

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



Evaluación del parasitismo de tres procedencias de nematodos entomopatógenos, para el control de la Chinche Salivosa (*Aeneolamia postica*) de la caña de azúcar, bajo condiciones del laboratorio.

Trabajo de graduación presentado por
Claudia María Meléndrez García
para optar al grado académico de Licenciada en Tecnología Agrícola y
Pecuaria

Guatemala
2016

Evaluación del parasitismo de tres procedencias de nematodos entomopatógenos, para el control de la Chinche Salivosa (*Aeneolamia postica*) de la caña de azúcar, bajo condiciones del laboratorio.

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería

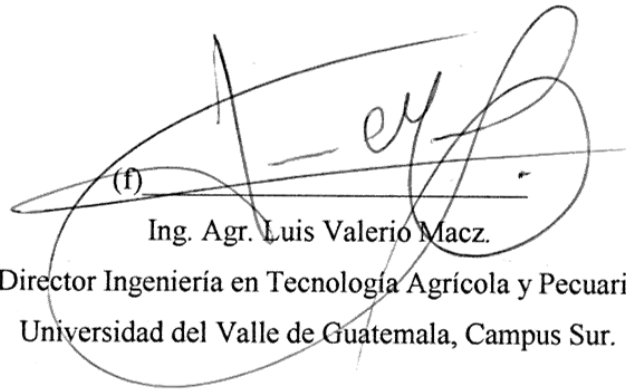


Evaluación del parasitismo de tres procedencias de nematodos entomopatógenos, para el control de la Chinche Salivosa (*Aeneolamia postica*) de la caña de azúcar, bajo condiciones del laboratorio.

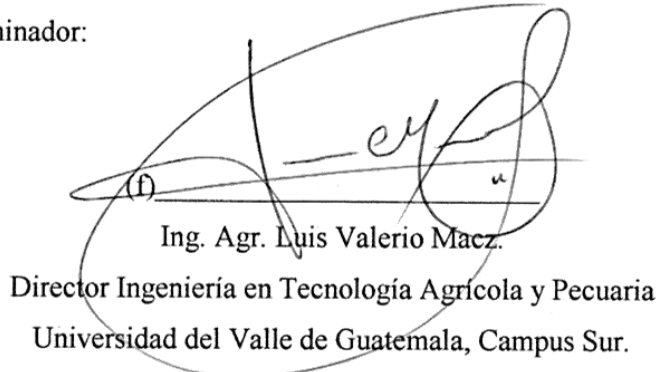
Trabajo de graduación presentado por
Claudia María Meléndrez García
para optar al grado académico de Licenciada en Tecnología Agrícola y
Pecuaria

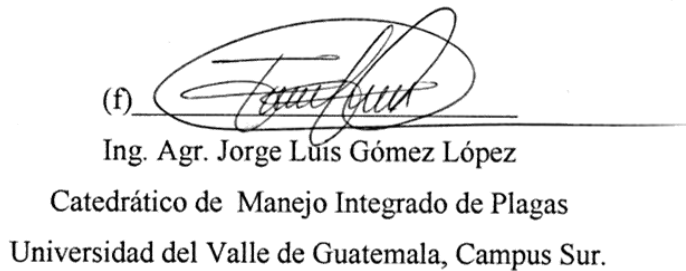
Guatemala
2016

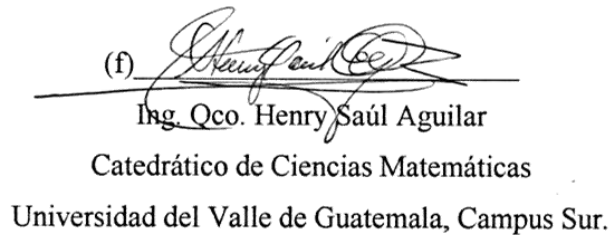
Vo. Bo.

(f) 
Ing. Agr. Luis Valerio Macz.
Director Ingeniería en Tecnología Agrícola y Pecuaria
Universidad del Valle de Guatemala, Campus Sur.

Tribunal examinador:

(f) 
Ing. Agr. Luis Valerio Macz.
Director Ingeniería en Tecnología Agrícola y Pecuaria
Universidad del Valle de Guatemala, Campus Sur.

(f) 
Ing. Agr. Jorge Luis Gómez López
Catedrático de Manejo Integrado de Plagas
Universidad del Valle de Guatemala, Campus Sur.

(f) 
Ing. Qco. Henry Saúl Aguilar
Catedrático de Ciencias Matemáticas
Universidad del Valle de Guatemala, Campus Sur.

Fecha de aprobación: Guatemala, 13 de mayo 2016

PREFACIO

En los ingenios azucareros guatemaltecos se integran múltiples estrategias para el control de plagas y enfermedades durante el desarrollo del cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), desde prácticas de control físico, realizado por el personal de labores directas de campo eliminando el organismo, si está a la vista; mecánico, llevado a cabo por ejemplo a través el uso de rastras fitosanitarias; etológico, usando trampas de luz y además, el control biológico, con liberaciones de enemigos naturales o aplicaciones de microorganismos entomopatógenos para reducir la incidencia de las plagas.

Uno de los ingenios fuertes en producción de azúcar en Guatemala es la *Corporación Pantaleón – Concepción S.A.* ubicada en la zona sur del país con producciones de azúcar blanco y derivados de la caña de azúcar como biodiesel y energía eléctrica. El ingenio con el paso del tiempo ha innovado sus estrategias de manejo de los cañaverales, integrando nuevas alternativas para mejorar los rendimientos, es así como se ha realizado, en el área de investigación de los laboratorios biológicos de producción de enemigos naturales y microorganismos entomopatógenos, una evaluación sobre la eficacia de tres procedencias distintas de nematodos, siendo estas las siguientes: *Heterorhabditis bacteriophora* de Cuba, *Heterorhabditis bacteriophora* de Holanda y *Diplogasteritus sp.* de CENGICANÑA.

La evaluación consistió en la aplicación de dos dosis en concentraciones de 30 y 60 mill uij's /ha en ninfas de instar II y III de la chinche salivosa (*Aeneolamia postica*), bajo condiciones controladas de laboratorio, incluyendo un testigo para cada instar aplicado únicamente con agua estéril. La finalidad de la evaluación residió en estimar la dosis más eficaz para controlar ambos estadios ninfales de chinche con cualquiera de los nematodos mencionados, determinando con una misma concentración si existía diferencia alguna en la efectividad de estas ante la plaga.

Esta investigación está dedicada a mi padre celestial, Jehová, por ser mi fortaleza y mi guía; mi madre por su apoyo incondicional y estima, mi familia materna por su motivación para continuar y cumplir metas tan importantes como esta; agradeciendo además la participación de: Ing. Luis Valerio Macz López por su asesoría técnica, dirección y comprensión, la Universidad del Valle de Guatemala, Campus Sur; por la oportunidad de crecer como investigadores en búsqueda de fuentes de conocimiento; área de Entomología de CENGICANÑA por su apoyo científico; y a todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron en la realización de la presente investigación.

ÍNDICE

	Página
Prefacio	vi
Lista de cuadros.....	x
Lista de figuras	xi
Resumen	xiii
I. Introducción	1
II. Objetivos	3
A. Objetivo general	3
B. Objetivos específicos	3
III. Justificación	4
IV. Marco Teórico.....	5
A. Sector productor de la caña de azúcar	5
1. Importancia de la caña de azúcar	5
2. Clasificación taxonómica de la caña de azúcar.....	5
3. Fenología del cultivo	6
B. Plagas de la caña de azúcar	7
1. Chinche salivosa azucarera	7
C. Nematodos entomopatógenos	18
1. Ciclo de vida.....	19
2. Efecto sobre organismos no blanco	20
3. Factores que influyen en el establecimiento y acción de nematodos entomopatógenos	20
4. Comercialización de nematodos como agentes de control	21
5. Nematodo entomopatógeno <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	23
6. Nematodo entomopatógeno <i>Diplogasteritus sp.</i>	25
D. Base teórica del análisis estadístico de varianza ANOVA	28
1. Modelo de efectos fijos.....	28
2. Modelo de efectos aleatorios	28
V. Marco metodológico.....	31
A. Ubicación de la investigación	31

B.	Material biológico.....	31
1.	Nematodos entomopatógenos.....	31
2.	Cercópidos de la caña de azúcar.....	31
3.	Hospedero de la chinche salivosa de la caña de azúcar <i>A. postica</i>	32
C.	Prueba de selección por patogenicidad de los nematodos entomopatógenos a ninfas II y III instar de <i>A. postica</i> bajo condiciones de laboratorio.....	32
1.	Preparación del inóculo.....	33
D.	Metodología para el conteo de nematodos multiplicados en alimento balanceado.....	35
1.	Materiales.....	35
2.	Procedimiento.....	35
E.	Metodología para el conteo y extracción de nematodos en presentación de esponja.....	36
1.	Materiales.....	36
2.	Procedimiento.....	36
F.	Métodos estadísticos.....	38
1.	Variables a evaluar.....	38
2.	Diseño completamente al azar, aleatorio simple.....	39
3.	Análisis de varianza, ANOVA.....	40
4.	Pruebas para la diferencia entre pares de medias.....	41
VI.	Resultados.....	43
A.	Material biológico.....	43
1.	Nematodos entomopatógenos procedentes de Cuba y Holanda.....	43
2.	Nematodo entomopatógeno procedente de CENGICAÑA.....	43
3.	Cercópidos de la caña de azúcar.....	44
4.	Hospedero de la chinche salivosa de la caña de azúcar <i>A. postica</i>	44
B.	Prueba por patogenicidad de los nematodos entomopatógenos a ninfas II y III instar de <i>A. postica</i> bajo condiciones de laboratorio.....	45
1.	Preparación del inóculo.....	45
2.	Sintomatologías.....	46
3.	Resultados de la evaluación.....	47
4.	Rendimientos de eficacia de los nematodos evaluados.....	50
C.	Métodos estadísticos.....	54
1.	Análisis de varianza ANOVA.....	54
2.	Prueba de pares de medias.....	56

VII.	Análisis de resultados.....	59
	A. Material biológico.....	59
	1. Nematodos entomopatógenos	59
	2. Prueba por patogenicidad de los nematodos entomopatógenos a ninfas II y III instar de <i>A. postica</i> bajo condiciones de laboratorio.....	59
VIII.	Conclusiones	63
IX.	Recomendaciones.....	65
X.	Referencias bibliográficas	66
XI.	Anexos	69
	A. Control de temperatura durante la evaluación	70
	B. Control de humedad durante la evaluación	71
XII.	Glosario.....	72

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Precios de comercialización de nematodos entomopatógenos	22
2. Fórmulas del análisis ANOVA	29
3. Procedencia de los nematodos evaluados durante la investigación.....	31
4. Tratamientos por factor a evaluar.....	33
5. Tabla de análisis de varianza en síntesis	41
6. Concentración obtenida del conteo de control de calidad de los nematodos	45
7. Viabilidad obtenida de los nematodos para dosificación	46
8. Resultados de la prueba de patogenicidad de los nematodos en ninfas II y III de Chinche salivosa.....	48
9. Análisis de varianza de la evaluación	55
10. Prueba de pares de medias de la evaluación.....	56
11. Control de temperatura durante la investigación.....	70
12. Control de humedad durante la investigación	71

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Salivazos de Chinche salivosa	7
2. Chinche adulta de <i>Aeneolamia sp.</i> Con caracterización física de la especie.....	9
3. Daño foliar avanzado causado por adultos de Chinche salivosa	10
4. Ninfa de Chinche salivosa	10
5. Ninfa de Chinche salivosa.....	12
6. Adulto de la Chinche salivosa especie: <i>Aeneolamia sp</i>	12
7. Ciclo biológico de la Chinche salivosa de la caña de azúcar	13
8. Distribución a nivel mundial del salivazo de la caña de azúcar	13
9. <i>Salpingogaster nigra</i> , enemigo natural de la Chinche salivosa	15
10. <i>Metarhizium anisopliae</i> en adultos de Chinche salivosa.....	15
11. <i>Metarhizium anisopliae</i> en adultos de Chinche salivosa ya esporulado	15
12. Rastra fitosanitaria para control de huevecillos de Chinche salivosa.....	17
13. Grupos tróficos de nematodos.....	18
14. Ciclo de vida de los nematodos.....	19
15. Estadios juveniles de los nematodos <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	23
16. <i>Photorhabdus luminiscens</i>	24
17. Detalles de la especie <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	25
18. Detalles de la especie <i>Diplogasteritus sp</i>	27
19. Modelo de aleatorización para el diseño completamente al azar, según Hinkelman y Kempthorne (1994).....	40
20. Nematodos brindados por <i>Pantaleón S.A.</i> presentación de esponja.....	43
21. Esponjas en hidratación para extracción de las uij's	43
22. Nematodos provenientes de CENGICAÑA, dispuestos en alimento balanceado para canes	44
23. Vista en campo de las ninfas de <i>A. postica</i>	44
24. Germinación de semillas de sorgo en cajas Petri. (A) a 96 horas, (B) a las 72 horas	45
25. Sintomatología del ataque de nematodos en ninfas de Chinche salivosa.....	46
26. Mortalidad de la ninfa sin influencia de ataque por nematodos	47

27. Efectividad porcentual de parasitismo de los factores A y B sobre el factor C de la investigación	50
28. Mortalidad natural de las ninfas instar II de <i>A. postica</i> en la evaluación de 30 mill uij/ha	50
29. Mortalidad natural de las ninfas instar II de <i>A. postica</i> en la evaluación de 60 mill uij/ha	51
30. Supervivencia hacia estado adulto de <i>A. postica</i> en ninfa II a las dosis evaluadas	52
31. Efectividad porcentual de parasitismo de los factores A y B sobre el factor C de la investigación	52
32. Mortalidad natural de las ninfas instar II de <i>A. postica</i> en la evaluación de 30 mill uij/ha	58
33. Mortalidad natural de las ninfas instar III de <i>A. postica</i> en la evaluación de 60 mill uij/ha	53
34. Supervivencia hacia estado adulto de <i>A. postica</i> en ninfa III a las dosis evaluadas	54

RESUMEN

El sector azucarero de Guatemala a partir los años '90 se ha visto afectado por el ataque de diversas plagas y enfermedades en el cultivo de la caña de azúcar; repercutiendo en los rendimientos por hectárea de cultivo y costos de producción (López R. , 1999). Por eso en 2014 se declaró año de emergencia fitosanitaria nacional por el incremento significativo de la incidencia y para el combate de la plaga chinche salivosa (*Aeneolamia sp.*). (Centro Nacional de Análisis y Documentación Judicial de Guatemala, CENADOJ, 2014)

Son diversas las plagas y enfermedades que atacan al cultivo, entre las más importantes se encuentra la chinche salivosa, *Aeneolamia sp.* Causante de pérdidas de hasta 12 lb az/ton mt (libras de azúcar/ tonelada métrica) cosechada (Márquez *et al*, 2001), el mayor problema es que el ataque ocurre mientras el cultivo está en crecimiento, apareciendo antes de los 8 meses de edad, es por ello que, se debe contar con estrategias de manejo de plagas alternas al químico, como parte del manejo integrado de plagas, MIP; para conservar el medio ambiente, asegurando el desarrollo sostenible.

Los nematodos Heterorhabdítidos son parásitos naturales de la chinche salivosa, auxiliados por la bacteria *Photorhabdus luminiscens*, siendo el desarrollo de resistencia por parte de la chinche bajo, ya que es un organismo desarrollado en la naturaleza que ha evolucionado y se ha adaptado a las condiciones climáticas, siendo ideal y necesario analizar sus niveles de parasitismo o control, como enemigo natural con una amplitud de ventanas de oportunidad para estudios continuos, también los nematodos Diplogasterítidos. (Poinar, 1980).

I. INTRODUCCIÓN

La zona cañera de Guatemala se ha visto fuertemente afectada por el ataque de plagas en diferentes etapas del desarrollo del cultivo, desde su germinación, la raíz se ve fuertemente afectada por plagas de suelo como: Chinche Hedionda (*Scaptocoris talpa*), Gusano alambre (*Agriotes sp* y *Conoderus sp.*), Gallina ciega (*Phyllophaga sp*), y Chinche salivosa (*Aeneolamia sp.*); siendo esta última de mayor importancia con una distribución del 96.56% para la especie de *Aeneolamia postica* y 3.44% *Prosapia simulans*; con fuerte presencia para reducir la producción de azúcar ante las demás plagas. (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar CENGICAÑA, área de Entomología, 2004).

Es por ello que se han propuesto otras alternativas para su control, de las cuales; se utilizan métodos de manejo integrado sin utilización de químicos, una de éstas es a través de la aplicación de nematodos entomopatógenos, según Kaya y Gaugler (1993); las familias Diplogasteridae, Steinernematidae y Heterorhabditidae son las que han despertado el mayor interés y por consiguiente los que mayor información han generado. Además, los nematodos de la familia Steinernematidae se reproducen dentro del hospedero por vía sexual, lo que significa que al menos un individuo de cada sexo debe entrar al hospedero para que la reproducción ocurra, mientras que; aquellos de la familia Heterorhabditidae son hermafroditas, de manera que solo un individuo necesita entrar al hospedero para que la reproducción ocurra. Sin embargo, según Márquez (2015), se debe considerar que este tipo de control debe efectuarse en áreas no críticas bajo un programa de aplicación masiva de al menos tres años, mientras que en área críticas donde se efectúa la cosecha mecanizada, resulta más favorable el uso de productos químico- sintéticos.

Por tal razón, se ha realizado una evaluación, basada en uno de los enemigos naturales de la chinche salivosa: los nematodos entomopatógenos del orden Rhabditida; en particular: los Heterorhabdítidos y Diplogastéridos. La evaluación radicó en determinar la procedencia de nematodo más eficaz para el control del cercópido; estableciendo que si existían diferencias significativas en la eficacia de su ataque, según la dosis, en un estadio de ninfa específico; a través del análisis estadístico de varianza ANOVA.

Los nematodos fueron proporcionados por la *Corporación Pantaleón – Concepción* y CENGICAÑA.

La evaluación se efectuó además para colaborar con la estrategia de Manejo Integrado de Plagas de la *corporación Pantaleón – Concepción S.A.* Con el manejo de la chinche salivosa en fase de ninfa puesto que, este estado es el intermediario a la fase adulta. Ya en estado adulto, la chinche salivosa causa las quemadas a los cañaverales, en vías de búsqueda para disminuir la incidencia del ataque dado en las plantaciones de caña de azúcar, la evaluación se enfoca en estadio ninfal además porque, en tal fase la chinche aún no está en capacidad de reproducirse; pudiendo evitar la continuidad de generaciones del insecto con un control temprano. Las ninfas de la chinche salivosa se protegen a través de una saliva

generada por ellas mismas, haciendo que en el caso de los hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae* presenten dificultades para penetrar en el cuerpo del insecto, mientras que los nematodos, pueden desplazarse a través de ésta. (Márquez *et al*, 2001).

El establecimiento de la evaluación fue en condiciones controladas, es decir, en laboratorio; por lo tanto se tuvo control sobre algunos de los factores influyentes, que en campo abierto varían progresivamente. Se evaluaron 2 dosis de uij's puesto que se probó la dosis actual, al 2016, utilizada (60 millones uij/ ha) ante una disminución en la dosis (30 millones uij's/ ha), así mismo, la efectividad se midió en el hospedero a su 2° y 3° instar debido a la disponibilidad de manejo por los tamaños del mismo, haciendo posible el análisis ya que el instar 1 es muy pequeño (alrededor de 30 mm) y los instar 4° y 5° se acercan a la fase adulta, por lo que podría haber influido drásticamente en la efectividad del nematodo. La efectividad entre las dosis aplicadas se razonó con el análisis estadístico de varianza ANOVA con 95% de confiabilidad.

Consecuentemente, el nematodo más eficaz para controlar tanto el instar II como III de chinche salivosa fue *Diplogasteritus sp.*, nematodo de CENGICAÑA; controlando a las ninfas de forma abrasiva en dosis de 60 millones de uij's /ha, con estimaciones mayores al 80%, en la dosis equivalente a la mitad, en cualquiera de las procedencias de nematodo; hubo mortandad provocada por éstos pero con rendimiento drásticamente menor, 41%. Paralelo al diplogasterítido, el heterorhabdítido procedente de Holanda también controló al insecto en ambos instares con buen porcentaje, mayores al 75%. Existiendo diferencia estadística significativa entre la eficiencia de los nematodos aplicados con dosis similares en un mismo instar.

II. OBJETIVOS

A. Objetivo general:

✓ Generar nuevas alternativas de control biológico para el control de los Cercópodos plaga de la Caña de Azúcar.

B. Objetivos específicos:

1. Determinar la mortandad de *A. postica* en estados de ninfa II y III por las especies de nematodos entomopatógenos proporcionadas por el ingenio azucarero *Pantaleón S.A.* Y el Centro Guatemalteco de Investigación de la Caña de Azúcar (CENGICAÑA), bajo condiciones de laboratorio (%).

2. Determinar la dosis más efectiva de nematodos entomopatógenos para el control de ninfas II y III de *A. postica*, bajo condiciones de laboratorio.

3. Generar las condiciones apropiadas en laboratorio para las ninfas de chinche salivosa a través de la germinación de semillas de sorgo como hospedero, en condiciones de laboratorio.

