CO₂ o que los espiráculos hayan estado casi cerrados, lo cual puede ser en parte una respuesta para escapar a la detección y evitar el parasitismo.
- Esto comprueba la hipótesis planteada en el presente trabajo de investigación, a mayor concentración de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar mayor será el control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en campo.

 - Los resultados de esta investigación muestran diferencias en el porcentaje de mortandad de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” realizados a nivel de laboratorio y campo, según Molina & López (2003) los NEP's presentan alta potencialidad para control de plagas del suelo y de hábitos crípticos, sin embargo, factores abióticos como la humedad puede disminuir su eficiencia. Así mismo varios factores afectan también la supervivencia del JI como son la radiación ultravioleta, la textura del suelo, el pH y la temperatura extrema en campo, esto explica el mayor porcentaje de control en estadios de prepupa y pupa de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en laboratorio en donde las condiciones son controladas a diferencia de campo, y que además muchas pupas presentan estas características para escapar de parásitos.

 - En las tablas 9 y 16, se observó el porcentaje de control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en en condiciones de laboratorio, a las 24, 48, 72, 92 y 120 horas de la inoculación, lo que nos muestra un mayor porcentaje de control de prepupas a partir de las 72 horas y en pupas a las 120 horas, esto concuerda con la investigación de Wagiyana et al. (2019), donde manifiestan que los NEP's que sirven como agentes de control biológico incluyen *Steinernema* spp. y *Heterorhabditis*

spp. *Heterorhabditis indicus* Poinar tiene una alta toxicidad contra las larvas de lepidópteros y coleópteros, sus resultados mostraron que la patogenicidad del aislamiento de NEP's a las larvas de CBB en Silo fue del 30.0 % después de 24 horas y del 90.0 % después de 48 horas de inoculación in vivo, lo cual coincide con nuestra investigación ya que la mayor concentración en prepupas (5000 JIs/mL) obtuvo 79.5 % de control después de 72 horas 20.5 % después de 96 horas. La mayor concentración de pupas (5000JIs/mL) obtuvo el 100.0 % de control después de 120 horas desde la inoculación.

- En las tablas 23 y 30, se puede observar el porcentaje de control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en condiciones de campo, a las 24, 48, 72, 92 y 120 horas de la inoculación, lo que nos muestra un mayor porcentaje de control de prepupas a partir de 72 horas pero siendo inferior a lo obtenido en laboratorio, Calle (2019) observó que el porcentaje de mortalidad, para los diferentes estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* Smith fue similar a las 24 y 48 horas después de la inoculación de los nematodos. A las 72 y 96 horas después de la inoculación, se observaron que los mayores porcentajes de mortalidad se presentaron en las larvas de los estadios IV y V. En general, se apreció que el mayor porcentaje de mortalidad, para los diferentes estadios larvales, se observa a partir de las 72 horas después de la inoculación, lo que coincide con la investigación en donde la mayor concentración en prepupas (5000 JIs/mL) obtuvo 76.0 % de control después de 72 horas y 24.0 % después de 96 horas.
- En las tablas 10 y 17 se determinó el promedio de nematodos por prepupa y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio, obteniendo como resultado en la tabla 10, el estadio de prepupa con el T₅ (5000 JIs/mL) obtuvo un

promedio de 48 NEP's/prepupa y la menor concentración T₁ (1500 JIs/mLL) obtuvo 24 NEP's /prepupa; en la tabla 17 se tuvo como resultado en estadio de pupa que el T₆ (5000 JIs/mL) cuenta con 62 NEP's/pupa y el T₂ (1500 JIs/mL) cuenta con 35 NEP's /pupa. Basándose en lo anunciado Sáenz (2005) nos menciona que los nematodos pueden sobrevivir por largos períodos en el suelo en ausencia de su huésped, tienen alto potencial reproductivo y muestran respuesta numérica con respecto al huésped, pueden criarse en forma masiva en laboratorio; podemos mencionar en la investigación que a las 72 horas después de la inoculación en estadio de prepupas en laboratorio ya se podía observar mediante el microscopio los juveniles dentro de los individuos diseccionados, en pupas se obtuvo un promedio mayor a las 120 horas de diseccionadas (según procedimiento). Asimismo La Revista de Agronomía Costarricense (2015) nos menciona que el ciclo de vida de *Heterorhabditis* sp., inicia cuando el estadio JI busca e ingresa al insecto por las aberturas naturales (espiráculos, boca, ano) o por áreas delgadas de la cutícula. El JI viaja por la hemolinfa y regurgita a la bacteria *Photorhabdus* sp. desde el interior de su intestino, probablemente como respuesta al reconocimiento y ataque por parte del sistema inmune del insecto hacia el nematodo. La bacteria prolifera en el hemocele y produce toxinas que matan al insecto, con lo mencionado podemos analizar que el estadio de prepupa al no tener una protección de seda como se presenta en el estadio de pupa, hace que al estar en contacto directo con el nematodo sea más efectivo la infección y posterior muerte. En el caso del número de nematodos presentes en pupa en condiciones de laboratorio fue mayor y se podría mencionar que es por el tiempo de evaluación (120 horas) desde la inoculación, se evaluó a más horas que en el estadio de prepupa.

- En las tablas 24 y 31 se determinó el promedio de nematodos por prepupa y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de campo, obteniendo como resultado en la tabla 24, el estadio de prepupa con el T₅ (5000 JIs/mL) obtuvo un promedio de 40 NEP's /prepupa y la menor concentración T₁ (1500 JIs/ml) obtuvo 19 NEP's /prepupa; en la tabla 31 se tuvo como resultado en estadio de pupa que el T₆ (5000 JIs/mL) cuenta con 49 NEP's/pupa y el T₂ (1500 JIs/mL) cuenta con 35 NEP's /pupa. Así mismo, Sáenz & López (2011) en su investigación demostraron que las larvas muertas por el aislamiento nativo *Heterorhabditis sp* y disectadas a las 120 horas posterior a la infección, mostraron adultos hermafroditas de primera generación confirmando que el aislamiento corresponde al género *Heterorhabditis*. En cuanto a la producción acumulada de JIs, se inicia después de los 10 días de infección, recuperando en promedio 10414 JIs y con producción total de 150000 a 280000 JIs/larva de *Galleria mellonella* Linnaeus “gusano de la cera” hasta el agotamiento del hospedero, siendo el séptimo y octavo día, los de mayor recuperación de JI. Esta diferenciación en producción de JI se debe principalmente al proceso de infección, el cual involucra el ingreso al hospedero por el ano, boca, espiráculos o cutícula, número de JIs que ingresan por hospedero, penetración hasta la hemolinfa del insecto, liberación y propagación de las bacterias antes de iniciarse el desarrollo de *Heterorhabditis sp*. Se concuerda con la investigación puesto que las prepupas y pupas estuvieron expuestas entre 24 a 120 horas, donde solamente se encontró JI de la primera generación, es decir a los nematodos inoculados, sin dar tiempo a la reproducción de la segunda generación, sustentando así el número promedio obtenido en la investigación el cual se considera bajo a diferencia de un tiempo de exposición de 10 días con promedios de 10414 de nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis*.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó el efecto de las concentraciones 1500, 3000 y 5000 JIs/mL de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar para el control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusando picador”, siendo la concentración de 5000 JIs/ml del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, la más eficiente a nivel de laboratorio y campo, según lo demostrado estadísticamente en las tablas 7, 14, 21, 28.
- Se determinó el efecto de las concentraciones (1500, 3000 y 5000 JIs/mL) de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar en el control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel laboratorio y según la tabla 5, se determinó que la concentración T₅ (5000 JIs/mL) fue la más eficiente en estadio de prepupas con 81.3 % de mortandad, mientras en estadio de pupas la concentración T₆ (5000 JIs/mL) de acuerdo con la tabla 12 fue la más eficiente con un porcentaje de mortandad de 72.9 %.
- Se determinó el efecto de las concentraciones (1500, 3000 y 5000 JIs/mL) de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar en el control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel campo y según la tabla 19, se determinó que la concentración T₅ (5000 JIs/mL) fue la más eficiente en estadio de prepupas con 68.8 % de mortandad, mientras en estadio de pupas la concentración T₆ (5000 JIs/mL) de acuerdo con la tabla 26 fue la más eficiente con un porcentaje de mortandad de 60.4%.
- Todas las concentraciones aplicadas del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (1500, 3000 y 5000 JIs/mL) ocasionaron distintos porcentajes de mortandad en prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” en condiciones de laboratorio y campo.

- Se determinó el porcentaje de control de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a diferentes tiempos (horas). Se observó en las tablas 9 y 23, el porcentaje de mortandad del estadio de prepupa de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio y campo, se produjo entre las 72 y 96 horas respectivamente, mientras que en las tablas 16 y 30, se determinó que el porcentaje de mortandad del estadio de pupa de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” a nivel de laboratorio y campo se produjo antes de las 120 horas, presentando apariencia flácida y coloración rojiza.
- En cuanto al número de nematodos entomopatógeno de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar encontrados en prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”, se determinó el promedio de individuos por estadio de prepupa en condiciones de laboratorio, según la tabla 10, el tratamiento T₅ presentó el mayor número siendo 48 nematodos/prepupa y en estadio de pupa el tratamiento T₆ fue el mayor con 62 nematodos/pupa de acuerdo con la tabla 17. En condiciones de campo según la tabla 24, el promedio mayor por prepupa lo presentó el T₅ con 40 nematodos/prepupa y en estadio de pupa el tratamiento T₆ presentó 49 nematodos según la tabla 31. En estadio de pupas se obtuvo el mayor promedio de nematodos por individuo en condiciones de laboratorio y campo.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda experimentar a mayores concentraciones de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar para determinar el control óptimo de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” u otros lepidópteros, tanto a nivel de laboratorio como campo.
- Se recomienda buscar nuevos métodos de conservación para mayor viabilidad de nematodos para uso en laboratorio.
- Se recomienda experimentar con otros especímenes en diferentes géneros de nematodos entomopatógenos para el control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” y otros lepidópteros, a nivel de campo.
- Se recomienda experimentar otros métodos de aplicación diferentes a los usados en este trabajo de investigación como a través del sistema de riego por goteo por hectárea, y así optimizar el control en prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”. Así como realizar investigaciones sobre el número de nematodos por individuo a más días (5 días), para observar la tasa de multiplicación del nematodo.
- Tener en cuenta las condiciones donde se aplica nematodos entomopatógenos ya que la eficacia de los juveniles de nematodos en el campo puede ser alterada por diversos factores bióticos y abióticos presentes debido a que los suelos con humedad adecuada permiten la movilidad y por tanto la sobrevivencia de los nematodos.
- Promover el uso de nematodos entomopatógeno dentro del manejo integrado de plagas para contribuir con una agricultura sostenible.
- Se recomienda realizar investigaciones sobre el número de nematodos por individuo a mayores días a diferencia de lo realizado en el presente trabajo de investigación (5 días), para observar la tasa de multiplicación del nematodo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, A., & Noriega, M. (2018). *Efecto de tres concentraciones de Heterorhabditis bacteriophora Poinar en la mortalidad de prepupas y pupas de Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbot) en laboratorio e invernadero. [Tesis de grado, Universidad Nacional de Trujillo]. 46-50.
<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10908/Alvarado%20Alama%20Armando%20Alonso%20y%20Noriega%20Mej%20C3%ADa%20Manuel%20Rom%20C3%A1n.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bennet, H. & Clarke, D. (2005). *The operon in Photorhabdus luminescens is required for pathogenicity and symbiosis*. Journal. Bacteriology 187 77-84
 doi: 10.1128 / JB.187.1.77-84.2005
- Cajusol M. & Requejo L., (2016). *Conservación de nematodos entomopatógenos (Heterorhabditis bacteriophora y Heterorhabditis sp., nativa) en tres sustratos a diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento, en laboratorio. Junio 2015 – Enero 2016. Lambayeque – Perú*. [Tesis de grado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
<http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/842/BC-TES-5658.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Calle, Y. H. (2019). *Patogenicidad de Heterorhabditis bacteriophora Poinar en larvas de Spodoptera frugiperda en maíz*. Peruvian Agricultural Research 1(1), 11-16, 2019, 1-6.
 doi:<http://revistas.unjfsc.edu.pe/index.php/PeruvianAgriculturalResearch/article/view/477/449>
- Campos, R., Blanco, R., & Vicente, I. (2020). *Nematodos entomopatógenos en el control biológico de ácaros e insectos*. Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino, 34-41.
https://www.researchgate.net/publication/338792813_Nematodos_entomopatógenos_en_el_control_biologico_de_acaros_e_insectos
- Capinera, J. (2020). *Manual de plagas vegetales*. San Diego, Estados Unidos: Elsevier.
 doi:10.1016/b978-0-12-814488-6.00010-8
- Castillo Y. (2003). *Determinación de ciclo de vida de las "Polillas de la papa" Symmetrischema tangollas (GYEN) y Tecia solanivora (POVOLNY) (LEPIDÓPTEROS: GELECHIIDAE)*, bajo condiciones controladas de laboratorio. Quito, Ecuador. [Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador]
<https://books.google.com.pe/books?id=qpMzAQAAMAAJ&pg=PA76&dq=prepupa&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjwkK3KoevyAhVyVTABHaBUD-QQ6AEwAHoECAMQAg#v=onepage&q=prepupa&f=false>
- Crisanto, K. (2016). *Capacidad de propagación de Heterorhabditis bacteriophora Poinar, en larvas de Galleria mellonella L., Spodoptera eridania Cramer y Oxydia vesulia cramer*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de Trujillo]
<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/8767/Crisanto%20Pescor%20a1n%20c%20Katherine%20In%20a9s.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- De Sousa Rodriguez, L., De Oliveira, M., De Mendoca, E., Elias Pinheiro R., & Bittencourt, J. (2017). *Potencial de nematoides entomopatógenos do género Heterorhabditis para o controle de Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae)*. Braz. J. Vet. Parasitol., Jaboticaba, 451-456.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612017065>
- Diaz S., & Rodriguez C., (2018). *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*. [Tesis de grado, Universidad Nacional del Santa]

