

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Actividad Bioinsecticida del Hongo Entomopatógeno *Metarhizium rileyi* y de la Bacteria *Bacillus thuringiensis*, Contra Larvas de Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en Condiciones de Laboratorio.

Por:

PAOLA JUÁREZ REYES

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre de 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Actividad Bioinsecticida del Hongo Entomopatógeno *Metarhizium rileyi* y de la Bacteria *Bacillus thuringiensis*, Contra Larvas de Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en Condiciones de Laboratorio.

Por:

PAOLA JUÁREZ REYES

TESIS

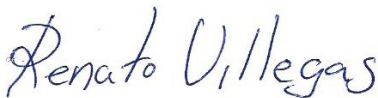
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

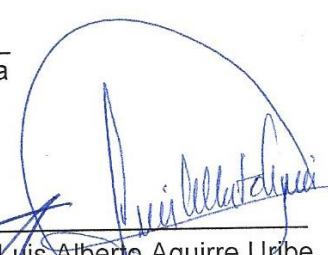
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Sergio René Sánchez Peña
Asesor Principal



MC. Renato Villegas Luján
Coasesor



Dr. Luis Alberto Aguirre Uribe
Coasesor



Dr. José Antonio González Fuentes
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Diciembre de 2021



DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas, utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



Paola Juarez Reyes
Firma y Nombre

DEDICATORIA

A mis padres: Mauro Juárez† y Francisca Reyes.

Papá, ya no leerás estas líneas y tampoco me verás llegar a esta meta como lo habíamos planeado, pero donde quiera que te encuentres, debes saber que te llevo presente en mi corazón, que tus palabras resuenan en mi mente cada vez que pienso que ya no puedo más y que los consejos que me diste son la fuerza que me impulsa cada mañana para seguir con mi camino. Algún día nos volveremos a encontrar y te platicaré cómo fue mi vida desde nuestro último abrazo, por mientras, seguiré sonriéndole al cielo pensando que me guías desde ahí.

Mamá, gracias por no rendirte, por aferrarte a la vida y sostenerme en los momentos en que todo se tornó gris, gracias por tu amor incondicional, por ser el apoyo que siempre me espera en casa y por todo lo que me sigues dando.

Esto es para ustedes, por darme todo cuanto he necesitado, por guiar cada uno de mis pasos con amor y paciencia, por enseñarme día con día la importancia de creer en mi misma y por darme lugar siempre en sus brazos.

Gracias por los valores que me han inculcado y por hacerme entender que todo es posible si así lo crees.

Que la vida me alcance para devolverles todo lo que han hecho por mí.

Con mucho amor, su hija:

Paola J.

AGRADECIMIENTOS

A mis hermanos por ser mis compañeros de vida, por sacarme siempre una sonrisa, por querer siempre lo mejor para mí y por el apoyo que siempre están dispuestos a darme.

A mi ALMA MATER (UAAAN) por haberme permitido ser parte de esta gran familia, por ser mi segunda casa durante estos 5 años, por los conocimientos brindados y las experiencias que quedarán por siempre en mí. ¡Qué orgullo ser buitre!

A mis amigos:

Gabriela Flores, por estar en todo momento, por ser mi confidente y compañera de locuras durante todos estos años.

Daniel Galván, fuiste pieza importante en este trabajo, gracias por los momentos, las risas, las palabras de aliento y el apoyo incondicional de principio a fin.

Thalía Tapia, Yohanee Medina, Yesenia Ramos, Carmen Guijón, Meralida Bartolón, Marcos García, Cristian Miranda, Sonia Sánchez, Yessenia González, Alexis Ek; cada uno de ustedes ha contribuido de manera significativa tanto en mi formación profesional como en mi vida. Siempre estaré agradecida con Dios por haberme hecho coincidir con personas tan maravillosas como ustedes.

Dr. Sergio Sánchez, por haberme abierto las puertas para hacer esto posible, por los consejos, por motivarme y por siempre estar pendiente de mí.

M.C. Renato, por enseñarme gran parte de lo que sé hacer, por el tiempo y la paciencia que conllevó esta tesis.

A los ingenieros: Fernando Durán y Juan García, por compartir sus conocimientos conmigo durante mi estancia en prácticas profesionales y por su apoyo aún después de terminar.

Dr. Luis Alberto Aguirre y MC. Carolina Delgado, por el apoyo y por formar parte de mi comité, gracias.

ÍNDICE GENERAL

Tabla de contenido

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 10 |
| OBJETIVO PRINCIPAL | 13 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 13 |
| HIPÓTESIS | 13 |
| REVISIÓN DE LITERATURA | 14 |
| El maíz (<i>Zea mays</i> L.) | 14 |
| Clasificación taxonómica del maíz | 14 |
| Morfología del maíz | 14 |
| Principales plagas del maíz | 16 |
| Importancia del gusano cogollero | 17 |
| | 18 |
| Biología y hábitos | 18 |
| Ciclo biológico del gusano cogollero. | 19 |
| | 19 |
| Daños causados por <i>S. frugiperda</i> | 20 |
| Métodos de manejo y control. | 20 |
| Control legal | 20 |
| Control cultural | 20 |
| Control biológico | 21 |
| <i>Metarhizium rileyi</i> (= <i>Nomuraea rileyi</i>). | 21 |
| Producción masiva | 25 |
| Introducción de epizootias | 26 |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 26 |
| Clasificación taxonómica (Berliner, 1915). | 27 |
| Mecanismo de acción en larvas | 27 |
| Antecedentes | 27 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 29 |
| Establecimiento de la cría de <i>S. frugiperda</i> . | 29 |
| Mantenimiento de las larvas de <i>S. frugiperda</i> | 29 |
| Manejo de pupas y adultos de <i>S. frugiperda</i> | 30 |

| | |
|--|----|
| Recuperación de huevos. | 31 |
| Separación por estadio larval, dieta y cuidados. | 31 |
| Reactivación de las cepas 1, C1 (Cuauhtémoc, Tamaulipas) y 2, C2 (Saltillo, Coahuila) de <i>M. rileyi</i> en larvas de <i>S. frugiperda</i> y evaluación de patogenicidad de acuerdo a la procedencia del hongo. | 32 |
| Elaboración de medios de cultivo. | 33 |
| Bioensayos | 34 |
| Método general de conteo de esporas | 34 |
| Experimento 1: Evaluación de cepas producidas en diferente sustrato: arroz y larvas. | 35 |
| Experimento 2. Evaluación del porcentaje de mortalidad de larvas de <i>S. frugiperda</i> luego de aplicar <i>M. rileyi</i> , Bt y la combinación de estos dos, a diferentes concentraciones. | 36 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 39 |
| Experimento 1. Evaluación de cepas producidas en diferente sustrato: arroz y larvas. | 39 |
| Experimento 2. Evaluación del porcentaje de mortalidad de larvas de <i>S. frugiperda</i> luego de aplicar <i>M. rileyi</i> , Bt y la combinación de estos dos, a diferentes concentraciones. | 42 |
| CONCLUSIONES | 48 |
| FUENTES BIBLIOGRÁFICAS | 50 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Etapas de crecimiento del cultivo de maíz. | 15 |
| Tabla 2. Especies de lepidópteros reportados como susceptibles a <i>Metarhizium rileyi</i> . | 23 |
| Tabla 3. Análisis de varianza (ANVA) a la variable independiente: mortalidad entre tratamientos. | 40 |
| Tabla 4. Mortalidad de larvas de <i>S. frugiperda</i> después de la aplicación de suspensiones de dos cepas de <i>M. rileyi</i> (C1: Cuauhtémoc, Tamps y C2: Saltillo, Coah.) en laboratorio. Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes. | 40 |
| Tabla 5. Tratamientos, experimento 1. | 41 |
| Tabla 6. Parámetros de mortalidad acumulada. EV = evaluaciones cada 24 horas. | 43 |
| Tabla 7. Análisis de varianza (ANVA) a la variable independiente: Mortalidad entre tratamientos en la prueba de seis tratamientos en larvas de tercer estadio de <i>S. frugiperda</i> . | 43 |
| Tabla 8. Mortalidad media de <i>S. frugiperda</i> en los seis tratamientos aplicados con microdosis, en condiciones de laboratorio. Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes. | 43 |
| Tabla 9. Tratamientos. | 44 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Ilustración 1. Etapas de desarrollo del cultivo de maíz. Fuente: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. | 15 |
| Ilustración 2. Larva de gusano cogollero (<i>S. frugiperda</i>) | 18 |
| Ilustración 3. Ciclo biológico del gusano cogollero (<i>S. frugiperda</i>). | 19 |
| Ilustración 4. <i>Metarhizium rileyi</i> : conidioforo, conidias. (Tomado de Alves, 1986). | 23 |
| Ilustración 5. Cría de gusano cogollero. Laboratorio de Control Biológico y Ecología de Insectos. Departamento de Parasitología. UAAAN, Saltillo, Coah. | 29 |
| Ilustración 6. Pupas de <i>S. frugiperda</i> . 1: hembra; 2: macho. | 30 |
| Ilustración 7. Huevos de <i>S. frugiperda</i> recién eclosionados. | 31 |
| Ilustración 8. Inoculación del hongo entomopatógeno <i>M. rileyi</i> en larvas de gusano cogollero. Laboratorio de Taxonomía de Insectos. Departamento de Parasitología. UAAAN, Saltillo, Coah. | 38 |
| Ilustración 9. Mortalidad de larvas de <i>S. frugiperda</i> luego de inocular conidios del "sustrato arroz" de la C2: Saltillo, Coahuila, a diferentes dosis. | 39 |
| Ilustración 10. Porcentaje de mortalidad de larvas de <i>S. frugiperda</i> en seis tratamientos evaluados durante seis días consecutivos cada 24 horas, a partir del tercer día de inoculación. | 42 |
| Ilustración 11. Larva de gusano cogollero micosada por <i>M. rileyi</i> . Cámara Bioclimática No. 9. UAAAN, Saltillo, Coah. | 45 |

RESUMEN

El maíz es uno de los cultivos más importantes en México y el mundo, por lo tanto, el manejo adecuado del cultivo y sus plagas es un tema de gran importancia. El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) es una de las plagas más importantes en el maíz, siendo el causante de daños económicos en cuestión de rendimiento en cosecha. En la actualidad, debido a una preocupación por el impacto ambiental de plaguicidas y a las campañas de activistas del medio ambiente, se ha empezado una nueva era de sustentabilidad usando productos que sean amigables con el ambiente poniendo de moda el control biológico. Los organismos entomopatógenos reciben uno de los primeros lugares de importancia en este papel, ya que el uso excesivo y desmedido de productos químicos ha traído consecuencias negativas muy notorias para el ecosistema. Adoptar medidas que favorezcan el control y manejo de organismos plaga es un reto para todos nosotros.

Objetivo: En esta investigación, se evaluó la mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* a diferentes suspensiones de esporas del hongo *Metarhizium rileyi*, en comparación con la bacteria *Bacillus thuringiensis* separadamente y en combinación, para evaluar la interacción entre *M. rileyi* y *B. thuringiensis*.

Se hicieron colectas para establecer una cría de laboratorio de *S. frugiperda*, donde se menciona el manejo de esta misma y la dieta utilizada; además, se describen las recetas de medio de cultivo para la producción de *Metarhizium rileyi* (= *Nomuraea rileyi*), que es enemigo natural de *S. frugiperda*, en condiciones de laboratorio.

