



**PATOGENICIDAD DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS SOBRE LARVAS DE *Agrotis* sp.
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**PATHOGENICITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES ON LARVAE OF *Agrotis* sp.
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Yangüéz, Joseph. Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Panamá.
josephadrian99@outlook.es <https://orcid.org/0009-0009-5336-3597>

Pitti, Javier. Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá, Panamá.
pittjavier28@hotmail.com <https://orcid.org/0000-0003-0776-8795>

Vargas, Reynaldo. Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Panamá. Sistema Nacional de Investigación (SNI). Panamá
reynaldo.vargas@up.ac.pa <https://orcid.org/0000-0002-5420-9761>

Bado, Merly. Universidad Tecnológica OTEIMA, Facultad de Ciencias Agroambientales, Panamá.
merly.bado@oteima.ac.pa <https://orcid.org/0009-0009-4673-1160>

Guerra, Ivonne. Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Panamá.
ivonne.guerra@up.ac.pa <https://orcid.org/0000-0002-2289-9534>

Martínez, Oscar. Universidad Autónoma de Chiriquí, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Panamá.
oscar.martinez@unachi.ac.pa <https://orcid.org/0009-0001-0720-8678>

*Ríos-Moreno, Alex. Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Panamá.
alex.morenom@up.ac.pa <https://orcid.org/0000-0003-3117-9659>

*Correo de Correspondencia: alex.morenom@up.ac.pa

Recibido: 07/10/2024

Aceptado: 13/11/2024

DOI: <https://doi.org/10.48204/j.ia.v7n1.a6547>

RESUMEN. El propósito de esta investigación fue evaluar la patogenicidad de *Heterorhabditis* sp. en larvas de *Agrotis* sp. en laboratorio y campo. Los bioensayos de laboratorio se aplicaron dos métodos: el libre (100, 200, 300 NEPs/mL por larva) y cápsulas (2, 5 y 10 cápsulas/mL por larva) y un testigo que consistió en aplicar 1 mL de agua destilada. El ensayo en campo se evaluó en parcelas de 24 m², durante 15 días, donde se estimó los cortes hechos a plántulas de lechuga por *Agrotis* sp. en diferentes tratamientos: un testigo sin ninguna aplicación, NEPs, un control cultural (lechugas tratadas con Clorpirifos 75% antes de la siembra), y dos tratamientos químicos Engeo (ingrediente activo Thiametoxam y Lambda cihalotrina) y Clorpirifos 75%. En este ensayo la infestación de *Agrotis* sp. se dio de manera natural. El porcentaje de mortalidad diaria en laboratorio, para ambos métodos, se calculó utilizando el estimador de supervivencia no paramétrico Kaplan-Meier, indicando que existen diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05). La mortalidad para ambos métodos fue de 100% en 5 días de observación. En el ensayo de campo fue analizado a través de modelo lineales generalizados ajustados a la distribución de Poisson mostrando diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.001), debido a que se observaron 28 cortes en el testigo, 7 y 17 en Clorpirifos 75% y Engeo, respectivamente, 3 en el control cultural y 2 con NEPs. En este trabajo se evidenció el potencial que tienen los NEPs en el control de plagas.

PALABRAS CLAVE: biotecnología, capsulas, control biológico, manejo integrado de plagas, seguridad alimentaria.



ABSTRACT. The purpose of our research was to evaluate the pathogenicity of, *Heterorhabditis* sp. on *Agrotis* sp. larvae under semi-controlled conditions and field. In the laboratory bioassays, two methods were applied: free (100, 200, 300 NEPs/mL per larva) and capsules (2, 5 and 10 capsules/mL per larva) and a control that consisted of applying 1 mL of distilled water. The field trial was evaluated in plots of 24 m², for 15 days, where cuttings made to lettuce seedlings by *Agrotis* sp. were evaluated in different treatments: a control without any application, NEPs, a cultural control (lettuce treated with Chlorpyrifos 75% before planting), and two chemical treatments Engeo (active ingredient Thiamethoxam and Lambda Cyhalothrin) and Chlorpyrifos 75%. In this trial, the infestation of *Agrotis* sp. occurred naturally since it is an endemic pest of the area. The percentage of daily mortality in the laboratory, for both methods, was calculated using the non-parametric survival estimator Kaplan-Meier, which shows that there are significant differences between treatments ($P < 0.05$). Mortality for both application methods was 100% in 5 days of observation. The field trial was analyzed through a generalized linear model adjusted to the Poisson distribution, which shows that there is a difference between treatments ($P < 0.001$), since 28 cuts were observed in the control, 7 and 17 in Chlorpyrifos 75% and Engeo respectively, 3 in the cultural control and 2 with NEPs. These results are interesting because they demonstrate a viable alternative for the biological control of *Agrotis* sp.