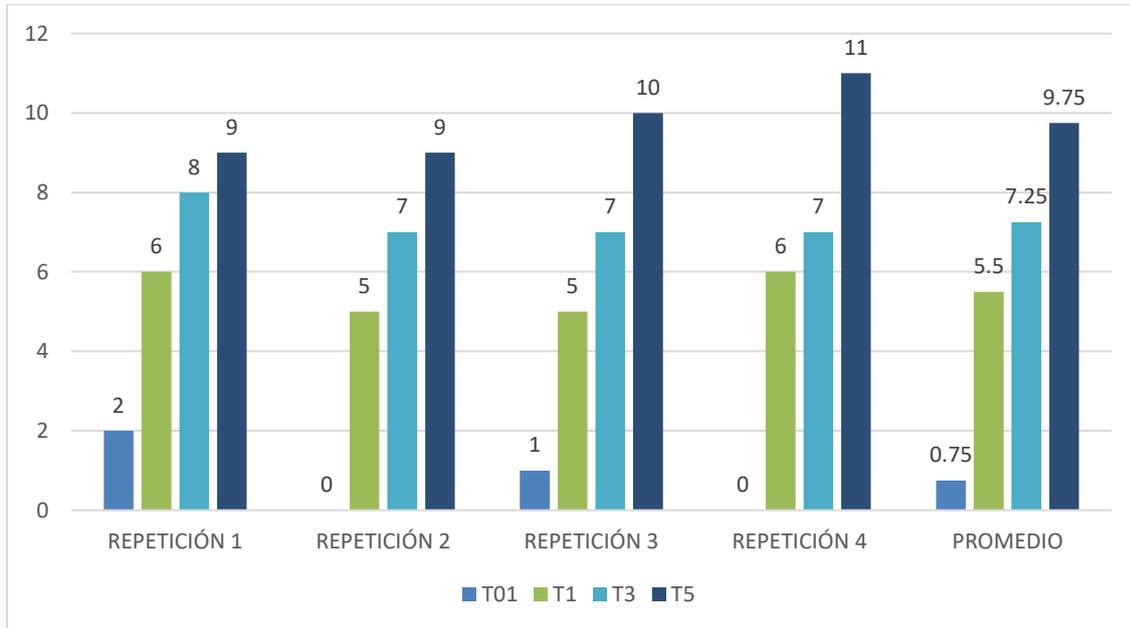
- <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/3379/49231.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- DRMIĆ, Z., ŠATVAR, M., VIRIĆ, H., LEMIĆ, D., GRUBIŠIĆ, D., BAŽOK, R., & ČAČIJA, M. (2020). *Eficacia de las EPN (Heterorhabditis bacteriophora) en larvas de remolacha azucarera (Bothynoderes punctiventris). Zagreb, Croacia: Journal of Central European Agriculture.*
doi:/10.5513/JCEA01/21.3.2376
- Duso C, Malagnini V, Pozzebon A, Castagnoli M, Liguori M, Simoni S. *Comparative toxicity of botanical and reduced risk insecticides to Mediterranean populations of Tetranychus urticae and Phytoseiulus persimilis (Acari Tetranychidae, Phytoseiidae).*
doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.06.011
- Fernandez, C. (2015). Manejo agronomico del espárrago verde UC 157-f1 en el distrito de Jayanca lambayeque. Lima, Perú. [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria La Molina].
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/944/F01-F475-T.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Giaconi, V., & Escaff, M. (1998). *Cultivo de hortalizas*. Santiago, Chile: Editorial Universitaria S.A.
<https://books.google.com.pe/books?id=-K9xgvfdGGYC&pg=PA166&dq=cultivo+de+esparrago+generalidades&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjfs8rKoIftAhUt11kKHd0aBDIQ6AEwAHoECAYQA#v=onepage&q=cultivo%20de%20esparrago%20generalidades&f=false>
- Grewal, P. S., Wang, X., & Taylor, R. A. J. (2002). *Dauer juvenile longevity and stress tolerance in natural populations of entomopathogenic nematodes: is there a relationship?* International Journal for Parasitology 32(6), 717-725
- Instituto Nacional de Investigación Agraria-INIA. (2020). *Protocolos de crianza de controladores biológicos*.
<https://repositorio.inia.gob.pe/handle/inia/1157>
- Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas-IPEH. (2014). *Manual del Cultivo de Espárrago*. Lima, Perú: IPEH. Obtenido de
<https://docplayer.es/150524393-Manual-del-cultivo-del-esparrago.html>
- Jacas, J., Caballero, P., & Avilla, J. (2005). *El control biológico de plagas y enfermedades. Sostenibilidad de la agricultura mediterránea*. Castellón de la Plana: Publicaciones de la Universidad de Jaume I.
<https://books.google.com.pe/books?id=4hZ0loEeCPUC&pg=PA87&dq=ciclo+de+vida+de+nematodos+entomopatogenos&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwja2IrrIXtAhW7H7kGHTHMAg0Q6AEwAHoECAQQAg#v=onepage&q=ciclo%20de%20vida%20de%20nematodos%20entomopatogenos&f=true>
- Kaya, H., & Stock, S. (1997). *Técnicas en nematología de insectos*. Academic Press, 281-324.
<https://scholar.google.com/scholar?q=Kaya+HK+Stock+SP+1997+Techniques+in+insect+nematology.+Pp.+281%E2%80%93324++in++L.+A.+Lacey,+ed.+Manual+of+Techniques+in+Insect+Pathology.+San+Diego,+CA:+Academic+Press.+>
- Koppenhöfer, H., & Gaugler, R. (2008). Entomopathogenic Nematode and Bacteria Mutualism. En J. White, & M. Torres, *Defensive Mutualism in Microbial Symbiosis* (págs. 105-107). New Jersey: Taylor y Francis Group. Obtenido de
https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=ryvqB-u6QGsC&oi=fnd&pg=PA99&dq=7+Entomopathogenic+Nematode+and+Bacteria+Mutualism&ots=96f1fvM_E3&sig=ZHGGws0DxO0bEOH_RJPIsZ9S8dE#v=onepage&q=7%20Entomopathogenic%20Nematode%20and%20Bacteria%20Mutualism&f=false

- López N., & Saénz L., (2011). *Ciclo de vida y patogenicidad del aislamiento nativo Heterorhabditis sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae)*. Revista Colombiana de Entomología, 43-47. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-04882011000100007&script=sci_abstract&tlng=es#:~:text=El%20ciclo%20de%20vida%20de,adultos%20hermafroditas%2C%20machos%20y%20hembras.
- Lewis, E. E., Gaugler, R., & Harrison, R. (1992). *Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers*. Parasitology 105(2), 309-315
doi: <https://doi.org/10.1017/S0031182000074230>
- Molinari, A., & Gamundi, J. (2010). *Para mejorar la producción. Grupo de Trabajo Protección Vegetal-Entomología*. EEA Oliveros- INTA, 45. https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-elasmopalpus-lignosellus-_zeller_-un-barrenador-espor.pdf
- Moreira, M., & Gonzáles W. (2002). *Manejo agronómico y análisis económico del cultivo de Espárrago para condiciones tropicales*. San José, Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica.
<https://books.google.com.pe/books?id=TY-mTWyFdMMC&pg=PA13&dq=morfologia+del+esparrago+en+el+peru&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwil8-yE0oXtAhVBi1kKHYTzCd8Q6AEwAHoECAIQAg#v=onepage&q=morfologia%20del%20esparrago%20en%20el%20peru&f=false>
- Morris, O. (1985) *Suceptibility of 31 species agricultural insect pests to the entomogenous nematodes Steinernema feltiae and Heterorhabditis bacteriophora*. Canadian Entomologist 117, 401-407
Doi: <https://doi.org/10.4039/Ent117401-4>
- Narro M. (2012). *Manejo integrado de plagas en el cultivo de ají*. Agrobanco, 9.
https://www.agrobanco.com.pe/wp-content/uploads/2017/07/001-aji_MANEJO_PLAGAS.pdf
- O'Brien, T. & Díaz, A. (2004). *Mejorando la competitividad y el acceso a los mercados de exportaciones agrícolas por medio del desarrollo y aplicación de normas de inocuidad y calidad. El ejemplo del espárrago peruano*. Lima, Perú. Price Perú.
https://books.google.com.pe/books?id=PdwOAQAIAAJ&pg=PA9&dq=cultivo+de+esparrago+en+el+peru&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwis_-fSyIXtAhUhlvKKhUHCAUQ6AEwAHoECAUQAg#v=onepage&q=cultivo%20de%20esparrago%20en%20el%20peru&f=false
- Pachecho, D. (2014). *Patogenicidad de dos nematodos entomopatógenos (Heterorhabditis bacteriophora) sobre larvas y pupas de Prodiplosis longifila en cultivos de tomate (Lycopersicon esculentum miller) Lambayeque 2014*. Lambayeque. [Tesis de grado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
<http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/57>
- Rodríguez, MG; Hernández, D.; Gómez, L. (2012). *Nematodos entomopatógenos: elementos del desarrollo histórico y retos para su consolidación como biorreguladores en la agricultura en Cuba*. Revista de Protección Vegetal 27(3):137-146.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000300001&lng=es&tlng=es
- Rosales, L., Rodríguez, M., Enrique, R., Puente, L., & García, J. (2009). *Cría masiva de nematodos entomopatógenos para el control de insectos plaga*, 19 - 22.
<http://es.scribd.com/doc/56864785/Cria-nematodos-entomopato-genos7#scribd>