En el experimento uno se hicieron bioensayos para evaluar la patogenicidad de dos cepas de *M. rileyi*, producidas en diferente sustrato (larva y arroz) a diferentes concentraciones: dosis baja 1×10^6 , dosis media 1×10^7 , dosis alta 1×10^8 , por grupos de larvas, para determinar qué sustrato fue más efectivo como medio nutritivo.

En el experimento dos se hicieron bioensayos con seis tratamientos: suspensión de conidios de *M. rileyi* a 1.3×10^8 en conjunto con la bacteria *B. thuringiensis* usando el producto Thuricide BT® “caterpillar control biological insecticide”, para evaluar la mortalidad de larvas de tercer estadio y la interacción (sinergismo) que puedan presentar estos dos organismos entomopatógenos. Se aplicaron 20µl de

suspensión de conidios en el dorso de las larvas con micropipeta y se hicieron suspensiones del producto bacterial utilizando dosis baja (recomendada en la etiqueta) y dosis alta (tres veces la dosis recomendada); el pasto Bermuda se sumergió durante 5 segundos en estas suspensiones preparadas para consumo de las larvas.

En el experimento uno se obtuvo mortalidad de la cepa 1 de 6.66% la dosis 1×10^8 (alta); en la cepa 2, 60% para la dosis 1×10^7 (media) y 33.33% para la dosis 1×10^8 (alta) en el medio de cultivo de "arroz".

En el experimento dos se observó que la bacteria no tuvo efecto significativo en la mortalidad, ya que en la combinación de hongo y bacteria la mortalidad no fue significativamente diferente a la del hongo por sí solo alcanzándose un porcentaje de mortalidad de 83% en combinación de ambos tratamientos; por lo tanto, no se observaron interacciones tales como sinergismo o efectos aditivos entre ambos agentes de control.

Como conclusión, los resultados indican que el hongo *M. rileyi* puede ser una herramienta para el control biológico del gusano cogollero, mientras que el producto utilizado a base de *B. thuringiensis* presentó baja actividad contra este insecto.

Palabras clave: Entomopatógenos, *Metarhizium rileyi*, *Spodoptera frugiperda*, *Bacillus thuringiensis*, control biológico, bioensayos, sinergismo.

INTRODUCCIÓN

En México alrededor del 60% de la producción de maíz en grano proviene de los productores de pequeña escala. La importancia alimentaria, industrial, política, económica, cultural y social está cada vez en aumento debido a la demanda de este cultivo en forma comercial. Los pequeños y medianos productores al unirse suman el 91% de la superficie sembrada, lo que significa que juntos aportan alrededor del 75% de la producción nacional de maíz. En el 2019, la superficie con rendimiento de maíz grano menor a 5 t/ha, sumó 84% de la superficie cultivada, donde se obtuvieron 14 millones 789 mil 348 toneladas de un total de 27 millones 228 mil 242 toneladas (SADER, 2020).

Las problemáticas del cultivo de maíz se asocian con la baja productividad por hectárea, los problemas fitosanitarios, altos costos de producción y la competencia ejercida por el maíz subsidiado proveniente de Estados Unidos. Dentro de los principales problemas fitosanitarios se encuentran malezas, enfermedades e insectos plaga, estos últimos destacan debido al daño que ocasionan y se estiman pérdidas en rendimiento de hasta 30%, desde que se establece el cultivo, hasta el almacenamiento del grano (Proain, 2021).

El control biológico de plagas es una tecnología que aprovecha a los enemigos naturales de las plagas con la finalidad de reducir sus poblaciones o su impacto sin afectar las producciones agrícolas (SADER, 2019). En la agricultura su implementación es muy significativa, pues al ser una tecnología cien por ciento natural no impacta negativamente al medio ambiente y a la salud pública; caso contrario con los insecticidas que no controlan en su totalidad con las plagas, pero, colateralmente, matan a los organismos benéficos de los cultivos que se encuentran en la tierra y contaminan al producto. Gracias al control biológico de plagas se reportaron más de 13 mil hectáreas con microorganismos entomopatógenos, lo que evitó el uso de 272 toneladas de insecticida en el año (SADER, 2019).

JUSTIFICACIÓN

El uso de organismos biológicos asegura la sustentabilidad de los sistemas agrícolas, ya que estos tienden a establecerse en dichos sistemas a través del tiempo y no causan perjuicios secundarios significativos en poblaciones de insectos no plagas; además, su relativo bajo costo los pone al alcance de la mayoría de los productores.

OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar la compatibilidad de *Metarhizium rileyi* y *Bacillus thuringiensis* contra el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la patogenicidad de dos cepas de *M. rileyi* de acuerdo a su procedencia (Tamaulipas y Coahuila).
- Evaluar la patogenicidad de dos cepas de *M. rileyi* producidas con diferentes métodos (arroz y larva).
- Evaluar la actividad de las combinaciones del hongo *M. rileyi* (cepas de laboratorio) y *Bacillus thuringiensis* (producto comercial).
- Optimizar el manejo de cría de laboratorio de *S. frugiperda*.

HIPÓTESIS

El hongo entomopatógeno *M. rileyi* y la bacteria *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* causarán un efecto de sinergismo en la mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero).

REVISIÓN DE LITERATURA

El maíz (*Zea mays* L.)

El maíz y sus parientes silvestres los teocintles, se clasifican dentro del género *Zea* perteneciente a la familia Gramínea o Poaceae, que incluye también a importantes cultivos agrícolas como el trigo, arroz, avena, sorgo, cebada y caña de azúcar. Con base en caracteres de la espiga o inflorescencia masculina, el género *Zea* se ha dividido en dos secciones luxuriantes y anuales (Doebley e Iltis, 1980).

Clasificación taxonómica del maíz

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobiota

Supervisión: Spermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Commelinidae

Orden: Cyperales

Familia: Poaceae

Tribu: Maydeae

Género: *Zea*

Especie: *Zea mays* (Linneo).

Morfología del maíz

El tallo es simple, erecto, de elevada longitud pudiendo alcanzar los 4 metros de altura, es robusto y sin ramificaciones. Por su aspecto recuerda al de una caña, no presenta entrenudos y si una médula esponjosa si se realiza un corte transversal. El maíz es de inflorescencia monoica con inflorescencia masculina y femenina separada dentro de la misma planta. En cuanto a la inflorescencia masculina presenta una panícula (vulgarmente denominadas espigón o penacho) de coloración amarilla que posee una cantidad muy elevada de polen en el orden de 20 a 25 millones de granos de polen. En cada florecilla que compone la panícula se presentan tres estambres donde se desarrolla el polen. En cambio, la inflorescencia

femenina marca un menor contenido en granos de polen, alrededor de los 800 o 1000 granos y se forman en unas estructuras vegetativas denominadas espádices que se disponen de forma lateral. Las hojas son largas, de gran tamaño, lanceoladas, alternas, paralelinervas. Se encuentran abrazadas al tallo y por el haz presenta vellosidades. Los extremos de las hojas son muy afilados y cortantes. Las raíces son fasciculadas y su misión es la de aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos sobresalen unos nudos de las raíces a nivel del suelo y suele ocurrir en aquellas raíces secundarias o adventicias (Infoagro, 2021).

Fenología del maíz

La progresión de etapas por las que atraviesa el cultivo se conoce como desarrollo. Si bien existen escalas para describir el ciclo de un cultivo de maíz a partir de sus cambios externos visibles (Ritchie y Hanway, 1982).

Las etapas de crecimiento del cultivo de maíz se dividen en dos grandes categorías:

- Vegetativa (V)
- Reproductiva (R)



Ilustración 1. Etapas de desarrollo del cultivo de maíz. Fuente: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.

Tabla 1. Etapas de crecimiento del cultivo de maíz.

| ETAPA | DDS | CARACTERÍSTICAS |
|--------------|------------|--|
| VE | 5 | El coleóptilo emerge de la superficie del suelo. |

| | | |
|-----------|-----|---|
| V1 | 9 | Es visible el cuello de la primera hoja. |
| V2 | 12 | Es visible el cuello de la segunda hoja. |
| VN | | Es visible el cuello de la hoja número “n”. (“n” es igual al número definitivo de las hojas que tiene la planta; “n” generalmente fluctúa entre 16 y 22, pero para la floración se habrán perdido las 4 a 5 hojas de más abajo). |
| VT | 55 | Es completamente visible la última rama de la panícula. |
| R0 | 57 | Antesis o floración masculina. El polen se comienza a arrojar. |
| R1 | 59 | Son visibles los estigmas. |
| R2 | 71 | Etapas de ampolla. Los granos se llenan con un líquido claro y se puede ver el embrión. |
| R3 | 80 | Etapas lechosas. Los granos se llenan con un líquido lechoso claro. |
| R4 | 90 | Etapas lechosas. Los granos se llenan con una pasta blanca. El embrión tiene aproximadamente la mitad del ancho del grano. |
| R5 | 102 | Etapas dentadas. La parte superior de los granos se llena con almidón sólido y, cuando el genotipo es dentado, los granos adquieren la forma dentada. En los tipos tanto cristalinos como dentados es visible una “línea de leche” cuando se observa el grano desde el costado. |
| R6 | 112 | Madurez fisiológica. Una capa negra es visible en la base del grano. La humedad del grano es generalmente de alrededor del 35%. |

**DDS: Número aproximado de días después de la siembra en ambientes tropicales, donde las temperaturas máxima y mínima pueden ser de 33°C y 22°C, respectivamente. En los ambientes más fríos, se amplían estos tiempos.*

Principales plagas del maíz

Existe diversidad de especies que atacan al cultivo, entre las principales se encuentran: *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero), *Diatraea* sp. (barrenador del tallo), *Helicoverpa zea* (gusano elotero), *Mocis latipes* (falso medidor), *Agrotis* spp.

y *Feltia* spp. (gusanos cortadores), *Aeolus* sp. (gusano alambre), *Colaspis* sp. (gusano esqueletizador), *Diabrotica* sp. (diabroticas) y *Aphis* sp. (áfidos o pulgones). PROAIN (2021).

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

Según Bayer Crop Science (2001), el gusano cogollero es la larva de la palomilla nocturna *Spodoptera frugiperda*, que ataca principalmente maíz, sorgo y arroz, aunque también en menor grado, hortalizas y algodón, entre otros cultivos.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Fernández (1994), indica que la clasificación taxonómica del “gusano cogollero” *S. frugiperda* es la siguiente:

Reino: Animal

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

División: Pterygota

Orden: Lepidoptera

Suborden: Frenatae

Familia: Noctuidae

Subfamilia: Amphipyirinae

Género: *Spodoptera*

Especie: *S. frugiperda*

Importancia del gusano cogollero

El gusano cogollero es considerado como una de las plagas más importantes del maíz en las regiones tropicales y subtropicales de América. En diversas entidades del país se han registrado pérdidas causadas por este insecto que van desde 13

hasta 60%. Los daños más serios corresponden a las zonas temporales de regiones tropicales y subtropicales. Su distribución es muy amplia, ocurre en todas las zonas productoras de maíz. Su presencia y daños han sido reportados en las siguientes entidades: Baja California Norte, Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Chihuahua, Durango, San Luis Potosí, Guanajuato, Tamaulipas, Hidalgo, Puebla, México, Guerrero, Veracruz, Oaxaca, Chiapas, Campeche, Quintana Roo y Yucatán. Además de maíz, este insecto puede afectar otras gramíneas como sorgo, arroz, pastos, algunas leguminosas como frijol, soya y cacahuate y cultivos hortícolas como papa, cebolla, pepino, col y camote (Notz, 1973). Recientemente ha invadido el Viejo Mundo, con impacto significativo sobre cultivos de diversos países africanos, así como la India, China y otros (Wu *et al.* 2021).