KEYWORDS: biological control, biotechnology, capsules, food safety, integrated pest management.

INTRODUCCIÓN

Las plagas y enfermedades de los cultivos están entre las limitantes más serias que afronta la producción agrícola a nivel mundial. Su presencia es inevitable e induce a la aplicación de plaguicidas químicos como principal herramienta de los productores para su control y manejo. El empleo indiscriminado de estos productos, incrementan el costo de producción, contaminan los agroecosistemas y sus cuencas hidrográficas y puede provocar la aparición de nuevas plagas cada vez más resistentes (Candanedo *et al.*, 2019).

Frente a esta situación, a nivel del mundo diversas instituciones están utilizando una serie de métodos ecológicos dentro de un Programa Integrado de Plagas (MIP) como es el empleo del control biológico, lo que ha generado efectividad y menor uso de plaguicidas; este control de plagas constituye una alternativa viable, sostenible y posible para países en vías de desarrollo (Castillo *et al.*, 2011). Todo esto lleva a la situación que se vive en los últimos 10 años, donde se involucra el uso de enemigos naturales como una alternativa viable dentro de programas agrícolas para disminuir el efecto que ha generado en el cambio climático.

El uso de productos químicos ha llevado al desarrollo de resistencia como una consecuencia natural de los procesos evolutivos relacionados con la selección de especies. Este fenómeno corresponde a la condición heredable que poseen ciertos individuos en una población que le confiere una menor susceptibilidad a los métodos usados para su control. La resistencia ha sido uno de los problemas más importantes que enfrenta la producción agrícola a nivel mundial, tanto así que las Naciones Unidas, en 1989, consideró la resistencia a los plaguicidas, entre los cuatro problemas de mayor importancia para el medio ambiente. Actualmente, la condición de los organismos resistentes está siendo predominante en las poblaciones de plagas, con la capacidad de ser resistentes a uno o más plaguicidas (Vargas *et al.*, 2008).



El control biológico consiste en la acción de enemigos naturales contra plagas y malas hierbas; sobre todo el uso de depredadores, insectos parasitoides, hongos, bacterias, virus y nematodos entomopatógenos (NEPs). Este último control resulta particularmente exitoso contra plagas que afecten los cultivos (Jiménez, 2009).

Los nematodos del género *Heterorhabditis* sp. (Nematoda: Chromadorea: Rhabditida), son agentes entomopatógenos con la capacidad de infectar la mayoría de los órdenes y familias; el hábitat natural de estos organismos se encuentra en el suelo (Klein, 1990), puede encontrarse generaciones hermafroditas y anfimícticas dentro del ciclo de vida de este género, las cuales se dan muchas veces dentro del hospedero parasitado y se superponen (Burnell y Stock, 2000), de modo que los adultos que resultan de juveniles infectivos o JI se caracterizan por ser hermafroditas, los cuales producen huevos de los que emergen juveniles que se convierten en machos y hembras; dichas hembras se aparean con machos y producen huevos, a partir de los cuales nacen otro JI (Stock y Goodrich, 2012).

Existen diversas formulaciones de NEPs para el combate biológico, tales como la bioencapsulación, ha aumentado notablemente, debido a una demanda creciente de agentes de combate microbiano. Existe una gran variedad de métodos de encapsulamiento para la formación de agentes biocontroladores, entre ellos nematodos entomopatógenos (Vemmer y Patel, 2013). La formulación adecuada de los NEPs en cápsulas tiene una serie de ventajas como la capacidad de prolongar la vida útil de los nematodos, permitir una mejor manipulación del producto, la disminución del número de aplicaciones y la dosis de aplicación (Cassidy *et al.*, 1996; Vassilec *et al.*, 2001; Mnyone *et al.*, 2009; Bogantes *et al.*, 2018;).

Las larvas de *Agrotis* sp. (Lepidoptera: Noctuidae), muerden los tallos y destruyen las plantas en secciones de surco, consumen las raíces, cortan el cuello de la planta y consumen las hojas tiernas, especialmente perjudiciales en plantas jóvenes. Al terminar de comer una planta se trasladan a la planta más cercana. Tienen hábitos alimenticios nocturnos; durante el día se les encuentra enterrados en el suelo cerca de las plantas de semillero a nivel del suelo. Las larvas en ocasiones se alimentan de las raíces. Esta plaga puede hacer daño en los campos recién sembrados (García *et al.*, 2012). Trabajos previos han reportado que los NEPs son patógenos de estas larvas, p.ej., Giannasi *et al.* (2018), evaluaron el potencial de los nemátodos entomopatógenos (NEPs) en el control de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), donde obtuvieron resultados interesantes causando la mortalidad del insecto en pocos días de aplicación en condiciones de laboratorio. Mantoo *et al.* (2012), realizaron un estudio en condiciones de laboratorio donde evaluaron la virulencia del aislado de NEPs, *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (Rhabditidae: Heterorhabditae), contra el gusano cortador negro, *A. ipsilon*, donde el NEPs resultó patogénico para el insecto durante el bioensayo en placas Petri y en columnas de arena. Además, observaron una correlación positiva entre la concentración del nematodo entomopatógeno y la mortalidad del gusano cortador. Por todo lo expuesto anteriormente, el propósito de nuestra investigación fue evaluar la patogenicidad de NEPs sobre larvas de *Agrotis* sp. en condiciones semicontroladas en laboratorio y campo.