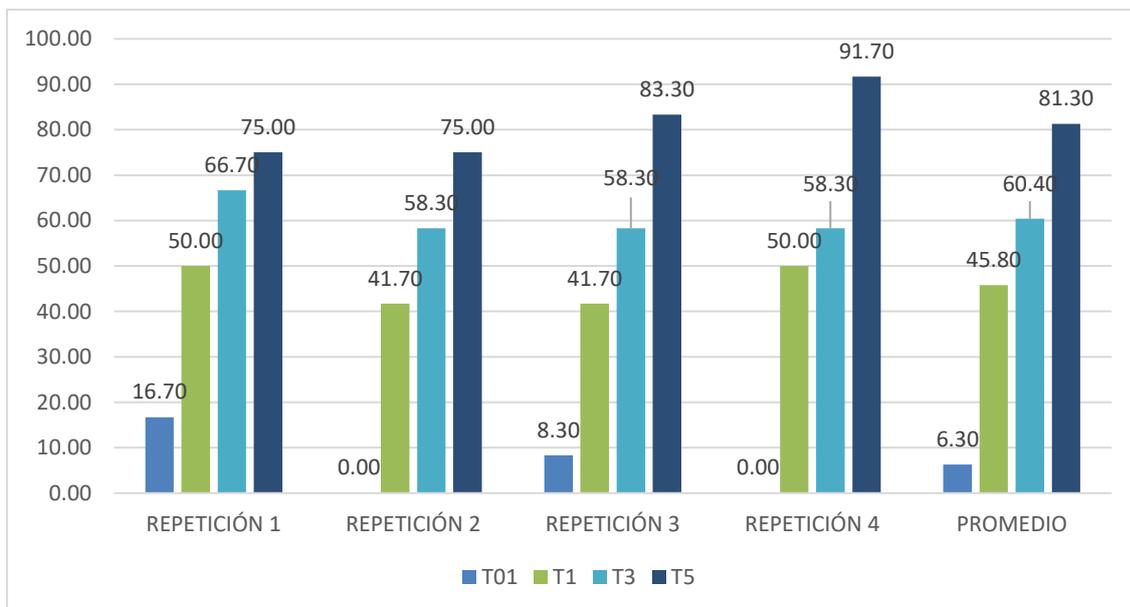
- Quintero, M. (2003). *Comparacion en Laboratorio de la Patogenicidad De Tres Especies Nativas De Nematodos Entomopatógenos (Rhabditida) Sobre Larvas de Tercer instar De Phyllophaga menetriesi* (Blanchard) (coleóptera: scarabaeidae). Santiago de Cali.
http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos_ciat/ipm/pdfs/Tesis_MPQuintero.pdf
- Red Agrícola. (2018). *Plagas que amenazan al sur*. Red Agrícola, 15.
<https://www.redagricola.com/pe/enemigo-al-acecho/>
- Saéñz, A. (2005). *Importancia de los nematodos entomopatógenos para el control biológico de plagas en palma de aceite*. Palmas, 47.
<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1131/1131>
- Salazar, J. (2016). *Programa de manejo de plagas*. Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar, 2.
<https://servicios.laica.co.cr/laica-cv-biblioteca/index.php/Library/download/luCGQkUfRDEhWstJeYUKiTYHYhpSCHf>
- Sánchez J., Valle, J., Perez, E., Neira de Perales, M., & Calderón, C. (2019). *Control biológico de Spodoptera frugiperda en cultivo de Zea mays*. Uso de nemátodos entomopatógenos. *Scientia Agropecuaria*, 551-557.
 doi:<http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.12>
- Sánchez , G., & Sánchez, J. (2008). *Manejo integrado del cultivo del espárrago en el Perú*. Lima: Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas.
<https://es.slideshare.net/AVJEICA/manejo-integrado-de-plagas-en-el-cultivo-de-esparrago>
- Suárez, R., Hernández, J., Serrano, E., & De Armas, G. (1989). *Plagas, enfermedades y su control*. Cuba: Pueblo y educación.
[https://www.ecured.cu/index.php?title=Plagas,_enfermedades_y_su_control_\(Libro\)&action=edit](https://www.ecured.cu/index.php?title=Plagas,_enfermedades_y_su_control_(Libro)&action=edit)
- Torrini, G., Mazza, G., Benvenuti, C., & Roversi, P. (2017). *Susceptibilidad de las pupas de la mosca del olivo, Bactrocera oleae (Diptera: Tephritidae) a los nematodos entomopatógenos*. *Journal of Plant Protection Research*, 318-320.
 doi: 10.1515/jppr-2017-0030
- Urretaviskaya, N., Vasicek, A., & Saini, E. (2010). *Insectos perjudiciales de importancia Agronómica I Lepidópteros*. INTA, 27.
https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_lepidopteros.pdf
- Wagiyana, S., & Waluyo, J. (2019). *Producción masiva de nematodos entomopatógenos de aislados locales como agentes de control biológico del borrador de bayas del café (Hypothenemus hampei Ferr.)*. *J. HPT Tropika J. HPT Tro*, 8-14.
 doi:<https://doi.org/10.23960/j.hptt.1198-14>
- Yuksel, E., & Canhilal, R. (2018). *Evaluación de aislados locales de entomopatógenos para el manejo de gusano cortador negro Agrotis ipsilon Hufnagel (Lepidoptera- Noctuida)*. Yuksel and Canhilal *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28-82.
 doi:<https://doi.org/10.23960/j.hptt.1198-14>

IX. ANEXOS

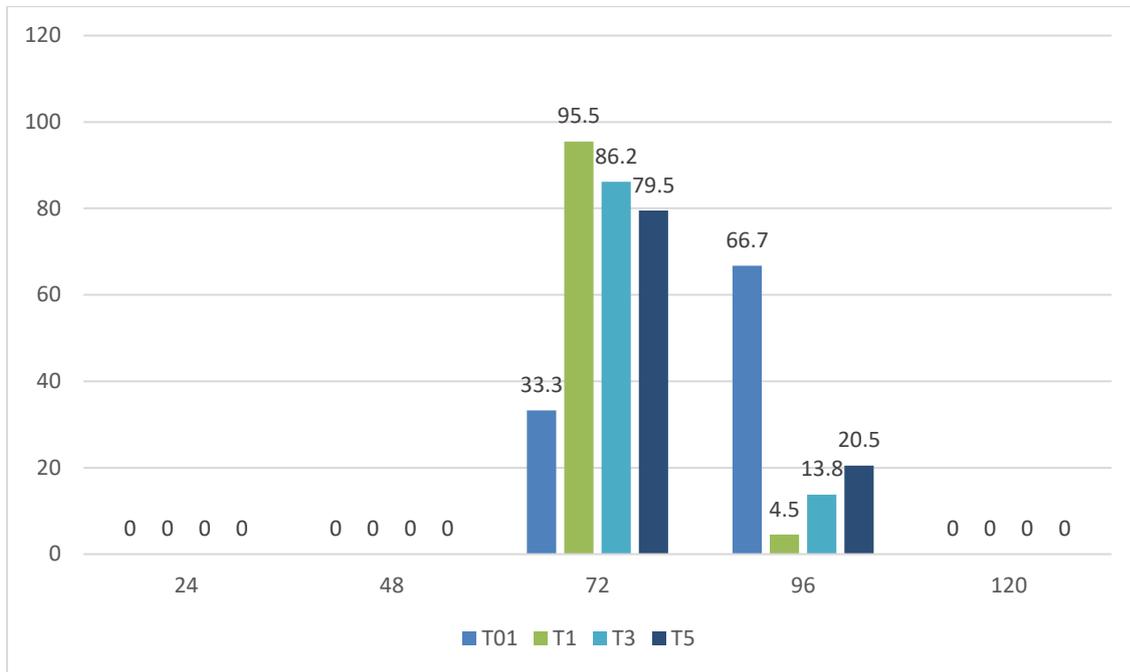
Anexo 1: Número promedio de prepupas muertas por tratamiento en laboratorio



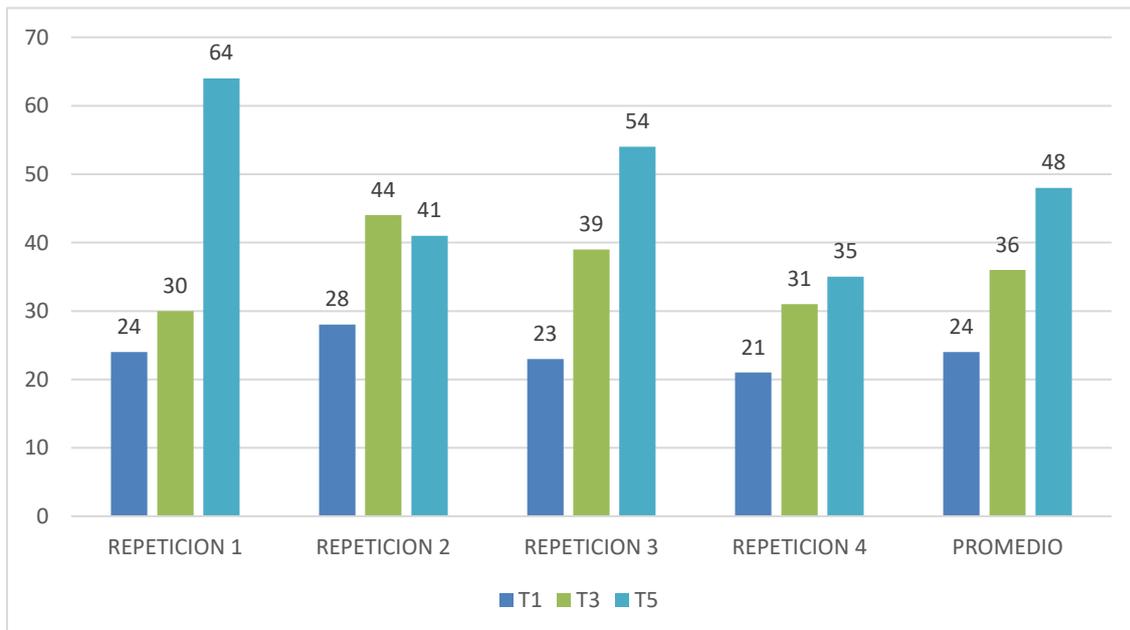
Anexo 2: Porcentaje de mortandad a nivel de prepupas por tratamiento en laboratorio.