III. JUSTIFICACIÓN

Las prácticas de control de origen biológico ofrecen otra alternativa, pues son organismos extraídos de otros organismos, en el caso de los virus u hongos, o bien por otros compuestos orgánicos; también pueden producirse enemigos naturales de los insectos plaga masivamente. Justamente por ello se presenta como opción para solucionar el dilema del ataque ocasionado por la chinche salivosa, el control biológico con aplicación de enemigos naturales, como la aplicación de nematodos del orden Rhabditida; a fin de disminuir los daños ocasionados por la chinche salivosa, promoviendo además, la utilización de recursos que no perjudican al ambiente, ya que son organismos que han evolucionado en la naturaleza y se han adaptado a las condiciones adversas cambiantes del clima, sin perjudicar la salud humana en referencia a los trabajadores; además no cuentan con restricción alguna al momento de exportar los productos, puesto que son organismos naturales que no han presentado a la fecha, daños a la salud humana; puesto que, al implementarse prácticas de control biológico se fomenta el cuidado de la salud al inhibir la exposición de los colaboradores a las moléculas químico – sintéticas, siendo el control químico perjudicial a largo plazo al dañar a los operarios y a todos aquellos indirectamente expuestos, como en el caso de las fuentes hídricas y su biodiversidad. Los enemigos naturales además ofrecen la alternativa de ser selectivos naturalmente; teniendo como base los insectos huésped en los que se pueden reproducir, en el caso de los nematodos también atacan a otros organismos plaga del suelo, beneficiando el control de éstos de igual manera, disminuyendo poblaciones de diversos insectos plaga.

Así mismo, los enemigos naturales de los insectos plaga son capaces de desarrollar adaptabilidad y generar progenie que a su vez continuará con el control libremente, puesto que los enemigos naturales se asocian a su entorno y se desenvuelven biológicamente según su hábitat, trasladándose a puntos donde se encuentra disponible alimento a grandes cantidades y según los recursos naturales, como en el caso de los nematodos, pueden trasladarse a través del suelo y cuando llueve, éstos tienen un ambiente húmedo propicio. Los tipos de suelo de los cañaverales a su vez, colaboran con la masificación de los nematodos, también el hecho que las prácticas de suelo como incorporar materia orgánica por medio de la cachaza favorece la micro fauna del suelo.

El recurso de enemigos naturales en el uso específico de nematodos es un campo de amplias fuentes de investigación en el país, actualmente se encuentra en exploración por el creciente interés que se ha desarrollado; además como camino investigativo se cuentan con anécdotas de utilización de nematodos en Brasil y Colombia registradas con gran amplitud; en Guatemala se han registrado también estudios del mismo (Márquez, 2001), así que es una oportunidad de mejora para el Manejo Integrado de Plagas como control biológico de los insectos perjudiciales en el cultivo de la caña de azúcar de Guatemala.

IV. MARCO TEÓRICO

A. SECTOR PRODUCTOR DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN GUATEMALA

1. Importancia de la caña de azúcar. La caña de azúcar juega un papel relevante en la economía nacional, se ha convertido en una de las principales fuentes de divisas para el país y generadora de 350,000 empleos directos e indirectos, con 12 ingenios y cinco organizaciones que la integran contribuyen decisivamente al desarrollo del país. ASAZGUA, (2011) indican que para la zafra 2010/2011 se tienen sembradas 235,000 hectáreas de caña de azúcar, con una producción de 201409,164 toneladas cortas de caña y 21048,152 toneladas métricas de azúcar producida. A nivel de América Latina y el Caribe, Guatemala se coloca como el 2do. Exportador, 4to productor y a nivel mundial como el 4to. Exportador, representando con esto el 29.83% del valor total de la exportación agrícola guatemalteca y 13.91% de las exportaciones totales del país. También informa que representa alrededor del 3% del PIB nacional. La agroindustria azucarera guatemalteca se convirtió en el principal productor de alcohol originario en la región centroamericana, con 265 millones de litros al año.

SIB (2011), manifiesta que actualmente, el área de cultivo representa el 2.3% de la superficie total del país y 10% del total del área cultivable y los productores están ampliando la superficie plantada hacia las fronteras con El Salvador.

2. Clasificación taxonómica de la caña de azúcar. La caña de azúcar está ubicada taxonómicamente de la siguiente manera:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Sub división: Angiospermae
Clase: Liliopsida
Orden: Poales
Familia: Poaceae
Tribu: Andropogonae
Sub tribu: Saccharae
Género: *Saccharum*

3. Fenología del cultivo. Rodríguez (1997), describe la fenología como la ciencia que estudia las relaciones entre el clima y los fenómenos naturales de recurrencia periódica, como germinación, floración, fructificación, cambios de color en las plantas, etc. Estudia también las diferentes sensibilidades y reacciones al cambio del clima, tanto de animales como de vegetales.

a. Fases de desarrollo del cultivo de caña de azúcar. Juárez y Muñoz (1998), indican que en el ciclo de la caña de azúcar se diferencian claramente tres etapas de desarrollo: germinación y macollamiento; crecimiento activo (rápido crecimiento o elongación) y la maduración.

Juárez y Muñoz (1998), determinaron para la zona cañera de Guatemala, que la primera etapa de desarrollo está de 0 a 3 meses de edad del cultivo, caracterizándose por un aumento notable en el número de tallos de hasta 120,000 plantas/ha y un ritmo de crecimiento lento de 0.25 a 0.5 cm/día. La segunda etapa de desarrollo inicia a los 3 meses, cuando la tasa de crecimiento aumenta hasta 2.5 cm/día, acompañada de una reducción drástica en la población, por competencia. La última fase, dependiendo de la variedad y las condiciones climáticas, se da entre los 7 y 8 meses, caracterizándose por la acumulación de azúcares en los tallos y puede estar manifestada por la inducción de la floración.

b. Principales plagas y etapas críticas de daño. El término plaga dado en sentido donde una determinada población de un insecto produce daños económicos afectando la producción de determinadas variedades. Esto quiere decir que en caso de ser observados daños en diferentes partes vegetales, no significa necesariamente que la producción es o será afectada.

De esta manera se puede definir un insecto plaga, como aquel que tiene capacidad de provocar un daño, el cual depende de la densidad poblacional presente en el cultivo, el estado de desarrollo, su distribución en el campo y la duración del ataque. Además influyen factores como el tipo de cultivo, etapa fenológica, variedad, densidad de plantas, hábitos de crecimiento y condiciones fisiológicas, así como factores externos biológicos y físicos. Dentro de las plagas del cultivo más relevantes se encuentran: barrenadores del tallo del género *Diatraea*, barrenadores *Phassus phalerus* Druce, *Elasmopalpus lignosellus* Zeller, chinche salivosa (*Aeneolamia sp*), Chinche de encaje (*Leptodyctia tabida*), Coludo o Saltahojas antillano (*Saccharosydne saccharivora*), Salta hojas hawaiano (*Perkinsiella saccharicida*), el Pulgón amarillo o dorado de la caña de azúcar (*Sipha flava* Forbes) y roedores como *Sigmodon hispidus*.

B. PLAGAS DE LA CAÑA DE AZÚCAR

La chinche salivosa se ha considerado dentro de las plagas de mayor importancia, por magnitud de su daño, con respecto a su distribución y frecuencia de ataque en la industria azucarera, indican que la especie más abundante en la zona cañera se presenta con un factor de pérdida de 8.21 TCH/1 ad/tallo con 5.83kg Az/t/1 adulto/tallo con un índice de daño de 1465 kg Az/ha/1 adulto/tallo resultan en umbrales económicos de 0.05 – 0.10 ninfas y adultos/tallo. (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA, 2012)

1. Chinche salivosa azucarera. *Aeneolamia postica* y *Prosapia simulans* son las especies de importancia en el cultivo de caña de azúcar, con el 96% - 4% de abundancia, respectivamente (Márquez *et al.*, 2002). Es un insecto con aparato bucal picador-chupador, que se alimenta del xilema de una gran variedad de gramíneas neotropicales y cuya infestación en caña de azúcar se repite cada año con los huevos diapáusicos depositados en el suelo, el ciclo anterior. Estos huevos dan origen a la primera generación de ninfas en la estación lluviosa, y de ahí surgen varias generaciones de adultos cuyos huevos ya no tienen diapausa y eclosionan en 15 días, lo que aumenta la densidad poblacional en el campo.

Figura 1: Salivazos de Chinche salivosa los cuales contienen ninfa en su interior.



Fuente: (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA, 2012)

El género *Aeneolamia* comprende la mayoría de insectos conocidos como salivazos (cercópidos), los cuales causan grandes daños a la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Así mismo especies de este género se pueden desarrollar sobre pastos y malezas gramíneas.

Estos Cercópidos se encuentran desde los 10 msnm hasta los 1700 msnm, los Cercópidos tienen en común la característica de alimentarse en su estado adulto de las láminas foliares de la caña de azúcar inyectándoles tóxicos oxidativos que obstruyen los haces vasculares provocando fitotoxemia causada por la inoculación de enzimas amilolíticas y oxidantes, así como aminoácidos. Este estado patológico se presenta después de pocos días con la aparición de manchas lineales cloróticas, las que paulatinamente se tornan amarillas y luego necróticas.

a. Clasificación taxonómica y distribución de la chinche salivosa de la caña de azúcar

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hemíptera

Suborden: Auchenorrhyncha

Superfamilia: Cercopoidae

Familia: Cercopidae

Subfamilia: Tomaspidinae

Género: *Aeneolamia*

Especie: *A. postica*, *A. varia*, *A. albofasciata*

Especies del género *Aeneolamia*: *A. albofasciata*, *A. lepidior*, *A. contigua*, *A. postica*, *A. reducta*, *A. varia*, *A. flavilatera*.

Especies del género *Prosapia*: *P. distant*, *P. bicincta*, *P. plagiata*

Especies del género *Deois*: *D. flavopicta*, *D. schach*

Otras especies: *Mahanarva andigena*, *M. dipars*, *M. fimbriolata*, *Zulia vilior*, *Z. pubescens*, *Z. carbonaria*

Las especies del género *Aeneolamia* se encuentran en América Central y en toda la región oriental de América del Sur y son las que presentan la distribución más amplia y la mayor importancia en Venezuela, las Guayanas y América Central. En Brasil predominan las especies de los géneros *Deois*, *Zulia* y *Mahanarva*, en tanto que el género *Prosapia* está limitado a los países de América Central.

La especie más importante para Guatemala es *Aeneolamia postica* (Walk), distribuida en varias regiones de este hemisferio con excepción de las islas del Caribe y ciertas zonas de Sur América. En Guatemala fue identificada la subespecie *A. postica jugata* (Fowler) en 1921, pero es muy probable que también este presente *A. varia* así como otras sub-especies de *A. postica*. (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA, 2012).

Figura 2: Chinche adulta de *Aeneolamia* sp. Con caracterización física de la especie.



Fuente: (López C. , 2012)

b. Sintomatología de daño. El daño que esta plaga causa puede dividirse en dos partes. El daño provocado por la ninfa al alimentarse de las raíces y tallos de la planta; y el daño provocado por el adulto al alimentarse de retoños y hojas.

Cuando se alimentan de hojas se puede observar al principio pequeñas manchas amarillo-rojizas sobre las hojas que posteriormente provocan la clorosis del follaje y la aparición de tejidos necrosados al borde de las hojas.

Al alimentarse provocan una intoxicación sistemática inyectando un líquido caustico que además contiene ciertas enzimas que desdoblan el azúcar cristalizable afectando su calidad. El aspecto de una plantación infestada se presenta como si estuviera afectada por una sequía intensa; las plantas no mueren pero sufren un retraso en su desarrollo y por ende la disminución del rendimiento en cinco u ocho toneladas por hectárea.

Tanto ninfas como adultos utilizan su estilete para elaborar túneles de alimentación, que finalizan en los elementos del xilema (Byers y Wells, 1996). Debido a la baja calidad nutritiva de la savia del xilema el estado de ninfa se prolonga por al menos 30 días, formando una espuma alrededor de su cuerpo blando y permanecen en las raíces adventicias del cultivo. Cuando alcanzan el estado adulto, estos insectos migran hacia el follaje y al alimentarse introducen una sustancia tóxica que destruye e interfiere en la formación de clorofila, cuyo síntoma es conocido como “quemazón”, que afecta tanto el desarrollo normal de la planta como la acumulación de sacarosa.

Con base en esta biología, es evidente que el mayor éxito en el control de la plaga está en la reducción de la población de huevos diapáusicos y las ninfas, reducir o atrasar la ocurrencia del período crítico que produce altas densidades de adultos (Márquez *et al.*, 2009) entre julio y agosto. Debido a la acumulación de los huevos diapáusicos, a través del tiempo y a las condiciones de alta humedad, hay campos que

rápidamente alcanzan el estatus de “alta infestación”, donde el daño foliar es mayor del 60% y dado que el período crítico de ocurrencia es de 6 a 8 meses de edad del cultivo, los índices de pérdida pueden alcanzar 8.21 TCH de caña y 5.83 kg Az/t, por cada adulto/tallo (Márquez *et al.*, 2001).

Figura 3: Daño foliar causado por Chinche salivosa



Fuente: (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA, 2012)

Figura 4: Daño foliar avanzado causado por adultos de Chinche salivosa



Fuente: (López C. , 2012)

Cuando el cultivo pasa a soca el ataque puede ser más intenso pues tanto las ninfas como los adultos causan mayor daño en los retoños que en una planta adulta.

Los campos viejos de resoca (5 a 6 años) son los más propicios para el desarrollo de la chinche salivosa. Se puede considerar que la cantidad de cinco ninfas por metro lineal de un surco son suficientes para efectuar el control más adecuado, el cual puede ser biológico o químico. (Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, 2012)

c. Ciclo biológico y hábitos. La chinche salivosa es un insecto con tipo de metamorfosis hemimetábola pasando por las siguientes etapas: huevo, ninfa y adulto.

1) Estado de huevo. Son de forma oval, de color amarillo o crema, tardan en incubar de 18 a 26 días, eclosionan cuando empiezan las lluvias, por lo que la humedad relativa y la temperatura influyen mucho en su eclosión. Al transcurrir cinco días de incubación aparecen cuatro manchas rojizas: dos de ellas aparecen cerca del polo anterior más agudo y corresponden a los ojos del embrión, las otras dos manchas se sitúan cerca del polo posterior y corresponden a los tubos de Malpighi. Progresivamente se va desarrollando una sutura o mancha negra a partir del polo anterior, la cual avanza en forma longitudinal hasta la parte media del huevo, por esta estructura conocida con el nombre de opérculo, emerge la ninfa en el momento de la eclosión.

a) Diapausa. Se realiza en estado de huevo, la fijación es en gran parte genética y en parte una influencia externa sobre la hembra cuando pone los huevos. Esta influencia probablemente es en parte micro-ambiental y en parte debido a factores químicos en el jugo de las hojas de la caña. La diapausa puede durar de 15 hasta 225 días.

La diapausa es muy variable en cuanto a duración y composición dentro de cada lote de huevos producido por las hembras y en diferentes épocas del año. Puede ser que probablemente sea influido por fotoperiodo, posiblemente por el estado de madurez de la caña, la cual cambia la combinación de aminoácidos en la savia de la caña, ingerida por las hembras.

2) Estado de ninfa: Las ninfas provocan un daño leve, principalmente la raíz. Cuando eclosionan, se introducen dentro del suelo, se adhieren y parasitan las raíces de la caña chupando la savia; la ninfa es de color cremoso. Durante el 4° y 5° estadio ninfal que se presenta durante el inicio de una nueva temporada de lluvias, con el aumento en la temperatura y humedad relativa, el insecto emerge del suelo cubriéndose con una espuma o masa fluida semejante a saliva que protege a la ninfa de sus enemigos naturales y le brinda la humedad que requiere para completar su condición de adulto. (López C. , 2012)

Las ninfas se caracterizan por la segregación de saliva o espuma que les da su nombre característico. Este líquido protege al insecto de la desecación. Es secretado por los tubos de Malpighi y las burbujas son sopladadas por una cámara de aire ventral. El fluido contiene amilasa, invertasa, fenolasa y se estima que más del 90% está constituido por proteína.

El cuerpo de la ninfa es amarillo y la cabeza rojiza, pero a medida que van creciendo cambian a cremoso con una zona rojiza a los lados del abdomen. Cuando completan su desarrollo llegan a medir de 6 a 8 mm de largo, terminando este a las 3 o 4 semanas habiendo pasado por 5 estadios ninfales que se diferencian entre sí por el tamaño del cuerpo y ancho de la cabeza.

Figura 5: Ninfa de Chinche salivosa.



Fuente: (Cantellano, 2012)

3) Estado adulto. Son conocidos como mosca pinta o salivazo. El insecto es volador siendo su principal forma de movilizarse, es de hábito nocturno, que durante el día pasa escondido en las partes bajas de la planta donde hay sombra y buena humedad. El macho adulto mide de 6 a 8 mm de largo y la hembra de 8 a 9mm y 4 a 6mm de ancho. La hembra deposita de 40 a 100 huevecillos por postura. El cuerpo tiene forma oval, es café, casi negro, el cual posee dos franjas que van desde amarillo-blanquecino a amarillo, sobre las alas anteriores, estas coloraciones son características de *Aeneolamia sp.*

Figura 6: Adulto de la Chinche salivosa especie: *Aeneolamia sp.*

Fuente: (Pérez Aguilar, 2012)

Los adultos tienen una longevidad que va desde los 6 hasta los 9 días, empezando a copular a los dos días de haber emergido de estado ninfal. Poco después la hembra empezará a poner los huevos que eclosionaran a los 10 o 20 días para dar origen a otra generación. En la estación lluviosa se producen de 4 a 5 generaciones. Las hembras de la última generación ponen los huevos que eclosionaran a los 5 o 7 meses.

La cópula de la chinche salivosa tiene lugar en las axilas de las hojas y puede ocurrir durante el día o la noche. Esto solo se da un día después de la emergencia y los huevos son depositados 2 o 3 días más tarde. La duración del estado adulto, en condiciones de laboratorio en Guatemala, es de 6 a 8 días aproximadamente. (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA, 2012)

d. Hospederos. Los principales hospederos reportados para mosca pinta son: caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), maíz (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa*) y pastos (Poaceae). (Pérez Aguilar, 2012)

Figura 7: Ciclo biológico de la chinche salivosa de la caña de azúcar



Fuente: (Pérez Aguilar, 2012)

e. Distribución mundial. A nivel mundial se han reportado la presencia de mosca pinta en los países como México, Belice, Guatemala, Honduras y Brasil.

Figura 8: Distribución a nivel mundial del salivazo de la caña de azúcar.



Fuente. (Proyecto - FUNPROVER-SAGARPA, México, 2012)

f. Mecanismos y tipos de control. El daño foliar debe medirse a finales de septiembre o principios de octubre y, con base en el porcentaje, clasificar los campos en las categorías de daño leve (0-40 %), moderado (41-60 %) o severo, cuando es mayor del 60 por ciento de daño foliar.

1) Control químico. Las áreas con antecedentes de daño severo en la zafra anterior requieren de un análisis que considere la opción de aplicar productos químicos sistémicos preventivos (Thiamethoxam, Imidacloprid) o bien el cambio de fecha de corte o la renovación del cultivo.

Existen productos en el mercado que ayudan a controlar a las poblaciones de la chinche salivosa. Cuando empiezan a verse los salivazos alrededor de los troncos de caña, se combaten espolvoreando Thiodan. Otros productos aplicados sobre el follaje como: Monocrotofos, Diazinón, Azinfós metílico CE20, Carbofurán CE 35, Carbofurán G 5%, Endosulfán CE 35, Monocrotofos LM 56, Paratión metílico CE 50. Se sugiere que los productores consulten a los técnicos de su ingenio respectivo para obtener las recomendaciones más apropiadas para su zona.

2) Control biológico. El objetivo del control biológico es mantener las poblaciones de la plaga en niveles que no causen daño económico, mediante el uso de los enemigos naturales que se encuentran en el ecosistema caña.

Se establece que el uso de hongos entomopatógenos para el control de la mosca pinta o salivazo es una alternativa viable de control, debido a que su uso mediante la aplicación del patógeno afectaría las primeras ninfas o adultos, en donde los insectos infectados y muertos por el hongo serían el inóculo primario de diseminación de las esporas del hongo, lo cual permite que las ninfas en su trayecto de búsqueda o cambio de sitio de alimentación se expongan al hongo, en donde su espuma crea un ambiente favorable para su desarrollo. El control de la chinche salivosa de la caña de azúcar con *M. anisopliae* es una alternativa real para los productores cañeros, ya que disminuye hasta el 75 % el uso de insecticidas, así como contribuye a la inocuidad alimentaria y protección del medio ambiente.

a) Enemigos naturales. Se han encontrado algunos enemigos naturales atacando a la mosca pinta, como la mosca *Salpingogaster nigra* (Diptera: Syrphidae); es un depredador que en su estado de larva se alimenta de ninfas de salivazo, hormigas *Pheidolegenalis* (Hymenoptera: Myrmicinae) que se alimentan de huevecillos de salivazo, hongos entomopatógenos como el hongo *Metarhizium anisopliae* que atacan a los adultos y nematodos.

Figura 9: *Salpingogaster nigra*, enemigo natural de la chinche salivosa.