MATERIALES Y MÉTODOS

Crianza de *Galleria mellonella*

La crianza de *G. mellonella* se estableció por medio de larvas que posee la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Panamá en el Laboratorio del Grupo de Investigación en Protección Vegetal (GIPROVEG) (08°23'41,8"N, 82°19'47,60"O, 30 m s. n. m.). La instalación del pie de cría se estableció en una dieta artificial que consistió en una mezcla de ingredientes de 400 g de salvado de trigo, 120 g de harina de trigo, 160 g de sustituto en polvo de leche de ternero y 300 mL de miel por cada 680 g de dieta (Moreno-Serrano *et al.*, 2022). La crianza de esta polilla se realizó con el fin de ser el hospedero biológico para la multiplicación de NEPs y ver la potencialidad que tienen los NEPs en infestar y multiplicarse en el hospedero.

Multiplicación de nematodos entomopatógenos

Para la multiplicación del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* sp. se extrajo del pie de cría que posee el IDIAP sede de Cerro Punta (08°51'13"N, 82°34'16"O 2,287 m s.n.m), con el método de Baermann modificado, el cual consiste en suspender el suelo en un determinado volumen de agua, procurando que el papel filtro este en contacto con el agua, se deja en reposo, después de unas 24 o 48 horas, todas las formas activas del nematodo han pasado el papel filtro y por medio de la precipitación quedan retenidos en el fondo del embudo y se puede recolectar en pequeños volúmenes de agua (Esquivel, 2013).

Proceso de obtención de nematodos juveniles en larvas de *G. mellonella*

Se realizó la prueba en laboratorio utilizando como hospedero larvas de *G. mellonella* en su último estadio, se colocaron larvas del último estadio en platos Petri con papel filtro (Whatman n°3), y se inoculó con 2,000 nematodos juveniles y se colocaron 10 larvas, posterior fueron colocadas en una incubadora a 25 °C (Vevor), transcurrido 4 días las larvas muertas con color marrón se colocaron en Trampa White para la emergencia de los juveniles infectivos y colocados en una incubadora a 25 °C. Se realizaron cuatro repeticiones.

Cuantificación de nematodos entomopatógenos

Para el conteo de nematodos se utilizó el método de la dilución volumétrica de Woodring y Kaya (1988). Se colocó en una micropipeta 10 µl de la suspensión inicial de nematodos, en una placa de conteo y se procedió al conteo directo de los nematodos en el microscopio. Se realizaron tres repeticiones. Para determinar la concentración de nematodos en toda la muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$A = V * a / v$$

Donde:

A= Número de nematodos en la solución



a= Número de nematodos en la muestra

V= Volumen de la solución

v= Volumen de la muestra

Preparación de cápsulas a base del biopolímero de quitosano con *Heterorhabditis sp.*

Para elaborar cápsulas utilizando el biopolímero quitosano se utilizó la guía propuesta por Sun *et al.* (2011), se empleó una balanza digital para pesar 0.200 g del biopolímero, con vaso químico de 10 mL se colocó 50 μ l de ácido láctico, se mezcló la solución en un plato agitador a 380 rpm con magneto durante 12 o 24 h para la homogeneidad de la solución. Luego se mezcló la solución de NEPs + el quitosano. Se preparó la solución de tripolifosfato de sodio (STPP, siglas en ingles), pesando 1 g en un vaso químico de 500 mL, se agregaron 80 mL de agua destilada y se llevó al plato agitador a 380 rpm durante 10 minutos. Posteriormente, con una jeringa de 5 mL se tomó la mezcla NEPs + quitosano y se coloca sobre el vaso químico en el plato agitador con la solución de STPP para formar las cápsulas, transcurridos 15 minutos se obtuvieron las cápsulas de NEPs + quitosano.