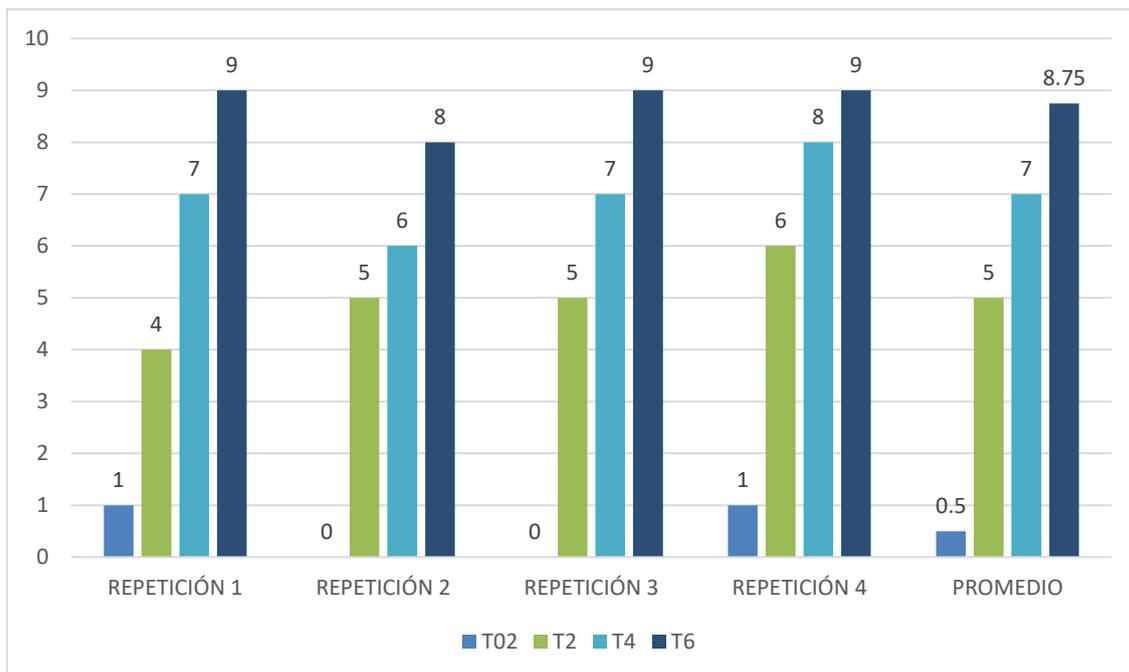
Anexo 3: Porcentaje de prepupas controladas a diferentes tiempos por tratamiento en laboratorio



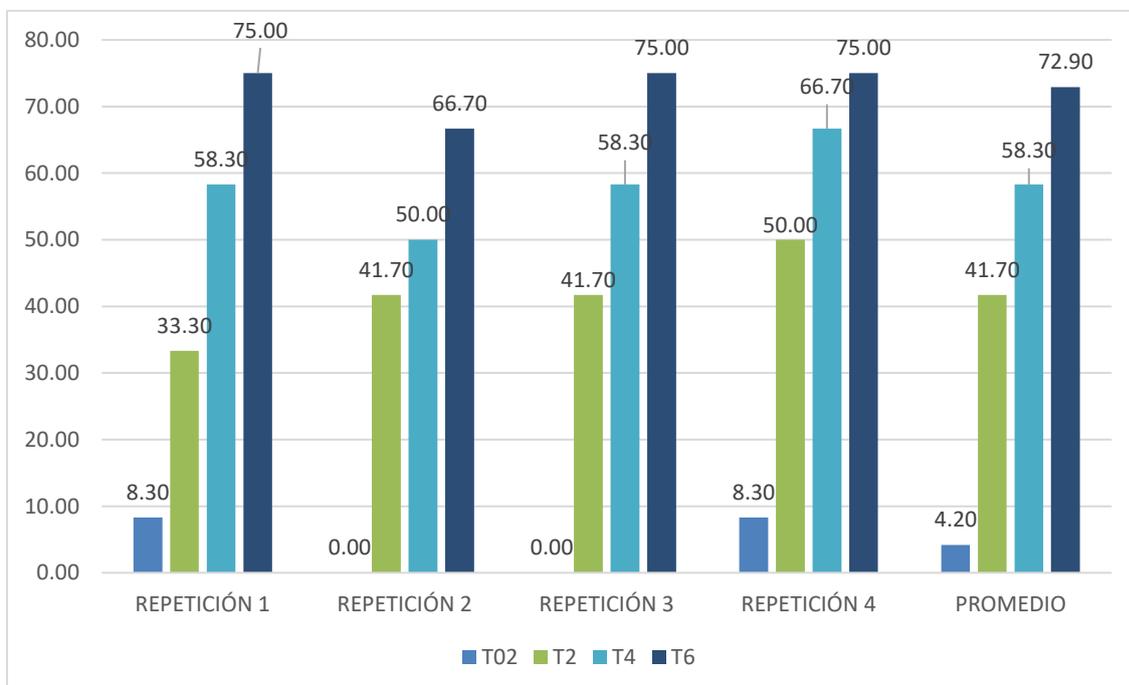
Anexo 4: Número de nematodos promedio en prepupas por tratamiento en laboratorio



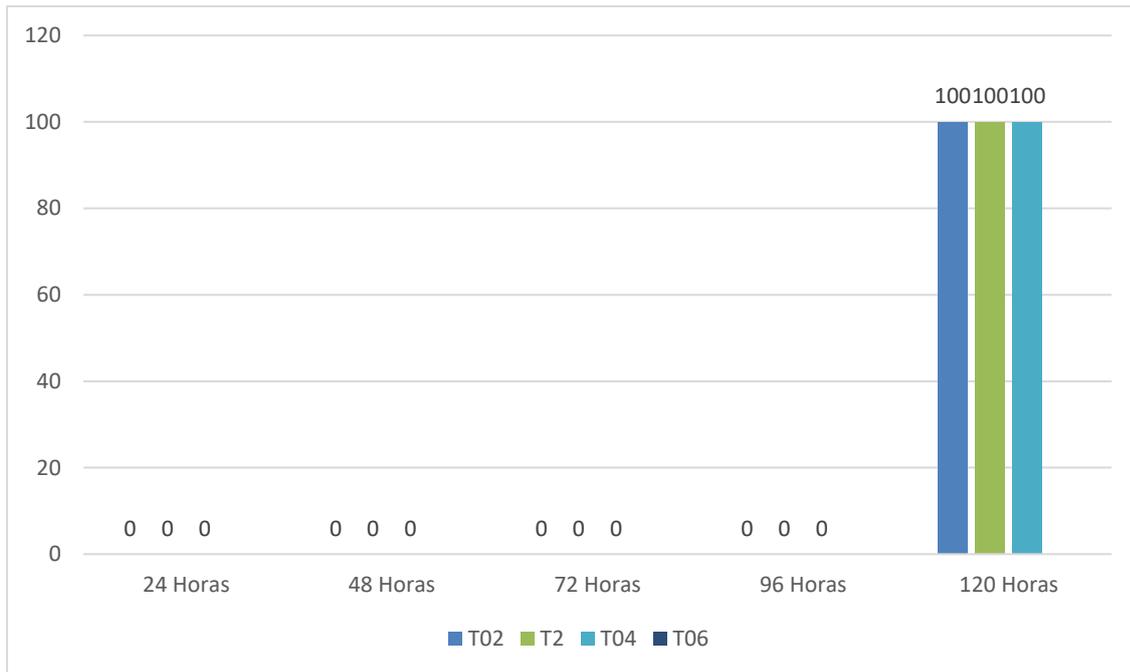
Anexo 5: Número promedio de pupas muertas por tratamiento en en laboratorio.



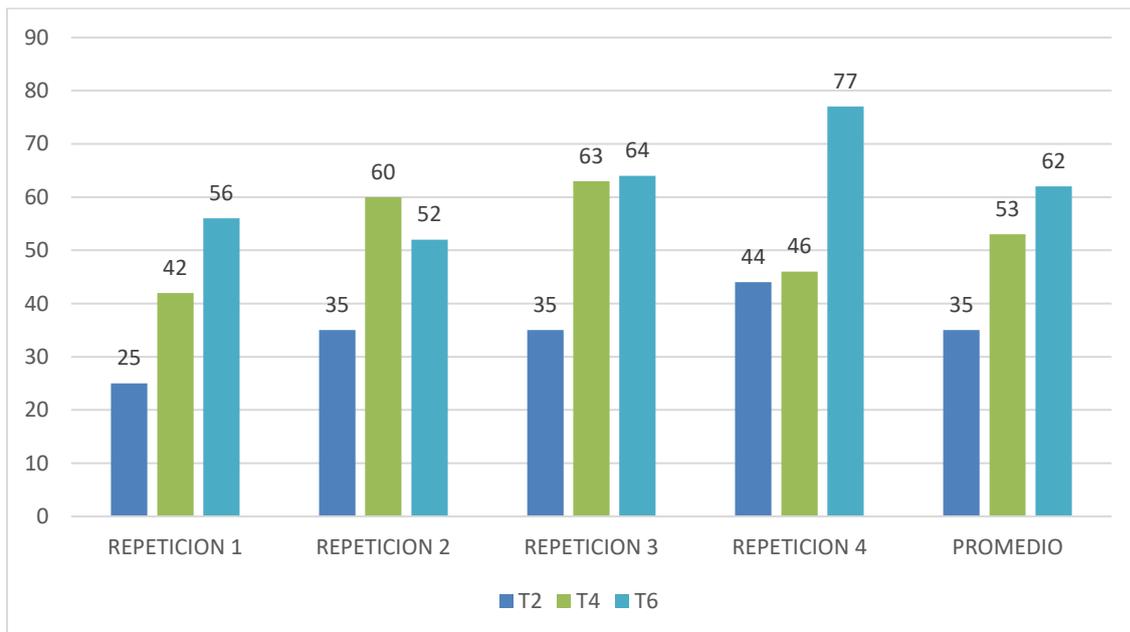
Anexo 6: Porcentaje de mortandad a nivel de pupas por tratamiento en laboratorio



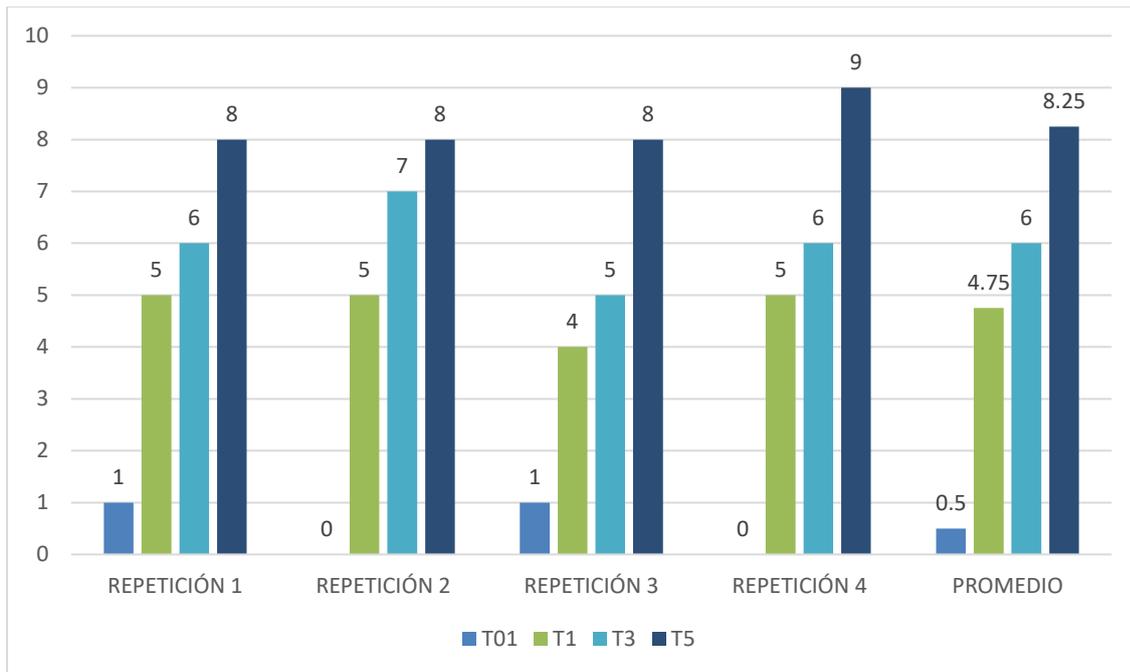
Anexo 7: Porcentaje de pupas controladas a diferentes tiempos por tratamiento en laboratorio