Ilustración 2. Larva de gusano cogollero (*S. frugiperda*)

Biología y hábitos

Es una plaga de origen tropical y subtropical, ya que en estas zonas el insecto completa todos sus estados de desarrollo en forma continua a lo largo del año. En las zonas templadas se comporta como una plaga estacional, no sobrevive a los fríos invernales dado que carece de mecanismos de defensa, como la diapausa (Lunginbill, 1928; Pair *et al.*, 1991). Cada hembra oviposita en promedio 1, 000 huevos durante toda su vida, agrupados en masas que promedian los 100 a 150 huevos cada una. Los huevos son cubiertos con hilos de seda y escamas de coloración grisácea, que secreta la hembra. En el cultivo de maíz, independientemente de su estado fenológico, oviposita sobre las hojas en la parte media de la planta, preferentemente en el envés o en la zona basal de las mismas

(Murúa y Virla, 2004). Los primeros estadios se alimentan durante el día, mientras que los últimos son más activos durante la noche; el último va a consumir una mayor cantidad de alimento que todos los anteriores, de tal manera que los dos últimos consumen el 85% del follaje que se come una larva durante todo su ciclo de desarrollo (Luginbill, 1928; Mena-Covarrubias, 2008; Bautista y Morales, 2016). Para completar su desarrollo, las larvas consumen en total un promedio de 179.7 cm² de superficie foliar de maíz y dejan de alimentarse antes de alcanzar el último instar larval (Rezende *et al.*, 1994)

Ciclo biológico del gusano cogollero.

El gusano cogollero tiene varias generaciones por año, su ciclo biológico consiste en huevo, seis o siete estadios larvarios, pupa y adulto (Hardke *et al.*, 2015). La duración en el estado de huevo es de dos a tres días en los meses de verano. Una vez que el huevo eclosiona, el número de instares por los que pasa la larva depende de la planta hospedante de la cual se alimenten; en maíz comúnmente tiene 6 estadios, y estos requieren: 53.9, 42.6, 38.2, 38.6, 44.8, 58.9 unidades calor (con temperatura base de 10.9 °C) para que se completen del 1 al 6, respectivamente. En prepupa duran en promedio dos días. Para pupar se entierran en el suelo, donde forman una cámara pupal en la cual permanecen de 10 a 15 días aproximadamente, la profundidad de la pupación depende de factores como la textura, humedad y temperatura del suelo. Posteriormente emergen como adultos (Luginbill, 1928; Hardke *et al.*, 2015). El ciclo completo dura aproximadamente de 24 a 40 días.

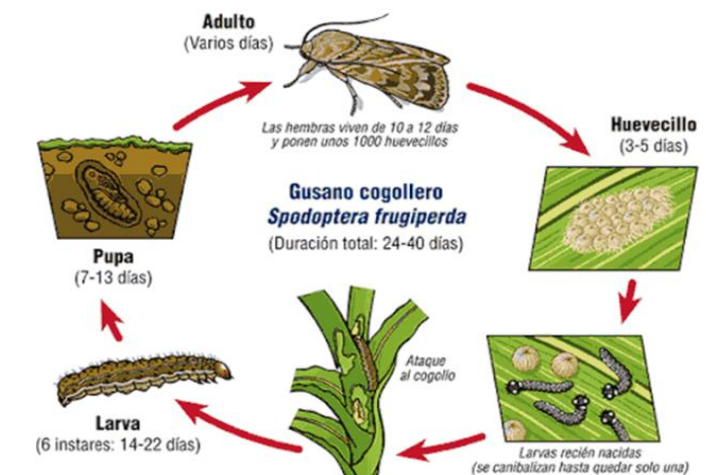


Ilustración 3. Ciclo biológico del gusano cogollero (*S. frugiperda*).

Daños causados por *S. frugiperda*

En maíz el gusano cogollero se alimenta generalmente del follaje, de forma ocasional llega alimentarse del elote; como larva, penetra el cogollo de plantas pequeñas preferentemente de 10 a 60 cm de altura, su presencia se detecta al observar hojas perforadas. El daño foliar de maíz se caracteriza generalmente por la alimentación irregular y excremento húmedo parecido al aserrín cerca del cogollo del maíz y las hojas superiores de la planta. Los daños son más severos en zonas tropicales y subtropicales. Con temperaturas mayores a 30 °C y poca precipitación, la larva se alimenta del cogollo en los primeros cinco días y posteriormente se dirige a la base de la planta para barrenar el tallo sin que este se caiga y refugiarse dentro de él, a diferencia de un trozador que corta el tallo por lo que la planta cae (Bautista, 2006; Bohnenblust y Tooker, 2012; Bautista y Morales, 2016).

Métodos de manejo y control.

Control legal

El gusano cogollero no se encuentra clasificado en nuestro país como una plaga regulada para los países con los que se tiene planes de trabajo comercial. Sin embargo, en los estados donde ha llegado a ser un problema, esta plaga llega a ser considerada dentro del Programa de Trabajo del Manejo Fitosanitario del Maíz donde se contemplan acciones para su control (CESAVEQ, 2015).

Control cultural

Se debe evitar establecer el cultivo en terrenos altamente infestados con maleza, sobre todo aquellas perennes que sean hospedantes del gusano cogollero; al seleccionar el cultivar a sembrar, elegir híbridos que, aunque puedan ser preferidos por la plaga, muestren algún nivel de tolerancia para obtener altos rendimientos. Respetar los periodos de siembra influye en el éxito del cultivo, esto con el objetivo de aprovechar las mejores condiciones de desarrollo del cultivo y menos factores como las plagas (Cortez-Mondaca y Rodríguez-Cota, 2012).

Control químico

Los plaguicidas fueron descubiertos a partir de la segunda guerra mundial y desde entonces han sido una herramienta indispensable para la agricultura. Fue a partir

de 1945 que comenzó a elevarse notoriamente el uso de plaguicidas en cultivos a nivel mundial, esto debido a que los insecticidas forman parte del 40% del total de productos químicos utilizados en la agricultura (Infoagro, 2020). Sin embargo, su uso continuo provoca disturbios en la dinámica de la plaga al destruir sus enemigos naturales, además de problemas de resistencia a estos compuestos, intoxicación en operarios que aplican los productos en campo, contaminación del ambiente y un incremento notable en los costos de producción (García y Pulido 1984).

Control biológico

El gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* es un insecto que posee una amplia gama de enemigos naturales, como especies de parasitoides y organismos entomopatógenos como hongos, virus y bacterias (Rodríguez, 1984).

Entre las especies de parasitoides se encuentran *Cotesia marginiventris* (Cresson) y *Chelonus texanus* (Cresson) (Hymenoptera: *Braconidae*), especies que también están asociados con otras especies de noctuidos.

El maíz con Bt es usado ampliamente en los Estados Unidos. En el 2016, el 86% de acres productores de algodón comercial es plantado con algodón Bt, el 80% de acres productores de maíz comercial es plantado con maíz Bt. Las mejores prácticas de manejo de plagas para controlar otras especies de gusano cortador, como el gusano de mazorca de maíz (*Heliothis zea*) que está ampliamente distribuido en los Estados Unidos, también controla el gusano cogollero, con algunas modificaciones.

***Metarhizium rileyi* (= *Nomuraea rileyi*).**

El hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, tiene una distribución mundial y es un importante enemigo natural de especies de lepidópteros plaga, reportándose sobre *Anticarsia gemmatilis* (Hubner), *Heliothis zea* (Boddie), *H. virescens* (Fabricius), *Pseudoplusia includens* (Walker), *Spodoptera exigua* (Hubner), *S. frugiperda* (Smith) y *Trichoplusia ni* (Hubner). (Ignoffo *et al.* 1976, Putter *et al.* 1976, Boucias *et al.* 1982, Boucias *et al.* 1984 y Philip y Orellana, 1990). Se considera como candidato potencial para emplearse en el control microbiano, ya

que se ha observado ocasionando epizootias naturales al suprimir poblaciones de estas plagas antes que los daños excedan los umbrales económicos.

Clasificación taxonómica

Nomuraea rileyi fue descrita en el principio como *Botriti rileyi* (Faorlow) y transferido al género *Spicaria* por Charles en 1936 (citado por Ignoffo, 1981), posteriormente las especies de *Spicaria* fueron ubicados en *Paecilomyces*, sin embargo, la presencia de la fiálide atípica de *Paecilomyces* y la coloración verde de su colonia permitieron que no fuese transferida a ese género y se ubicó en el género *Penicillium*, no obstante, investigadores y científicos continuaron usando el nombre del antiguo género *Nomuraea* cambiando de *Spicaria rileyi* a *Nomuraea rileyi* (Ignoffo, 1981).

Descripción de *M. rileyi*

Se caracteriza por presentar estructuras reproductivas en forma de conidios, crece lentamente en medio de cultivo presentando en un inicio una colonia verde pálida, cambiando conforme maduran sus conidias a verde malaquita o verde olivácea. Su hifa vegetativa es septada, de pared lisa, hialina o ligeramente pigmentada; su estructura reproductiva es un conidióforo efecto septado que nace de la hifa formando densos grupos de racimos con 2 o 3 fiálides compactadas alrededor del conidióforo, las fiálides son cilíndricas con la base ocasionalmente ensanchada y cuello muy corto o ausente de 4.7-6.5X 2.3-3µm. Los conidios en cadena, de forma elipsoide algunas veces cilíndricos de 3.5-4.5X 2-3.1µm (Samson, 1974). La temperatura óptima para el crecimiento micelial y esporulación del hongo es de 25°C, el tiempo promedio para iniciar la esporulación a 15, 20 y 25°C es de 21, 10 y 9 días respectivamente (Ignoffo *et al.* 1976). A temperaturas de 5, 35, 37 y 40°C y entre 40 y 60% de humedad relativa no presenta germinación de conidias, (Ignoffo, 1981).

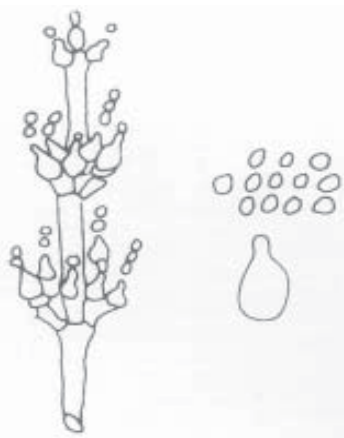


Ilustración 4. *Metarhizium rileyi*: conidioforo, conidias. (Tomado de Alves, 1986).

Antecedentes

El espectro de huéspedes de *M. rileyi* está principalmente limitado al orden Lepidoptera, aunque al menos dos especies de coleópteros, *Hypera punctata* (Fabricius) y *Leptinotarsa decemlineata* (Kroatz), han sido reportados como susceptibles al hongo en forma natural y en laboratorio, respectivamente. Ignoffo (1981) realizó pruebas con otras 18 especies, en donde se incluyeron insectos de los ordenes Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera, Neuroptera y Hemiptera, los cuales no presentaron susceptibilidad a altas concentraciones de conidios del hongo.