Fuente: (Bustillo, 2011)

b) Control de ninfas y adultos. Cuando empieza la época de lluvia es necesario iniciar los monitoreos de ninfas y adultos, ya sea mediante el uso de trampas amarillas adhesivas en el contorno de los campos, o con el muestreo visual utilizando las macollas como unidades de observación. El umbral de acción para aplicaciones terrestres de *Metarhizium anisopliae* varía entre 0.05 y 0.10 insectos/tallo dirigidas al control de la primera generación de ninfas, lo que causará la epizootia en adultos en el campo.

Figura 10: *Metarhizium anisopliae* en adultos de chinche salivosa.



Fuente: (Bustillo, 2011)

Figura 11: *Metarhizium anisopliae* en adultos de chinche salivosa ya esporulado.



Fuente: (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA, 2012)

c) Uso de nematodos entomopatógenos en el control del salivazo. Ensayos en laboratorio y campo han mostrado que cerca de 17 órdenes y 135 familias de insectos son susceptibles a los nematodos Entomopatógenos en algún grado (Akhurst y Smith, 2002). Existen varios registros del efecto de los nematodos entomopatógenos afectando especies de salivazo. Poinar y Linares (1985) determinaron en los años 1981- 1982, en las localidades de Guanare (Portuguesa, Venezuela), una alta incidencia natural del nematodo *Hexameris dactylocercus*, el cual parasitaba hasta un 50% de las ninfas y adultos recolectados de *A. varia*. Bennett (1984) destaca la posibilidad de usar nematodos para el control de *A. varia* basándose en información existente desde principios de siglo. Menciona también el nematodo mermitido *Hexameris sp.*, parasitando *A. varia* en Trinidad, y en Brasil, sobre *M. fimbriolata*.

Ferrer *et al.* (2004) en Venezuela, presentaron el primer registro sobre la posibilidad de uso de nematodos entomopatógenos para el control de *A. varia* en caña de azúcar encontrando que *Heterorhabditis bacteriophora* a las 72 horas después de la aplicación a ninfas ocasionaba una mortalidad entre 71,3 y 75,4%, en dosis de 50 a 100 millones de nematodos por hectárea.

Leite *et al.* (2002) fueron los primeros en evaluar la eficacia de *Steinernema sp.* Y *Heterorhabditis sp.*, en el control de salivazo de caña de azúcar en Brasil, ellos registraron un 80% de mortalidad utilizando un aislamiento de *Heterorhabditis sp.*, en laboratorio. Años más tarde, Leite *et al.* (2005) evaluaron la patogenicidad de seis especies de nematodos entomopatógenos contra ninfas de salivazo de la caña de azúcar *M. fimbriolata* en laboratorio y campo encontrando que *Heterorhabditis sp.*, (CB- N5), *Steinernema sp.*, (CB-N6) y *Heterorhabditis sp.*, (CCA) fueron los tres nematodos más virulentos (100%, 98% y 96% de mortalidad, respectivamente). En el experimento de campo con una dosis de $3,3 \times 10^8$ JI/ha, *Heterorhabditis sp.*, controló el 74% de los insectos.

Recientemente en Brasil, Batista y Machado (2010) registran a *Steinernemario bravis* y a *Heterorhabditis amazonensis* RSC1 causando mortalidades de 71% a una concentración de 2000 JI/ml sobre ninfas del salivazo de los pastos *Mahanarva spectabilis* bajo condiciones de invernadero.

En Colombia Arango y Calderón (1981), mencionan haber encontrado en condiciones de campo un nematodo de la familia Rhabditidae afectando ninfas y adultos del salivazo. Quintero *et al.* (2007), realizaron investigaciones en laboratorio y observaron la capacidad patogénica y multiplicación de *S. colombiense* y *H. bacteriophora* Fresno, sobre ninfas de diferentes instares de *Aeneolamia sp.* (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

3) Control cultural. Las labores de cultivo ayudan a disminuir las poblaciones de la plaga y propician condiciones necesarias para que la planta soporte con vigor el ataque del insecto. La labor de aporque (o desaporque) y la quema agrícola controlada en la cosecha hacen que disminuya la cantidad de

huevos viables y el número de ninfas del salivazo en los lotes infestados. Donde la caña se cosecha en verde, la cobertura vegetal crea un ambiente favorable de humedad que protege los huevos y garantiza la supervivencia de las ninfas.

a) Rastra fitosanitaria. Se utiliza para el control de huevos diapáusicos después del corte. El Comité de Manejo Integrado de Plagas (CAÑAMIP) y el Programa de Manejo Integrado de Plagas de CENGICAÑA han documentado una secuencia básica de referencia que incluye información sobre la época para cada actividad, forma de realizarla, criterio de uso, equipo, eficiencia operativa y las condiciones especiales para garantizar la eficacia de su ejecución (Márquez, 2010). El éxito del manejo integrado se basa en la reducción de la población de huevos, mediante la implementación de una secuencia básica de labores mecanizadas que incluye el uso de implementos como la rastra sanitaria. Es un implemento agrícola que tiene como finalidad remover la tierra que se encuentra en el hilo de la caña para exponer los huevecillos al sol y a los depredadores. Esta labor se recomienda realizarla, si el terreno lo permite, de preferencia inmediatamente después de la cosecha de la caña, para no dañar el brote de la cepa y asegurar al menos un 60% en la reducción de huevos o bien, dentro de los 10 primeros días después del corte, una vez realizado el destronco y el acamellonado de la paja. Se pueden utilizar rastras de tiro (semi-pesadas) y rastras de levante. Alinear los discos en el sentido del hilo de la caña para no voltear la cepa. La profundidad de la rastra debe ser de 3 a 5 cm. Se recomienda mejorar el drenaje, principalmente en suelos arcillosos, los cuales por su textura pueden empozarse, presentando con ello las condiciones ideales para el desarrollo de la plaga. También se recomienda realizar un adecuado control de las malezas, incluyendo caminos interiores y el contorno de los lotes. (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA, 2012)

Figura 12: rastra fitosanitaria para control de huevecillos de chinche salivosa.



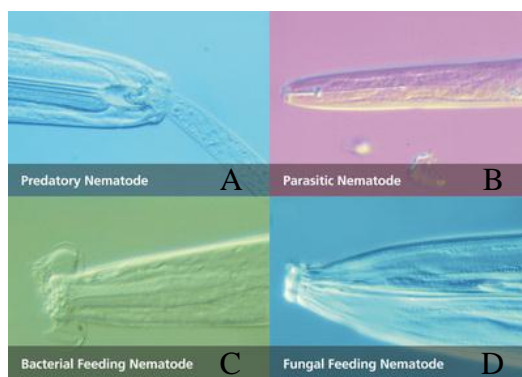
Fuente: (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA, 2012)

C. NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS

Después del Phylum Arthropoda, el Nematoda (= Nemata) es uno de los más diversos y versátiles del reino animal, con un número estimado de más de 100.000 especies (Coomans, 2000; De Ley, 2000). Han logrado colonizar los ambientes más diversos y variados como tundras, desiertos, ambientes marinos y de agua dulce, o aguas termales y aguas congeladas (Stock, 1998).

Los nematodos son gusanos cilíndricos no segmentados, que poseen una cutícula exterior acelular bajo la cual se encuentra la epidermis seguida por las fibras musculares longitudinales. Tienen sistema excretor, nervioso, digestivo, reproductivo y muscular, pero sin sistema circulatorio y respiratorio (Kaya y Stock 1997).

Figura 13: grupos tróficos de nematodos. Vista de la cabeza. A Nematodo predador, B nematodo parasítico, C nematodo bacteriófago y D nematodo micetófago.



Fuente: (Ibáñez, 2011)

Se consideran promisorias ocho familias para el control biológico de insectos, estas son: Tetradonematidae, Mermithidae, Allantonematidae, Neotylenchidae, Sphaerularidae, Aphelenchidae, Heterorhabditidae y Steinernematidae (De Ley y Blaxter, 2002).

Las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae están asociados simbióticamente a las bacterias *Xenorhabdus sp.*, y *Photorhabdus sp.*, respectivamente (Boemare, 2002), las cuales matan al hospedero rápidamente, razón por la cual han despertado interés mundial para ser desarrolladas como biocontroladores de insectos plaga.

Los nematodos entomopatógenos encajan muy bien en programas de MIP manejo integrado de plagas o porque se consideran no tóxicos para los seres humanos, relativamente específicos de su plaga u objetivo, y pueden aplicarse con equipos plaguicida estándar (Shapiro-Ilan *et al.* 2006). Nematodos entomopatógenos

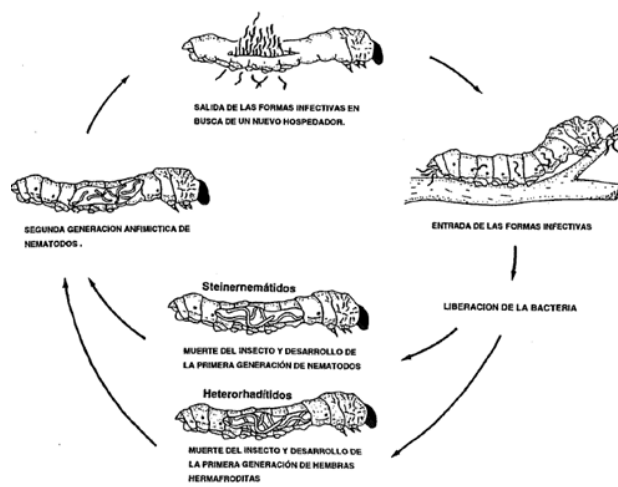
han quedado exentos de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) de registro de plaguicidas. No hay necesidad de equipos de protección personal y las restricciones de reingreso. Problemas de resistencia a los insectos son poco probables. (Universidad de Florida, 2012)

1. **Ciclo de vida.** Las especies de estas dos familias presentan un ciclo de vida basado principalmente en seis estados de desarrollo: huevo, cuatro ínstares de estados juveniles (conocidos también como dauer) y adulto (hembra, macho o hermafrodita según el género) (Wouts, 1991). El tercer estado juvenil o juvenil infectivo (JI) se introduce en el insecto por sus aberturas naturales (boca, ano o espiráculos) (Tanada y Kaya, 1993) o a través de las partes suaves del integumento (Peters y Ehlers, 1994), no obstante, los JI de los heteroraditidos también pueden penetrar el insecto raspando la cutícula del mismo, debido a que poseen una estructura queratinosa que se asemeja a un pequeño diente (Poinar, 1976).

Cuando el juvenil infectivo entra al hemocele del insecto libera la bacteria. La bacteria se multiplica rápidamente y mata al insecto por septicemia entre 24 y 48 horas (Adams y Nguyen, 2002). Los nematodos se reproducen en el cadáver del insecto y se alimentan de la biomasa bacteriana y de los tejidos del insecto metabolizados por la bacteria (Boemare, 2002).

La reproducción del nematodo continúa hasta que la reserva de alimento que proporciona el hospedante es suficiente para continuar con un nuevo ciclo, usualmente se puede presentar hasta tres generaciones amfimícticas dentro del mismo insecto. Por el contrario, si la reserva alimenticia no es suficiente, el JI adquiere la bacteria simbiote alimentándose de los tejidos del cadáver del insecto y posteriormente, lo abandona en busca de un nuevo hospedero. Los juveniles infectivos no se alimentan y pueden sobrevivir en el suelo por varios meses (Adams y Nguyen, 2002).

Figura 14: Ciclo de vida de los nematodos.



Fuente: (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

2. Efecto sobre organismos no blanco. Ensayos en laboratorio y campo han mostrado que cerca de 17 órdenes y 135 familias de insectos son susceptibles a los nematodos entomopatógenos en algún grado (Akhurst y Smith, 2002). Este amplio rango de hospederos es una de las principales razones del gran interés actual en el desarrollo de nematodos para el control biológico, pero este atributo es un arma de doble filo. Sin embargo, la infectividad ha sido demostrada en experimentos en cajas Petri donde el insecto está en contacto permanente con el nematodo bajo condiciones óptimas y donde las barreras ecológicas y de comportamiento han sido removidas (Kaya y Koppenhöfer, 1999).

Los predadores y parasitoides son potencialmente afectados por los nematodos entomopatógenos a través de una infección directa, muerte temprana del hospedero parasitado, o reducción de la población del hospedero (Akhurst y Smith, 2002). A pesar de la amplia aplicación, se ha reportado que no hay una toxicidad aguda o crónica significativa para los seres humanos o de otros vertebrados y no presenta importantes repercusiones a largo plazo en poblaciones de invertebrados no objetivo. Sin embargo, su uso potencial requiere de medidas preventivas que deben ser tomadas durante las fases de producción y aplicación para evitar la exposición directa de los nematodos y sus simbioses (Akhurst y Smith, 2002).

3. Factores que influyen en el establecimiento y acción de nematodos entomopatógenos. Resultados insatisfactorios de nematodos entomopatógenos son causados por la incorrecta manipulación, transporte y almacenamiento (Shapiro-Ilan *et al.* 2002). Nematodos entomopatógenos son organismos vivos y ambos factores bióticos y abióticos afectan nematodos entomopatógenos eficacia durante las aplicaciones. Nematodos entomopatógenos funcionan mejor en suelos arenosos con un pH entre 4 y 8. Nematodos entomopatógenos son susceptibles a la congelación, las temperaturas calientes, desecación, y la luz UV. *S. ribrave*, *S. glaseriy* *H. indica* son algunas de las especies más tolerantes al calor mientras que *S. feltiae*, *H. megidisy* *H. marelatus* están adaptados a temperaturas más frías (Grewal *et al.* 1994). La eficacia nematodo se puede mejorar haciendo coincidir las más apropiadas especies de nematodos entomopatógenos a las plagas objetivo, utilizando el tipo correcto de un producto de nematodos viables, mantener el área tratada húmeda durante al menos 8 horas después de la aplicación y la aplicación durante las primeras horas de la mañana o por la noche a minimizar la exposición UV y las condiciones de secado. También es importante inspeccionar nematodos entomopatógenos después de recibirlos y antes de la aplicación para garantizar que son viables (movimiento sinusoidal de las etapas juveniles sanos se puede observar con una lente de 20 × mano o microscopio).

Los nematodos entomopatógenos varían frente a los factores abióticos en sobrevivencia y eficacia de parasitismo. Es así, como pueden actuar dentro de un amplio rango de temperatura (3 a 35°C) (Patel *et al.* 1997). Caso contrario sucede con valores de pH del suelo extremos (11 ó 3) ya que limitan su capacidad de infección, pero no su viabilidad, y humedad es extremas, afectan su viabilidad y establecimiento, debido

al desecamiento del JI, dificulta su movilidad y capacidad de búsqueda del hospedante y generan condiciones anaerobias que reducen su viabilidad (Ishibashi y Kondo, 1990; Koppenhöfer *et al.*, 1997). Los suelos salinos o con altas concentraciones de iones como aluminio, afectan su integridad celular y por lo tanto, su viabilidad (Glazer, 1996).

El uso de agroquímicos también puede afectar la permanencia y supervivencia de nematodos debido a que su ingrediente activo puede actuar como modificador de las características del suelo. Dependiendo de los tiempos de exposición a la mayoría de agroquímicos (fertilizantes, fungicidas, insecticidas, herbicidas, reguladores de crecimiento y extractos vegetales), presentan sinergismo en algunos casos, al aplicarse en mezcla para el control de algunos insectos plaga (Kaya, 1990; Glazer, 1996), pero resultan susceptibles a algunos nematicidas (Glazer, 1996). Las especies de nematodos difieren en la susceptibilidad a los pesticidas químicos, por ejemplo los heterorabdítidos tienden a ser más sensibles a los cambios físicos, incluyendo pesticidas más que los steinernematidos (Grewal, 2002). También resultan los heterorabdítidos más sensibles a condiciones de almacenamiento.

En cuanto a los factores bióticos, se ha reportado una diversidad de organismos como hongos, bacterias, virus, protozoos, ácaros, insectos y nematodos, que pueden llegar a ser antagonistas o factor de mortalidad de estos nematodos entomopatógenos en el campo (Kaya, 1990; Kaya y Koppenhöfer, 1996; Epsky, *et al.*, 1998). Esta interacción puede afectar la sobrevivencia del JI; afectar el establecimiento y/o desarrollo del simbionte, y afectar al insecto una vez ha sido invadido por el nematodo (Kaya, 1990). Mientras que otros organismos pueden ser benéficos al aumentar la eficacia por el incremento de la susceptibilidad a la infección por el nematodo, reduciendo el periodo letal de infección, o presentando un efecto adictivo o sinérgico sobre la mortalidad (Kaya, 1993; Koppenhöfer *et al.*, 1999).

4. Comercialización de nematodos como agentes de control. Dentro de las técnicas exitosas de producción de nematodos que se han desarrollado e implementado, se encuentra el cultivo monoaxénico en líquido, tecnología que garantiza una producción masiva constante, asegurando tanto la estabilidad del inóculo como de las fuentes de material y reduciendo costos de producción en cuanto a equipos se refiere (Friedman, 1990). El desarrollo de formulaciones también ha ocupado la atención y el dinero de las compañías. La investigación en este sentido se ha enfocado en la facilidad de aplicación y aumento de persistencia del biológico incrementando su efectividad en el control (López, 2002). Se puede encontrar formulaciones desarrolladas en matrices de geles (alginato, arcilla, poliacrilamida, entre otras), con diversas presentaciones (sólidas, semisólidas y líquidas) (Georgis y Hom, 1992; Hominick y Collins, 1997).

Por otro lado, una amplia gama de tecnología está disponible para la aplicación de nematodos entomopatógenos, incluidos los sistemas de riego y diversos equipos de pulverización. La elección de los

equipos de aplicación, y la manera en que los nematodos se aplican, pueden tener un impacto sustancial sobre la eficacia del control de la plaga. Los nematodos entomopatógenos son principalmente usados como agentes de control biológico inundativo y los JI's son liberados en números masivos, normalmente 2.5×10^9 JI's/ha, el cual tiene como objetivo obtener una supresión inmediata de la plaga (Georgis y Manweiler, 1994). La susceptibilidad del insecto, comportamiento ecológico, formulación, facilidad de uso almacenamiento y costo del producto ha limitado el uso de nematodos para ciertos insectos y mercados (Georgis, 2002).

Las tres principales compañías que lideraban la comercialización de los nematodos entomopatógenos eran: Thermotriology Ltda® (antes, Biosys), Microbio Ltda® y Koppert Ltda®, distribuyendo sus productos por medio de patentes, en más de 11 países europeos (Hominick y Collins, 1997). Actualmente en el mundo, más de 80 compañías comercializan productos con solamente ocho especies de nematodos de las 35 registradas (López, 2002).

Más de la mitad de los productos existentes en el mercado (68%), se han desarrollado con base en dos especies: *Steinernema carpocapsae* (37%) y *Heterorhabditis bacteriophora* (31%); otros productos incluyen especies como *S. feltiae* (17%), *H. megidis* (5%), *S. glaseri*, *H. indica*, *H. marelatus* (3% c/u) y *S. riobrave* (1%) (López, 2002).

Lo anterior, se debe principalmente al desconocimiento tanto de los entomopatógenos en sí (biología, comportamiento, distribución, entre otros), como del amplio potencial que tienen para implementarse en programas MIP (López, 2005).

Cuadro 1: Precios de comercialización de nematodos entomopatógenos

Nematodo	JI (millones)	Dosis (m ²)	Precio	
			US \$	Quetzales Q (7.56)
<i>Steinernema sp.</i>	10	84- 232	24.9	188.24
<i>Steinernema sp.</i>	50	1,000	54	408.24
<i>Steinernema sp.</i>	100	2,000	99	748.44
<i>Steinernema sp.</i>	200	4,000	190	1436.4
<i>H. bacteriophora</i>	10	204	25.9	195.80
<i>H. bacteriophora</i>	50	408	54	408.24
<i>H. bacteriophora</i>	100	2,000	104	786.24
<i>H. bacteriophora</i>	200	4,000	196	1481.76

Fuente: (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

5. Nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora*. Nematodo entomopatógeno que en colaboración con la bacteria *Photorhabdus luminiscens* parasita diversas especies de insectos cuyas larvas viven en el suelo y en mayor o menor medida se alimentan de raíces.

a. Clasificación taxonómica

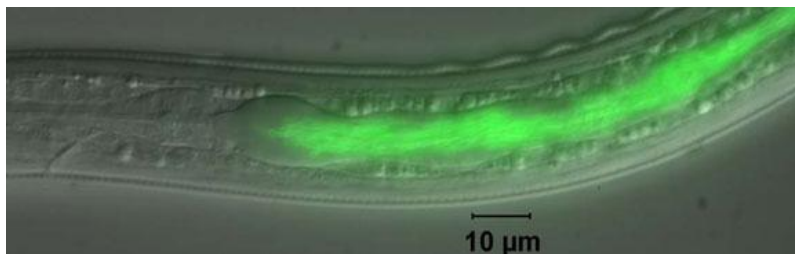
Reino: Animalia
 Filo: Nematoda
 Clase: Secernentea
 Subclase: Rhabditia
 Orden: Rhabditida
 Superfamilia: Rhabditoidea
 Familia: Heterorhabditae

b. Sintomatología de ataque. Cuando el nematodo encuentra una larva de un determinado insecto huésped, por ejemplo, *Melolontha papposa* penetra en su interior a través de alguna abertura natural (boca, ano o estigmas). Esta circunstancia es detectada por la bacteria que abandona al nematodo e invade a la larva de, en este caso, *Melolontha*, la cual muere en poco tiempo y pasa a ser el lugar en el que el nematodo y la bacteria se alimentarán y reproducirán. Las larvas infectadas cambian de color blanco-beige a rojo-marrón y el insecto se convierte en una materia mucosa por lo que no es fácil reconocerlas. Los primeros gusanos blancos muertos pueden observarse 2-4 días después de la aplicación. Cuando se acaba el alimento, las bacterias vuelven a instalarse en el interior del nematodo y éste parte a la busca de otra larva. Las bacterias que no se instalan en el nematodo no son capaces de infectar nuevas larvas de gusanos blancos, gusano cabezudo, etc. Ni los nematodos que no portan bacterias las matan, por tanto, ambos deben actuar en común. (Control Bío, 2015)

Figura 15: Estadíos juveniles de los nematodos *Heterorhabditis bacteriophora*



Fuente: (Control Bío, 2015)

Figura 16: *Photorhabdus luminiscens*.