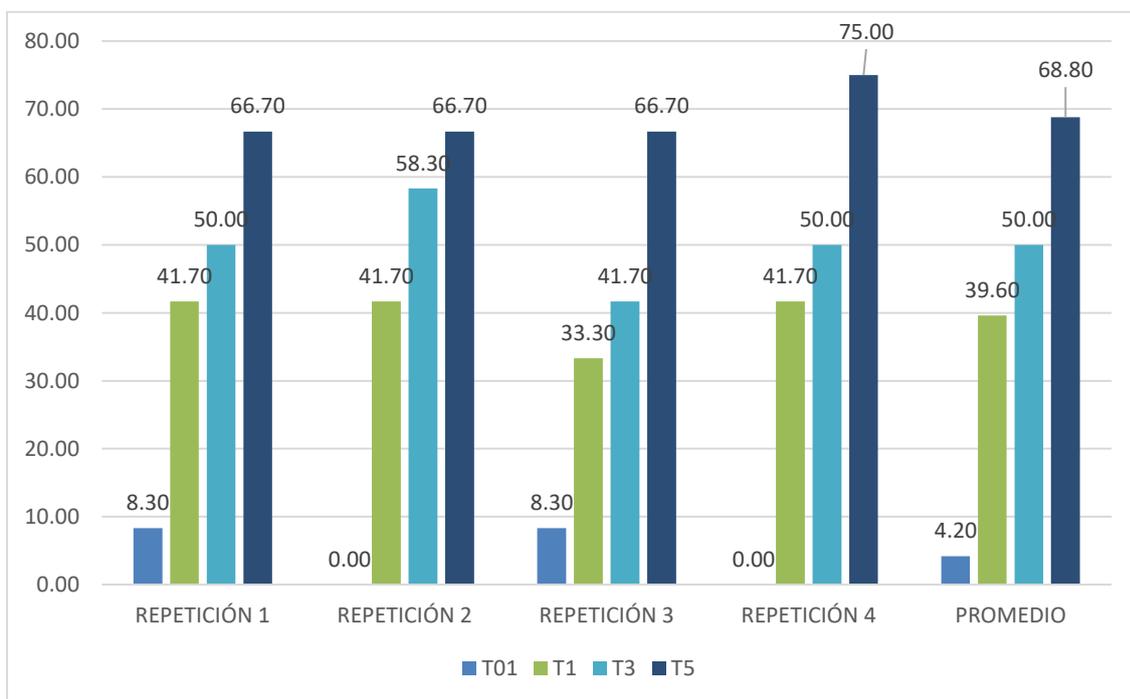
Anexo 8: Número de nematodos promedio en pupas por tratamiento en laboratorio



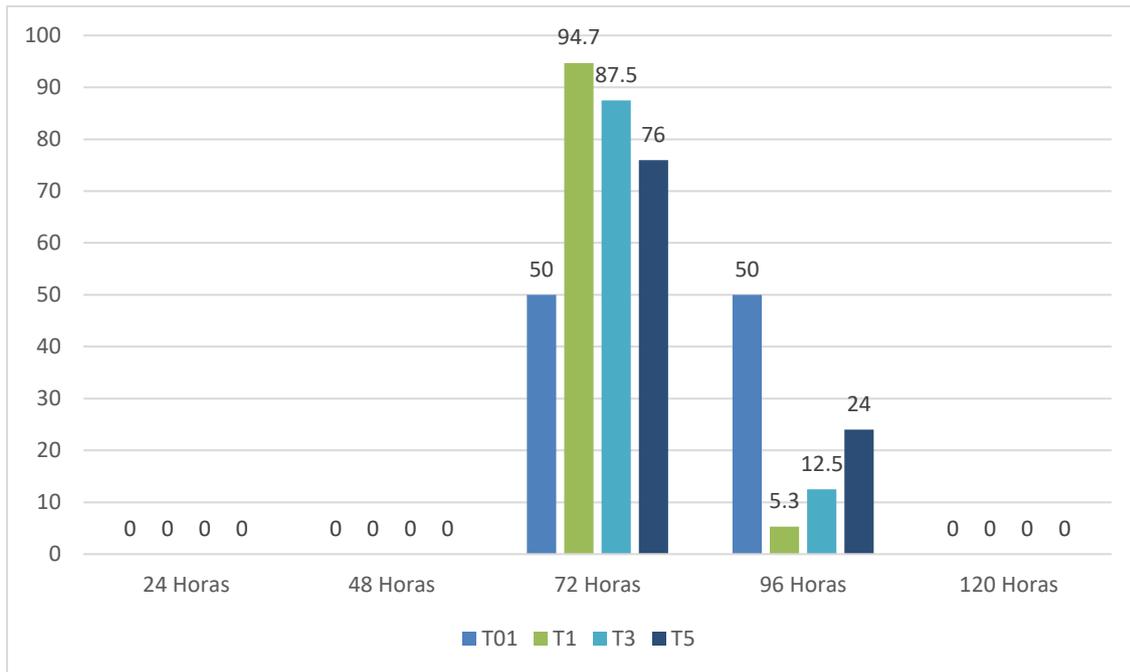
Anexo 9: Número promedio de prepupas muertas por tratamiento en campo



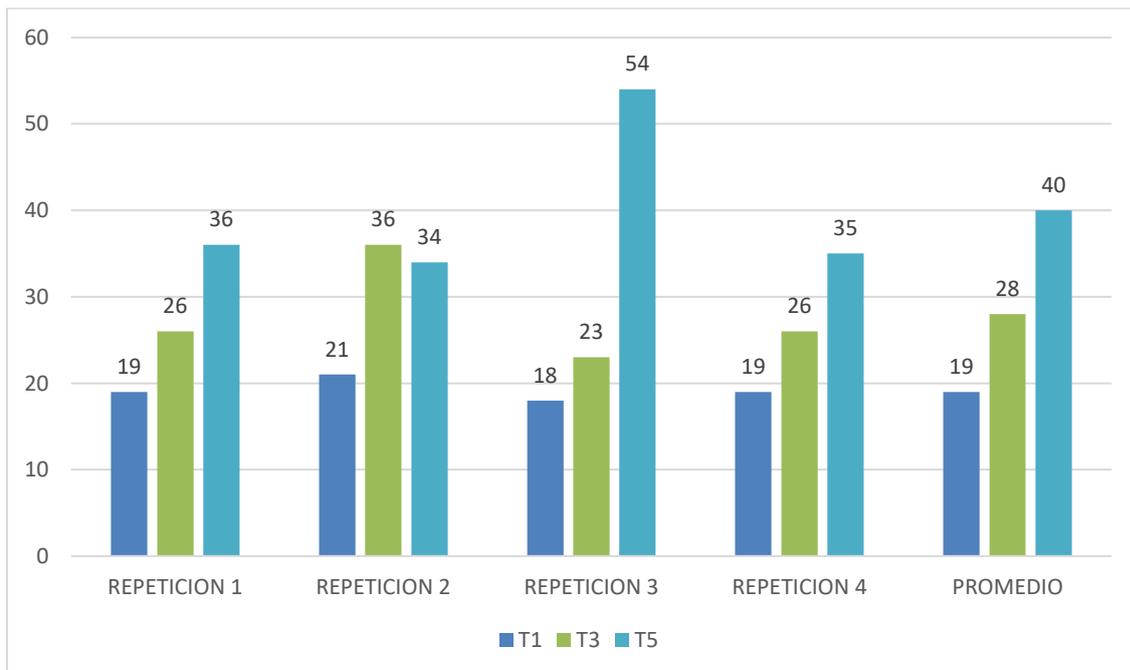
Anexo 10: Porcentaje de mortandad de prepupas por tratamiento en campo



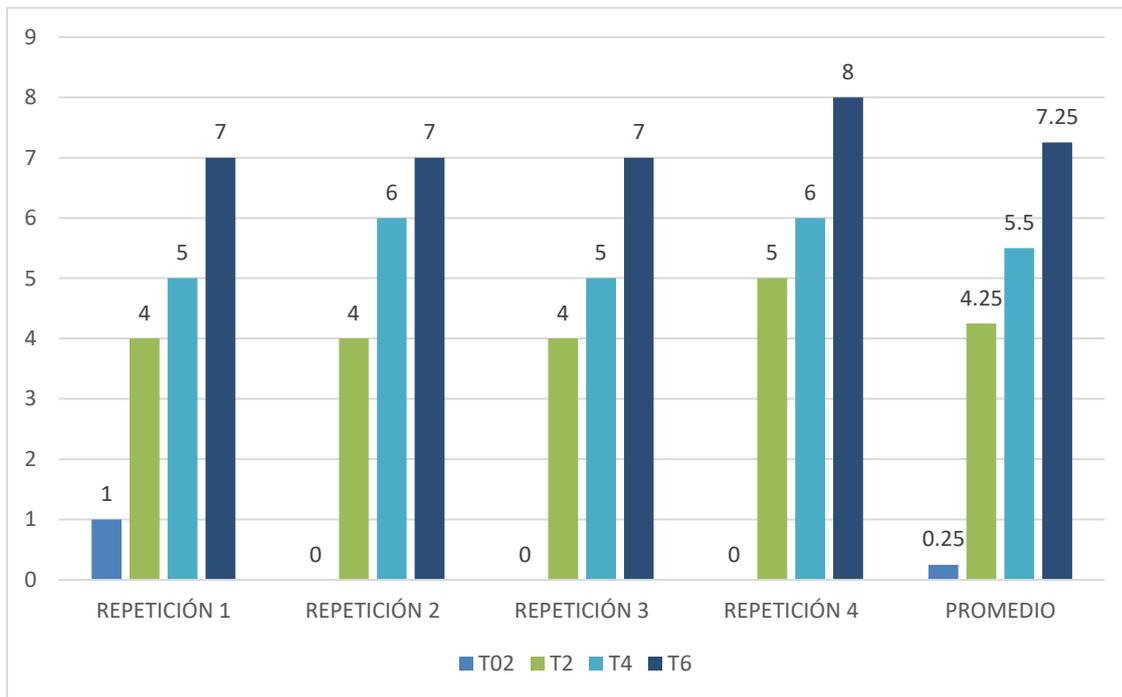
Anexo 11: Porcentaje de prepupas controladas a diferentes tiempos por tratamiento en campo



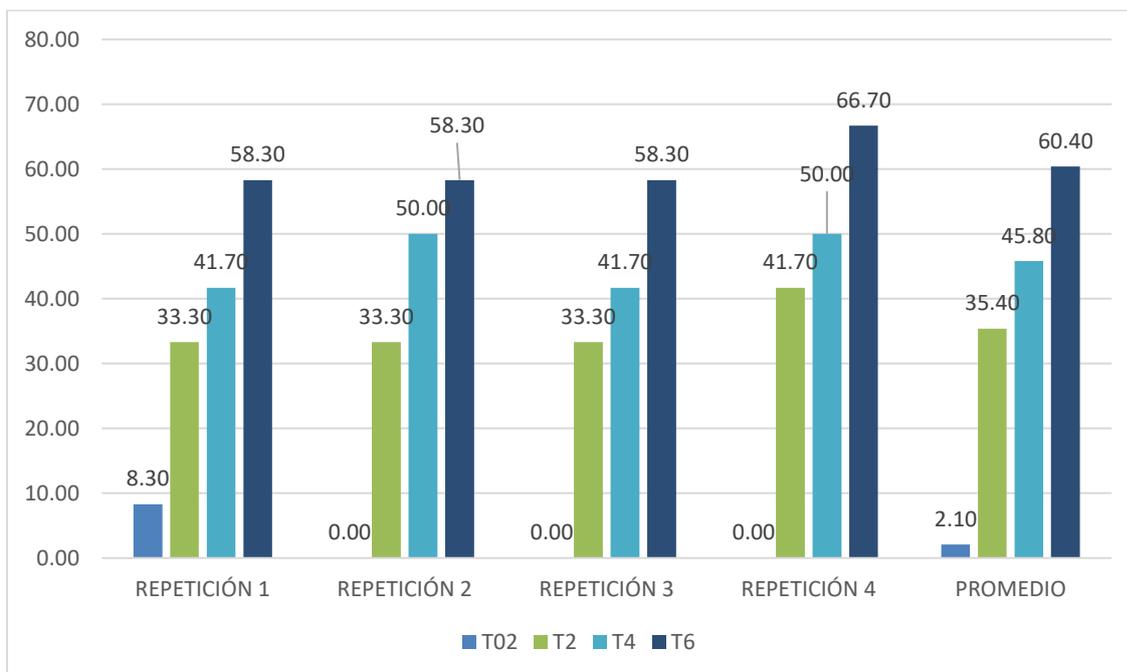
Anexo 12: Número de nematodos promedio en prepupas por tratamiento en campo