Tabla 2. Especies de lepidópteros reportados como susceptibles a *Metarhizium rileyi*.

| ESPECIE | CULTIVO | ORIGEN |
|------------------------------|---------|--------|
| <i>Achoea janata</i> | Frijol | India |
| <i>Agrotis ipsilon</i> | Soya | E. U. |
| <i>Amathes badinodis</i> | | E. U. |
| <i>Anticarsia gemmatalis</i> | Soya | Brasil |
| <i>Bombix mori</i> | Lab. | Japón |
| <i>Chrisodeixis erisama</i> | Col | Ceilán |

| | | |
|--|--|-------------|
| <i>Cosmia nr. exigua</i> | | Fiji |
| <i>Cnaphalocrocis medinalis</i> | | Filipinas |
| <i>Feltia ducens</i> | Lab | E. U. |
| <i>F. gladiaria</i> | | |
| <i>Glyphodes phyloalis</i> | | Japón |
| <i>Heliothis armígera</i> | Algodón | África |
| <i>Heliothis zea</i> | Alfalfa, maíz, algodón y soya | E.U. |
| <i>Heliothis virescens</i> | Algodón, Soya y tabaco | E. U. |
| <i>Hyphantria cunea</i> | | Japón |
| <i>Lymantria dispar</i> | | E. U. |
| <i>Mocis frugalis</i> | | Filipinas |
| <i>Mythimna (Psudaletia) unipuncta</i> | | E. U. Japón |
| <i>Naranga sp.</i> | Arroz | Filipinas |
| <i>Ostrinia nubilalis</i> | Maíz | E. U. |
| <i>Peridroma saucia</i> | Col | E.U. |
| <i>Pieris rapae</i> | Soya | E. U. |
| <i>Pionea forficalis</i> | | |
| <i>Plathypena scabra</i> | Soya | E. U. |
| <i>Plusia sp</i> | | Japón |
| <i>Prodenia litura</i> | | Japón |
| <i>Pseudoplusia includens</i> | Algodón y soya | E. U. |
| <i>Rivula antimeta</i> | Arroz | Filipinas |
| <i>Rachiplusia ou</i> | | |
| <i>Sogatella fureifera</i> | | Indonesia |
| <i>Spodoptera exigua</i> | Soya | E.U. India |

| | | |
|--------------------------------|---------------------------|---|
| <i>Spodoptera frugiperda</i> | | Colombia |
| <i>Spodoptera litoralis</i> | Algodón | Israel |
| Madagascar | | |
| <i>Spodoptera litura</i> | Tabaco | India |
| <i>Spodoptera ornithogalli</i> | | E. U. |
| <i>Stenachroia elongella</i> | | India |
| <i>Trichoplusia ni</i> | Col, soya y algodón | República Dominicana, E. U. Taiwán |
| <i>Trichoplusia orichalieu</i> | | África |
| <i>Tesseratoma javanica</i> | | Tailandia |

(Ignoffo, 1981; Humbert, 1992; Ignoffo y Boucias, 1992).

Producción masiva

M. rileyi es un entomopatógeno que ha presentado dificultades para lograr la producción óptima de unidades infectivas con alto grado de patogenicidad. Al respecto, Bell (1975) propone cultivos de *M. rileyi* a base de medios generales para la reproducción de hongos, obteniendo cantidades limitadas de conidios con altos costos de producción. Ignoffo (1981) encontró los requerimientos nutricionales para lograr su producción en medios sólidos y líquidos, determinándose que el hongo se desarrolla mejor en Sobouraud, Papa-Dextrosa y Extracto de Levadura Agar. La comparación entre la producción en fermentaciones sumergidas y superficiales indican que después de 21 días a 24°C se obtuvieron promedios de 368 mg/conidios/100mL de agua y 575mg de blastosporas no fueron infectivas después de 6 días de su obtención.

Vimala (1994) utilizó en la producción de *M. rileyi* sustrato sólido a base de granos de sorgo triturados, el cual se remojó con agua destilada y extracto de levadura a diferentes concentraciones, determinando que la adición de 1% de extracto de levadura al sorgo triturado fue la cantidad ideal para cultivar el hongo, obteniendo una producción máxima de 1.4×10^9 conidios/g después de 8 a 9 días a 25°C.

Introducción de epizootias

Los estudios que se han realizado con este hongo entomopatógeno han demostrado que la aplicación directa de *M. rileyi* en los primeros estadios larvales de la plaga puede controlar de manera significativa las poblaciones; aplicar altas concentraciones puede ayudar, aunque se debe saber que no es un efecto inmediato.

Sprendel y Brooks (1977) distribuyeron cadáveres de *H. virescens* cortados en tres secciones, mezclados con vermiculita a razón de 3, 360 insectos/ha y demostraron que una epizootia puede ser provocada 14 días antes de que se presente una epizootia natural. Por otra parte, Ignoffo y colaboradores (1976) investigaron el efecto de una aspersión de 1.1×10^{13} conidias/0.04ha de soya en etapa de floración, y un segundo experimento con una dosis doble logrando alterar significativamente el modelo de la epizootia. El porcentaje de infección en el primer experimento fue de 82.5% en relación a un 7.4% en el área no tratada y un porcentaje de 90% y 18.5% respectivamente para el segundo experimento.

Bacillus thuringiensis

El *Bacillus thuringiensis* (Berliner) es uno de los bioinsecticidas más empleados. El poder insecticida de esta bacteria se encuentra en una protoxina que produce cuando se forma la endospora bacteriana. Esta sustancia, una glicoproteína de elevado peso molecular denominada d-endotoxina, determina la especificidad de acción de las distintas variedades del bacilo, establecida por los péptidos que forman parte de la molécula, y que genéricamente se conocen como proteínas CRY. Así, de entre más de 70 serovares de *Bacillus thuringiensis*, los únicos empleados para la preparación de bioinsecticidas (De Liñan, 2003) son el Bt var. *kurstaki*, *aizawai*, *morrisoni* (todos con actividad frente a larvas de Lepidópteros), *israelensis* (para Dípteros) y *tenebrionis* y *san diego* (para Coleópteros).

Clasificación taxonómica (Berliner, 1915).

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Bacillaceae

Género: *Bacillus*

Especie: *Bacillus thuringiensis*

Subespecie: *kurstaki*

Mecanismo de acción en larvas

La histopatología de la acción de la delta-endotoxina de Bt ha sido ampliamente estudiada de manera principal en Lepidoptera. En síntesis, estas investigaciones (revisadas en detalle por Luthy y Ebersold, 1981; Gill y Col., 1992) indican que, después de la ingestión de la delta-endotoxina, las toxinas se disuelven en el intestino de las larvas por acción de enzimas proteolíticas formando un(os) fragmento(s) tóxico(s). Las células epiteliales del intestino medio, así como células cultivadas de insectos, rápidamente se hinchan y se rompen después del tratamiento.

Estudios bioquímicos (Knowles y Ellar, 1987) y electrofisiológicos (Harvey y Col., 1983) sugieren que la toxina genera poros en la membrana celular alterando el balance osmótico, posteriormente las células se hinchan y se lisan, la larva deja de alimentarse y finalmente muere. Los sitios de acción de las diferentes toxinas han sido identificados como receptores en las células epiteliales de los insectos susceptibles (Hoffman y Col., 1988).

Antecedentes

Son numerosos los estudios realizados sobre el efecto de las aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* sobre muchos cultivos. Swadener (1994) realiza una revisión

acerca de los efectos encontrados, que cuando aparecen, se muestran como empobrecimiento general de la comunidad de insectos y efectos negativos sobre depredadores y parásitos de especies plaga. En Ruiz y Muñoz-Cobo (1997) se inicia una valoración del posible impacto de este bacilo, comparándolo con otros insecticidas frecuentemente empleados contra la generación antófaga de *Prays oleae*, sin embargo, el estudio, limitado a un solo año, no hace un seguimiento de las poblaciones, ni se emplea un método de muestreo suficientemente amplio para obtener información de la fracción de la entomofauna ligada a la copa del olivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las colectas de larvas para la cría del gusano cogollero se realizaron en “el Bajío” UAAAN y los bioensayos se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento Parasitología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Establecimiento de la cría de *S. frugiperda*.

Se realizó una colecta de alrededor de 300 larvas de *S. frugiperda* en la zona del “bajío” de la UAAAN donde se encontraban las parcelas experimentales con cultivo de maíz. Esto con la finalidad de llevarlas a la Cámara Bioclimática según la metodología de Armas y Ayala (1990) y Gómez *et al.* (1994) para obtener individuos libres de enfermedades y parasitoides.



Ilustración 5. Cría de gusano cogollero. Laboratorio de Control Biológico y Ecología de Insectos. Departamento de Parasitología. UAAAN, Saltillo, Coah.

Mantenimiento de las larvas de *S. frugiperda*

Una vez en la cámara, se colocaron individualmente en vasos de plástico de 20mL. y se acomodaron en contenedores para huevo para facilitar su manejo. Se mantuvieron con las siguientes condiciones: 23-28°C, con luz fluorescente difusa superior y HR de 30-50%. Las larvas de alimentaron con pasto Bermuda *Cynodon dactylon* con aproximadamente 70g por vaso. La cría se mantuvo por al menos seis generaciones, las cuales se utilizaron de acuerdo a las necesidades de los experimentos.

Manejo de pupas y adultos de *S. frugiperda*

Se hizo una identificación de las pupas por sexo (sexado) para evitar discrepancias de hembra/macho en los frascos. En cada frasco se colocaron seis hembras y cuatro machos. De esta forma se optimizó la reproducción de los adultos para la obtención de mayor cantidad de huevos. Después de 12 días empezaron a emerger los primeros adultos de la cría; debido a que no todas las larvas colectadas se encontraban en el mismo estadio, hubo diferencia entre 1-3 días respecto a la emergencia del adulto.



Ilustración 6. Pupas de *S. frugiperda*. 1: hembra; 2: macho.

Los adultos se colocaron en frascos de plástico capacidad de 1L, con tapa de malla para una buena aireación. En la parte superior de la tapa, por fuera, se colocaron dos trozos de algodón, uno sólo con agua y el otro algodón con agua y alto contenido de azúcar disuelta, estos mismos lo suficientemente húmedos para que el sifón de las palomillas pudiese penetrar perfectamente y de esta forma obtener el alimento. Se evitó el escurrimiento de líquido en los algodones para evitar encharcamientos y evitar el aumento de humedad dentro del frasco con los adultos.

Se colocaron dentro de los frascos trozos de papel estraza con doblez tipo abanico abarcando todo el contorno, de esta manera las palomillas pudieron posarse y caminar libremente.

Recuperación de huevos.

Esta fase inició a partir del tercer día de la presencia de palomillas en el frasco ya que rápidamente hubo cópula entre estas. Se extrajo el papel estraza y con ayuda de tijeras, se recortó cuidadosamente alrededor de la masa de huevos, posteriormente se colocaron en una caja de Petri para la observación y control de maduración de estos mismos.



Ilustración 7. Huevos de *S. frugiperda* recién eclosionados.

Una vez maduros los huevos y próximos a la eclosión, se colocaron en frascos con pasto y tapa de malla muy fina para evitar escapes.

Esta actividad se llevó acabo de forma continua hasta la muerte de las palomillas para aprovechar como fuera posible todos los huevos.

Separación por estadio larval, dieta y cuidados.

Cada frasco con larvas se manejó cuidadosamente; las larvas se mantuvieron en el mismo lugar hasta el tercer estadio. Al momento de limpiar el frasco por los desechos, el pasto se sacudió sobre un papel blanco para separar las larvas y con un pincel se fueron colocando en un frasco limpio y pasto fresco.