Fuente: (Universidad de Florida, 2012)

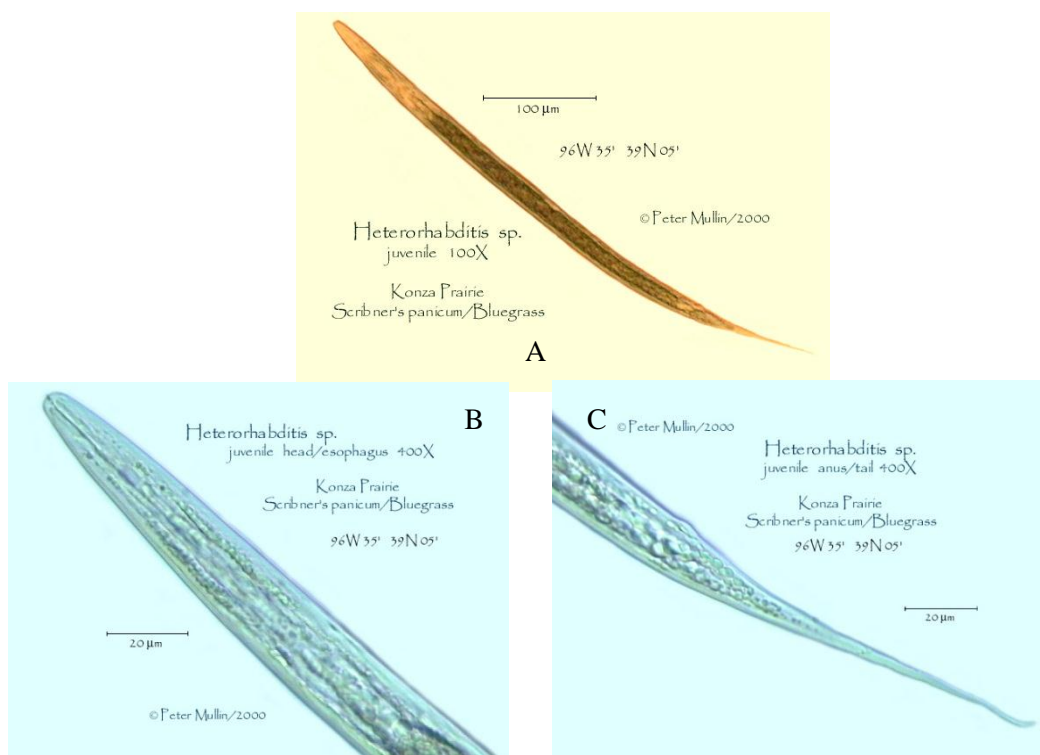
c. Ciclo biológico y hábitos. *Heterorhabditis bacteriophora* se mueve por el suelo atraído por las feromonas que emiten los gusanos blancos, portando en su interior a *Photorhabdus luminiscens* sin que le produzcan daño en una perfecta simbiosis. Esta simbiosis nematodo-bacteria se utiliza en el control de larvas de los insectos hospederos para el nematodo. Son muy activos.

1) Huevo. En el caso de la familia de los Steinernematidae las hembras al llegar a la fase adulta depositan los huevos dentro del insecto hospedero. Los individuos de Heterorhabditidae son hermafroditas autofértiles. (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

2) Estados juveniles o dauer. Los nematodos se desarrollan a través de cuatro etapas juveniles. El tercer estado juvenil o juvenil infectivo (JI) es la etapa juvenil infectiva, siendo la única etapa libre de nematodos entomopatógenos; penetra en el insecto huésped a través de los espiráculos, la boca, el ano o en algunas especies a través de las membranas intersegmentarias de la cutícula, y luego entra en el hemocele (Molyneux 1982). Las bacterias se multiplican en la hemolinfa del insecto y el huésped infectado, por lo general muere dentro de 24 a 48 horas; en función de los recursos disponibles una o más generaciones pueden ocurrir dentro del cadáver de acogida y un gran número de jóvenes se liberan con el tiempo en el entorno de infectar otros huéspedes y continuar su ciclo de vida. No obstante, los JI de los heterorabditidos también pueden penetrar el insecto raspando la cutícula del mismo, debido a que poseen una estructura queratinosa que se asemeja a un pequeño diente (Poinar, 1976). (Kaya y Gaugler 1993). (Control Bío, 2015)

3) Adulto. Juveniles infectivos de nematodos heterorhabdítidos se convierten en adultos hermafroditas (Grewal *et al.* 2005). El cadáver del insecto se vuelve rojo si los insectos son asesinados por heterorhabditidos y marrón si son asesinados por steinernematidos (Kaya y Gaugler 1993). El color del cuerpo huésped es indicativo de los pigmentos producidos por el monocultivo de bacterias mutualistas que crecen en los anfitriones. (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

Figura 17: Detalles de la especie *Heterorhabditis* sp. A. Nematodo juvenil cuerpo entero. B. Cabeza C. Ano y cola.



Fuente: (Mullin, 2000)

d. Hospederos. Los nematodos parasitan diversas especies de insectos como los de la familia: Scarabaeidae: Gusanos blancos (*Amphimallon*, *Anoxia*, *Cetonia*, *Epicometis*, *Melolontha*, *Oxythyrea*, *Phyllopertha*, *Polyphylla*, etc.), Buprestidae (*Capnodis tenebrionis*, gusano cabezudo), Curculionidae (*Otiorhynchus sulcatus*), etc. Cuyas larvas viven en el suelo y en mayor o menor medida, se alimentan de raíces. Gusanos blancos: *Aphodius cantaminatus*, escarabajo del estiércol (*Amphymallon solstitiale*), abejorro sanjuanero (*Otiorhynchus sulcatus*), (*Phyllopertha horticola*) gusano blanco de las huertas, (*Rhizotro gusestivus*) pequeño escarabajo de San Juan, etc. En cultivos hortícolas tanto en campo como en invernadero así como en césped de todo tipo y en plantaciones frutales invadidas por *Capnodis tenebrionis*. (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

6. Nematodo entomopatógeno *Diplogasteritus* sp. Algunos géneros de la familia Diplogasteridae tienen la característica de comportarse como parásitos facultativos (Poinar, 1992). La bacteria que se asocia a este nematodo es *Xenorhabdus* sp. Pudiendo situarse en los intestinos para multiplicarse en la hemolinfa del insecto al ser inoculada en éste.

a. Clasificación taxonómica

Reino:	Animalia
Filo:	Nematoda
Clase:	Secernentea
Subclase:	Plectia
Orden:	Rhabditida
Superfamilia:	Rhabditoidea
Familia:	Diplogasteridae

b. Sintomatología de ataque. Los nematodos Diplogasteridos para infectar con éxito a un hospedero deben penetrar por lo menos 1 de ambos sexos, puesto que este nematodo se reproduce sexualmente, al atacar se introduce en su hospedero a través de alguna abertura natural alrededor de su cuerpo, incluyendo la boca, por ejemplo: el ano o los estigmas. Al realizar esto una bacteria mutualista se introduce en el cuerpo del insecto, en el caso de los Diplogastéridos no se ha demostrado si los infectivos juveniles son portadores de las bacterias en su intestino para posteriormente ser depositadas en el insecto o si son transportadas en otro órgano (Poinar, 1980). La bacteria mutualista de esta familia de nematodos es *Xenorhabdus sp.* (Kaya y Gaugler 1993). Póstumo al ataque, en un lapso aproximado de 48 horas se presenta la muerte del insecto, la bacteria ha de podrir los órganos del hospedero de los cuales el nematodo se alimentará. Los hospederos infectados presentan coloración blanco – beige por lo que su identificación puede ser confusa. Sin embargo otros síntomas como la flacidez son característicos del ataque, haciendo entonces que se pueda discernir entre su nula o positiva presencia.

c. Ciclo biológico y hábitos. *Diplogasteritus sp.* También posee al igual que *Heterorhabditis bacteriophora* la capacidad de movilizarse a través del suelo por los diferentes poros del mismo, siendo más propicio cuando éste se encuentra húmedo, a su vez se mueve atraído por las feromonas que emiten los insectos hospederos. Son altamente activos.

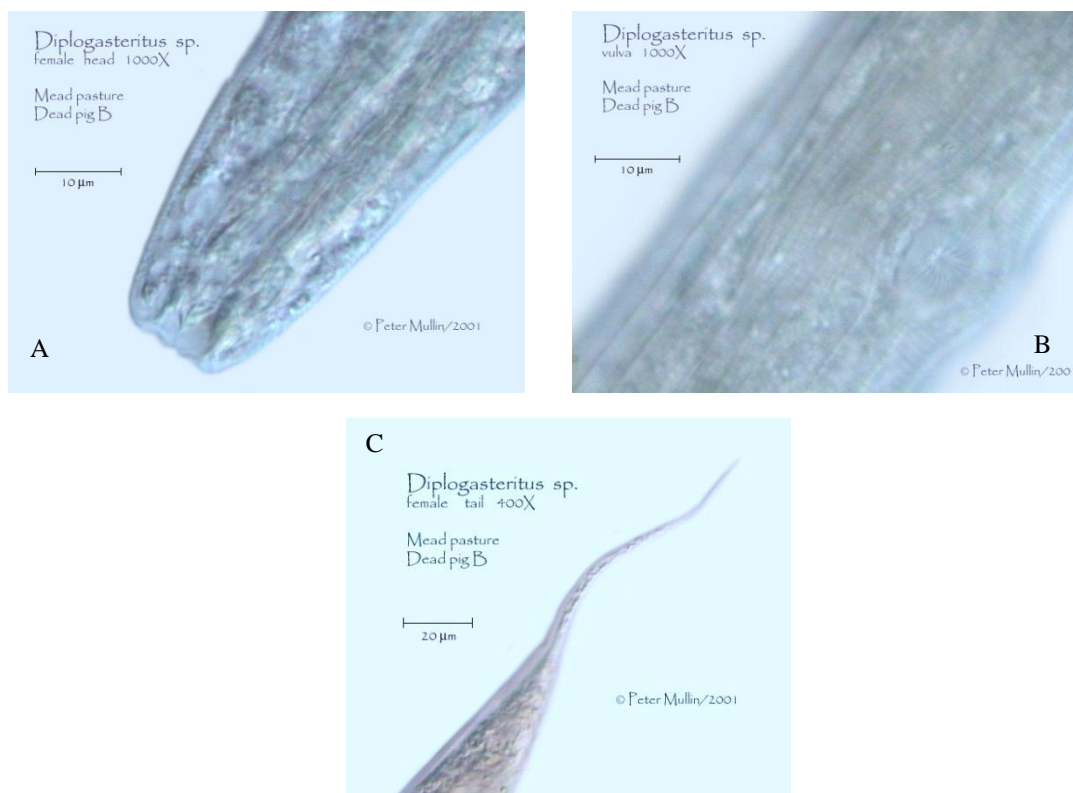
1) Huevo. Las hembras Diplogasteridas al llegar a fase adulta depositan los huevos dentro del insecto hospedero, éstos maduran y eclosionan las unidades infectivas juveniles de primera generación, el ciclo se repite hasta alcanzar la cuarta fase.

2) Estados juveniles o dauer. Los nematodos se desarrollan a través de cuatro etapas juveniles. El tercer estado juvenil o juvenil infectivo (JI) es la etapa juvenil infectiva, siendo la única etapa libre de nematodos entomopatógenos; penetra en el insecto huésped a través de los espiráculos, la boca, el ano o en algunas especies a través de las membranas intersegmentarias de la cutícula, y luego entra en el

hemocele (Molyneux 1982). Las bacterias mutualistas se multiplican en la hemolinfa del insecto infectado. (Control Bío, 2015)

3) Adulto. La fase adulta de los juveniles infectivos diplogasteridos se convierten ya sea en hembras o en machos, dependiendo de las condiciones de desarrollo; así que durante esta fase, los nematodos abandonan el cadáver de su hospedero y se movilizan en búsqueda de un nuevo hospedero.

Figura 18: Detalles de la especie *Diplogasteritus sp.* Hembra A. Cabeza, B. Vulva y C. Cola.



Fuente: (Mullin, 2000)

d. Hospederos. Los nematodos parasitan diversas especies de insectos como los de la familia: Scarabaeidae: Gusanos blancos (*Amphimallon*, *Anoxia*, *Cetonia*, *Epicometis*, *Melolontha*, *Oxythyrea*, *Phylloperla*, *Polyphylla*, etc.), Buprestidae (*Capnodis tenebrionis*, gusano cabezudo), Curculionidae (*Otiorhynchus sulcatus*), etc. Se ha reportado a *Diplogasteritus sp.* Como controlador de larvas en Chile de *Pristionchus uniformis* (Aguilera, 2001), también se encontró infestando diferentes estados de Coleóptera en Polonia. (Aguilera, Urlich, & Celis, 2001)

D. BASE TEÓRICA DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE VARIANZA ANOVA.

El análisis de varianza se utiliza para probar hipótesis sobre igualdad de tres o más medias poblacionales. Al comparar las varianzas muestrales, es posible sacar alguna conclusión o inferencia sobre los valores relativos de las medias poblacionales.

El análisis de varianza ANOVA, está diseñado específicamente para probar si dos o más poblaciones tiene la misma media, implicando un examen de las varianzas muestrales, en particular a una población, éste tendrá un impacto significativo en su media. Más específicamente, el procedimiento se puede utilizar para determinar si cuando se aplica un “tratamiento” en particular a una población, éste tendrá un impacto significativo en su media. En un estudio ANOVA, las unidades experimentales son los objetos que reciben el tratamiento. El factor es la fuerza o variable cuyo impacto en tales unidades experimentales se desea medir. Finalmente, los factores constituyen los tratamientos, o niveles del factor.

La forma como se seleccionan los tratamientos determina si se está utilizando un modelo de efectos fijos o un modelo de efectos aleatorios. Así, en el ANOVA existen modelos según su selección.

1. **Modelo de efectos fijos.** En el cual se seleccionan tratamientos específicos o se fijan antes del estudio.
2. **Modelo de efectos aleatorios.** En el cual los niveles (tratamientos) utilizados en el estudio se seleccionan aleatoriamente de una población de niveles posibles.

Un estudio completo de modelos de efectos aleatorios va más allá del alcance de este texto. La intención de este capítulo se concentrará en los modelos de efectos fijos.

Para la aplicación de ANOVA son esenciales 3 suposiciones:

- a. Todas las poblaciones involucradas son normales.
- b. Todas las poblaciones tienen la misma varianza.
- c. Las muestras se seleccionan independientemente.

Si un número de tratamientos se designa como c , el conjunto de hipótesis de prueba es

Planteamiento 1: hipótesis modelo del análisis de varianza.

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 \dots \mu_c$$

$$H_A = \text{No todas las medias son iguales.}$$

Fuente: (Webster, 2000)

Siendo μ_n el valor de la media poblacional, por lo tanto la hipótesis nula se enfoca a plantear la igualdad, es decir, que no existe diferencia alguna entre las medias.

Para efectuar el análisis de varianza es necesario emplear las siguientes fórmulas:

Cuadro 2: Fórmulas del análisis ANOVA. Fórmulas de la 1 a la 10.

Nombre de la fórmula	Fórmula	Especificaciones
Gran media de todas las observaciones del experimento. Fórmula 1.	$\bar{X} = \frac{\sum X_{ij}}{n}$	$\sum X_{ij}$ = la sumatoria de las observaciones según los tratamientos. n= cantidad de observaciones
Suma de cuadrados, para probar la igualdad de las medias poblacionales. Fórmula 2.	$SCT = SCTR + SCE$	SCTR= suma de cuadrados de los tratamientos. SCE= suma de cuadrados del error.
Varianza muestral. Fórmula 3.	$S^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}$	El numerador es la suma de los cuadrados de las desviaciones de la media. n-1= número de grados de libertad.
Suma de cuadrados total. Fórmula 4.	$SCT = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c (X_{ij} - \bar{X})^2$	\bar{X} = La gran media. Xij= las observaciones. $\sum \sum$ =sumatoria a través de las filas y columnas.
Suma de los cuadrados de los tratamientos. Fórmula 5.	$SCTR = \sum_{rj} (\bar{X} - \bar{\bar{X}})^2$	\bar{X} = la media. $\bar{\bar{X}}$ = La gran media. $\sum rj$ = sumatoria para todos los tratamientos.
Suma del cuadrado del error. Fórmula 6.	$SCE = \sum \sum (X_{ij} - \bar{X}_j)^2$	X_{ij} = las observaciones. \bar{X}_j = la media. $\sum \sum$ =Sumatoria a través de filas y columnas.

Continuación Cuadro 2.

Nombre de la fórmula	Fórmula	Especificaciones
Cuadrados medios totales. Fórmula 7.	$CMT = \frac{SCT}{n - 1}$	SCT= suma de cuadrados totales. n-1= número de grados de libertad.
Cuadrados medios de los tratamientos. Fórmula 8.	$CMTR = \frac{SCTR}{c - 1}$	SCTR= suma de cuadrados de los tratamientos. c - 1= medias muestrales.
Cuadrados medios del error. Fórmula 9.	$CME = \frac{SCE}{n - c}$	SCE= suma de cuadrados del error. n - c = grados de libertad.
Razón F para una prueba de medias. Fórmula 10.	$F = \frac{CMTR}{CME}$	CMTR= cuadrados medios de los tratamientos. CME= cuadrados medios del error.

Fuente: (Webster, 2000)

Con los resultados de los cálculos obtenidos es posible aceptar o rechazar la hipótesis nula, o bien, la hipótesis alternativa; ello servirá a su vez, para interpretar los datos recopilados y establecer conclusiones de lo que se pretende analizar.

V. MARCO METODOLÓGICO

A. Ubicación de la evaluación

La evaluación se llevó a cabo en las instalaciones los laboratorios biológicos del ingenio azucarero *Pantaleón S.A.*, en el área de Control de Conformidad Agrícola (Temperatura media de 27 ± 1 y $75 \pm 5\%$ de humedad relativa), ubicado en el municipio de Siquinalá, dentro de las coordenadas geográficas Latitud $14^{\circ} 20' 04''$ Norte y Longitud $90^{\circ} 59' 31''$ Oeste, a una altitud de 460 metros sobre el nivel de mar.

B. Material biológico

1. Nematodos entomopatógenos. El Centro Guatemalteco de Investigación de la Caña de Azúcar (CENGICAÑA) proporcionó una especie de nematodo entomopatógeno diplogasterítido proveniente de su zona: *Diplogasteritus sp.* Así mismo, el ingenio azucarero *Pantaleón S.A.*, proporcionó una especie de nematodo entomopatógeno heterorhabdítido: *Heterorhabditis bacteriophora*, de dos procedencias: Cuba y Holanda. Estos nematodos se obtendrán a través de presentaciones de esponja, en el caso de *Heterorhabditis bacteriophora* y en hermético para *Diplogasteritus sp.* Tales nematodos estuvieron en concentraciones puras, es decir, pasaron por el proceso de multiplicaciones masivas previas en laboratorio utilizando como hospedero a larvas de *Galleria mellonella* criadas a su vez; en dieta artificial.

Cuadro 3: Procedencia de los nematodos evaluados durante la investigación.

Especie	Procedencia del nematodo	Lugar de disposición
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Cuba	<i>Pantaleón S.A.</i>
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Holanda	<i>Pantaleón S.A.</i>
<i>Diplogasteritus sp.</i>	CENGICAÑA	CENGICAÑA

Fuente: Autor.

2. Cercópodos de la caña de azúcar. Se utilizó la chinche salivosa de la caña de azúcar de la especie *Aeneolamia postica* en estadio de ninfa II y III; para la obtención de las ninfas, se efectuaron extracciones del insecto por medio de inspecciones en cañaverales circundantes al casco central del ingenio azucarero *Pantaleón S.A.*, recolectándolas en octubre 2015. Las evaluaciones se realizaron el mismo día de su recolección, con las ninfas adaptadas previamente a su hospedero.

3. Hospedero de la chinche salivosa de la caña de azúcar *Aeneolamia postica*. Se germinaron semillas de sorgo sobre algodón humedecido con agua estéril en cajas Petri; de vidrio de 10 cms de diámetro utilizando solamente la parte inferior de la caja, obteniendo un hospedero abundante de raíces para alimento de las ninfas. Las semillas pasaron las primeras 72 horas en total oscuridad; y 96 horas más en total exposición de luz. Las semillas se sometieron a desinfección previa con el fin de asegurar que estuviesen libres de plagas y enfermedades, sumergiéndolas por 1 minuto en solución de Virkon's® al 1%; seleccionando las mejores. Las plántulas utilizadas tuvieron edad de 7 días.