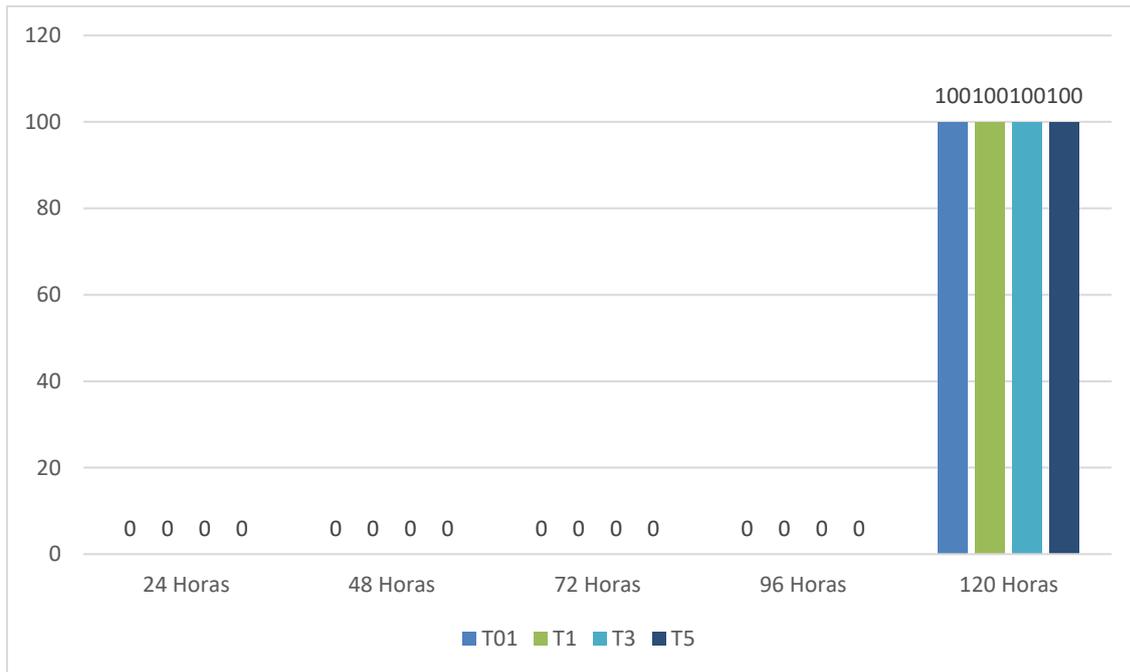
Anexo 13: Número promedio de pupas muertas por tratamiento en campo



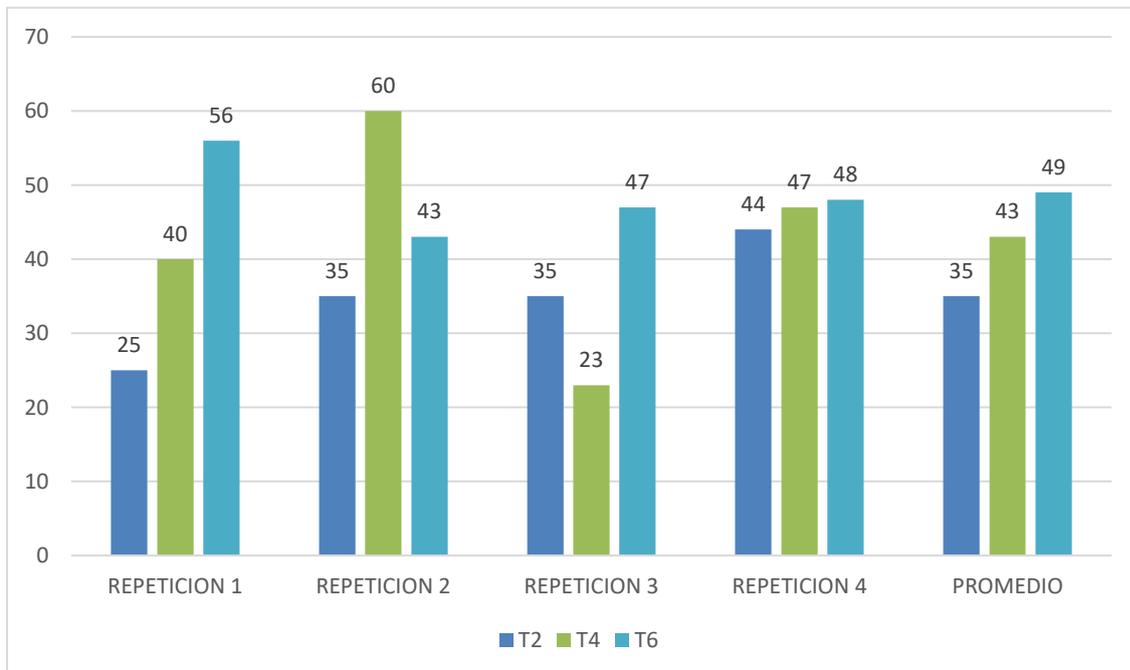
Anexo 14: Porcentaje de mortandad a de pupas por tratamiento en campo



Anexo 15: Porcentaje de pupas controladas a diferentes tiempos por tratamiento en campo



Anexo 16: Número de nematodos promedio en pupas por tratamiento en laboratorio



Anexo 17: Cartilla de evaluación de control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” para laboratorio

EVALUACIÓN DE CONTROL DE PREPUPAS

N° REPETICIONES	Horas de inoculación	Individuos	REPETICIÓN I				REPETICIÓN II				REPETICIÓN III				REPETICIÓN IV			
			T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅
24		<i>prepupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48		<i>prepupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72		<i>prepupas</i>	1	6	7	8	0	5	6	7	0	5	5	8	0	5	7	8
96		<i>prepupas</i>	1	0	1	1	0	0	1	2	1	0	2	2	0	1	0	3
120		<i>prepupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		SUBTOTAL	2	6	8	9	0	5	7	9	1	5	7	10	0	6	7	11

CARTILLA DE EVALUACIÓN DE CONTROL DE PUPAS

N° REPETICIONES	Horas de inoculación	Individuos	REPETICIÓN I				REPETICIÓN II				REPETICIÓN III				REPETICIÓN IV			
			T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆
24		<i>pupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48		<i>pupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72		<i>pupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
96		<i>pupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120		<i>pupas</i>	1	4	7	9	0	5	6	8	1	5	6	8	0	6	8	9
		SUBTOTAL	1	4	7	9	0	5	6	8	1	5	7	9	0	6	8	9

Anexo 18: Cartilla de evaluación de control de prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador” para campo

EVALUACIÓN DE CONTROL DE PREPUPAS																	
N° REPETICIONES		REPETICIÓN I				REPETICIÓN II				REPETICIÓN III				REPETICIÓN IV			
Horas de inoculación	Individuos	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅	T ₀₁	T ₁	T ₃	T ₅
24	<i>prepupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	<i>prepupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	<i>prepupas</i>	1	5	5	6	0	5	6	6	0	4	4	6	0	4	6	7
96	<i>prepupas</i>	0	0	1	2	0	0	1	2	1	0	1	2	0	1	0	2
120	<i>prepupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL		1	5	6	8	0	5	7	8	1	4	5	8	0	5	6	9

EVALUACIÓN DE CONTROL DE PUPAS																	
N° REPETICIONES		REPETICIÓN I				REPETICIÓN II				REPETICIÓN III				REPETICIÓN IV			
Horas de inoculación	Individuos	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆	T ₀₂	T ₂	T ₄	T ₆
24	<i>pupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	<i>pupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	<i>pupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
96	<i>pupas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120	<i>pupas</i>	1	4	5	7	0	4	6	7	0	4	5	6	0	5	6	8
SUBTOTAL		1	4	5	7	0	4	6	7	0	4	5	7	0	5	6	8

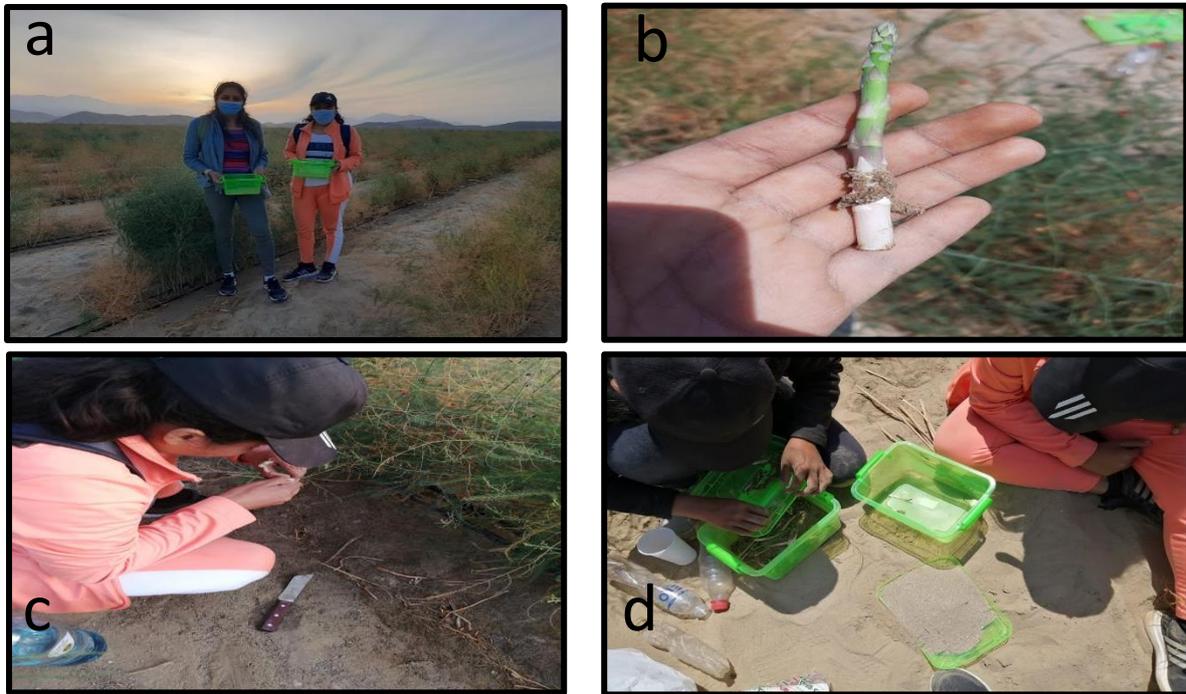
Anexo 19: Cartilla de evaluación para población de nematodos juveniles de Heterorhabditis bacteriophora Poinar en laboratorio

NÚMERO DE NEMATODOS EN LABORATORIO				
N° REPETICIONES	TRATAMIENTO	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
REPETICIÓN 1	T₀₁	0	0	0
	T₀₂	0	0	0
	T₁	29	19	24
	T₂	24	31	19
	T₃	29	27	34
	T₄	53	43	31
	T₅	49	73	71
	T₆	62	55	51
REPETICIÓN 2	T₀₁	0	0	0
	T₀₂	0	0	0
	T₁	34	23	28
	T₂	36	31	37
	T₃	44	41	46
	T₄	61	55	64
	T₅	42	32	49
	T₆	52	46	59
REPETICIÓN 3	T₀₁	0	0	0
	T₀₂	0	0	0
	T₁	29	23	18
	T₂	35	38	33
	T₃	45	42	30
	T₄	71	56	62
	T₅	45	49	67
	T₆	65	56	72
REPETICIÓN 4	T₀₁	0	0	0
	T₀₂	0	0	0
	T₁	26	15	21
	T₂	43	48	42
	T₃	37	32	23
	T₄	51	41	45
	T₅	41	35	28
	T₆	71	86	73