Prueba de patogenicidad en laboratorio

Se realizaron ensayos para evaluar los métodos de aplicación (libre y encapsulados) en el laboratorio de Protección Vegetal del IDIAP sede Cerro Punta. Para el método de aplicación de vida libre se utilizó concentraciones de 100, 200, y 300 nematodos diluidas en 1 mL/larvas y un testigo con una larva por plato Petri y 1 mL de agua destilada. Estas larvas fueron colectadas de campos y se dejaron durante un día con lechuga para descartar que hayan sido intoxicadas por algún químico. Se utilizaron 16 larvas de *Agrotis sp.* de distintos estadios. Una vez obtenido las concentraciones se inocularon en platos Petri con doble papel filtro, se dejó reposar por un minuto para homogeneizar la concentración en todo el plato. Estas fueron colocadas en los platos Petri y alimentadas con lechugas. Se colocaron en incubadora a 25 °C. La prueba de patogenicidad se registró a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas. Para verificar las larvas muertas por los NEPs se colocaron en Trampa White para la emergencia de los JI a los 8 días después de la infestación.

Para el método de encapsulado se evaluó el efecto de 3,000 NEPs por cápsula a la dosis de 2, 5 y 10 cápsulas/larva y un testigo con cápsulas que solo contenía quitosano, se utilizaron 16 larvas de *Agrotis sp.* se colocaron en platos Petri con doble papel filtro y 1 mL de agua destilada. Se siguió el procedimiento anteriormente descrito en el método de aplicación libre.

Ensayo realizado en campo

Se realizaron en los terrenos del IDIAP Cerro Punta utilizando métodos biológicos, químicos y una práctica cultural. Este ensayo consistió en cinco tratamientos y cuatro réplicas colocados de manera aleatoria en todo el terreno. Los tratamientos son: 1. Testigo sin ninguna aplicación, 2. NEPs aplicados de forma libre, 3. Lechugas tratadas con Clorpirifos 75% (una práctica cultural que funciona como trampa para atraer al insecto para ingerir la lechuga tratada y muera), 4. Insecticida Clorpirifos 75%, aplicado en forma líquida y 5. Insecticida Engeo (Thiametoxam y



Lambda cihalotrina). El tratamiento dos y tres se realizaron dos días antes, el tratamiento dos se inocularon 900,000 JI por cada réplica y el tratamiento 4 y 5 se realizó sumergiendo la plántula de lechuga durante 15 segundos en la solución de los insecticidas y posterior colocadas en parcelas de 6 m² (5 m de largo x 1.20 m de ancho). Se colocaron 80 plantas de lechuga por parcela. El parámetro evaluado fue la eficacia de cada tratamiento en minimizar los cortes por *Agrotis* sp. durante 15 días de evaluación.

Análisis estadístico

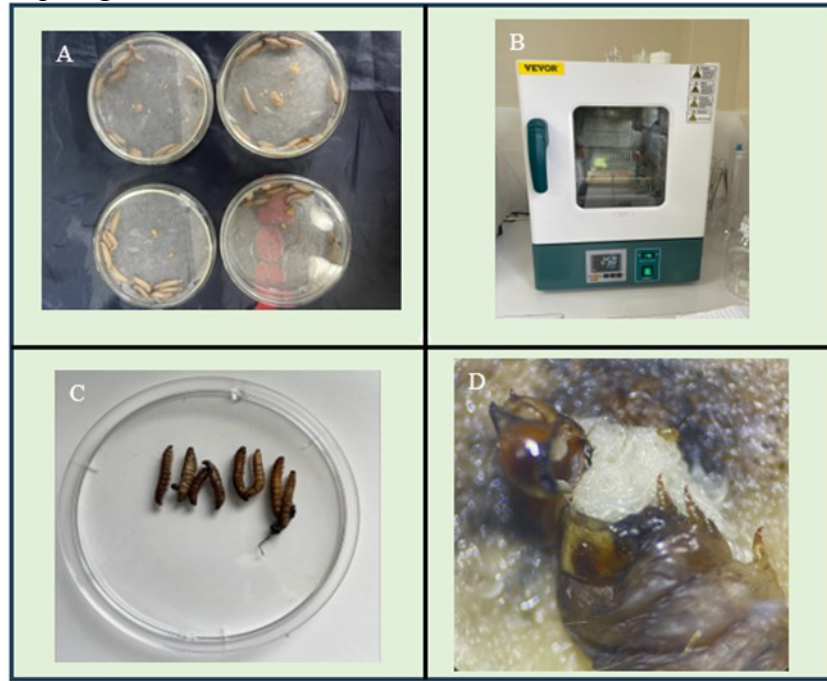
Se empleó un diseño completamente al azar. Los datos obtenidos se tabularon en una hoja de cálculo de Microsoft Excel® 2021. La supervivencia en la prueba de patogenicidad entre los diferentes tratamientos se evaluó con el estimador no paramétrico de Kaplan-Meier. Diferencias entre ensayos de campo en el número de cortes fueron evaluados con Modelos Lineales Generalizados y ajustados por la distribución de Poisson. Interacciones significativas fueron evaluadas con la prueba de Bonferroni. Se consideró el valor de $p < 0.05$ como diferencia significativa entre tratamientos. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software R con el entorno de desarrollo integrado RStudio (v. R 4.3.0, RStudio Inc).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el método de Baermann modificado se logró obtener las formas activas de *Heterorhabditis* sp. (hembras, machos, juveniles), en un tiempo entre 24 y 48 h. Asimismo, la multiplicación utilizando larvas de *G. mellonella* en su último estadio (Figura 1), resultó efectiva, debido a que se lograron obtener gran cantidad del nematodo juvenil (J3), hasta 1,550,000 NEPs/40 larvas de la polilla de la cera. Estos resultados permiten tener un pie de cría constante para ser utilizados en futuras investigaciones y experimentos en campo. La temperatura establecida a 25 °C facilita obtener juveniles infectivos en 7-10 días utilizando larvas de *G. mellonella* lo que representa una rápida multiplicación en este hospedero. Estos resultados de nuestro estudio difieren a los obtenidos por Cajusol y Requejo (2016), quienes utilizaron larvas de *G. mellonella*, para la multiplicación de NEPs, inoculando 4,000 NEPs sobre 200 larvas de *G. mellonella* en el último estadio. Logrando obtener 16,528,080 NEPs. El tiempo transcurrido para obtener nematodos juveniles de *Heterorhabditis* sp. fue de 11-19 a una temperatura de 20 °C. Por lo que consideramos que la influencia en los días para la obtención de nematodos juveniles está relacionada con la temperatura, como lo menciona Glazer (1996), tiene efectos profundos sobre los aspectos biológicos de los NEPs al afectar la supervivencia, infectividad y patogenicidad. Así como, el desarrollo, maduración y reproducción (Long *et al.*, 2000).

Figura 1

Multiplicación de nematodos entomopatógenos en larvas de ultimo estadio de Galleria mellonella.
 A) Larvas de *G. mellonella* en platos Petri con inoculación de nematodos. B) Incubadora marca Vevor a 25 °C. C) Larvas de *G. mellonella* con coloración rojiza o marrón. D) Emergencia de nematodos entomopatógenos en larvas de *G. mellonella*.

**Patogenicidad de *Heterorhabditis* sp.**

El análisis no paramétrico Kaplan-Meier muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos ($X^2_{(6)}=54.01$, $P<0.001$). No obstante, en la figura 2 se muestra que las muertes se empiezan a registrar a partir de las 48 horas (h), todas las larvas murieron al quinto día con excepción del testigo (T0). Sin embargo, es notable mencionar que los tratamientos de forma libre T100 y T200 mostraron mejor resultado al ser los que más habían infectado a las larvas de *Agrotis* sp. a las 48 h, comparado con el tratamiento T300, esto se debe a que los NEPs necesitan entre 24 y 48 h para matar a su hospedero (Frost y Clarke, 2002). T300 en nuestro estudio mostró un porcentaje mayor de sobrevivencia, probablemente a que los NEPs presentaron competencias intraespecíficas. Según Hidalgo (2018), entre mayor sea la cantidad de nematodos a los que se exponga el insecto hospedero, más alta será la competencia intraespecífica entre ellos. Por tal motivo, al aplicar concentraciones de nematodos altas, la infección de las larvas puede no ser creciente, por el contrario, se mantiene estable o menor que cuando se usan concentraciones bajas.

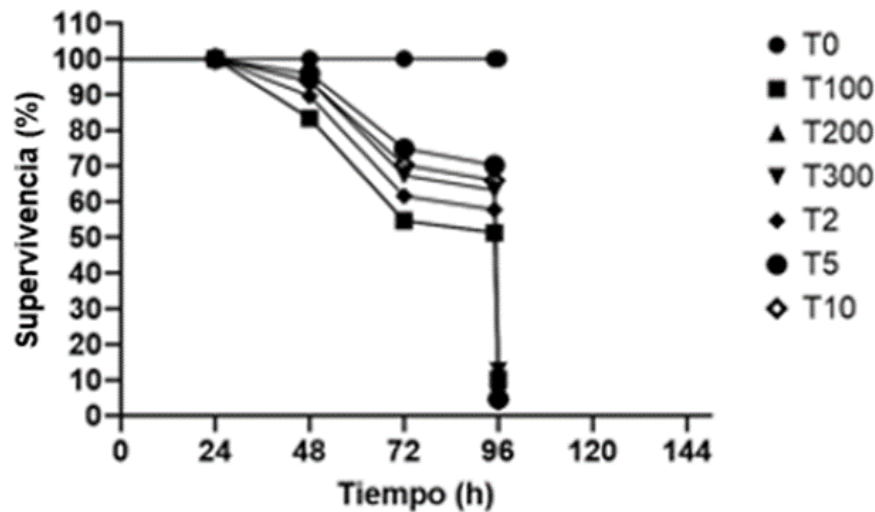
El método de cápsulas ha mostrado gran potencial como biocontrol para diferentes plagas de interés agrícola. Taylor (2018), evaluó las diferentes concentraciones de 3,000 y 4,000 JI/mL y dosis de 2 y 5 cápsulas/larva, los tratamientos de 5 cápsulas en las diferentes concentraciones logran 100% de mortalidad al cuarto día de evaluación. Miranda (2018), evaluó el efecto de diferentes dosis de cápsulas y concentraciones de nematodos sobre *Hermetia illucens* (Linnaeus) (Diptera: Stratiomyidae). Donde el mejor porcentaje de mortalidad la obtuvo con 10 cápsulas y una concentración de 9,000 NEPs. Posiblemente, colocar un mayor número de cápsulas en el plato



Petri aumentó la posibilidad de contacto de los nematodos entomopatógenos y las larvas. Estos resultados difieren con los nuestros, ya que, el T2 (2 cápsulas/larva), fue el que arrojó mejores resultados comparados con los otros tratamientos. Esto puede atribuirse a lo mencionado en el estudio de Goud *et al.* (2010), el aumento de cápsulas por plato Petri insta a la competencia intraespecífica que puede afectar la capacidad para localizar e infectar las larvas. De igual manera, el aumento de nematodos entomopatógenos puede ocasionar la muerte de estos por lo anteriormente mencionado.

Figura 2

Supervivencia de larvas de Agrotis sp. inoculadas con nematodos entomopatógenos con diferentes métodos de aplicación (libre y cápsulas) con distintas concentraciones (100, 200, 300 NEPs/mL por larva y 2 cápsulas, 5 cápsulas y 10 cápsulas/mL por larva).



Ensayo en campo

El ensayo fue analizado a través de modelo lineales generalizados ajustados a la distribución de Poisson ($P < 0.05$) (Tabla 1). El rango de cortes estuvo entre 2 para el T2 (NEPs) hasta 28 que presento el T1 (testigo).

Tabla 1

Análisis de Distribución de Poisson con diferencia significativa ($P < 0.05$) para los tratamientos en campo (0.001).

Origen	Chi-cuadrado de Wald	Gl	Sig.
Intersección	8,247	1	0,004
Tratamiento	30,617	4	<0,001



De acuerdo con los resultados, hubo diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.001$). Tal como se puede observar en la tabla 2, podemos apreciar que el tratamiento de los NEPs (T2) presenta diferencia con el tratamiento (T1, T4), respectivamente.

Tabla 2

Valores de diferencia de medias para los tratamientos de campo, con intervalo de confianza al 95%.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I - J)	Error estándar	Gl	Sig. Bonferroni	95% de intervalo de confianza de Wald para la diferencia	
						Inferior	Superior
T1	T2	6,50 ^a	1,369	1	0,006	2,66	10,34
	T3	6,25 ^a	1,392	1	0,000	2,34	10,16
	T4	2,75	1,677	1	1,000	-1,96	7,46
	T5	5,25 ^a	1,479	1	0,004	1,1	9,40
T2	T1	-6,50 ^a	1,369	1	0,000	-10,34	-2,66
	T3	-0,25	0,559	1	1,000	-1,82	1,32
	T4	-3,75 ^a	1,09	1	0,006	-6,81	-0,69
	T5	1,25	0,75	1	0,956	-3,36	0,86
T3	T1	-6,25 ^a	1,392	1	0,000	-10,16	-2,34
	T2	0,25	0,559	1	1,000	-1,32	1,82
	T4	-3,50 ^a	1,118	1	0,017	-6,64	-0,36
	T5	-1,00	0,791	1	1,000	-3,22	1,22
T4	T1	2,75	1,677	1	1,000	-7,46	1,96
	T2	-3,75 ^a	1,09	1	0,006	0,69	6,81
	T3	-3,50 ^a	1,118	1	0,017	0,36	6,64
	T5	2,50	1,225	1	0,412	-0,94	5,94
T5	T1	-5,25 ^a	1,479	1	0,004	-9,4	-1,10
	T2	1,25	0,75	1	0,956	-0,86	3,36
	T3	1,00	0,791	1	1,000	-1,22	3,22
	T4	-2,50	1,225	1	0,412	-5,94	0,94

^a Indica diferencia significativa en 0.05.

Los resultados muestran que en el tratamiento T2 (NEPs), solamente se observaron dos cortes por *Agrotis* sp. comparados con los 28 de T1. Donde el T2 representa una alternativa altamente viable, amigable, efectiva para el control de plagas de insectos en cultivos de interés agrícola para Panamá (Tabla 2). Esto se debe probablemente a mecanismos de defensa como el efecto guardaespaldas que poseen algunas plantas para atraer a enemigos naturales de plagas insectiles que las afectan (Turlings *et al.*, 1991). Es importante seguir evaluando a los NEPs, como el de este estudio, debido a su potencial patogénico y control frente a plagas de interés agrícola. Asimismo, evaluar ante otras especies de plantas para estimar la interacción que existe entre planta y enemigo natural, para medir la capacidad de atracción y búsqueda de parte de los NEPs.



CONCLUSIONES

- La metodología de extracción, multiplicación y encapsulación de los nematodos entomopatógenos garantiza una población constante para su aplicación.
- El porcentaje de mortalidad de *Agrotis* sp. por los nematodos entomopatógenos en forma libre y encapsulados resultaron ser efectivos.
- Los nematodos entomopatógenos resultaron lograron disminuir los cortes, que ocasiona *Agrotis* sp. por lo que representa una alternativa amigable para el control de esta plaga.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá sede experimental Cerro Punta por abrirme las puertas de sus instalaciones, laboratorio que me permitió realizar este trabajo de investigación, de igual manera, haberme permitido crecer como profesional en las ciencias agrícolas de Panamá. A la Secretaria Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT) por permitirme ser parte del proyecto de Investigación Microencapsulación de microorganismos para el control de plagas en hortalizas de Tierras Altas, de Chiriquí.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bogantes, D., Flores, L., Castellón, E. y Uribe, L. (2018). Encapsulamiento de nematodos entomopatógenos en materiales basados en biopolímeros y su efecto sobre *Galleria mellonella*. *Agronomía Costarricense*, 42(2), 9-27.
- Burnell, A. y Stock, S. (2000). *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts-lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2(1), 31-42.
- Cajusol, M. y Requejo, L. (2016). Conservación de nematodos entomopatógenos (*Heterorhabditis bacteriophora* y *Heterorhabditis* sp.) en tres sustratos a diferente tiempo y temperaturas en almacenamiento en laboratorio [Tesis de grado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú]. Recuperado 20 de abril de 2022 en: https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/842/Cajusol_V%C3%A9liz_Maris_Estela_y_Requejo_Sanchez_Liseth.pdf?sequence=4&isAllowed=y
- Candanedo, E., Caballero, G., Cabezón, P. y Reina, D. (2019). Prospección, identificación, crianza y eficacia biológica de capas nativas de nematodos entomopatógenos y microorganismos beneficios para el control biológicos insectiles y patógenos, en zonas de producción agrícola en Panamá Este y Colón. Instituto De Innovación Agropecuaria de Panamá (IDIAP). Recuperado el 9 de agosto de 2023. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Eric.CandanedoLay/publication/344418049_BIOPROSPECCION_Y_CONSERVACION_DE_CEPAS_NATIVAS_DEL_NEMATODO/link/s/5f73810e458515b7cf5862a5/BIOPROSPECCION-Y-CONSERVACION-DE-CEPAS-NATIVAS-DEL-NEMATODO.pdf
- Cassidy, M., Lee, H. y Trevors, J. (1996). Environmental applications of immobilized microbial cells: A review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 16(2), 79-101.



- Castillo, C., Gallegos, P., Asaquibay, C. y Oña, M. (2011). Guía de prospección y producción de nematodos entomopatógenos. INIAP, EESC, Departamento Nacional de Protección Vegetal. Quito. *Manual técnico* No. 88.
- Esquivel, A. (2013). Práctica número 1 métodos de extracción de nematodos. Consultado en línea el 16 de agosto de 2023, disponible en: <http://nemaplex.ucdavis.edu/Courseinfo/Curso%20en%20Espanol/LAB%201%20%20Extracci%C3%B3n%202013.pdf>
- Frost, S. y Clarke, D. (2002). Bacteria-nematode symbiosis. En R. Gaugler (Ed.), *Entomopathogenic Nematology* (pp. 57-77). New York, USA, CABI Publishing.
- García, C., González, M. y Cortez, E. (2012). Uso de enemigos naturales biorracionales para el control de plagas de maíz. *Ra Ximhai*, 8(3), 57-70.
- Giannasi, A., Brambila, C., Zart, M., Guide, B. y Alves, V. (2018). Evaluación de nematodos entomopatógenos en *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) bajo condiciones de laboratorio e invernadero. *Revista Colombiana de Entomología*, 44(1), 25-31. <https://doi.org/10.25100/socolen.v44i1.6533>.
- Glazer, I. (1996). Survival Mechanisms of Entomopathogenic Nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 6(3), 373-378.
- Goud, S., Hugar, P. S. y Prabhuraj, A. (2010). Effect of temperature, population density and shelf life of EPN *Heterorhabditis indica* (RCR) in sodium alginate gel formulation. *Journal of Biopesticides*, 3(3), 627-632.
- Hidalgo, E. (2018). Nematodos entomopatógenos en el Noreste de México y su patogenicidad y virulencia sobre *Tenebrio molitor* L. [Tesis de bachiller, Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro, Coahuila, México] Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/43337/Hidalgo%20Mayorga,%20Eduardo.pdf?sequence=1>
- Jiménez, E. (2009). Métodos de control de plagas. Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. Recuperado 13 de agosto de 2023. Disponible en <https://repositorio.una.edu.ni/2457/1/nh10j61c.pdf>
- Klein, M. G. (1990). Efficacy against soil-inhabiting insect pests. En R. Gaugler & H.K. Kaya (Eds.), *Entomopathogenic nematodes in biological control* (pp. 195-214). Boca Raton: CRC Press.
- Long, S. J., Richardson, P. N. y Fenlon, J. S. (2000). Influence of temperature on the infectivity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to larvae and pupae of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematology*, 2(3), 309-317.



- Mantoo, M. A., Zaki, F. A. y Waliullah, M. I. S. (2012). Virulence of Kashmir isolate of EPN *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae) against black cutworm (*Agrotis ipsilon*). *SKUAST Journal of Research*, 14, 67-72.
- Miranda, R. (2018). Evaluación de la infectividad de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* sp. CIA-NE07 formulado en microcápsulas de alginato sobre larvas de la mosca chichera (*Hermetia illucens*) (Diptera: Stratiomyidae) en condiciones de laboratorio. [Tesis de Grado, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica] Consultado 23 de septiembre de 2023. Disponible en <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/7520/1/44065.pdf>.
- Mnyone, L., Kirby, L., Lwetoijera, D., Mpingwa, M., Knols, D., Takken, W. y Russell, T. (2009). Infection of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, with two species of entomopathogenic fungi; effects; concentrations coformulations, exposure time and persistence. *Malaria Journal*, 8, 309.
- Moreno-Serrano, D., González, G., Castrejón, K., Vargas, R., Rodríguez-Hernández, B. y Ríos-Moreno, A. (2022). Patogenicidad de aislados nativos (*Beauveria bassiana*) y (*Cordyceps javanica*) sobre larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Revista Investigaciones Agropecuarias*, 4(2), 31-43. https://revistas.up.ac.pa/index.php/investigaciones_agropecuarias/article/view/2925
- Stock, S. y Goodrich, H. (2012). Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance. In L.A. Lacey (Ed.), *Manual of techniques in invertebrate pathology* (2d edition, pp. 373-426). Academic Press, London, United Kingdom.
- Sun, P., Ping, L., Yu-Min, L., Qin, W. y Lin-Hong, T. (2011). A pH sensitive chitosan-tripolyphosphate hydrogel beads for controlled glipizide delivery. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 97B(1), 175-183. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31801>
- Taylor, E. (2018). Optimización para la formulación de cápsulas de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis* sp. (Heterorhabditidae) mediante la evaluación de dos métodos de encapsulamiento. [Tesis de Grado, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica]. Consultado 23 de septiembre de 2023. Disponible en <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/7509/1/44062.pdf>
- Turlings, T., Tumlinson, J., Heath, R., Proveaux, A. y Dolittle, R. (1991). Isolation and identification of allelochemicals that attract the larval parasitoid *Cotesia marginiventris* (Cresson), to the microhabitat of one of its host. *Journal of Chemical Ecology*, 17(11), 2235-2251.
- Vassilec, N., Vassileva, M., Azcon, R. y Medina, A. (2001). Interactions of an arbuscular mycorrhizal fungus with free or co-encapsulated cells of *Rhizobium trifoli* and *Yarrowia lipolytica* inoculated into a soil-plant system. *Biotechnology Letters*, 23, 149-151.



Vargas, R., Olivares, N. y Ubillo, A. (2008). Manejo Integrado de Resistencia (MIR) y selectividad de plaguicidas. En R. Ripa, & I.D.P.L. Droguett (Eds.), Manejo de plagas en paltos y cítricos (Vol. 23, pp. 155-162). La Cruz: Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Consultado el 10 de agosto de 2023, disponible en: http://www.avocadosource.com/books/ripa2008/Ripa_Chapter_05b.pdf

Vemmer, M. y Patel, A. (2013). Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. *Biological Control*, 67, 380-389.

Woodring, J. y Kaya, H. (1988). *Steinernema* and *Heterorhabditis*: A hand handbook of biology and Techniques. *Southern Cooperative Series Bulletin*, 331, 1-30.