Como se mencionó anteriormente, las larvas de tercer estadio fueron retiradas de los frascos de 1L y colocadas en vasos individuales para evitar los hábitos caníbales de esta especie. En larvas del cuarto estadio en adelante, el vaso donde se encontraban individualmente almacenadas se limpió cada dos días y se colocó nuevamente pasto fresco. El limpiado de desechos en larvas de los últimos dos estadios fue menos frecuente debido a la poca movilidad y alimentación de estas mismas durante esta etapa.

Reactivación de las cepas 1, C1 (Cuauhtémoc, Tamaulipas) y 2, C2 (Saltillo, Coahuila) de *M. rileyi* en larvas de *S. frugiperda* y evaluación de patogenicidad de acuerdo a la procedencia del hongo.

El procedimiento se llevó a cabo por medio de suspensiones líquidas y aplicación de esporas de forma directa, ambas por aplicación tópica. Para la suspensión líquida se hizo una solución con 200mL de agua destilada estéril (ade) y un contenido de tensoactivo al 0.03% (Bionex®, Arysta LifeScience, Saltillo, México). Posteriormente, en dos tubos de ensayo se colocaron alrededor de 5mL de ade y por medio de un asa bacteriológica se tomaron esporas para hacer una suspensión de cada cepa. Una vez realizada la suspensión de esporas en los tubos, se tomó un pincel y este mismo se sumergió en la suspensión de la C1 y se aplicó de forma tópica a 10 larvas de *S. frugiperda*. Posteriormente con ayuda del pincel lavado y desinfectado, se realizó el mismo procedimiento con la C2 en 10 larvas.

Con respecto a la aplicación directa de esporas, con un asa bacteriológica se tomaron esporas de una caja de Petri de la C1 para aplicar directamente sobre 10 larvas de *S. frugiperda*. Ya terminada esta aplicación y únicamente después de desinfectar el material utilizado, se realizó el mismo procedimiento con la C2.

A las larvas tratadas se les proporcionó alimento para los días posteriores al tratamiento. Las observaciones se realizaron a partir del día tres de inoculación hasta los diez días.

Elaboración de medios de cultivo.

Se utilizaron diferentes medios con diferentes ingredientes para tratar de potencializar el crecimiento y desarrollo del hongo.

Para el extracto de huevo: licuar una yema cocida en 300mL agua purificada.

Para el extracto de soya: hervir 200g de soya a granel en 1L de agua purificada durante 10min.

Después de mezclar cada receta, llevar el matraz a la autoclave para esterilizar los medios a una presión de 15lb (equivalente a 121°C) durante 15min, y finalmente vaciar en las cajas de Petri.

A continuación, se muestran las recetas:

Receta 1. Medio de cultivo sólido (yema de huevo). 10 cajas= 200mL.

Extracto de soya: 50mL

Agar bacteriológico: 4.6g

Extracto de yema de huevo: 100mL

Agua: 50mL

Receta 1.1. Medio de cultivo líquido (huevo) 4 matraces pequeños.

Extracto de yema de huevo: 100mL

Extracto de soya: 50mL

Agua: 150mL

Receta 2. Medio de cultivo sólido (soya). 10 cajas= 200mL.

Extracto de soya: 60mL

Agua: 140mL

Extracto de levadura: 2g

Azúcar: 4.65g

Receta 3. Medio de cultivo sólido (soya, CTAB y antibiótico). 10 cajas= 200mL.

Extracto de soya: 60mL

Extracto de levadura: 2g

PDA: 7.8g

CTAB: 0.06g

Después de esterilizar con el medio de cultivo tibio:

Antibiótico Emicina® (Oxitetraciclina Pfizer) presentación soluble: 0.8mL

Aislamiento de *M. rileyi* en medio de cultivo sólido (yema de huevo).

La primera siembra y recuperación del hongo se hizo con la receta tres, de esta forma se aseguró el crecimiento del hongo sin contaminantes. Después se utilizó únicamente el medio de cultivo sólido (yema de huevo) debido a que se observó una mejor adaptación de las cepas del hongo en este medio.

El proceso de la siembra del hongo se hizo en condiciones de laboratorio con las medidas microbiológicas pertinentes y estas mismas se realizaron en forma de estría en zig-zag con ayuda de un asa bacteriológica.

Para la producción de esporas en medio de arroz, se utilizó la receta 1.1 (Medio de cultivo líquido). Este caldo se inoculó con conidias de las cepas 1 y 2, posteriormente se incubó a temperatura $\pm 25^{\circ}\text{C}$ en un agitador (Orbit 1000®) a una velocidad de 100 a 150 rpm incrementando poco a poco hasta que el micelio creció durante 10 días. El micelio de estos caldos se inoculó en bolsas de polietileno con arroz blanco previamente esterilizado en autoclave (Aquino *et al.* 1977; Feng *et al.* 1994; Felipe-Victoriano, 2013). Las bolsas se mantuvieron en incubación y observación hasta que el arroz se cubrió de esporas de *M. rileyi*.

Una vez terminada esta fase, se colocaron en refrigeración para su conservación.

Bioensayos

Método general de conteo de esporas

El hemocitómetro (cámara de Neubauer) es un instrumento ideado para contar células sanguíneas y se puede usar también para estimar la concentración de conidias en una suspensión acuosa de esporas.

Se hizo una suspensión madre de esporas, de la cual se tomaron 100 μl y se colocaron en la cámara "Neubauer"; debido al alto contenido de conidios y tomando

en cuenta la situación de si la concentración es alta a muy alta, se tuvo que diluir y tomar factores de dilución en proporciones de 1:9 consecutivamente con cada uno de las cepas y tratamientos utilizados en estos experimentos.

Experimento 1: Evaluación de cepas producidas en diferente sustrato: arroz y larvas.

Suspensión de esporas de origen arroz

Se tomó una bolsa inoculada de *M. rileyi* y en un vaso de precipitado con 200mL de agua, con ayuda de guantes de látex estériles, se lavaron los granos de arroz formando una mezcla verde de esporas. Una vez terminado el lavado, con ayuda de una maya se coló el líquido para tratar de minimizar la presencia de partículas grandes de arroz, posteriormente se tomaron 2mL en un tubo de ensayo y se nombró como “solución madre”. Para terminar, se hicieron tres suspensiones seriadas de 1:9 (1×10^8 , 1×10^7 y 1×10^6) y se colocaron 2mL de cada suspensión en tubos de “Eppendorf”.

Suspensión de esporas de origen larval.

En un tubo de Ensayo con 2mL de ade, se lavaron un total de 10 larvas cubiertas totalmente de *M. rileyi* con alrededor de 2 meses de micosamiento, a esta se le denominó “suspensión madre”, de la cual se realizaron tres suspensiones seriadas de 1:9 (1×10^8 , 1×10^7 y 1×10^6) y de cada suspensión se tomaron 2mL de contenido para colocarse en tubos de “Eppendorf” según la concentración.

El conteo de esporas para este experimento se realizó con ayuda de un microscopio compuesto y una cámara “Neubauer”.

Aplicación de microdosis

Una vez listas las dosis de cada origen (arroz y larva), se procedió a cambiar cada larva a vasos ya esterilizados de la misma marca, y con ayuda de una micropipeta y con puntillas esterilizadas, se colocaron 25µl de suspensión a cada larva, proporcionándole también alimento fresco (pasto Bermuda). Al término de cada tratamiento, se acomodaron los vasos con las larvas ya tratadas en contenedores de huevo para facilitar el manejo de los mismos y colocarlas en incubación a 25°C

en el Laboratorio de Control Biológico y Ecología de Insectos. Las observaciones se realizaron a partir del tercer día, durante 7 días continuos.

Se utilizaron 200 larvas de *S. frugiperda* de tercer estadio, de las cuales se usaron 20 para el testigo y 180 para los bioensayos; en total fueron 90 larvas por cepa y se distribuyeron en 3 dosis de concentración de esporas, las mismas se clasificaron: baja (1×10^6), media (1×10^7) y alta (1×10^8). Los tratamientos se realizaron en 3 repeticiones (5 larvas por repetición). Las larvas que se usaron como testigo únicamente recibieron solución agua + tensoactivo (Bionex®, Arysta LifeScience, Saltillo, México).

Después se hizo una preparación de 150mL de tensoactivo en 500mL de agua para cada cepa, y previo a la realización de este experimento, se esterilizaron un total de 14 tubos de "Eppendorf", de estos se tomaron seis para cada cepa y dos para el testigo.

Nota: Este procedimiento se llevó a cabo con las dos cepas (C1: Cuauhtémoc, Tamaulipas y C2: Saltillo, Coahuila). Debido a la alta volatilidad de las esporas y la suspensión de estas mismas en el aire, las cepas fueron inoculadas en diferentes laboratorios, en el mismo día.

Experimento 2. Evaluación del porcentaje de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* luego de aplicar *M. rileyi*, Bt y la combinación de estos dos, a diferentes concentraciones.

Se utilizaron 600 larvas de *S. frugiperda* de tercer estadio para conformar seis tratamientos, los cuales se repartieron en 100 larvas por tratamiento incluyendo el testigo, con 5 repeticiones de 20 larvas c/u.

Los tratamientos fueron: *M. rileyi*, *B. thuringiensis* subesp *kurstaki* y combinado (*M. rileyi* + *B. thuringiensis*). En el caso de *M. rileyi*, se utilizó la misma concentración de esporas 1.3×10^8 en todos los tratamientos que incluyeron al hongo, en este experimento. Para el caso de *B. thuringiensis* subesp *kurstaki*, se utilizaron dos dosis: alta y baja. La dosis baja hace referencia a la recomendación de la etiqueta

del producto utilizado (Thuricide BT®), mientras que la dosis alta corresponde a 3 veces la dosis recomendada en la etiqueta.

Se usaron laboratorios diferentes para evitar la contaminación de esporas de *M. rileyi* en larvas tratadas con la bacteria Bt y las larvas pertenecientes al testigo.

Concentración de conidios de *M. rileyi*

Se utilizaron larvas inoculadas con *M. rileyi* C2: Coahuila, de aproximadamente un mes de micosamiento, mismas que se encontraban en refrigeración a temperatura $\pm 5^{\circ}\text{C}$. Con ayuda de un tubo de ensayo y 3mL de ade se lavaron aproximadamente diez de estas larvas. Una vez terminado, se tomó una muestra para hacer una suspensión de 1:9 con una concentración de esporas de 1.3×10^8 . Cabe destacar que el conteo de esporas se realizó con ayuda de una cámara “Neubauer”.

Suspensión preparada con *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki*.

De acuerdo a las indicaciones de aplicación del producto de Bt se recomienda usar 1.5oz en 3 galones de agua, por lo que se hizo una conversión a 300mL de agua esterilizada la cual resultó 1.1719mL para dosis baja y 3.5157mL para dosis alta, tomando en cuenta que el producto contiene el 98.35% de Bt.