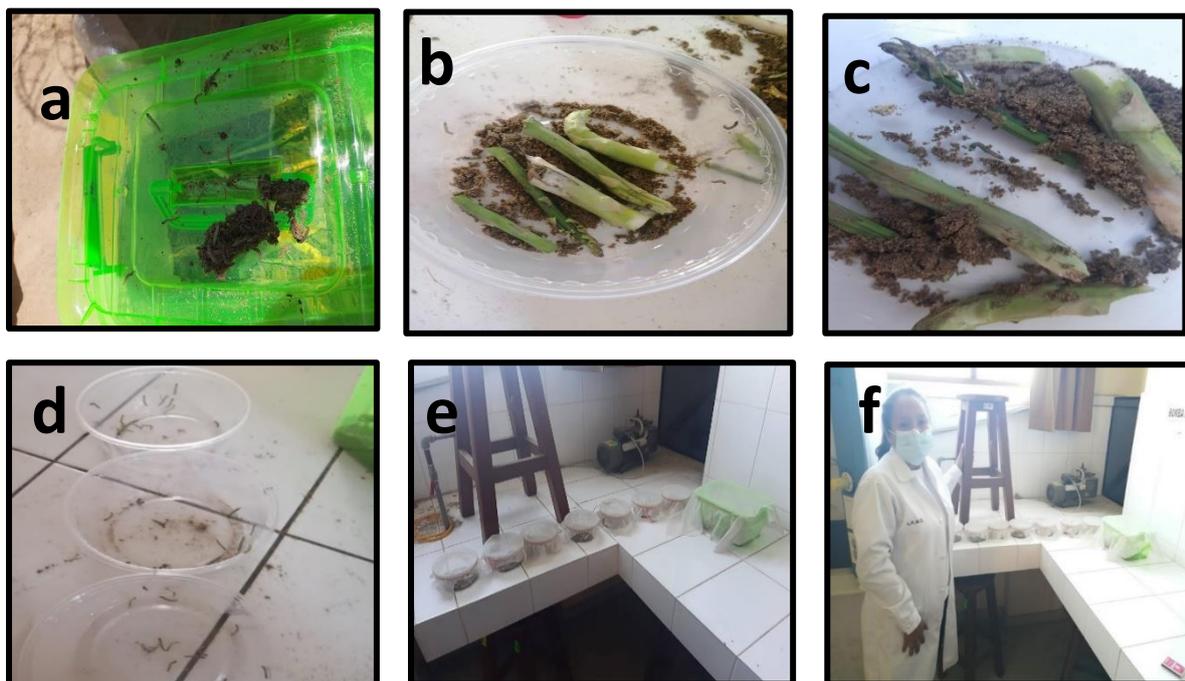
Anexo 20: Cartilla de evaluación para población de nematodos juveniles de Heterorhabditis bacteriophora Poinar en campo

NÚMERO DE NEMATODOS EN CAMPO				
N° REPETICIONES	TRATAMIENTOS	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
REPETICIÓN 1	T₀₁	0	0	0
	T₀₂	0	0	0
	T₁	25	13	19
	T₂	24	31	19
	T₃	24	23	32
	T₄	53	43	23
	T₅	41	35	32
REPETICIÓN 2	T₆	62	55	51
	T₀₁	0	0	0
	T₀₂	0	0	0
	T₁	23	23	16
	T₂	36	31	37
	T₃	38	30	41
	T₄	61	55	64
REPETICIÓN 3	T₅	42	31	29
	T₆	46	46	38
	T₀₁	0	0	0
	T₀₂	0	0	0
	T₁	18	21	15
	T₂	35	38	33
	T₃	22	27	21
REPETICIÓN 4	T₄	59	56	62
	T₅	45	49	67
	T₆	47	43	51
	T₀₁	0	0	0
	T₀₂	0	0	0
	T₁	14	23	21
	T₂	43	48	42
	T₃	29	26	23
	T₄	56	41	45
	T₅	41	35	28
	T₆	36	64	43

Anexo 21: a) Investigadoras en campo de “espárrago” altamente infestado con *Elasmopalpus lignosellus* Zeller “gusano picador”. b) Brote de espárrago infestado con larvas. c) Recolección manual de ls en brotes de espárrag. d) Acondicionamiento de larvas recolectadas.



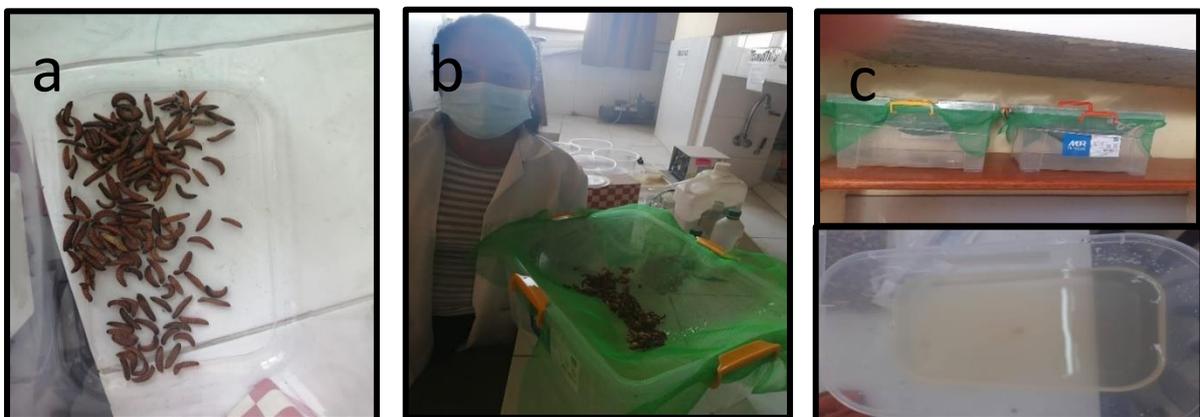
Anexo 22: a) Larvas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller. b) Acondicionamiento de brotes para alimento de larvas. c) Acondicionamiento de arena como medio de larvas. d) Separación de larvas de I, II y III, IV estadio de larvas. e) y f) Acondicionamiento de larvas para la crianza en laboratorio



Anexo 23: a) Esponjas contenidas del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. b) Estrujado de las esponjas para la obtención de la solución. c) Medición de la solución obtenida. d) Acondicionamiento de larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus. e) Inoculación de la solución de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar a las larvas de *Galleria mellonella*. f) Recipientes con 500 larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus inoculadas.



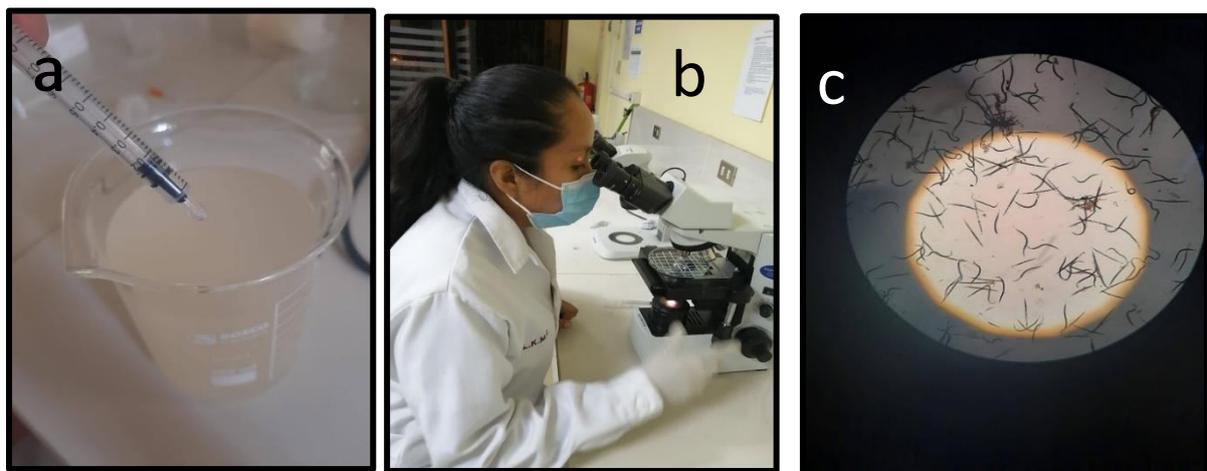
Anexo 24: a) Larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus parasitadas por el nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. b) Instalación de cámara White. c) Almacenamiento de la cámara White. d) Obtención de solución madre a partir de larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus parasitadas por el nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar



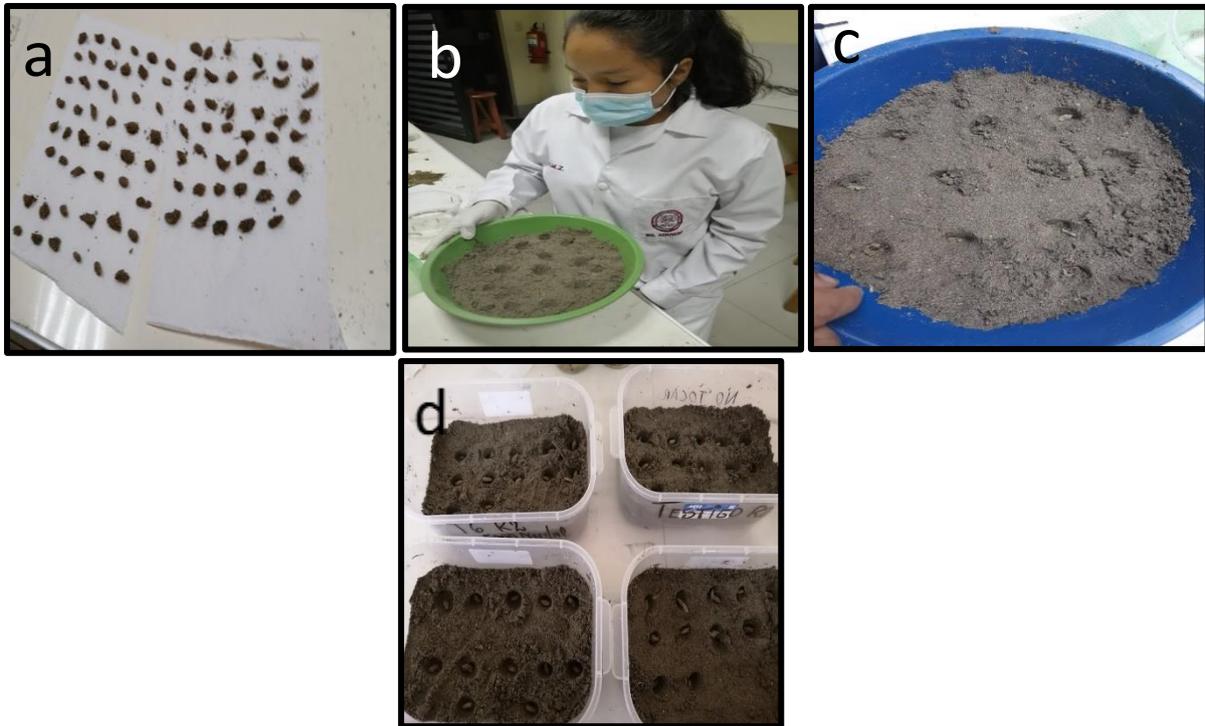
Anexo 25: a) Preparación del sustrato para ser puesto en el horno. b) Sustrato esterilizado a 120 °C en el horno. c) y d) Acondicionamiento del sustrato en las unidades experimentales para prepupas y pupas de laboratorio y campo.