C. Prueba de selección por patogenicidad de los nematodos entomopatógenos a ninfas de II y III instar de *A. postica* bajo condiciones de laboratorio

Estableciendo que:

Se evaluaron dos dosis de nematodos: 30, 000,000 uij/ha y 60, 000,000 uij/ha; por cada procedencia, es decir, para *Heterorhabditis bacteriophora* de Cuba, *Heterorhabditis bacteriophora* de Holanda y *Diplogasteritus sp.* De CENGICANÑA; cada una será tomada como una evaluación independiente (Factor A y B).

Cada dosis fue evaluada en 2 instar de ninfa de Chinche salivosa *Aeneolamia postica*: instar II y III éstos también fueron considerados evaluaciones independientes (Factor C).

La evaluación correspondiente a determinado instar de ninfa, a una establecida dosis de nematodos a aplicar tuvo:

- ◆ Tres parasitoides: siendo las 3 procedencias de nematodos entomopatógenos, que se combinaron con los Factores B y C, para conformar los tratamientos.
- ◆ 1 Testigo: testigo absoluto en el que solo se aplicó agua estéril sobre las ninfas en instar II y III.
- ◆ Los tratamientos estuvieron integrados por 3 repeticiones.
- ◆ Las repeticiones se formaron de 10 unidades experimentales (ue), es decir, 10 ninfas, siendo 120 ninfas/evaluación.

Como se describe en el cuadro siguiente.

Cuadro 4. Tratamientos por factor a evaluar.

Tipo de nematodo	Concentración uij (Unidad infectiva juvenil)	Instar de A. postica	# tratamiento
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Cuba)	30,000,000	II	1
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Holanda)	30,000,000	II	2
<i>Diplogasteritus sp.</i> CENGICAÑA	30,000,000	II	3
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Cuba)	30,000,000	III	4
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Holanda)	30,000,000	III	5
<i>Diplogasteritus sp.</i> CENGICAÑA	30,000,000	III	6
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Cuba)	60,000,000	II	7
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Holanda)	60,000,000	II	8
<i>Diplogasteritus sp.</i> CENGICAÑA	60,000,000	II	9
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Cuba)	60,000,000	III	10
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Holanda)	60,000,000	III	11
<i>Diplogasteritus sp.</i> CENGICAÑA	60,000,000	III	12
Testigo absoluto	Agua estéril	II	13
Testigo absoluto	Agua estéril	III	14

Fuente: Autor.

Se confinaron 10 ninfas en una caja Petri/repetición experimental en sorgo de 7 días de edad, adaptadas horas antes de la evaluación; ello se constató a través de la verificación de formación de saliva de las ninfas. Las ninfas ya adaptadas se colocaron en contacto con inóculo de nematodos.

1. Preparación del inóculo

- ◆ 300 uij aplicadas en 2 ml de agua estéril; por caja, en el caso de la dosis de 30, 000,000 uij/ha; (150uij/ml).
- ◆ 600 uij aplicadas en 2 ml de agua estéril; por caja, en el caso de la dosis de 60, 000,000uij/ha; (300uij/ml).

Los nematodos fueron evaluados en calidad a través de la estimación de su viabilidad y conteo de uij's para establecer el volumen de nematodos requerido para preparar la solución de 30 millones o 60 millones/ hectárea, equivalentes a: 75,000 uij's / 500 ml y 150,000 uij's/ 500 ml; pues se prepararán atomizadores con medio litro de agua estéril con la adición de los nematodos correspondientemente para poder aplicar 2 ml en cada caja, se realizará una sola vez al inicio del ensayo, a través del índice de nematodos vivos observados de la muestra colectada.

Fórmula 11: Medición de Viabilidad

$$\% Viabilidad = \left(\frac{\# \text{ de nematodos en movimiento (vivos)}}{\# \text{ de nematodos colectados}} \right) \times 100$$

Fuente: Autor.

Con este índice se establecerá el tipo de nematodo con mayor posibilidad de parasitar las ninfas.

Al tratamiento testigo se ha de aplicar 2 ml por caja de agua estéril.

Las cajas Petri con las ninfas se mantuvieron a temperatura ambiente del área de conformidad, con temperatura media de $27^{\circ} \text{C} \pm 1$ y $75 \pm 5\%$ de humedad relativa.

D. Metodología para el conteo de nematodos multiplicados en alimento balanceado. (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar CENGICAÑA, área de Entomología, 2004)

Después de transcurridos 8 días de incubación de las bandejas con alimento balanceado donde se ha multiplicado el nematodo, se procede a realizar un conteo mediante la siguiente metodología.

1. Materiales:

- Cámara de conteo de nematodos.
- Cuadro de una pulgada cuadrada.
- Beacker 250 ml.
- Pipetas de 1 y 5 ml.
- Tubos de Ensayo.
- Estereoscopio.

2. Procedimiento

a. Clasificación de bandejas. Se deben clasificar las bandejas por la cantidad de nematodos que contengan, auxiliándose de un estereoscopio, las bandejas pueden ser clasificadas como buenas y regulares. Hay que tener en cuenta que las bandejas que presenten contaminación deben ser descartadas.

b. Extracción de la muestra. Se toma al azar una bandeja y se obtiene una muestra de una pulgada cuadrada, para obtener esta muestra se debe utilizar el cuadro de una pulgada cuadrada con el cual se marca en los extremos de la bandeja recuadros. Luego con una espátula se extrae un recuadro por cada extremo (en total cuatro), formando así una pulgada cuadrada.

c. Dilución. La muestra obtenida se suspende en un beacker con 200 ml de agua desmineralizada y se agita en la estufa-agitador por cinco minutos, luego se hacen diluciones de 1/10 hasta que se puedan contar fácilmente.

d. Conteo. Luego de las diluciones se extraen 2 mililitros para la lectura en la cámara de conteo para mayor facilidad se debe utilizar un estereoscopio. Usando un objetivo de 4X, contar los nematodos

bajo los cuadros principales de las esquinas del rayado. Se debe evitar el conteo doble de aquellos nematodos ubicados en las líneas límite entre los cuadrados.

El total de nematodos contados deberá dividirse por dos para obtener el valor promedio por mililitro. El valor promedio obtenido anteriormente deberá corregirse por procedimientos matemáticos, dependiendo del número de diluciones hasta llegar a la dilución original. Esto deberá proporcionar la información de número de nematodos por pulgada cuadrada, multiplicándolo por el número de pulgadas cuadradas que tiene una bandeja se obtendrá el total por bandeja.

Si la cámara de conteo de nematodos es de 1 ml de capacidad, entonces se omitirá la operación de dividir el total de nematodos contados por 2, pues se obtendría directamente el valor promedio por mililitro.

E. Metodología para el conteo y extracción de nematodos en presentación de esponja.

Después de realizada la obtención y dosificación de nematodos en el laboratorio, éstos proceden a empacarse en bolsas de polipropileno con esponjas de aproximadamente 20 cms x 10 cms, en su interior se depositan los ml necesarios de concentración pura de los mismos según el requerimiento de dosis. Al momento de realizarse un conteo para verificar la cantidad presente o estimaciones de viabilidad, los nematodos presentes en la esponja deben extraerse según la metodología a continuación.

1. Materiales:

- Cámara de conteo de nematodos.
- Beacker 1000 y 200 ml.
- Pipetas de 1, 5 y 10 ml.
- Tubos de Ensayo.
- Guantes de látex.
- Estereoscopio.

2. Procedimiento

a. Hidratación de esponja. Se deposita la esponja en el interior del Beacker de 1000 ml añadiéndose 500 ml de agua estéril, la esponja debe de movilizarse en el agua con auxilio de los guantes de látex para evitar contaminación. La esponja debe tratar de “enjuagarse” con el agua del Beacker y se

retira del agua exprimiéndola. Se debe de dejar reposar el agua del Beacker por una lapso de 20 – 30 minutos o bien se visualiza, los nematodos irán depositándose en el fondo del Beacker; así mismo se pueden visualizar las uij's mientras se asientan. Transcurrido ese tiempo se descarta el agua del Beacker que está sobre la concentración asentada de nematodos cuidadosamente.

b. Extracción de la muestra. La concentración obtenida se mide con una pipeta de 10 ml para conocer la concentración pura disponible. De esta concentración se traslada 1 ml a un Beacker con 199 ml de agua, completando 100 ml de solución, la cual se revuelve y se toma 1 ml.

c. Dilución. El ml extraído del Becker de 100 ml se deposita en un tubo de ensayo con 9 ml de agua, resultando en 10 ml, se toma 1 ml del tubo de ensayo y se traslada a otro tubo de ensayo con 9 ml de éste segundo tubo se toma 1 ml de solución para colocarlo en la cámara de conteo de nematodos.

d. Conteo. Para contar el ml de la cámara de conteo de nematodos se utiliza un estereoscopio, en el objetivo 4X se cuentan los nematodos teniendo precaución de no realizar un doble conteo por los nematodos que pueden estar ubicados en las líneas de límite de los cuadros de la cámara.

El total de nematodos contados deberá ser utilizado con cálculos matemáticos para obtener el total, según la fórmula siguiente:

Fórmula 16: estimación total de nematodos contados según diluciones.

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{N * dil1 * dil2 * 200}{\text{concentración total}}$$

Fuente: Laboratorio biológico de producción de nematodos entomopatógenos, Ingenio *Pantaleón S.A.*

Donde:

N= nematodos contados en la cámara.

dil1= dilución 1, es el tubo de ensayo donde se deposita 1 ml de nematodos provenientes de la mezcla de 1 ml de concentración total de éstos con 200 ml de agua, en 9 ml de agua.

dil2= dilución 2, es el otro tubo de ensayo donde se deposita 1 ml de la dilución 1, con 9 ml de agua.

200= son 200 ml de agua colocados en un Beacker donde se coloca 1 ml de la concentración total.

Concentración total= es la concentración total de nematodos medida con la pipeta, siendo los nematodos presentes en la la esponja, sin agua.

El total obtenido será la cantidad de nematodos presentes en un ml de muestra, es decir, la cantidad de unidades infectivas juveniles por 1 ml de muestra. Cabe mencionar que para dosificar se contabilizan los nematodos móviles para asegurar la cantidad de uij's disponibles para parasitar al momento de su aplicación.

Si no se dispone de un Beacker de 200 ml puede utilizarse uno de 100 ml teniendo cuidado de reemplazar el 200 de la fórmula 16 por 100.

F. Métodos estadísticos

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar.

Las lecturas o revisiones póstumo a la evaluación se llevaron a cabo cada 24 horas, extrayendo las ninfas muertas, éstas se colocaron en cámaras húmedas, las cuales consistieron en cajas Petri de 10 cms de diámetro; en cuyo interior se depositó un círculo de papel toalla del diámetro de la caja, sobre éste descansó un porta objetos acompañado de una bolita de algodón de aproximadamente 1 cm de diámetro; humedecida con 0.5 ml de agua, todo los utensilios fueron previamente autoclavados a 121°C durante 15 minutos.

Las ninfas se examinaron bajo un estereoscopio a las 120 horas o 5 días después se haber sido extraídas de las cajas. Las cajas se revisaron en un período de 5 días consecutivos, período en el cual; se pudo manifestar la mortalidad natural o la virulencia de los nematodos en las ninfas, o bien, que algunas ninfas no presentasen tal virulencia.

1. **Variabes a evaluar.** Se estimaron los promedios de parasitismo, mortalidad y ninfas no parasitadas, es decir, aquellas que siguieron vivas e inclusive pudieron pasar a estado adulto. Se estimó el promedio de ninfas por tratamiento, y se corrigió teniendo en cuenta la mortalidad en el testigo. (Schneider-Orelli, 1947)

Fórmula 12: Mortalidad de Abbott:

$$\% \text{ Mortalidad} = 1 - \left(\frac{\text{individuos vivos} - \text{individuos muertos}}{\text{individuos vivos}} \right) \times 100$$

Fuente: (Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, 1997)

Fórmula 13: Mortalidad corregida en base a la fórmula de Scheider- Orelli:

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{\% mt - \% mta}{100 - \% mta} \times 100$$

Fuente: (Schneider- Orelli, 1947)

Donde:

mt= mortalidad en el tratamiento.

mta= mortalidad en testigo absoluto.

Los datos se analizaron según cada tratamiento, determinando los nematodos con mayor parasitismo a través de la comparación entre las medias de cada uno, a su vez, se compararon entre dosis aplicadas en ninfas del mismo instar; para establecer los nematodos más eficaces para controlar la chinche salivosa en un determinado instar; además de ello, se analizaron las medias mediante análisis de varianza con valor f de 0.05% de significancia.

2. Diseño completamente al azar, aleatorio simple. Se arregló el material con igual número de réplicas por tratamiento, tal como describe el protocolo de Hinkelman y Kempthorne (1994), en consideración que:

Se tuvieron N=tr. Siendo.

r = repeticiones: 3 repeticiones por tratamiento.

UE = unidades experimentales homogéneas: las ninfas de un mismo instar, 10 ninfas por cada repetición.

t = tratamientos: las 3 procedencias de los nematodos.

Fórmula 14: Modelo Experimental de un Diseño Completamente Aleatorio.

$$Yt_r = \mu + t_r + \varepsilon_{tr}$$

Fuente: (Galeon hispavista, 2015)

Donde:

Yt_r = Variable respuesta en la r-ésima repetición del t-ésimo tratamiento

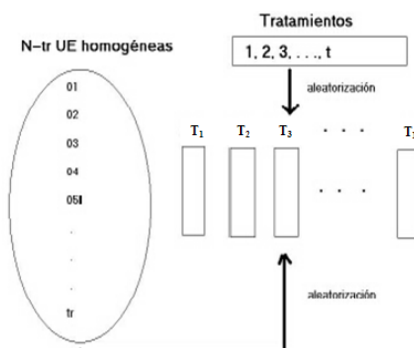
μ = Media general

t_r = Efecto del tratamiento t, es decir, efecto de los nematodos aplicados a las ninfas.

ε_{ti} = Error aleatorio, donde $\varepsilon_{tr} \sim N(0, \sigma^2)$, no debe ser mayor de 12 grados de error experimental; originado por manejo, condiciones, etc.

Los tratamientos se asignaron al azar a los grupos tales que el i -ésimo tratamiento es aplicado a cada una de las repeticiones con sus unidades experimentales en el i -ésimo grupo.

Figura 19: modelo de aleatorización para el diseño completamente al azar, según Hinkelmann y Kempthorne (1994).



Fuente: (Virtual Unal, 2000)

a. Aleatorización. Se utilizó la opción de Ran#, disponible en las calculadoras científicas en varias presentaciones. En tal caso se utilizó la calculadora modelo fx-350 MS marca comercial Casio. Antes de aleatorizar, cada caja fue identificada con un número del 1 al 12, la opción Ran# sirvió para establecer las cajas que conformaron cada tratamiento.

1) Opción Ran#. Esta opción genera números aleatorios entre un valor establecido, para la correlación de este método se identificaron todas las repeticiones con un número del 1 al 12, pues son 3 réplicas/tratamiento, incluyendo al testigo. Para efectuar dicha opción en la calculadora se estableció el número límite, en este caso es 12, consecuentemente se activó la función con Shift + Ran# = la cual produjo un número al azar entre 0 y 12. Se seleccionaron los dos primeros dígitos enteros, los decimales se descartaron. A los valores repetidos no se les tomó en cuenta. Según el número resultante, así se tomó la caja para formar el tratamiento, por ejemplo si se empezó a seleccionar las repeticiones del primer tratamiento se tomaron los primeros 3 números salientes, y se rotularon según su tratamiento.

3. Análisis de varianza, ANOVA. Se utilizaron las herramientas estadísticas de Microsoft Office Excel 2,010; para realizar el ANOVA; con el fin de establecer estadísticamente si existieron diferencias significativas o no, partiendo de las hipótesis:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3,$$

es decir, las medias del parasitismo de los nematodos aplicados son iguales.

$$H_A = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

es decir, las medias de la efectividad en parasitismo de los nematodos aplicados no son iguales

Siendo μ_n el valor de la media poblacional de la efectividad en parasitismo de los nematodos aplicados.

Los resultados obtenidos se sintetizaron en una tabla o cuadro de resultados.

a. Tabla de análisis de varianza en síntesis:

Cuadro 5: Tabla de análisis de varianza generalizada.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor F
Entre muestras (tratamiento)	SCTR	c-1	SCTR / (c - 1)	CMTR/ CME
Dentro de muestras (error)	SCE	n - c	SCE / (n - c)	
Variación total	SCT	n - 1		

Fuente: (Webster, 2000)

4. Pruebas para la diferencia entre pares de medias. El análisis de varianza dice si todas las medias son iguales. Sin embargo, cuando se rechaza la hipótesis nula, el análisis de varianza no revela cuál (es) media(s) es(son) diferentes del resto. Se deben utilizar otras pruebas estadísticas para tomar esta determinación. Estas pruebas consisten en una comparación por pares, de todos los pares de medias posibles. Si el valor absoluto de la diferencia entre dos medias muestrales cualquiera es mayor que algún estándar, se observa como una diferencia significativa, y se concluye que las medias poblacionales respectivas son diferentes. Se puede determinar este estándar debido a una diversidad de procedimientos estadísticos incluyendo el método de Tukey y la diferencia mínima significativa (DMS). (Webster, 2000)

a. Prueba para diseños balanceados. Ambos métodos mencionados con anterioridad se utilizan si existe igual número de observaciones en cada muestra. Se dice que tales diseños del análisis de varianza son balanceados. Al ser un diseño que cumple con la estimación de ser balanceado se hará uso del método de Tukey.

b. El método de Tukey. Desarrollado en 1953 por J.W. Tukey, requiere el cálculo del criterio de Tukey, T.

Fórmula 15: cálculo de Tukey.

$$T = q_{\alpha, c, n-c} \sqrt{\frac{CME}{r}}$$

Fuente: (Webster, 2000)

Donde:

q= distribución de rangos estudentizada.

c = número de muestras o tratamientos.

n= número total de observaciones en todas las muestras combinadas.

n – c= grados de libertad.

α = valor α seleccionado.

El criterio estándar de Tukey resultante se ha de comparar entonces con la diferencia absoluta entre cada par de medias muestrales. Si cualquier par de medias muestrales tiene una diferencia absoluta mayor que el valor T, se podrá concluir que tales medias poblacionales respectivas no son iguales.

VI. RESULTADOS

A. Material biológico

1. Nematodos entomopatógenos procedentes de Cuba y Holanda. El ingenio azucarero *Pantaleón S.A.* Proporcionó la especie de nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* con procedencia de Cuba y Holanda en presentaciones de 60, 000, 000 uij de concentración pura en esponja, siendo una esponja/ cada procedencia de nematodo a 3 días después de colectarse de la multiplicación previa realizada en larvas de *Galleria mellonella* en dieta artificial. Para su extracción se colocaron las esponjas en 600 ml de agua estéril para que las uij's pudieran salir de estas y así poder utilizarlas.

Figura 20: Nematodos brindados por *Pantaleón S.A.* Presentación de esponja



Fuente: Autor.

Figura 21: Esponjas en hidratación para extracción de las uij's.



Fuente: Autor.

2. Nematodo entomopatógeno procedente de CENGICAÑA. CENGICAÑA dispuso para la investigación la especie de nematodo *Diplogasteritus sp.* En presentación de una bandeja plástica; en la cual se multiplicó previamente el nematodo por medio de alimento balanceado para caninos, siendo útil para su extracción la ejecución de la metodología para conteo de nematodos, según CENGICAÑA, 2015.

Figura 22: Nematodos provenientes de CENGICANÑA, dispuestos en alimento balanceado para canes.



Fuente: Autor.

3. Cercópidos de la caña de azúcar. De los cañaverales colindantes al casco central del ingenio azucarero *Pantaleón S.A.* Fueron tomadas ninfas de la chinche salivosa de la especie *Aeneolamia postica* por personal de muestreos de plagas en campo; las ninfas fueron depositadas en recipientes plásticos en cuyo interior previamente se depositó pasto del género *Rottboellia sp.* Las ninfas se extrajeron con su saliva y se protegieron los recipientes de la luz directa del sol para evitar que éstas se expusieran y murieran por deshidratación, obtenidas las ninfas se trasladaron inmediatamente al área de experimentación.

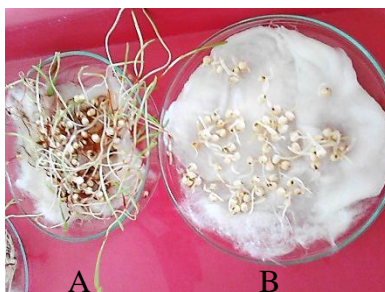
Figura 23: vista en campo de las ninfas de *A. postica*.



Fuente: Autor.

4. Hospedero de la chinche salivosa de la caña de azúcar *A. postica*. Una semana previa a la evaluación se dispusieron a germinar semillas de sorgo sobre algodón en fondos de cajas Petri de vidrio, con fines de obtener alimento para las ninfas por disposición radicular. Las semillas germinadas y adaptadas a su medio se revisaron para verificar la disposición de humedad para las plántulas. Listos los hospederos se procedió a clasificar las ninfas por instar según los tratamientos y se dejó un lapso de 4 horas para que éstas pudiesen formar su saliva según las características como insecto.

Figura 24: Germinación de semillas de sorgo en cajas Petri. (A) a 96 horas, (B) a las 72 horas.



Fuente: Autor

B. Prueba por patogenicidad de los nematodos entomopatógenos a ninfas II y III instar de *A. postica* bajo condiciones de laboratorio.

1. Preparación del inóculo. Obtenidos los nematodos en concentración pura se procedió a realizar su conteo según la metodología descrita por CENGICAÑA 2,015.

Cuadro 6: Concentración obtenida del conteo de control de calidad de los nematodos.

Especie del nematodo	Procedencia del nematodo	Concentración de nematodos/ ml del conteo en cámara	ml de nematodos requeridos para preparar 500 ml de solución equivalentes a dosis de	
			30 , 000, 000 uij	60 , 000, 000 uij
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Cuba	244,000 uij	0.61	0.31
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Holanda	448,000 uij	0.33	0.17
<i>Diplogasteritus sp.</i>	CENGICAÑA	416,000 uij	0.36	0.18

Fuente: Autor.

a. Medición de la viabilidad. Para la realización de las dosis requeridas se hizo control de calidad de viabilidad en los nematodos; el cual consistió en contabilizar los nematodos muertos, que se presentan totalmente rectos; sin movilidad alguna a comparación de los vivos, contabilizando también los nematodos en total de la muestra. El conteo se hizo en la cámara de nematodos.

Cuadro 7: Viabilidad obtenida de los nematodos para dosificación.

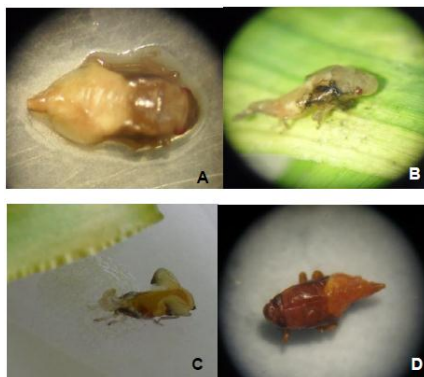
Especie del nematodo	Procedencia del nematodo	% Viabilidad
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Cuba	52.586
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Holanda	95.412
<i>Diplogasteritus sp.</i>	CENGICAÑA	92.561

Fuente: Autor

2. **Sintomatologías.** Las ninfas aplicadas desarrollaron síntomas diversos clasificados en 3 categorías: parasitadas por nematodos, mortalidad sin influencia de nematodos y sobrevivencia ante el parasitismo.

a. **Parasitadas por nematodos.** Las ninfas parasitadas por nematodos se tornan anaranjadas o rojizas, en el caso de ser ataque de *Heterorhabditis bacteriophora*, su cuerpo se torna flácido y se rodea de líquido desapareciendo la saliva protectora. En algunos casos las ninfas intentan pasar a la fase adulta, resultando en una ninfa deforme que al examinar por el estereoscopio pueden visualizarse uij's en su interior. (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

Figura 25: Sintomatología del ataque de nematodos en ninfas de Chinche Salivosa. A. Flacidez. B y C. Malformación en la metamorfosis a adulto. D. Cambio de coloración causado por nematodos Heterorhabdítidos.



Fuente: (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

b. **Mortalidad sin influencia de nematodos.** El deceso de las ninfas ocurre sin haber sido causado por el ataque de nematodos, la saliva que rodea a las ninfas se seca y su cuerpo se vuelve rígido. Al examinarse en el estereoscopio no hay presencia de uij's.

Figura 26: Mortalidad de la ninfa sin influencia de ataque por nematodos.



Fuente: Autor

c. **Sobrevivencia ante el parasitismo.** Las ninfas pueden llegar a no verse afectadas por los nematodos, continuando con su ciclo de vida pasando al siguiente instar, las ninfas de instar II pasan al III hasta llegar a adultas. Estando en ninfa la saliva no desaparece y al paso de unos días éstas salen de la misma a través de un orificio ya desarrolladas completamente en adultas. Los adultos mueren en un lapso de 1 a 3 días. (Universidad Nacional de Colombia, 2011)

3. **Resultados de la evaluación.** Los rendimientos de eficiencia de parasitismo, estimaciones de mortalidad y no parasitismo o sobrevivencia hacia estado adulto del insecto, ante el ataque de nematodos se presentan en el cuadro siguiente (ver Cuadro 8):

Cuadro 8: Resultados de la prueba de patogenicidad de los nematodos en ninfas II y III de Chinche salivosa

Tipo de nematodo	Concentración uij (Unidad infectiva juvenil)	Instar de A. postica	# tratamiento	% Parasitismo	% Mortandad	% Mortandad corregida	% No parasitismo
<i>H. bacteriophora</i> (Cuba)	30.000.000	II	1	6,67	3,33	0,00	90,00
<i>H. bacteriophora</i> (Holanda)	30.000.000	II	2	36,67	13,33	10,34	50,00
<i>Diplogasteritus sp.</i> CENGICAÑA	30.000.000	II	3	40,00	10,00	6,90	50,00
<i>H. bacteriophora</i> (Cuba)	30.000.000	III	4	6,67	10,00	6,90	83,33
<i>H. bacteriophora</i> (Holanda)	30.000.000	III	5	33,33	10,00	6,90	56,67
<i>Diplogasteritus sp.</i> CENGICAÑA	30.000.000	III	6	43,33	10,00	6,90	46,67
<i>H. bacteriophora</i> (Cuba)	60.000.000	II	7	20,00	13,33	10,34	66,67
<i>H. bacteriophora</i> (Holanda)	60.000.000	II	8	73,33	16,67	13,79	10,00
<i>Diplogasteritus sp.</i> CENGICAÑA	60.000.000	II	9	86,67	6,67	3,45	6,67
<i>H. bacteriophora</i> (Cuba)	60.000.000	III	10	10,00	16,67	13,79	73,33
<i>H. bacteriophora</i> (Holanda)	60.000.000	III	11	80,00	6,67	3,45	13,33
<i>Diplogasteritus sp.</i> CENGICAÑA	60.000.000	III	12	83,33	10,00	6,90	6,67

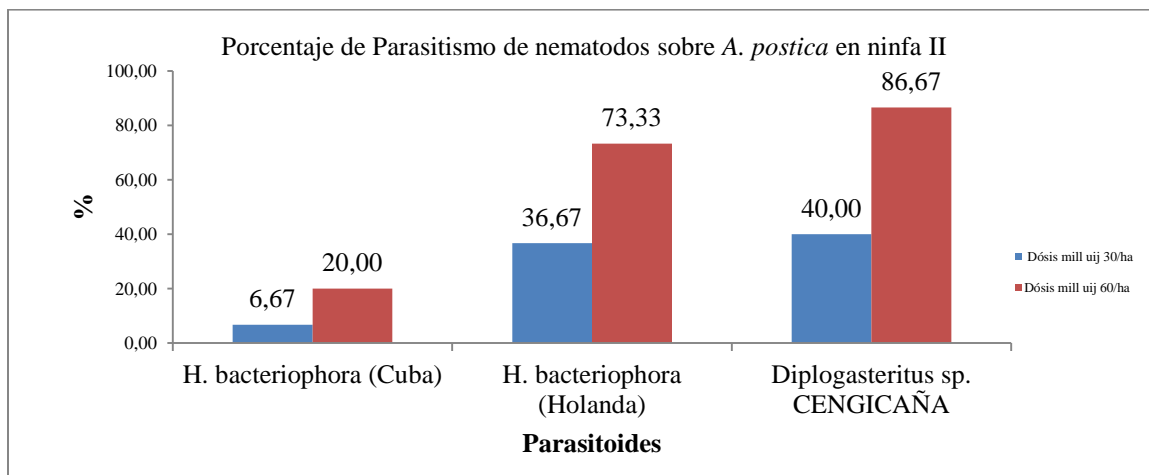
Continuación Cuadro 8.

Tipo de nematodo	Concentración uij (Unidad infectiva juvenil)	Instar de A. postica	# tratamiento	% Parasitismo	% Mortandad	% Mortandad corregida	% No parasitismo
Testigo absoluto	Agua estéril	II	13	0,00	3,33	-	96,67
Testigo absoluto	Agua estéril	III	14	0,00	3,33	-	96,67

Fuente: Autor

4. Rendimientos de eficacia de los nematodos evaluados. Se estimaron los rendimientos de los nematodos aplicados según la mortalidad causada por los mismos; considerando además la mortalidad posible en las ninfas y su sobrevivencia ante el ataque de los nematodos.

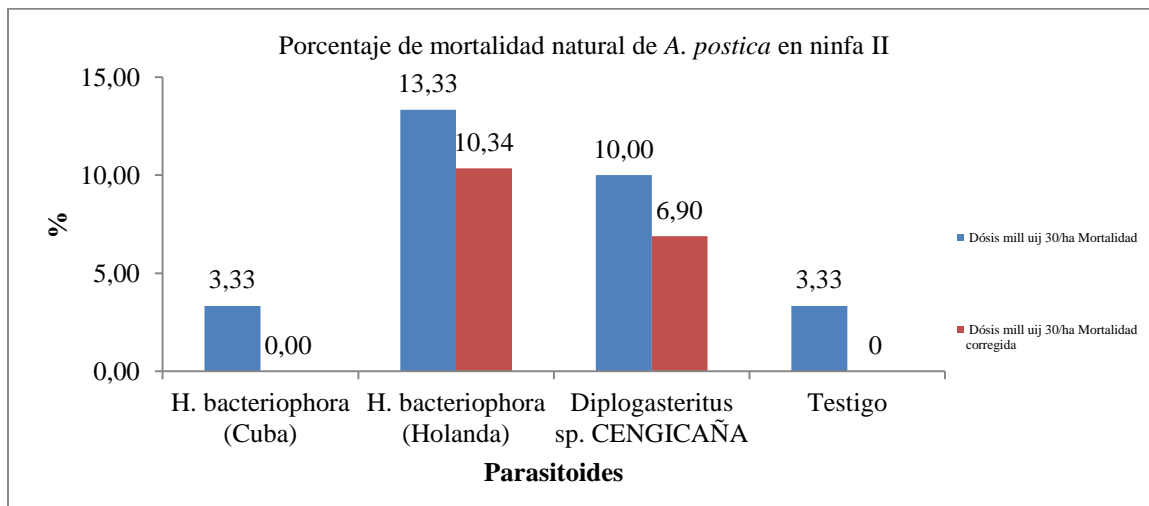
Figura 27: Efectividad porcentual de parasitismo de los factores A y B sobre el factor C de la investigación.



Fuente: Autor

H. bacteriophora procedente de Cuba obtuvo bajos rendimientos en parasitismo ante ninfas de estadio II de chinche salivosa, a pesar de ser aplicado en dos dosis distintas; ante esto la misma especie pero de diferente procedencia, siendo *H. bacteriophora* de Holanda más del doble de eficaz para controlar al mismo estado ninfal; presentando mayor mortalidad en dosis de 60 millones de uij/ha. No obstante, *Diplogasteritus* sp. De CENGICAÑA queda en el rango más alto de control en ambas dosis evaluadas, sobrepasando en 3% para el caso de 30 mill uij/ha y 13% en 60 mill uij/ha a los nematodos de Holanda.

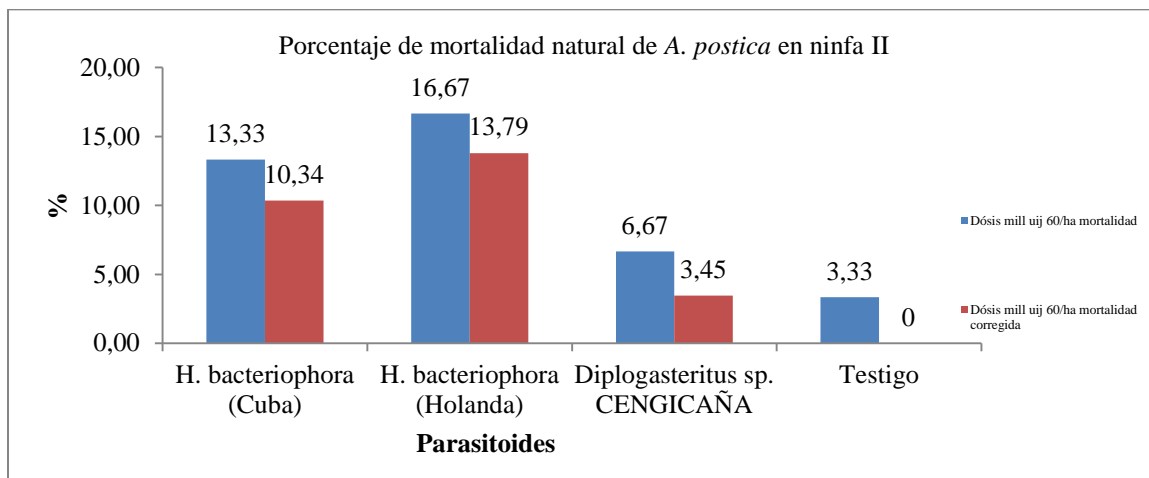
Figura 28: Mortalidad de las ninfas ínstar II de *A. postica* en la evaluación de 30 mill uij/ha.



Fuente: Autor

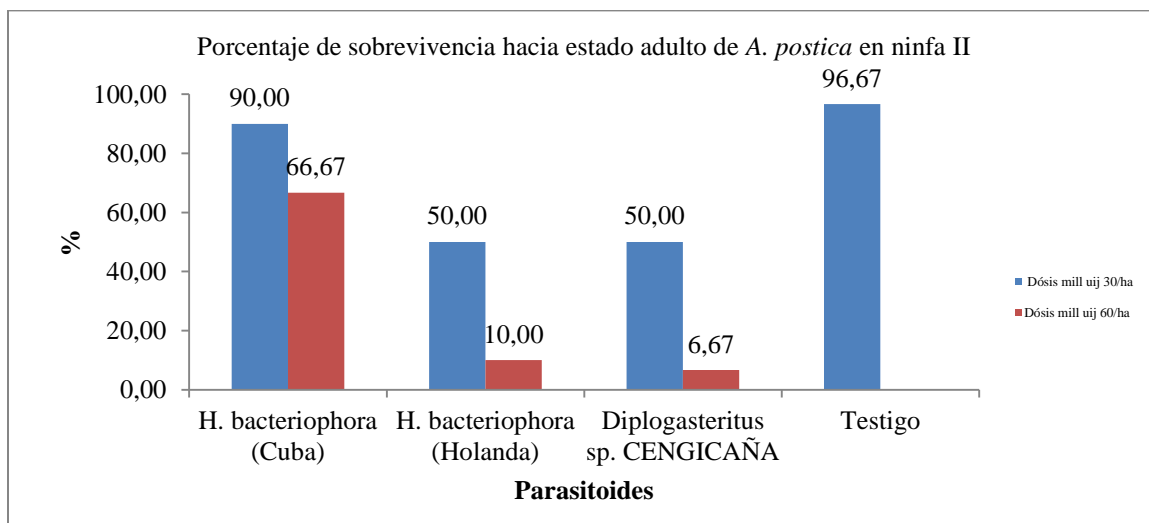
Durante la evaluación se presentó mortalidad en los tratamientos; siendo crucial estimar la mortalidad del testigo como factor influyente también en la eficacia de los nematodos, considerándose como mortalidad corregida en los tratamientos; puesto que ésta mortalidad hace constatar el deceso de los insectos por naturaleza. Se presentó la mayor mortalidad de ninfas con un 13.33% a razón del testigo fue científicamente de 10.34% para los nematodos de Holanda; mientras que en los nematodos de CENGICAÑA fue de 6.90%

Figura 29: Mortalidad de las ninfas ínstar II de *A. postica* en la evaluación de 60 mill uij/ha.



Fuente: Autor.

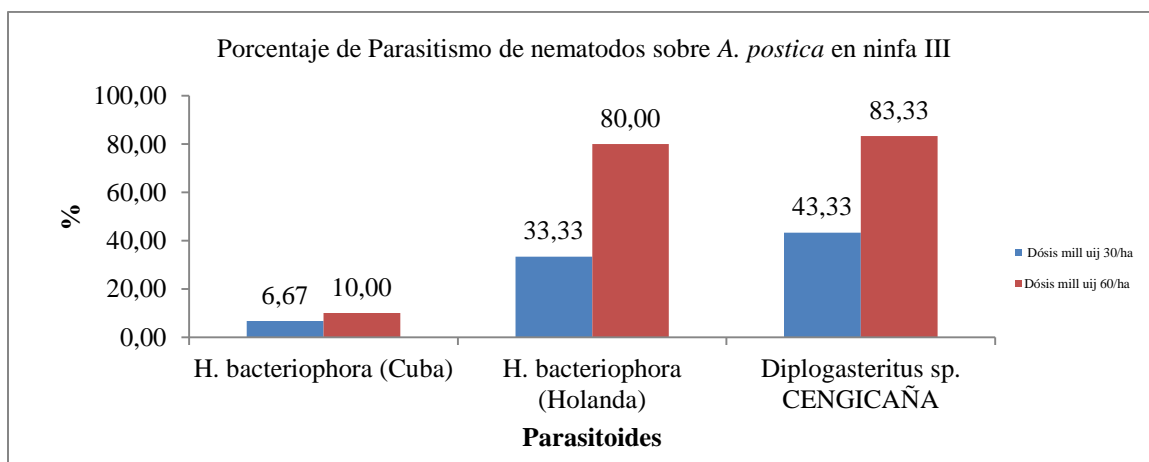
En las dosis más fuerte de nematodos evaluada, la mayor presencia en mortandad la presentaron las ninfas de los nematodos holandeses, con el 13.79% relativo al 10.34% de deceso en las ninfas tratadas con nematodos de Cuba. La mortalidad más baja fue de 3.45% con las ninfas aplicadas con nematodos de CENGICAÑA, tales valores fueron analizados considerando la mortalidad del testigo, en pauta clave de estimación en la mortalidad real.

Figura 30: Supervivencia porcentual de *A. postica* en ninfa II a las dosis evaluadas.

Fuente: Autor.

Considerando que, los nematodos de Cuba fueron los que menor eficacia de ataque tuvieron en ambas dosis evaluadas con rendimientos de 6.67% y 20% para las dosis de 30 y 60 mill uij/ha; éstos dieron pauta a que mayor cantidad de ninfas sobrevivieran y continuaran su ciclo de vida, con más del 65% de insectos vivos en ambas dosis; para el caso de los nematodos de CENGICAÑA y los de Holanda, siendo de especies distintas; ambos fueron altamente efectivos en las dosis de 60 mill uij/ha en control, dejando solamente para el caso de los nematodos de Holanda, el 10.00% y para *Diplogasteritus sp.* El 6.67% de ninfas vivas. En las dosis de 30 mill uij/ha en ambos casos se dieron sobrevivencias del 50% mostrando menor eficiencia de control.

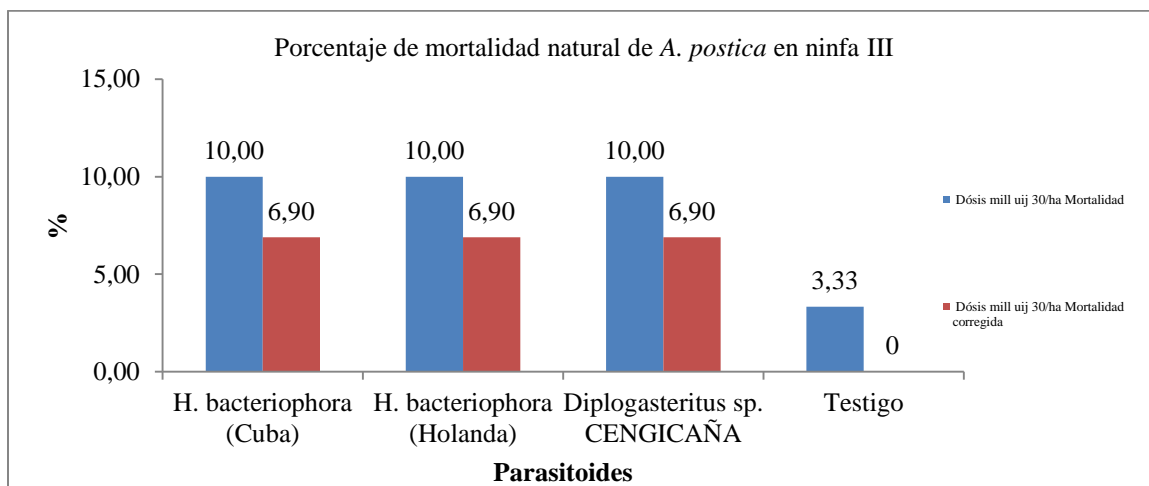
Figura 31: Efectividad porcentual de parasitismo de los factores A y B sobre el factor D de la investigación.



Fuente: Autor.

Los nematodos con mayor eficiencia de control en ninfas de estadio III fueron los de CENGICAÑA con 83.33% y Holanda con 80.00%; ambos casos en dosis de 60 mill uij/ha el menor control se dio para la misma dosis de parte de los nematodos de Cuba con 10.00%. Mientras que en las dosis de 30 mill uij/ha el control más alto fue de los nematodos CENGICAÑA con 43.33% continuos a los nematodos de Holanda con 10% de diferencial.

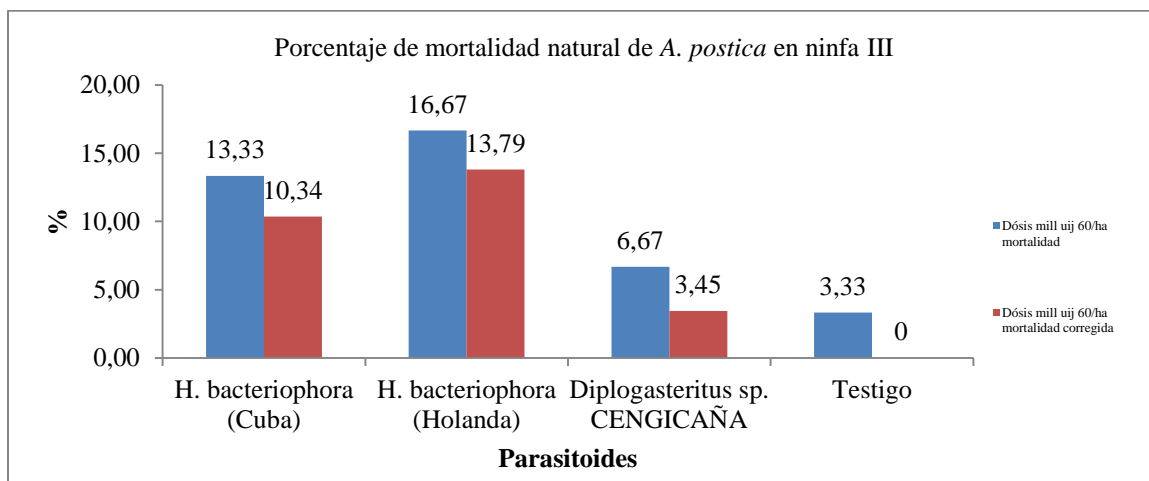
Figura 32: Mortalidad de las ninfas ínstar III de *A. postica* en la evaluación de 30 mill uij/ha.



Fuente: Autor.

En las dosis de 30 mill uij/ha se presentó mortalidad en las ninfas del 6.90% con los tres parasitoides tomando en cuenta la mortalidad en el testigo.

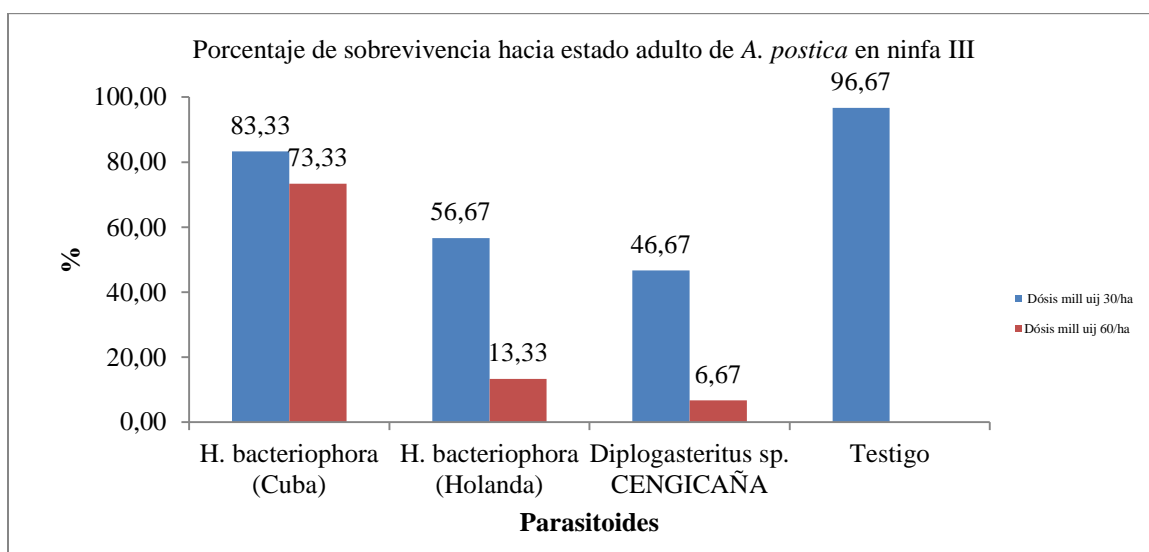
Figura 33: Mortalidad de las ninfas ínstar III de *A. postica* en la evaluación de 60 mill uij/ha.



Fuente: Autor.

La mayor mortalidad presentada fue de 13.79% de las ninfas tratadas con nematodos holandeses, esta mortalidad fue seguida por el 10.34% de las ninfas aplicadas con nematodos cubanos; del lado de las ninfas expuestas a nematodos de CENGICAÑA fue de 3.45%. La mortalidad estimada fue de causa indistinta a la aplicación de los parasitoides.

Figura 34: Supervivencia porcentual de *A. postica* en ninfa III a las dosis evaluadas.



Fuente: Autor.

Los niveles de supervivencia de parte de las ninfas III se presentaron altos de parte de los nematodos cubanos, permitiendo el 83.33% y 73.33% de continuación de las ninfas hacia su siguiente fase de ciclo de vida en ambas dosis; situación contraria para los nematodos holandeses y de CENGICAÑA, puesto que en los primeros en dosis de 60 mill uij/ha sobrevivieron el 13.33% y en los segundos el 6.67%, una cantidad mayor sobrevivió en las dosis de 30 mill uij/ha pero no más grande que en los nematodos de Cuba, para los nematodos de Holanda fue de 56.65% y en los diplogasterítidos fue de 46.64%.

C. Métodos estadísticos

1. Análisis de varianza ANOVA. Se analizaron los factores A, B en el factor C así como en D, a través de las medias de efectividad de control de las ninfas según los parasitoides. Los resultados se resumen en cuadros de análisis de varianza; los cálculos se hicieron en hojas de cálculo de Microsoft Excel 2,010.

Cuadro 9: Análisis de Varianza de la evaluación

Resumen de análisis de varianza de los factores A, B y C

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Tratamiento 1	3	20	6,667	33,333
Tratamiento 2	3	110	36,667	33,333
Tratamiento 3	3	120	40	100
Tratamiento 4	3	20	6,667	33,333
Tratamiento 5	3	100	33,333	33,333
Tratamiento 6	3	130	43,333	33,333
Tratamiento 7	3	60	20	0
Tratamiento 8	3	220	73,333	33,333
Tratamiento 9	3	260	86,667	33,333
Tratamiento 10	3	30	10	0
Tratamiento 11	3	240	80	0
Tratamiento 12	3	250	83,333	33,333

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	30666,667	11	2787,87879	91,2396694	8,1534E-17	2,21630865
Dentro de los grupos	733,333	24	30,5555556			
Total	31400	35				

Fuente: autor

El valor F obtenido al efectuar el análisis de varianza fue de 91,23 siendo mayor, ante el valor crítico correspondiente de F de 2,216, por lo tanto; estadísticamente se rechaza la hipótesis nula, entonces, las medias de efectividad de parasitismo de los nematodos evaluados en chinche salivosa son diferentes.

2. Prueba de pares de medias. El ANOVA realizado estimó que, estadísticamente las hipótesis nulas se rechazaban pero no determinó la efectividad de parasitismo de nematodos aplicados que más control obtuvo sobre las ninfas de chinche salivosa; por tal razón, las medias fueron analizadas mediante la prueba de pares de medias.

Cuadro 10: Prueba de pares de medias de las dosis de 30 mill uij's aplicadas en ninfa II de chinche salivosa.

Promedio general	43,33	
SCT	31400,00	
SCTR	30666,67	
SCE	733,33	
CMTR	2787,88	
CME	30,56	
Razón F	91,24	
Alfa	5%	
Grados libertad SCE	24,00	
Grados libertad SCTR	11,00	
Valor crítico de F	2,22	
Prueba de pares de medias		
Valor crítico para Alfa	5,1	
Razón T	16,28	
Tratamientos	Valor absoluto	Resultante en comparación con Razón T
T1 – T2	30,0	mayor
T1 – T3	33,3	mayor
T1 - T4	0,0	menor
T1 – T5	26,7	mayor
T1 - T6	36,7	mayor
T1 - T7	13,3	menor
T1 - T8	66,7	mayor
T1 - T9	80,0	mayor
T1 - T10	3,3	menor
T1 - T11	73,3	mayor
T1- T12	76,7	mayor
T2 – T3	3,3	menor
T2 - T4	30,0	mayor
T2 – T5	3,3	menor
T2 - T6	6,7	menor
T2 - T7	16,7	mayor
T2 - T8	36,7	mayor
T2 - T9	50,0	mayor
T2 - T10	26,7	mayor
T2 - T11	43,3	mayor
T2- T12	46,7	mayor

Continuación Cuadro 10.

Tratamientos	Valor absoluto	Resultante en comparación con Razón T
T3 - T4	33,3	mayor
T3 - T5	6,7	menor
T3 - T6	3,3	menor
T3 - T7	20,0	mayor
T3 - T8	33,3	mayor
T3 - T9	46,7	mayor
T3 - T10	30,0	mayor
T3 - T11	40,0	mayor
T3- T12	43,3	mayor
T4 - T5	26,7	mayor
T4 - T6	36,7	mayor
T4 - T7	13,3	menor
T4 - T8	66,7	mayor
T4 - T9	80,0	mayor
T4 - T10	3,3	menor
T4 - T11	73,3	mayor
T4- T12	76,7	mayor
T5 - T6	10,0	menor
T5 - T7	13,3	menor
T5 - T8	40,0	mayor
T5 - T9	53,3	mayor
T5 - T10	23,3	mayor
T5 - T11	46,7	mayor
T5- T12	50,0	mayor
T6 - T7	23,3	mayor
T6 - T8	30,0	mayor
T6 - T9	43,3	mayor
T6 - T10	33,3	mayor
T6 - T11	36,7	mayor
T6- T12	40,0	mayor
T7 - T8	53,3	mayor
T7 - T9	66,7	mayor
T7 - T10	10,0	menor
T7 - T11	60,0	mayor
T7- T12	63,3	mayor
T8 - T9	13,3	menor
T8 - T10	63,3	mayor
T8 - T11	6,7	menor
T8 - T12	10,0	menor
T9 - T10	76,7	mayor
T9 - T11	6,7	menor
T9- T12	3,3	menor
T10 - T11	70,0	mayor
T10 - T12	73,3	mayor
T11- T12	50,0	mayor

Fuente: autor.

Mediante el análisis de pares de medias, estadísticamente, se tiene el 95% de seguridad que solamente hay ciertos tratamientos que tienen igual nivel promedio de efectividad de parasitismo, pues los puntos que resultaron menores en su valor ante la Razón T son correspondientes a los nematodos:

- *Heterorhabditis bacteriophora* de Cuba, estos nematodos obtuvieron los niveles más bajos de eficacia para controlar ninfas de Chinche salivosa en instar II y III, desde 6.6% hasta 20%.
- *Heterorhabditis bacteriophora* de Holanda presentó niveles de efectividad cercanos a los obtenidos con *Diplogasteritus sp.* De CENGICAÑA, estos nematodos controlaron niveles de las poblaciones de ninfa de Chinche salivosa en ninfa II y III de 33.33% al 80%, los de CENGICAÑA controlaron de 40% hasta 86.6%. En ambos casos, los niveles de porcentaje bajo corresponden a las aplicaciones de 30 mill uij's/ha; el control alto de población fue con dosis de 60 mill uij's/ha.

Estadísticamente, al aplicar 30 mill uij's/ha de *Diplogasteritus sp.* De CENGICAÑA para controlar tanto a la ninfa II como III de Chinche Salivosa resulta en niveles de control de parasitismo iguales, no existe diferencia significativa entre su rendimiento. El mismo panorama, estadísticamente, resulta si se utiliza *Heterorhabditis bacteriophora* de Holanda en 30 mill uij's/ha en ninfas II o III de la Chinche.

VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A. Material biológico

1. Nematodos entomopatógenos. Los nematodos poseen un movimiento propio conocido como nictación, que consiste en la prolongación posterior del cuerpo, en forma ondulatoria, quedando totalmente parado en su parte posterior, hasta el momento en el cual se prepara para el salto hacia el hospedante (Ishibashi y Condo, 1990). Tal movimiento fue clave para la identificación de movilidad de los nematodos evaluados; ya que de esta forma se identificaron los nematodos activos en el momento de estimar su viabilidad para la aplicación de las dosis en uij's disponibles para poder analizar la eficacia de ataque de éstos ante los cercópidos de chinche salivosa.

2. Prueba por patogenicidad de los nematodos entomopatógenos a ninfas II y III instar de *A. postica* bajo condiciones de laboratorio. Se han realizado investigaciones sobre nematodos en plagas de la raíz, como indica (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar CENGICAÑA, área de Entomología, 2004), en el cual evaluó distintas concentraciones para determinar el 50% de mortalidad en individuos, los objetos de investigación fueron: gallina ciega, gusano alambre y chinche hedionda; con rendimientos de 15.30 veces más patogénicos los Heterorhabdítidos ante los Diplogasterítidos con 9 días de después de la inoculación, en el caso de las ninfas de chinche hedionda se obtuvo que el nematodo *Heterorhabdits sp.* Fue 8.25 veces más patogénico que *Diplogasteritus sp.* Durante la evaluación efectuada con tres procedencias de nematodos con chinche salivosa en ninfa se obtuvieron resultados del 6% de patogenicidad mayor de parte de *Diplogasteritus sp.* Ante *Heterorhabditis bacteriophora* procedente de Holanda.

a. Consideraciones para inoculación de nematodos. Los factores ambientales determinantes para la sobrevivencia en campo se relacionan con la temperatura, la desecación y la humedad. Independiente al aislamiento del nematodo, la concentración, la exposición a uno o varios hospederos y las condiciones óptimas, solamente entre un 30 a 40 por ciento de los nematodos infectan al hospedero. Con base en los estudios de Bedding, (1983) se ha comprobado que los nematodos no pueden excavar ni nadar. Ellos se mueven a través de la tensión superficial que se produce en la película húmeda alrededor de las partículas del suelo. En condiciones controladas, es adverso pues se pueden manejar rangos de temperatura y humedad, se controla el hospedero vegetal para los nematodos mas no se modifica al huésped pues sobre éste se analiza si el nematodo ha sido capaz de actuar; en ambientes manejables se descartan variaciones de campo pues el ambiente puede regularse y disponerse según parámetros elegibles por el evaluador para poder analizar sin fluctuaciones difíciles de descartar por su influencia.

3. Sintomatologías

a. Parasitismo por nematodos. Contextualmente, los hospederos afectados por nematodos entomopatógenos fallecen por Septicemia, (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar CENGICAÑA, área de Entomología, 2004). Debido a que a través de la hemolecele se trasladan las bacterias mutualistas de los nematodos provocando infecciones en los huéspedes, al liberar la bacteria se crea un ambiente adecuado para su desarrollo produciendo antibióticos, que suprimen la competencia de organismos secundarios, desdoblando los tejidos en nutrientes utilizables; en las ninfas de la chinche salivosa se ha presentado como: flacidez, cambio de color, como en el caso de los Heterorhabdítidos que fue tono rojizo, tales síntomas fueron notorios con a más de 5 días después de la inoculación.

4. Rendimientos de la evaluación. Bioensayos realizados en diferentes insectos para el programa de manejo integrado de plagas de CENGICAÑA, CAÑAMIP, en el área de Entomología, empleando una serie logarítmica de nueve concentraciones más un testigo con agua destilada con rangos de concentraciones de 20 hasta 6,000 nematodos por ml, hubieron concentraciones letales que provocaron el 50% en las ninfas de chinche hedionda el nematodo *Heterorhabdits sp.* Fue 8.25 veces más patógeno que *Diplogasteritus sp.* Sin embargo, en tal evaluación no se aplicaron nematodos en ninfas de Chinche salivosa.

De las tres procedencias de nematodos evaluadas, los nematodos de mayor efectividad en las ninfas de instar II y III fueron los brindados por CENGICAÑA, *Diplogasteritus sp.* Con rendimientos diferenciales del 6% ante *Heterorhabditis bacteriophora* de Holanda y 52% para los nematodos de Cuba; siendo el doble de eficaz ante este último, con distinción además que los diplogasterítidos necesitan para poder infectar, que un individuo de cada género ingrese al mismo hospedero, mientras que los heterorhabdítidos no, pues son hermafroditas.

La mortalidad presentada durante la evaluación se estimó con dos diferencias: mortalidad resultante de la evaluación y mortalidad corregida, pues al ser un organismo vivo, existe la posibilidad de mortandad por factores distintos de la evaluación, siendo condiciones totalmente naturales, sin la oportunidad de controlarlas pues es un organismo que se desarrolla en campo abierto. La mortalidad corregida se estimó debido a que al presentarse mortalidad en el testigo no puede considerarse del todo la mortalidad en las ninfas aplicadas con nematodos pues hubo presencia de ésta en las ninfas que no se expusieron a éstos; siendo necesaria la estimación real de la mortalidad tomando en cuenta lo sucedido con el testigo y así determinar la mortalidad precisa ante un ataque de nematodos con variables involucradas.

5. **Métodos estadísticos.** Los niveles de eficiencia de parasitismo de los nematodos utilizados se presentaron diversos debido a las concentraciones pues sí hubo, estadísticamente diferencia significativa entre las medias de eficiencia de ataque de los nematodos, no sólo a simple análisis gráfico, con análisis de varianza; en base a los rendimientos de control sí es posible que ante una misma concentración de uij's, incluso de la misma especie pero de diferente procedencia, como en el caso de los nematodos de Cuba y Holanda, el rendimiento de mortalidad en hospederos por septicemia sea distinto, variando en niveles alrededores del 45%.

Al analizar entre las dos concentraciones de uij's de una misma especie también hay oscilaciones, al ser cantidades cambiantes entre sí la concentración mayor, 60 mill uij's/ ha fue más eficaz ante la dosis de 30 mill uij's/ ha en el caso de los heterorhabdítidos de Cuba, en ninfa II fue 13.33% superior, de Holanda el 36.67% y CENGICAÑA el 46.67%.

En el caso de los rendimientos en ninfa III la dosis más eficaz también fue de 60 mill uij's/ ha encabezado por el nematodo diplogasterítido con 83.33%, aunque, entre sus dosis aplicadas su diferencia fue de 40.00%; 6.67% distinto a la diferencia entre dosis de parte de los heterorhabdítidos de Holanda pues entre concentraciones su diferencia fue de 46.67% sobrepasando la dosis más alta en control. Para los nematodos de Cuba el valor diferencial fue de 3.33% mas no así, es estimado como nematodo de alto control para las ninfas pues en conjunto el 78.33% de los cercópidos pudo continuar su ciclo hasta fase adulta.

Según los resultados obtenidos, para el caso de los nematodos holandeses; se necesitaría mayor cantidad de uij's para tener similitud en rendimientos de control ante los nematodos de CENGICAÑA, si se pretendiese que los nematodos de Cuba fuesen el método de control, sería necesario una cantidad demasiado alta de nematodos para incluso lograr el 50% de control, aunque en control biológico los niveles de control se busca que se den en condiciones naturales que persistan a través del tiempo empezando por valores bajos, el tiempo para que esto ocurriese sería muy prolongado, ante los diplogasterítidos que son mejores controladores y siempre en sus condiciones como organismo dejando que su bacteria actúe por sí misma sin manipulación humana directa.

Los estimados obtenidos mediante el ANOVA, indicaron que la hipótesis nula fuese rechazada, en ninguno de los casos evaluados las medias de la eficacia de parasitismo de nematodos fueron iguales, estadísticamente; siendo necesario el análisis de pares de medias para determinar el tratamiento más efectivo. En tal caso, el análisis efectuado resultó en que las medias obtenidas de la eficiencia de control de nematodos de Cuba tanto para ninfa II, III, en dosis de 30 y 60 mill uij's fueron demasiado distantes a las obtenidas por los nematodos de Holanda y CENGICAÑA en tales casos; considerando entonces, la hipótesis alternativa.

Para la condición de aplicación de 30 mill uij's/ha, estadísticamente, no existe diferencia entre la eficacia resultante de los nematodos de Holanda ante los de CENGICAÑA, cualquiera de éstos pueden aplicarse, aunque, en tal dosis los niveles de control son bajos siendo de 36.6% y 40%.

En dosis de 60 mill uij's de nematodos/ha para controlar ninfas de estadio II, se pueden aplicar tanto los nematodos *H. bacteriophora* de Holanda como *Diplogasteritus sp.* De CENGICAÑA; ambos obtuvieron rendimientos de 73.3% y 86.7%, niveles de aceptación para su aplicación con fines de control de la plaga. Estadísticamente, en esta condición, las 3 procedencias de nematodos resultaron diferentes en sus medias respectivas, entonces al analizar los valores obtenidos se descartan a los nematodos de Cuba pues su rendimiento fue de 20%.

Como método de control para ninfa III de chinche salivosa, al aplicar 30 mill uij's/ha; estadísticamente la diferencia entre los nematodos procedentes de Holanda ante los de CENGICAÑA es indiferente, no existe diferencia entre sus medias de rendimiento de parasitismo, los resultados fueron 33.3% y 43.3%; aun así, comparados con los *H. bacteriophora* de Cuba sí, los niveles de rendimiento son diferencialmente drásticos pues éstos solamente controlaron 6.67%.

Controlar ninfas de estadio III con dosis de 60 mill uij's/ ha estadísticamente, no debe de efectuarse con *H. bacteriophora* de Cuba, pues al integrar manejos para tal plaga al aplicar ese nematodo los controles según la evaluación podrían ser de 10%; un nivel demasiado bajo, existiendo diferencia entre la eficacia de éste y los nematodos *H. bacteriophora* de Holanda y *Diplogasteritus sp.* De CENGICAÑA; los rendimientos de éstos fueron de 80% y 83.3%, que en análisis, no exista diferencia entre si se aplica el holandés o el procedente de CENGICAÑA, ambos controlan alto porcentaje de la plaga.

VIII. CONCLUSIONES

1. Los nematodos de mejor alternativa de control para chinche salivosa sea en estadio de ninfa II o III, analizados según los rendimientos generales, son los nematodos diplogasterítidos con niveles superiores al 80% de eficacia ante los nematodos heterorhabdítidos de Cuba y Holanda, siendo estos últimos la segunda alternativa de control con resultados oscilantes al 75% de deceso para las ninfas en dosis de 60 mill uij's/ha.

2. Estadísticamente existe diferencia significativa entre los rendimientos de control de ninfas de chinche salivosa en la especie *Aeneolamia postica* ante una misma dosis, en 30 mill uij's/ha pero con porcentajes mucho menores ante una dosis de 60 mill uij's/ha, al existir mayor cantidad de individuos/ml viables para invadir a las ninfas se da un aumento en control, evitando que éstas continúen con su ciclo de vida para pasar a estado adulto, inhibiendo la aparición de huevos que provocarían la continuidad de la especie; sin embargo siempre se debe de analizar la densidad poblacional del enemigo natural adecuada para controlar la el organismo plaga de manera eficiente.

3. Mediante análisis estadísticos, se pueden aplicar tanto *Heterorhabditis bacteriophora* de Holanda como *Diplogasteritus sp.* De CENGICANÑA para controlar ninfas de estadio II y III en dosis de 60 mill uij's/ha, las medias de sus rendimientos de control no difieren drásticamente, según el análisis de pares de medias; así que ambos son una opción eficaz para controlar la plaga, pues los procedentes de Holanda controlan en ninfa II el 73.3%, ninfa III 80% y en el caso de los procedentes de CENGICANÑA en ninfa II 86.7% y en ninfa III 83.3%.

4. El control temprano de la chinche salivosa (inmaduros) permite manejar la posibilidad de la continuidad de la especie, pues al terminar el invierno las hembras depositan huevos diapáusicos, que sobrevivirán las condiciones drásticas de la época de verano para eclosionar en inicios de invierno, entonces, mientras más temprano se inicia el control, menor cantidad de descendencia resulta, inclusive en huevos diapáusicos.

5. Los nematodos llevan en su interior bacterias que interactúan con estos de manera mutualista, haciendo que ambos especímenes sobrevivan, uno depende del otro, los nematodos ingresan a un hospedero y liberan las bacterias que contienen en su interior, al paso de las horas se presenta en el huésped septicemia, falleciendo con una población de nematodos en su interior listos para abandonar ese huésped e infestar más.

6. Existen nematodos hermafroditas, que en ventaja, no necesitan del género contrario para procrear, ellos mismos generan su descendencia, fascinantemente evolutivos, aunque hay otros nematodos que sí necesitan, para matar a su hospedero que por lo menos uno de cada género ingrese al mismo huésped, sobreviva y copule con su contrario para así infectar a su hospedero.

7. El análisis de pares de medias efectuado, fue una herramienta útil para determinar el mejor nematodo para control de ninfas de chinche salivosa, determinando que, estadísticamente se pueden aplicar los nematodos *Heterorhabditis bacteriophora* de Holanda y *Diplogasteritus sp.* De CENGICANÑA ya que, no existen diferencias significativas entre sus medias de rendimiento de eficiencia de control para ninfas III, los rendimientos fueron 80% y 83.3%, para el caso del estadio II si se presentó diferencia, para tal fase del insecto el mejor controlador es *Diplogasteritus sp.* 86.7%. Sin embargo, en ninguno de los casos evaluados en la investigación, el nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* De Cuba rindió con porcentajes altos para el control de la plaga, pues controló, en general sólo el 10.83%.

8. Para fines de control inundativo se pueden aplicar dosis de nematodos de 30 mill uij's/ha, pues al ser un proceso regulado por la naturaleza, al paso de los años los nematodos se multiplicarán y adaptarán según las condiciones, no obstante, al ser un dirigido por el ambiente los rendimientos de control para la chinche salivosa al principio serán menores, desde el 10 hasta el 40%, pero, si se realiza un plan de manejo integrado para tal plaga es mejor aplicar dosis de nematodos de 60 mill uij's/ha, los rendimientos de control son del 70% al 80%, bajando los umbrales poblacionales.

9. En un mismo hospedero pueden alojarse grandes cantidades de uij's de nematodos, cada una de las cuales al salir de éste buscarán a otro huésped, es decir, un hospedero es fuente para control de muchos más, con uno eficientemente infectado es suficiente como para resultar en fuente de crecimiento de control natural al movilizarse los nematodos por las fuentes hídricas del suelo en búsqueda de nuevas fuentes de comida pueden infectar a varios individuos, además, al ser entomopatógenos atacan en gran exclusividad a otros insectos únicamente.

IX. RECOMENDACIONES

Hacer bioensayos en campo que tomen parámetros como búsqueda de los nematodos por el hospedero, es decir, desplazamiento pues en ambiente libre, éstos deben buscar movilizarse por vías de agua a través de los poros del suelo, entonces las condiciones son diferentes, en tal bioensayo también podría considerarse la cantidad de descendencia viable de éstos en cada hospedero.

Realizar una recopilación de información sobre los nematodos según sus países de origen para escudriñar las condiciones a las que se han adaptado y los avances surgidos a la fecha.

Evaluar más procedencias de nematodo en las mismas condiciones para crear un banco de nematodos eficaces para manejo integrado de plagas evaluándose en condiciones controladas y en campo abierto.

Estimar la sobrevivencia de nematodos en el suelo luego de la quema realizada previo a la cosecha en caña de azúcar, pues por el momento, siendo un factor importante para los nematodos pues puede provocar su deceso y al ser fuente de calor puede penetrar en el suelo y afectar a la microfauna existente resultando en que si los nematodos están movilizándose en centímetros abajo a la superficie del suelo puedan ser alcanzados por la quema y al secar los poros superficiales de la tierra éstos no tendrían manera para desplazarse; los posibles hospederos pueden morir, afectando en futuros controles.

Recolectar muestras de campo para analizarlas en búsqueda de nematodos nativos, pues el suelo guatemalteco es diverso y allí pueden encontrarse muchas especies que podrían beneficiar el manejo integrado de plagas, ya están adaptadas a tal tipo de suelo así que, sería de índole científica positiva investigar sobre éstos.

Impulsar estrategias de control biológico con el uso de nematodos en los ingenios de la agroindustria azucarera guatemalteca en refuerzo a las estrategias de manejo integrado de plagas de forma física, mecánica, etológica y sus demás alternativas; incorporando de forma temprana la utilización de recursos como: trampas de luz para recolección de adultos de insectos plaga, aplicación de enemigos naturales sean insectos o microorganismos y otros.

Investigar nuevas alternativas sustentables para el control de plagas de la caña de azúcar, como fuente de posibles mejoras para el control no sólo de cercópidos sino que también para otros organismos dañinos, pues de ser posible una asociación de enemigos naturales, por ejemplo, hongos y nematodos entomopatógenos; se beneficiaría el cultivo y a la naturaleza, que consecuentemente no causarían efectos adversos en el ser humano.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera, A., Urlich, A., & Celis, L. (2001). *Revista Chilena de Entomología*. Recuperado el 21 de 10 de 2015, de Revista Chilena de Entomología: http://www.insectachile.cl/rchen/pdfs/2001v28/Aguilera_et_al_2001.pdf
- Bustillo, P. (2011). *Mosca pinta*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Mosca pinta: <https://sites.google.com/site/moscapinta/hoja-tecnica>
- Cantellano, C. (2012). *Mosca pinta*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Mosca pinta: <https://sites.google.com/site/moscapinta/hoja-tecnica>
- Centro de Investigación de la Caña de Azúcar CENGICAÑA, área de Entomología. (06 de 2004). *Boletines CAÑAMIP 2004*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Boletines CAÑAMIP 2004: <http://www.cengicana.org/es/mapas-zona-canera/func-startdown/450/>
- Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, CENGICAÑA. (2012). Manejo integrado de Plagas. En M. Melgar, H. Orozco, O. Pérez, & R. Espinoza, *El cultivo de la Caña de Azúcar en Guatemala* (pág. 512). Guatemala: Litografías Modernas S.A.
- Centro Nacional de Análisis y Documentación Judicial de Guatemala, CENADOJ. (01 de 07 de 2014). *Sumario del Diario de Centro América*. Recuperado el 2015 de 21 de 2015, de Sumario del Diario de Centro América: http://www.oj.gob.gt/es/QueEsOJ/EstructuraOJ/UnidadesAdministrativas/CentroAnalisisDocumentacionJudicial/sumario/2014/07Julio_14/Sumario%202014-07-01.pdf
- Control Bío. (2015). *Heterorhabditis bacteriophora (Poinar, 1976)*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Heterorhabditis bacteriophora: <http://controlbiologico.info/index.php/es/organismos-de-control-biologico/ocb-comerciales-enemigos-naturales/heterorhabditis-bacteriophora>
- Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala. (27 de 08 de 2012). *Control biológico de chinche salivosa en Caña de Azúcar en Guatemala*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Control biológico de chinche salivosa en Caña de Azúcar en Guatemala:

http://fausac.usac.edu.gt/GPublica/index.php/Control_biol%C3%B3gico_de_chinche_salivosa_en_Ca%C3%B1a_de_Az%C3%BAcar_en_Guatemala

Galeon hispavista. (2015). *Análisis de diseños experimentales básicos*. Recuperado el 21 de 10 de 2015, de Análisis de diseños experimentales básicos: <http://www.galeon.com/colposfes/est501/dca/dca.htm>

Ibáñez, J. J. (19 de 04 de 2011). *Madrid, Un universo invisible bajo nuestros pies*. Recuperado el 11 de 09 de 2008, de Madrid, Un universo invisible bajo nuestros pies: <http://www.madridmasd.org./blogs/universo/2011/04/19/137728>

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. (1997). *Evaluación de cepas nativas de Bacillus thuringiensis Berliner para el control de Heliothis virescens Fabricius en el cultivo del tabaco en Cuba*. Recuperado el 01 de 07 de 2015, de Evaluación de cepas nativas de Bacillus thuringiensis Berliner para el control de Heliothis virescens Fabricius en el cultivo del tabaco en Cuba: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1562-30092009000400009

López, C. (2012). *Mosca pinta*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Mosca pinta: <https://sites.google.com/site/moscapinta/hoja-tecnica>

López, R. (1999). *Tesario Universidad de San Carlos de Guatemala*. Recuperado el 21 de 09 de 2015, de Tesario Universidad de San Carlos de Guatemala: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_1822.pdf

Mullin, P. (2000). *Especies de Nematodo*. Recuperado el 25 de 12 de 2015, de Especies de Nematodo: www.nematode.unl.edu

Pérez Aguilar, W. (2012). *Mosca pinta*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Mosca pinta: <https://sites.google.com/site/moscapinta/hoja-tecnica>

Proyecto - FUNPROVER-SAGARPA, México. (2012). *Mosca Pinta*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Mosca Pinta: <https://sites.google.com/site/moscapinta/proyecto---sagarpa>

Schneider- Orelli, O. (1947). *Entomologisches Praktikum*. In: *Sauerlander H.R.* Recuperado el 01 de 07 de 2015, de Entomologisches Praktikum. In: Sauerlander H.R.: http://www.ehabsoft.com/ldpline/Hsc_hneiOrli.htm

Universidad de Florida. (07 de 2012). *Nematodos entomopatogenos*. Recuperado el 20 de 07 de 2015, de Nematodos entomopatogenos: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/entomopathogenic_nematode.htm

Universidad de Minnessota. (2013). *MIP en caña de Azúcar*. Obtenido de El contexto mundial del MIP: <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/MeagherSp.htm>

Universidad Nacional de Colombia. (2011). Evaluación de nematodos entomopatogenos. En M. R. Guerrero, *Evaluación de la virulencia de nematodos entomopatogenos* (pág. 78). Colombia: Universidad de Colombia.

Virtual Unal. (2000). *Diseños estadísticos*. Recuperado el 21 de 10 de 2015, de Diseños estadísticos: http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000352/html/un2/cont_203-23.html

Webster, A. (2000). *Estadística aplicada a los negocios y a la economía*. Colombia: McGraw-Hill.

XI. ANEXOS

A. CONTROL DE TEMPERATURA DURANTE LA EVALUACIÓN.

Cuadro 11: Control de temperatura referente a la investigación.

Fecha	Hora	Temperatura mínima °C	Temperatura máxima °C	Temperatura Promedio °C
21/10/2015	7:00	26	27	26,5
	12:00	27	27	27
	17:00	27	28	27,5
22/10/2015	7:00	26	28	27
	12:00	27	27	27
	17:00	26	28	27
23/10/2015	7:00	25	27	26
	12:00	26	27	26,5
	17:00	27	28	27,5
24/10/2015	7:00	27	28	27,5
	12:00	26	28	27
	17:00	26	29	27,5
25/10/2015	7:00	27	28	27,5
	12:00	28	27	27,5
	17:00	26	28	27
26/10/2015	7:00	28	29	28,5
	12:00	27	28	27,5
	17:00	27	28	27,5
27/10/2015	7:00	27	28	27,5
	12:00	26	28	27
	17:00	25	26	25,5
28/10/2015	7:00	27	28	27,5
	12:00	26	27	26,5
	17:00	26	28	27
29/10/2015	7:00	25	26	25,5
	12:00	27	28	27,5
	17:00	26	27	26,5
30/10/2015	7:00	26	27	26,5
	12:00	26	28	27
	17:00	27	29	28
31/10/2015	7:00	25	27	26
	12:00	27	28	27,5
	17:00	26	28	27
Promedio		26,39	27,67	27,03

Fuente: Autor.

B. CONTROL DE HUMEDAD DURANTE LA EVALUACIÓN.

Cuadro 12: Control de Humedad referente a la investigación.

Fecha	Hora	Humedad mínima %	Humedad máxima %	Humedad Promedio %
21/10/2015	7:00	73	78	75,5
	12:00	72	76	74
	17:00	75	78	76,5
22/10/2015	7:00	76	79	77,5
	12:00	75	78	76,5
	17:00	74	77	75,5
23/10/2015	7:00	77	79	78
	12:00	74	78	76
	17:00	77	79	78
24/10/2015	7:00	73	76	74,5
	12:00	75	78	76,5
	17:00	73	79	76
25/10/2015	7:00	77	79	78
	12:00	75	76	75,5
	17:00	72	78	75
26/10/2015	7:00	75	76	75,5
	12:00	75	79	77
	17:00	74	76	75
27/10/2015	7:00	72	79	75,5
	12:00	73	75	74
	17:00	76	79	77,5
28/10/2015	7:00	73	78	75,5
	12:00	75	79	77
	17:00	72	77	74,5
29/10/2015	7:00	74	76	75
	12:00	73	78	75,5
	17:00	74	79	76,5
30/10/2015	7:00	72	78	75
	12:00	74	77	75,5
	17:00	71	79	75
31/10/2015	7:00	73	76	74,5
	12:00	72	78	75
	17:00	74	79	76,5
Promedio		73,94	77,76	75,85

Fuente: Autor.

XII. GLOSARIO

- Antagonista: cualquier sustancia, órgano o fenómeno cuya acción se opone a cualquier otra sustancia, órgano o fenómeno.
- Biomasa: masa total de los componentes biológicos de un ecosistema.
- Cámara húmeda: sistema cerrado capaz de mantener una atmósfera de condiciones estable de temperatura, utilizada comúnmente en evaluaciones de nivel de laboratorio. Se elabora según requiera la prueba a realizar, siendo desde tubos de plástico hasta cajas Petri de vidrio.
- Cercópido: insecto homóptero cuyas ninfas se recubren de espuma para protegerse; algunas especies causan plagas.
- Clorosis: enfermedad de las plantas debida a trastornos en la nutrición, que se manifiesta por la presencia de hojas amarillentas.
- Crecimiento activo en caña de azúcar: planta en óptimo desarrollo.
- Cultivo monoaxcénico: cultivo que contiene una especie que crece en presencia de otra especie.
- Eclosionar: nacimiento.
- Enzima: biocatalizador proteico que actúa sobre el metabolismo celular.
- Enzima amilolítica: enzima que convierte el almidón en oligosacáridos y disacáridos.
- Epizootia: enfermedad contagiosa que ataca a un número inusual de animales al mismo tiempo y lugar propagándose con rapidez.
- Estigma: cada una de las pequeñas aberturas que tienen en el abdomen los insectos para respirar.
- Fitotoxemia: enfermedad en los tejidos de las plantas cuyo síntoma es la obstrucción de los haces vasculares.

- **Germinación:** brotar y comenzar a crecer las plantas.
- **Hemocele:** laguna sanguínea del cuerpo de los animales, ocupada por la hemolinfa.
- **Hermafrodita:** que tiene los dos sexos, es decir, masculino y femenino.
- **Hongo entomopatógeno:** son los hongos que parasitan diferentes órdenes de artrópodos.
- **Huevo diapáusico:** huevos que se encuentran en un estado fisiológico de inactividad con factores desencadenantes y terminantes bien específicos. Usado a menudo para sobrevivir condiciones ambientales desfavorables y predecibles, tales como temperaturas extremas o sequía.
- **Inóculo:** conjunto de organismos, en general patógenos, que se inoculan o transmiten a un organismo.
- **Ínstar:** etapa larval o de crecimiento cualquiera presente en algunos artrópodos, alcanzada después de un cambio o muda.
- **Integumento:** conocido también como sistema integumentario; es con frecuencia el sistema orgánico más extenso de un animal que lo recubre por completo, tanto externamente, como numerosas cavidades internas. En ocasiones actúa como un exoesqueleto.
- **Inundativo:** referente al control biológico de plagas, se refiere a liberar intencionalmente enemigos naturales con el objetivo que controlen la plaga por ellos mismos.
- **Lámina foliar:** hoja, exceptuando el pecíolo o pedúnculo. Es la porción plana de la hoja, generalmente de color verde, que se une a la rama o tallo por el pecíolo y cuando éste falta, directamente.
- **Macollamiento:** fase de desarrollo vegetal del conjunto de vástagos, flores o espigas que nacen de un mismo pie.
- **Maduración:** conjunto de fenómenos de transformación que dejan el fruto en condiciones de liberar las semillas en orden a la reproducción de la planta.
- **Nematodo mermítido:** nematodo de la familia Mermithidae, entomoparásito que vive y se alimenta a expensas de su hospedero, pudiendo producir diversos daños en el mismo incluso la muerte.

- **Ninfa:** en la metamorfosis incompleta, el insecto que nace con una forma similar a la adulta, siendo la etapa joven, estadío o fase de desarrollo en la metamorfosis de insectos; intermediaria entre fase larval y el insecto adulto.
- **Opérculo:** pieza que, a modo de tapadera, sirve para cerrar ciertas aberturas; como las de las agallas de los peces, la concha de muchos moluscos, los huevos de algunos insectos, etc.
- **Patogenicidad:** capacidad de un agente infeccioso de producir enfermedad en huésped susceptible.
- **Postura:** huevo.
- **Queratinosa:** que posee queratina, es decir, que posee una sustancia córnea proteica, una de las principales constituyentes de la piel.
- **Raíz adventicia:** raíz que crece a partir de otro órgano que no es la raíz primaria, puede salir de otras partes de una planta como los tallos, hojas o raíces viejas.
- **Reproducción asexual:** tipo de reproducción en la cual un solo organismo puede dar origen a otros organismos nuevos.
- **Resoca:** son los cortes que va teniendo la planta de caña de azúcar. El primer corte es como planta, después al segundo corte se le llama soca y los siguientes cortes se les llama resoca, dependiendo de la calidad de la planta cuantos cortes permita.
- **Simbiosis:** medio de subsistencia como un vínculo asociativo desarrollado por ejemplares de distintas especies.
- **Sinergismo:** combinación de potencias, acción farmacológica, acción o efectos terapéuticos de una determinada sustancia. Tiene la característica que el efecto combinado es mayor o más amplio en sus propiedades que la simple suma de las acciones y/o potencias individuales.
- **Soca:** último retoño de la caña de azúcar.
- **Tubos de Malpighi:** sistema de regeneración de fluidos corporales que proporciona una cantidad estable de agua y de consecuente hidratación en los organismos de los insectos.

- Variedad: tipos de la caña de azúcar con variabilidad genética que permiten la producción de sacarosa en mayor cantidad al compararse y otras características según su código genético.
- Viabilidad: cualquier organismo que puede considerarse vivo.
- Xilema: conjunto de los vasos leñosos de un vegetal, constituidos por traqueidas (gimnospermas) o por tráqueas (angiospermas).