Primero se trataron las larvas con solamente el hongo. Se aplicaron 20 μ l de suspensión de esporas de *M. rileyi* como se describió en la sección anterior y se les proporcionó comida (pasto Bermuda). Al terminar y desinfectar el material, se procedió a continuar con el tratamiento de *B. thuringiensis* concentración baja. Debido a que el Bt actúa por ingestión, en un vaso de precipitado con la suspensión de 300mL de agua con la bacteria y con ayuda de guantes de látex se sumergió el pasto “Bermuda”, posteriormente, con papel secante “estruza” se retiró el exceso de humedad. Se colocaron alrededor de 70g de pasto para consumo de la larva. Una vez terminado este tratamiento, se continuó con el tratamiento de *B. thuringiensis* dosis alta, realizando el mismo procedimiento con el pasto. El tratamiento combinado se realizó de la siguiente manera: se aplicaron 20 μ l de suspensión de esporas de *M. rileyi* 1.3×10^8 + 70g de pasto Bermuda sumergido en suspensión de Bt en concentración baja. Una vez terminado, se realizó el mismo

procedimiento para el último tratamiento, en el cual se aplicaron 20µl de suspensión de conidios de *M. rileyi* 1.3×10^8 + 70g de pasto “Bermuda” sumergido en suspensión de Bt en concentración alta, retirando la humedad con papel secante. El procedimiento con Bt se realizó de suspensión baja a suspensión alta en todos los tratamientos que incluían a la bacteria.



Ilustración 8. Inoculación del hongo entomopatógeno *M. rileyi* en larvas de gusano cogollero. Laboratorio de Taxonomía de Insectos. Departamento de Parasitología. UAAAN, Saltillo, Coah.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1. Evaluación de cepas producidas en diferente sustrato: arroz y larvas.

La mortalidad del gusano cogollero en este experimento fue baja. Se compararon las dos cepas (C1 y C2) por sustrato. El “sustrato larval” no mostró mortalidad en ninguna en las dos cepas del hongo, mientras que su respectivo testigo no presentó alteraciones.

Por lo tanto, el análisis de varianza no mostró diferencia significativa. En el “sustrato arroz” se tuvo mortalidad de una larva esporulada *por M. rileyi* de la C1 (Cuauhtémoc, Tamps.) en la cuarta fecha de evaluación en concentración alta de 1×10^8 , lo que representa el 6.66%; mientras que las larvas tratadas con C2 alcanzaron la esporulación a partir de la segunda fecha de evaluación, en la concentración media de 1×10^7 con un total de nueve larvas representando el 60% y en concentración alta 1×10^8 un total de cinco larvas con un 33.33%.

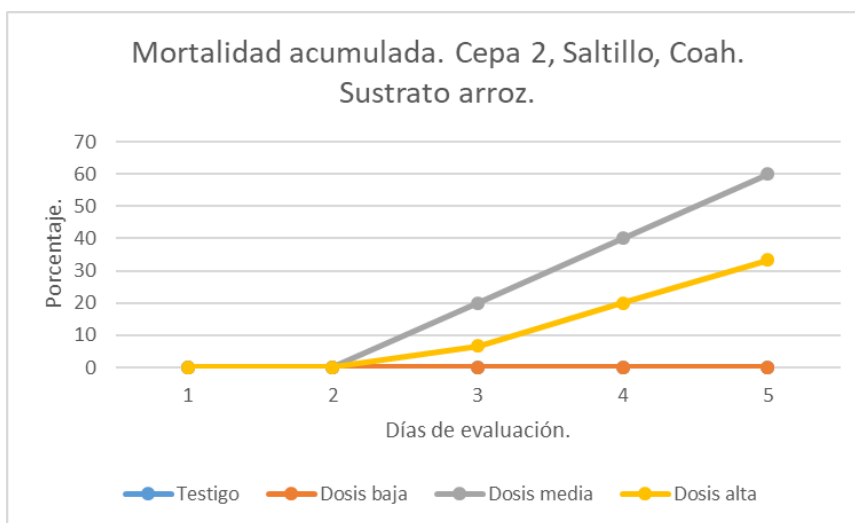


Ilustración 9. Mortalidad de larvas de *S. frugiperda* luego de inocular conidios del hongo entomopatógeno *M. rileyi* de "sustrato arroz" de la C2: Saltillo, Coahuila, a diferentes dosis. Donde: dosis baja es 1×10^6 , dosis media 1×10^7 y dosis alta 1×10^8 .

Tabla 3. Análisis de varianza (ANVA) a la variable independiente: mortalidad entre tratamientos.

| Fuente | Suma de cuadrados SS | Grados de libertad | Cuadrático medio MS | Estadístico F | Valor p |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------|----------------|
| Tratamiento | 57.7714 | 6 | 9.6286 | 3.3202 | 0.0135 |
| Error | 81.2000 | 28 | 2.9000 | | |
| Total | 138,9714 | 34 | | | |

Tabla 4. Mortalidad de larvas de *S. frugiperda* después de la aplicación de suspensiones de dos cepas de *M. rileyi* (C1: Cuauhtémoc, Tamps y C2: Saltillo, Coah.) en laboratorio. Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

| Par de tratamientos | Estadístico Q de Tukey HSD | Valor p de Tukey HSD | Tukey HSD |
|----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------|
| A vs B | 0,0000 | 0,8999947 | A |
| A vs C | 0,0000 | 0,8999947 | A |
| A vs D | 0.5252 | 0,8999947 | A |
| A vs E | 0,0000 | 0,8999947 | A |
| A vs F | 4.7270 | 0.0339034 | B |
| A vs G | 2.3635 | 0,6226957 | A |
| B frente a C | 0,0000 | 0,8999947 | A |
| B frente a D | 0.5252 | 0,8999947 | A |
| B frente a E | 0,0000 | 0,8999947 | A |
| B vs F | 4.7270 | 0.0339034 | B |
| B contra G | 2.3635 | 0,6226957 | A |
| C vs D | 0.5252 | 0,8999947 | A |
| C frente a E | 0,0000 | 0,8999947 | A |
| C vs F | 4.7270 | 0.0339034 | B |

| | | | |
|---------------------|--------|-----------|---|
| C frente a G | 2.3635 | 0,6226957 | A |
| D vs E | 0.5252 | 0,8999947 | A |
| D vs F | 4.2018 | 0.0778515 | A |
| D vs G | 1.8383 | 0.8273703 | A |
| E vs F | 4.7270 | 0.0339034 | B |
| E contra G | 2.3635 | 0,6226957 | A |
| F contra G | 2.3635 | 0,6226957 | A |

Donde:

Tabla 5. Tratamientos, experimento 1.

| | |
|----------|--------------------|
| A | Testigo |
| B | C1 1×10^6 |
| C | C1 1×10^7 |
| D | C1 1×10^8 |
| E | C2 1×10^6 |
| F | C2 1×10^7 |
| G | C2 1×10^8 |

Los resultados fueron más favorables para el tratamiento C2: Saltillo, Coah., a concentración media (1×10^7) en sustrato de arroz.

Los tratamientos significativos representan a los tratamientos en C2 como 1×10^7 y 1×10^8 , que son los que se mantuvieron más elevados en comparación con los demás tratamientos, de esta forma el sustrato arroz en la cepa 2 fue más favorable.

Experimento 2. Evaluación del porcentaje de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* luego de aplicar *M. rileyi*, Bt y la combinación de estos dos, a diferentes concentraciones.

La mortalidad de este experimento fue muy notoria con el tratamiento combinado *N. rileyi* + *B. thuringiensis* a dosis baja (dosis recomendada según la etiqueta), debido a que alcanzó el 82% de mortalidad de larvas de gusano cogollero; sin embargo, no hubo diferencias estadísticas significativas en comparación con los tratamientos análogos sin Bt (sólo hongo).

El tratamiento de inoculación del hongo *M. rileyi* a concentración de 1.3×10^8 fue el segundo tratamiento con alta mortalidad, con 74% de mortalidad en larvas de *S. frugiperda*. En el tratamiento Bt en concentración alta (tres veces la dosis recomendada en la etiqueta) + *M. rileyi* a concentración de 1.3×10^8 se obtuvo un 63% de mortalidad, mientras que el tratamiento de Bt en concentración alta obtuvo el 17% y finalmente, en el tratamiento de Bt en concentración recomendada se obtuvo sólo el 2% de mortalidad de larvas. El testigo no presentó mortalidad. La combinación hongo/bacteria no resultó estadísticamente diferente de los tratamientos de hongo sólo.

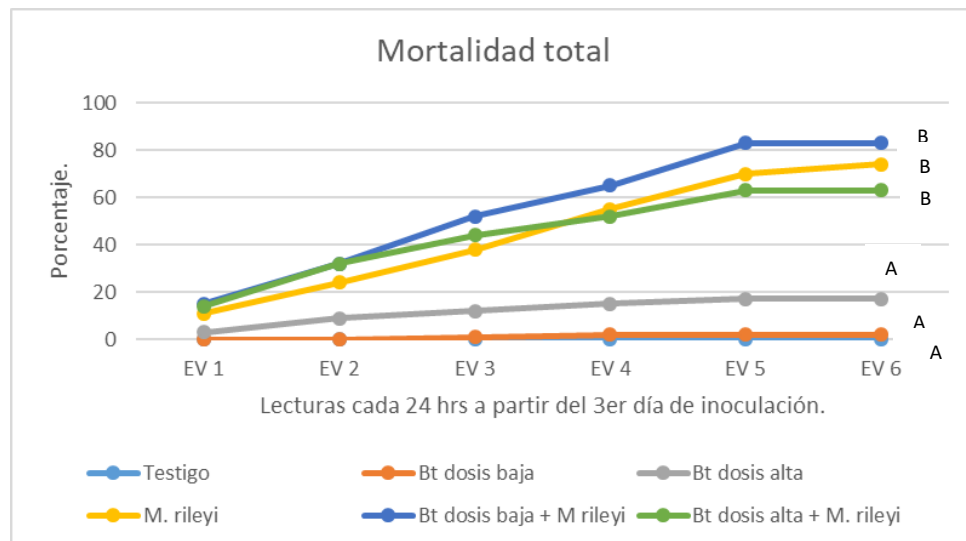


Ilustración 10. Porcentaje de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* en seis tratamientos evaluados durante seis días consecutivos cada 24 horas, a partir del tercer día de inoculación. Donde los tratamientos son: testigo, *M. rileyi* 1×10^8 , Bt dosis baja (1.1719mL Thuricide/300mL ade), Bt dosis alta (3.5157mL Thuricide/300mL ade), y la combinación: Bt dosis baja (1.1719mL Thuricide/300mL ade) + *M. rileyi* 1×10^8 y Bt dosis alta (3.5157mL Thuricide/300mL ade) + *M. rileyi* 1×10^8 . Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre los tratamientos.

En la Tabla 6 se muestran los valores de mortalidad obtenidos durante el experimento en el último día de evaluación, con mortalidad acumulada.

Tabla 6. Parámetros de mortalidad acumulada. EV = evaluaciones cada 24 horas.

| Tratamiento | EV 1 | EV 2 | EV 3 | EV 4 | EV 5 | EV 6 |
|-----------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Bt baja | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| Bt alta | 3 | 9 | 12 | 15 | 17 | 17 |
| <i>M. rileyi</i> | 11 | 24 | 38 | 55 | 70 | 74 |
| Bt + <i>M. rileyi</i> baja | 15 | 32 | 52 | 65 | 83 | 83 |
| Bt + <i>M. rileyi</i> alta | 14 | 32 | 44 | 52 | 63 | 63 |
| Testigo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tabla 7. Análisis de varianza (ANVA) a la variable independiente: Mortalidad entre tratamientos en la prueba de seis tratamientos en larvas de tercer estadio de *S. frugiperda*.

| Fuente | Suma de cuadrados SS | Grados de libertad | Cuadrático medio MS | Estadístico F | Valor p |
|-------------|----------------------|--------------------|---------------------|---------------|---------|
| Tratamiento | 1.369,3667 | 5 | 273.8733 | 57.2557 | 0.0000 |
| Error | 114,8000 | 24 | 4.7833 | | |
| Total | 1,484.1667 | 29 | | | |

Tabla 8. Mortalidad media de *S. frugiperda* en los seis tratamientos aplicados con microdosis, en condiciones de laboratorio. Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

| Par de tratamientos | Estadístico de Tukey HSD | Valor p de Tukey HSD | Tukey HSD |
|---------------------|--------------------------|----------------------|-----------|
| A vs B | 0.4090 | 0,8999947 | A |
| A vs C | 3.4762 | 0.1765506 | A |
| B frente a C | 3.0672 | 0,2882415 | A |
| D vs E | 2.6582 | 0.4395291 | A |

| | | | |
|---------------------|---------|------------|---|
| D vs F | 1,4314 | 0,8999947 | A |
| E vs F | 4.0896 | 0.0764113 | A |
| A vs D | 14.3136 | 0,0010053* | B |
| A vs E | 16.9718 | 0,0010053* | B |
| A vs F | 12.8822 | 0,0010053* | B |
| B frente a D | 13.9046 | 0,0010053* | B |
| B frente a E | 16.5628 | 0,0010053* | B |
| B vs F | 12.4732 | 0,0010053* | B |
| C vs D | 10.8374 | 0,0010053* | B |
| C frente a E | 13.4956 | 0,0010053* | B |
| C vs F | 9.4061 | 0,0010053* | B |

Donde:

Tabla 9. Tratamientos.

| | |
|----------|----------------------------------|
| A | Testigo |
| B | Bt dosis baja |
| C | Bt dosis alta |
| D | <i>M. rileyi</i> |
| E | Bt dosis baja + <i>M. rileyi</i> |
| F | Bt dosis alta + <i>M. rileyi</i> |

El valor p del ANOVA de una vía es inferior a 0.05, lo que sugiere que uno o más tratamientos son significativamente diferentes; siendo *M. rileyi*, Bt + *M. rileyi* dosis baja y Bt + *M. rileyi* dosis alta los tratamientos con más diferencias respecto al testigo en este experimento.



Ilustración 11. Larva de gusano cogollero micosada por *M. rileyi*. Cámara Bioclimática No. 9. UAAAN, Saltillo, Coah.

En este trabajo no hubo actividad del Bt, sin embargo, en larvas neonatas de *S. frugiperda* puede ser efectivo. Drouet (2018), menciona que hay diferencias significativas de control a partir de los 30 días de emergencia de las plantas de maíz.

Gomez *et al.* (2017), observó 56, 58, y 100% de mortalidad en larvas que se alimentaron durante 21 días con maíz Bt, mientras que los individuos sobrevivientes presentaron un ciclo de vida más prolongado con menor fecundidad y viabilidad de huevos con respecto a un híbrido convencional (testigo).

El control biológico es una alternativa sostenible en el medio ambiente y los entomopatógenos pueden complementar y ser parte del manejo integrado de plagas; sin embargo, Clark *et al.* (1982), Anderson y Roberts (1983) y Aguda *et al.* (1984) indicaron que los pesticidas pueden inhibir algunos hongos como *Beauveria bassiana* y *M. anisoplaea*, pero no existen pruebas o estudios reales sobre pesticidas que inhiban a *M. rileyi*.

Tal como señala Ordoñez-García *et al* (2015), se colectaron 5,870 larvas en los cinco municipios muestreados, de las cuales 542 presentaron micosis, 504 (8.56%)

correspondientes a *Metarhizium rileyi* (Farl.) Kepler, S.A. Rehner y Humber, comb. Nov. (= *Nomuraea rileyi* (Farl.) Samson y 38 (0.65%) a *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, El número de larvas infectadas y la micosis abundante, puede que se haya debido a las precipitaciones registradas previo a los muestreos, particularmente en el municipio Bachíniva. Dado que el crecimiento y germinación del hongo son influenciados por la temperatura y humedad relativa (Ignoffo y García, 1985; Vimala-Devi *et al.*, 1996).

Silva y Loch (1987) produjeron *M. rileyi* en granos de arroz suplementarios con extracto de levadura; sin embargo, el crecimiento del hongo en este medio fue muy pobre. No obstante, los resultados obtenidos en el experimento 1, son aparentemente más favorables para este mismo medio de cultivo que para el sustrato "larva".

Ignoffo *et al.* (1975) postularon que los hongos entomopatógenos se deben aplicar en larvas de primeros estadios del gusano cogollero para minimizar el daño al cultivo. En los experimentos antes descritos se usaron larvas de tercer estadio y el resultado fue favorable en cuanto a mortalidad de las mismas. Gurrola-Reyes *et al.* (2014), menciona que larvas de gusano cogollero sometidas a *B. thuringiensis* mostraron la máxima mortalidad a las 144 horas de estar en contacto con el tóxico, a una concentración de 50µg/mL (26.6%); en los presentes experimentos, las larvas tratadas con Bt no tuvieron mortalidad significativa, por lo tanto, no se comprueba que la bacteria en combinación con el hongo tenga un efecto sinergista o aditivo sobre larvas, comparada con el hongo actuando por sí solo.

Los productos orgánicos son efectivos en el control de los insectos durante varios días, Ruiz-Abdala *et al.* (2004). En una publicación de la Revista Científica y Tecnológica, Drouet (2018) menciona que observaron una eficiencia del 57,25 % a las 120 horas después de la aplicación en campo, a esta razón se atribuye que los tratamientos que emplearon el *Bacillus thuringiensis* tuvieron menor incidencia del gusano cogollero, no ocurriendo lo mismo con el testigo absoluto, este fue el tratamiento más atacado, teniendo relación con los resultados obtenidos en la altura

de la planta y el resto de las variables estudiadas que conllevaron a menos desarrollo vegetativo y finalmente menor rendimiento agrícola.

Sánchez-Pedraza (2019) realizó ensayos biológicos donde demuestra la eficacia de los agentes entomopatógenos, especialmente *N. rileyi*, que tienen un alto nivel de mortalidad en las plantas en el invernadero (82%) y un 100% de mortalidad en el laboratorio; mientras que, con respecto a los ensayos con nematodos, la mortalidad que se mostró en el bioensayo con plantas, tuvo una mortalidad baja: Molina-Ochoa *et al.* (1996) estudiaron la eficacia de diferentes especies de nematodos entomopatógenos en *S. frugiperda* y confirmaron que *Heterorhabditis* spp. fue más eficiente que las cepas de *Steinernema* spp., cuando se está considerando la etapa larvaria, causando un 65% de mortalidad en segundos estadios.

CONCLUSIONES

En el experimento 1 se obtuvo mayor eficacia en el sustrato arroz para la cepa 2: Saltillo, Coah., por lo tanto, esta misma cepa se utilizó para el experimento dos. Se observó que algunas larvas tratadas con *M. rileyi* tardaron en ser micosadas por el hongo, esto se debe a que en diversos vasos de plástico donde estaban contenidas individualmente, se encontraron restos de mudas o exoesqueletos, lo que retardó la penetración cuticular del hongo sobre algunas larvas. La cepa 1: Cuauhtémoc, Tamps., fue inactiva contra el insecto, esto podría ser por el historial de la misma en cuanto a inactividad en larvas o por conidios demasiado antiguos. Cabe mencionar que, esta cepa tiene originalmente fue aislada de gusano terciopelo (*Anticarsia gemmatalis*) en el cultivo de soya. En cuanto al medio de cultivo evaluado en este experimento, se demostró que el “medio de arroz” fue más efectivo provocando mortalidad en larvas de *S. frugiperda*.

El hongo *M. rileyi* es un importante enemigo natural de las larvas de *S. frugiperda*. En el experimento dos, el tratamiento combinado de Bt dosis baja (recomendada) y el hongo *M. rileyi* 1×10^8 obtuvo el 82% de mortalidad de las larvas, siendo el porcentaje más alto en comparación con los demás tratamientos. La combinación hongo/bacteria no resultó estadísticamente diferente de los tratamientos de hongo sólo, por lo que no hay diferencia entre aplicar *M. rileyi* por sí solo o en combinación con Bt. Se observó que usar la dosis al triple de la recomendada (dosis alta en el experimento dos) no tuvo diferencia significativa en cuanto a mortalidad en los tratamientos, por tanto, por sí sola la bacteria no es capaz de lograr un porcentaje de mortalidad aceptable para poder usar como método eficiente de control biológico.

Durante las evaluaciones del experimento dos, en las primeras cuatro tomas de datos, se observó que las larvas presentaron baja movilidad y alimentación. El hongo *M. rileyi* fue visiblemente notorio y efectivo hasta después de alrededor de 5 días de inoculado provocando parálisis en las larvas.

Experimento 2. El hongo entomopatógeno *M. rileyi* tiene potencial como controlador de larvas de *S. frugiperda* y puede ser usado como método biorracional para el manejo integrado de plagas. En cuanto al Bt, no hubo mortalidad significativa

causada por esta bacteria, sola o en combinación; por tanto, no se observaron efectos aditivos ni sinergismo. La mortalidad causada en las combinaciones se puede atribuir al hongo.

En conclusión, el hongo *M. rileyi* muestra potencial como agente de control biológico de larvas de *S. frugiperda*.

FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

- Aquino**, LN.; Vital, AF.; Cavalcanti, LB.; Nascimento, MG. 1977. Cultura de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin en sacos de polipropileno. Boletín Técnico CODECAP 5: 7-11.
- Armas**, JL. y Ayala, JL. 1990. Metodología para la cría continua de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) en dieta artificial. Rev. Centro Agrícola 17 (2):78-85.
- Bautista-Martínez**, N. 2006. Insectos plaga. Una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México. 113 p.
- Bautista-Martínez**, N. y Morales-Galván, O. 2016. El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). Una plaga de importancia. Agrosíntesis. [En línea] <http://agrosintesis.com/una-plaga-de-granimportancia/> [Consulta: 07 junio 2021]
- Bell**, JV. 1975. Production and patogenicity of the fungus *Spicaria rileyi* fromo solid and liquid media. Journal of Invertebrate Pathology 26: 129-130.
- Bohnenblust**, E. y Tooker, J. 2012. Fall armyworm as a pest of field corn. *Spodoptera frugiperda* (Smith). Entomological notes. Departament of entomology. Pennsylvania State University. En línea. <https://extension.psu.edu/fall-armyworm-as-a-pest-of-field-corn> Fecha de consulta: diciembre de 2020.
- Boucias**, DG.; Bradford, DL.; y Barfield, CS. 1984. Suceptibility of te velvetbean caterpillar and soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to *Nomuraea rileyi*: effects of pathotype, dosage temperature and host age. Journal of Economic Entomology 77: 247-253.
- Boucias**, DG.; Schoborg, EA. y Allen, GE. 1982. The relative susceptibility of six Noctud species of infecton by *Nomurae rileyi* isolate from *Anticarsia gemmatalis*. Journal of invertebrate Pathology 59: 215-217.

- Carballo**, M. 2002. Manejo de insectos mediante parasitoides. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo integrado de plagas y agroecología. Costa Rica. 66, 118-122.
- CESAVEQ**, 2015. Programa de trabajo del manejo fitosanitario del maíz, a operar con recursos del componente de sanidad del programa de sanidad e inocuidad agroalimentaria 2015, en el estado de Querétaro. Gobierno del estado. SAGARPA, SENASICA. [En línea] http://www.cesaveq.org.mx/cesa3/page/dctos/programas_trabajo/2015/03584QROCAMMFM06840820150414114250MANEJO%20FITOSANITARIO%20DEL%20MAIZ.pdf [Consulta: 11 junio 2021]
- CESAVESIN**. 2011. Manejo fitosanitario de maíz. [En línea]. http://www.cesavesin.gob.mx/web/index.php?option=com_content&view=article&id=72:manejo-fitosanitario-del-maiz&catid=35:campanas&Itemid=481 [Consultado: 11 junio 2021]
- Cortez-Mondaca**, E. y Rodríguez-Cota, FG. 2012. Manejo integrado de gusano cogollero basado en el aprovechamiento de enemigos naturales en Maíz, en Sinaloa, México. Centro de Investigación Regional del Noroeste. INIFAP. Folleto técnico Núm. 36. Juan José Ríos. 26 p.
- De Liñan**, C. 2003. Farmacología Vegetal. Ediciones Agrotécnicas, 1270 pp.
- Doebley**, J. e Iltis, HH. 1980. Taxonomy of *Zea* (Gramineae). I. A subgeneric classification with key to taxa. American Journal of Botany 67(6): 982-993.
- Drouet**, A. 2018. Efecto de la aplicación de *Bacillus thuringiensis* en el control del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) del híbrido de Maíz (*Zea mays*) INIAP H-551 en la comuna Río Verde provincia de Santa Elena. Revista Científica y Tecnológica UPSE, 5 (1), 47-56.
- FAO**. 2006. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. [En línea]: <https://www.fao.org/3/t0395s/t0395s00.htm> [Consulta: 05 junio 2021]

- FAO.** 2009. Perspectivas alimentarias análisis de los mercados mundiales. SMIA. [En línea] <https://www.fao.org/giews/reports/food-outlook/es/> [Consulta: 05 junio 2021]
- Felipe-Victoriano, M.** 2013. Extractos nutritivos en la producción de hongos entomopatógenos de *Diaphorina citri*, y aplicación de *Metarhizium brunneum* contra Psílicos plaga. Tesis. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, México.
- Feng, MG.;** Poprawski, TJ. y Khachatourians, GG. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science and Technology* 4: 3–34.
- García, F.;** y Pulido, F. 1984. El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*, su control y perspectivas para su manejo. XI Reunión de maiceros de la zona andina. II Reunión latino americana del maíz. Ministerio de Agricultura. Instituto Colombiano Agropecuario. Programa Nacional de Maíz y Sorgo, p. 35. Colombia.
- Gilí, SS.;** Cowles, EA. y Pietrantonio, PV. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annual Review of Entomology* 37: 615-636.
- Gomez, VA.;** Villalba, GE.; Arias, OR.; Ramírez, MB.; y Gaona, EF. 2017. Toxicidad sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) de la proteína Bt expresada en hojas de diferentes eventos de maíz transgénico liberados en Paraguay. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 76 (1-2): 1:10. [En línea] <http://www.scielo.org.ar/pdf/rsea/v76n1-2/v76n1-2a01.pdf> [Consulta: 10 diciembre 2021]
- Gurrola-Reyes, JN.;** González-Maldonado, MB.; Correa-Ramírez, MM. 2014. EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE BIOINSECTICIDAS Y BIORRACIONALES EN EL CONTROL DE *Spodoptera frugiperda* L. (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN EL ESTADO DE DURANGO. *Entomología Mexicana*, 1: 196-201.

- Hardke**, JT.; Lorenz, GM. y Leonard, R. 2015. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) ecology in Southeastern cotton. *Journal of Integrated Pest Management*, 6(1): 10.
- Harvey**, WR.; Cioffi, M.; Dow, J. y Wolfersberg, MG. 1983. Potassium ion transpon ATPase in insect epithelium. *Journal of Experimental Biology* 106: 91-117.
- Hegedus**, D. y Khachatourians, G. 1995. The impact of biotechnology on hyphomycetous fungal insect biocontrol agents. *Biotechnology Advances* 13: 455-490.
- Hoffman**, C.; Vandebruggen, H.; Hóffe, H.; Van-Ríe, J.; Jansens, S. y Van-Mellaert, H. 1988. Specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midgust. *Proceedings of the National Academy Sciences USA* 85: 7844-7848.
- Humber**, RA. 1992. Collection of entomopathogenic fungal cultures. *Catalog of Strains*. US. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, ARS-110. 117 p.
- Ignoffo**, CM. 1981. The fungus *Nomuraea rileyi* as a Microbial Insecticide. Pp: 513-538. In: Burges, H.D. (ed) *Microbial control of pest and plant diseases*. 1970-1980.
- Ignoffo**, CM. y García, C. 1985. Host spectrum and relative virulence of an Ecuadoran and a Mississippian biotype of *Nomuraea rileyi*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 45(3): 346-352.
- Ignoffo**, CM.; Marston, NL.; Hostetter, DL.; Puttler, B. y Bell, JV. 1976b. Natural and induced epizootics of *Nomuraea rileyi* in soybean caterpillars. *Journal of invertebrate Pathology* 27(2): 191-198.
- Infoagro**, 2020. MANEJO INTEGRAL DE PLAGAS: Control biológico y control químico. INFOAGRO. [En línea] <https://mexico.infoagro.com/manejo-integral-de-plagas-control-biologico-y-control->

quimico/#:~:text=El%20control%20qu%C3%ADmico%20de%20plagas.com%20el%20uso%20de%20pesticidas. [Consulta: 10 noviembre 2021].

Infoagro, 2021. Cultivo de Herbáceos Extensivos. Los cereales. Maíz, arroz, trigo, cebada, sorgo. CURSO ON LINE. [En línea] https://www.infoagro.com/formacion/curso_superior_herbaceos_cereales_maiz_arroz_trigo_cebada_sorgo.htm [Consulta: 05 junio 2021].

Khachatourians, G. 1996. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. En Howard DH, Miller JD (Eds.) The Mycota VI. Human and animal relationship. Springer. Berlin, Alemania. pp 331-364.

Knowles, BH.; y Ellar, DJ. 1987. Colloid osmotic lysis is a general feature of the mechanisms of action of *Bacillus thuringiensis* delta endotoxins with different insect specificities. Biochemical and Biophysica Acta 924: 509-518.

Luginbill, P. 1928. The fall armyworm. Technical Bulletin. United States Department of Agriculture (USDA), Washington, D.C. 92 p.

Maurer, P.; Couteaudier, Y.; Girard, PA.; Bridge, PD.; y Riba, G. 1997. Genetic diversity of *Beauveria bassiana* and relatedness to host insect range. Mycologic Research 101: 159- 164.

Mena-Covarruvias, J. 2008. Una estrategia de manejo para el gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda*. Centro de Investigación Regional Norte Centro, INIFAP. En línea: http://www.inifapnortecentro.gob.mx/files/noticias/gusano_cogollero.pdf
Fecha de consulta: diciembre de 2020.

Molina-Ochoa, J. 1996. Virulence of six entomopathogenic nematodes (Steinernatidae and Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Vedia, v.3, n.1, p.25-29.

Murúa, MG.; Virla, E. 2004. Population parameters of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae) fed on corn and two predominant grasses in Tucumán

(Argentina). A laboratory study. Acta Zoológica Mexicana. Ns, 1 (20): 199-210.

Notz, A. 1973. Estudio preliminar de *Spodoptera frugiperda* (Smith), (Lepidoptera: Noctuidae) en el estado Portuguesa, Venezuela. Trabajo de Ascenso a Asistente. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay.

Ordóñez-García, M.; Ríos-Velasco, C.; Berlanga-Reyes, DI.; Acosta-Muñiz, CH.; Salas-Marina, MÁ.; y Cambero-Campos, J. 2015. REPORTE PREELIMINAR DE ENTOMOPATÓGENOS DEL “GUSANO COGOLLERO” *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN CHIHUAHUA, MÉXICO. Entomología Mexicana Vol. 2: 241-246.

Pair, SD.; Raulston, JR.; Westbrook, JK.; Wolf, WW.; y Adams, SD. 1991. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) outbreak originating in the lower Rio Grande Valley, 1989. Florida Entomologist, 74:200-213.

Philip, AS.; y Orellana, GJ. 1990. Field manipulation of *Nomuraea rileyi* (Moniliales: Monileacea): Effects of soybean defoliators in coastal Ecuador. Journal of Economic Entomology 83: 2193-2195.

Proain, 2021. Principales plagas en el cultivo de maíz en México. PROAIN TECNOLOGÍA AGRÍCOLA. [En línea] <https://proain.com/blogs/notas-tecnicas/principales-plagas-en-el-cultivo-de-maiz-en-mexico> [Consulta: 10 noviembre 2021].

Ruiz-Abdala, EM.; Cabral-Antúnez, CC.; y Pino-Quintana, A. Control de *Spodoptera frugiperda* (Smith), Lepidoptera; Noctuidae en condiciones de campo y de laboratorio en el cultivo de maíz dulce *Zea mays saccharata*. Investigación Agraria, Vol. 6 (1), 2004.

Ruiz-Torres, M.; y Muñoz-Cobo, R. 1997. Efectos de insecticidas en la entomofauna del olivar. Actas VIH Symposium Científico-Técnico de Expoliva. Jaén (España).

- SADER**, 2020. Maíz el cultivo de México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. [En línea] <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-el-cultivo-de-mexico> [Consulta: 10 noviembre 2021].
- SADER**, 2021. México potencia en control biológico de plagas. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. [En línea] <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/mexico-potencia-en-control-biologico-de-plagas?idiom=es> [Consulta: 10 noviembre 2021].
- Samson**, RA. 1974. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. Studies in Mycology. No. 6 pp: 80-83.
- Sánchez-Pedraza**, Fernando. 2019. EFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Metarhizium rileyi* Y LOS NEMATODOS *Heterorhabditis* spp. Y *Steinernema* spp. CONTRA EL GUSANO COGOLLERO DEL MAÍZ, *Spodoptera frugiperda* EN LABORATORIO E INVERNADERO. Tesis de Maestría. Saltillo, Coahuila. PP 48. UAAAN.
- Sánchez-Peña**, SR. 2000. Entomopathogens from two Chihuahuan desert localities in Mexico. BioControl 45(1): 63-78.
- Silva**, L.; y Loch, L. 1987. Esporulacao do fungo entomopatogenico *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson em meio de cultura a base a graos de arroz polidos. An. Soc. Entomol. Brasil 16 (1): 213-222.
- Sprenkel**, RK.; y Brooks, WM. 1977. Winter survival of the entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* in North Carolina. Journal of Invertebrate Pathology 29: 262-266.
- Swadener**, C. 1994. *Bacillus thuringiensis* (Bt). Journal of Pesticide Reform, 4(3): 13-20.
- Vimala-Devi**, P.; Prasad, Y.; Rajeswari, B.; y Vijaya-Bhaskar, L. 1996. Epizootic of the entomofungal pathogen, *Nomuraea rileyi*, on lepidopterous pests of oilseed crops. Journal of Oilseeds Research, 13: 144-148.

Vimala-Devi, PS. 1994. Conidia production of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* and its evaluation for control *Spodoptera litura* (Fab) on *Ricinus communis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 63: 145-150.

Wu, P.; Wu, F.; Fan, J.; y Zhang, R., 2021. Potential economic impact of invasive fall armyworm on mainly affected crops in China. *Journal of Pest Science* 1-9.