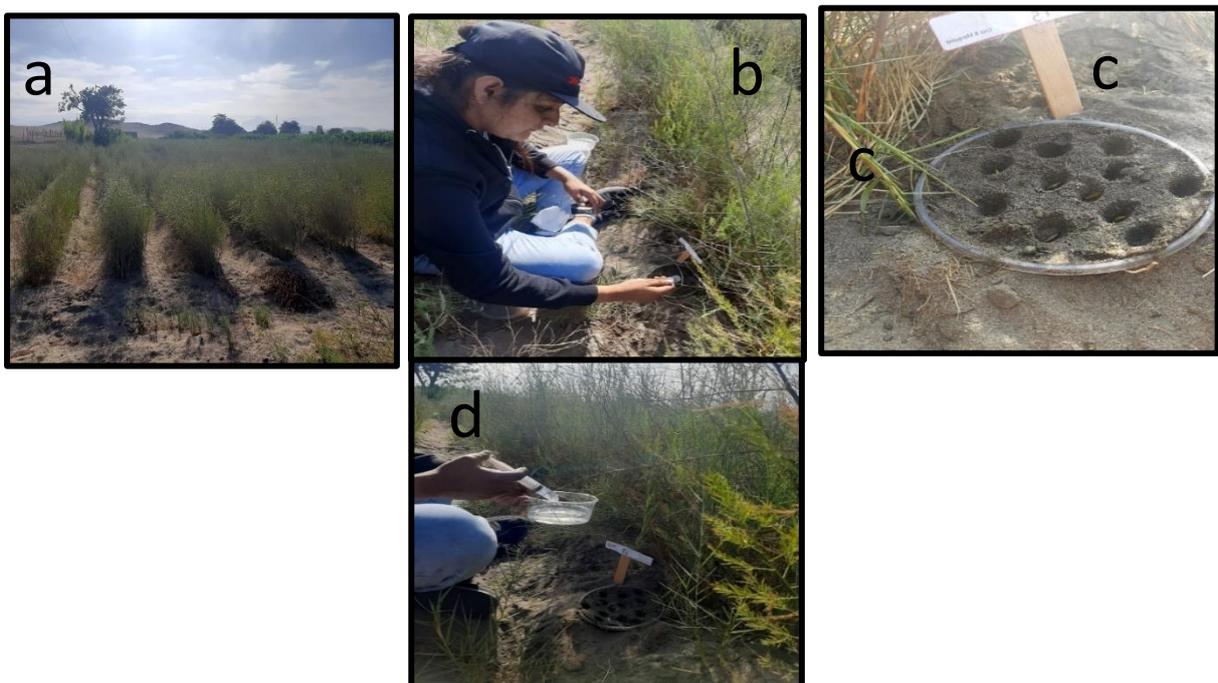
Anexo 26: a) Obtención de solución madre del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar con una alicuota. b) conteo de nematodos entomopatógenos con microscopio a una vista de 10 X c) Vista microscópica de los nematodos obtenidos de la solución madre.



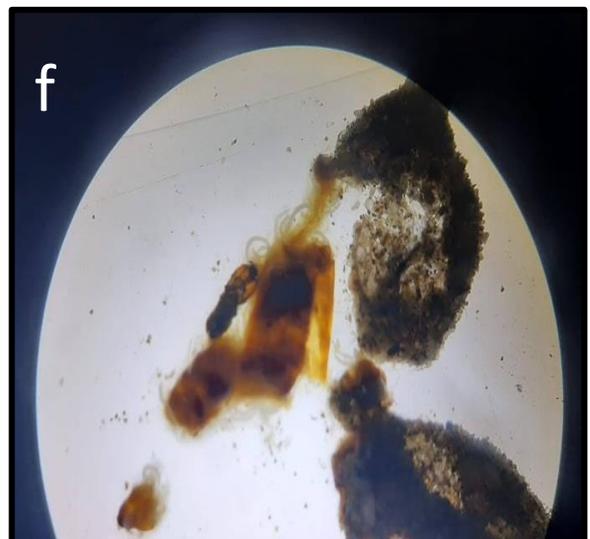
Anexos 27: a) Prepupas y pupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller para ser dispuestas en las unidades experimentales. b), c) y d) Acondicionamiento de prepupas y pupas en las unidades experimentales con sustrato.



Anexo 28: a) Campo experimental de *Asparagus officinalis* Linnaeus ubicado en Casma. b) y c) Acondicionamiento de las unidades experimentales en campo. d) Inoculación de los diferentes tratamientos en prepupas y pupas.



Anexo 29: a) Prepupas de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar dispuestas en laminas en laboratorio para ser evaluadas. b) Pupas de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar dispuestas en láminas para ser evaluadas. c) Prepupas con síntomas característicos de parasitación de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar d) Pupa con síntomas característicos de parasitación de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. e) Presencia de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar emergiendo de la pupa de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller. f) Presencia de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar emergiendo de la pupa de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller.



Anexo 30: a) Prepupas de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller experimentadas en campo dispuestas en placas Petri para ser evaluadas. b) Pupas de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar dispuestas en placas Petri para ser evaluadas. c) Prepupas con síntomas característicos de parasitación de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar d) Pupa con síntomas característicos de parasitación de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. e) Presencia de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar emergiendo de la pupa de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller. f) Presencia de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar emergiendo de la pupa de *Elasmopalpus lignosellus* Zeller,



Anexo 31: a) y b) Croquis de distribución de los tratamientos por repeticiones



Anexo 32: Boleta de venta electrónica de nematodos *Heterorhbitis bacteriophora* Poinar.

7/2/2021

:: Boleta de Venta Electronica - Impresion ::

BIOCONTROL AGRICOLA E.I.R.L.		BOLETA DE VENTA ELECTRONICA				
MZA. 21 INT. A LOTE. 31 URB. LA RINCONADA POR EL HOTEL COSTA AZUL A LA MANO DERECH TRUJILLO - TRUJILLO - LA LIBERTAD		RUC: 20559815668 EB01-10				
Fecha de Vencimiento :						
Fecha de Emisión		: 07/02/2021				
Señor(es)		: LADY KIOKO HANA KO YRMA MARQUINA ZA VALETA				
DNI		: 48149315				
Tipo de Moneda		: SOLES				
Observación :						
Cantidad	Unidad Medida	Descripción	Valor Unitario(*)	Descuento(*)	Importe de Venta(**)	ICBPER
6.00	UNIDAD	BIONEMAX	39.5480225988	0.00	279.9999999995	0.00
Otros Cargos :						S/0.00
Otros :						S/0.00
Tributos						
ICBPER :						S/ 0.00
Importe Total :						S/280.00
SON: DOSCIENTOS OCHENTA Y 00/100 SOLES						
(*) Sin impuestos.		Op. Gravada :		S/ 237.29		
(**) Incluye impuestos, de ser Op. Gravada.		Op. Exonerada :		S/ 0.00		
		Op. Inafecta :		S/ 0.00		
		ISC :		S/ 0.00		
		IGV :		S/ 42.71		
		ICBPER :		S/ 0.00		
		Otros Cargos :		S/ 0.00		
		Otros Tributos :		S/ 0.00		
		Monto de Redondeo :		S/ 280.00		
		Importe Total :				
Esta es una representación impresa de la Boleta de Venta Electrónica, generada en el Sistema de la SUNAT. El Emisor Electrónico puede verificarla utilizando su clave SOL, el Adquirente o Usuario puede consultar su validez en SUNAT Virtual: www.sunat.gob.pe , en Opciones sin Clave SOL/ Consulta de Validez del CPE.						

Anexo 33: Informe de resultados de verificación de calidad de nematodos *Heterorhbitis bacteriophora* Poinar.

	CONVENIO APTCH- SENASA	
---	-------------------------------	---

INFORME DE RESULTADOS DE VERIFICACION DE CALIDAD DE BIOCONTROLADORES

INFORME N° 06 -20

PARA:

ASUNTO: Recuento del nematodo entomopatogeno *Hethetorabditis bacteriophaga*

Virú, 21 de Octubre de 2020

DATOS DE PROCEDENCIA

LABORATORIO:	BIOCONTROL AGRICOLA EIRL
LUGAR:	
FECHA DE TOMA DE MUESTRA:	12/10/20
GUIA DE REMISION:	01-1455

<i>DATOS</i>	<i>Muestra</i>
E especie enviada como:	Hetherotabditis bacteriophaga
No. Total de material Biológico	
Fecha de cosecha	12-10-2020
Fecha de vencimiento	16-10-2020
Lote:	X-12

RESULTADOS

Datos para la evaluación de la Muestra	
No. Juveniles /ml	1×10^5 Jls/ ml (20 x 10 ⁵ jls / esponja)
Viabilidad	90 %

OBSERVACIONES

Atentamente,

Blgo. Nancy Cardoza Camacho
CBP.3835
LABORATORIO

Panamericana Norte Km. 522.5 California-Virú Fax 044-525397
*Nextel 839*5504 – 629*6445 e-mail laboratorio@riegopresurizado.org.pe*

EFFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE Heterorhabditis bacteriophora PARA CONTROL DE Elasmopalpus lignosellus EN LABORATORIO Y CAMPO DE ESPÁRRAGO, CASMA 2021

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	6%
2	docplayer.es Fuente de Internet	4%
3	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	3%
4	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	2%
5	www.scielo.org.co Fuente de Internet	1%
6	pt.scribd.com Fuente de Internet	1%
7	revistas.unjfsc.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	repositorio.unprg.edu.pe Fuente de Internet	1%

9	1library.co Fuente de Internet	1 %
10	publicaciones.fedepalma.org Fuente de Internet	1 %
11	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1 %
12	riul.unanleon.edu.ni:8080 Fuente de Internet	1 %
13	dev.scielo.org.pe Fuente de Internet	1 %
14	www.senasa.gob.pe Fuente de Internet	1 %
15	www.scielo.sa.cr Fuente de Internet	<1 %
16	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
17	www2.inia.cl Fuente de Internet	<1 %
18	Submitted to Universidad Nacional de San Martín Trabajo del estudiante	<1 %
19	repositorio.untrm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
20	www.laica.co.cr	

	Fuente de Internet	<1 %
21	www.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
22	dspace.utb.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
23	www.uns.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
24	www.scilit.net Fuente de Internet	<1 %
25	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	<1 %
26	www.slideshare.net Fuente de Internet	<1 %
27	repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080 Fuente de Internet	<1 %
28	www.entomologia.socmexent.org Fuente de Internet	<1 %
29	mafiadoc.com Fuente de Internet	<1 %
30	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	<1 %

31	Submitted to Instituto Especializado de Estudios Superiores Loyola Trabajo del estudiante	<1 %
32	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
33	www.uci.ac.cr Fuente de Internet	<1 %
34	dataonline.gacetajuridica.com.pe Fuente de Internet	<1 %
35	doczz.es Fuente de Internet	<1 %
36	Baldacchino F, Beavers JB, Bittencourt AJ, Boemare NE et al. "Potential of entomopathogenic nematodes of the genus Heterorhabditis for the control of Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae)", 'FapUNIFESP (SciELO)' Fuente de Internet	<1 %
37	Submitted to Universidad Nacional del Santa Trabajo del estudiante	<1 %
38	Submitted to Universidad de Burgos UBUCEV Trabajo del estudiante	<1 %
39	revistasguatemala.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1 %
40	www.sabiia.cnptia.embrapa.br Fuente de Internet	<1 %

<1 %

41

Submitted to Universidad San Ignacio de Loyola

Trabajo del estudiante

<1 %

42

creativecommons.org

Fuente de Internet

<1 %

43

saber.ucv.ve

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo