

FORMULACIÓN DE HONGOS Y NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE *Heliothis virescens* (FABRICIUS) EN TOMATE

Formulation of entomopathogenic fungus and nematodes for the control of *Heliothis virescens* (Fabricius) in tomato

Cipriano GARCÍA GUTIÉRREZ^{1*}, Héctor Manuel MEZA VILLEZCAS¹,
Sandra PÉREZ-ÁLVAREZ² y Edgardo CORTEZ MONDACA³

¹ Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa, Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes 250, Col. San. Joachin, 81100 Guasave, Sinaloa, México.

² Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, Universidad Autónoma de Chihuahua, Campus Delicias, km 2.5 carretera a Rosales, 33000 Delicias, Chihuahua, México.

³ Campo Experimental Valle del Fuerte, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, km 1609 carretera internacional México-Nogales, 81110 Juan José Ríos, Sinaloa, México.

*Autor para correspondencia: garciaciprian@hotmail.com

(Recibido: julio de 2023; aceptado: febrero de 2024)

Palabras clave: gusano del fruto, emulsión, hortalizas, control biológico, bioinsecticidas.

RESUMEN

Se evaluó en laboratorio la patogenicidad de un formulado en emulsión del hongo *Metarhizium anisopliae* y la virulencia de los nematodos *Steinernema riobrave* y *Rhabditis blumi* en cápsulas de alginato contra larvas de tercer instar del gusano del fruto del tomate *Heliothis virescens* (Fabricius). Se determinó el porcentaje de mortalidad de larvas a diferentes tiempos. En campo, se evaluó la efectividad de los tratamientos testigo (agua), Abatec (control químico), *M. anisopliae* en emulsión, *M. anisopliae* Metasin y *S. riobrave* encapsulado para el control de *H. virescens*. En laboratorio, *M. anisopliae* en emulsión causó 90 % de mortalidad de larvas a una concentración de 1×10^8 esporas/mL a las 120 h, mientras que en *S. riobrave* encapsulado fue de 100 % y en *R. blumi* de 85 % a dosis de 100 y 500 juveniles infectivos/mL post infección a las 144 h. En campo, Abatec mostró la menor cantidad de frutos dañados por el gusano del fruto (2.31 t/ha), seguido de *S. riobrave* encapsulado (2.7 t/ha), *M. anisopliae* en emulsión (2.85 t/ha) y *M. anisopliae* (3.5 t/ha). En la producción total de tomate no hubo diferencias significativas, pero si entre los frutos de calidad comercial, siendo Abatec el mejor tratamiento seguido de *M. anisopliae* en emulsión, *S. riobrave* encapsulado y *M. anisopliae*. La formulación de *M. anisopliae* en emulsión y la de *S. riobrave* encapsulado fueron efectivas para el control del gusano del fruto *H. virescens* a las dosis evaluadas.

Key words: fruit worm, emulsion vegetables, biological control, bioinsecticides.

ABSTRACT

In the laboratory, the pathogenicity of an emulsion formulation of the fungus *Metarhizium anisopliae* and the virulence of the nematodes *Steinernema riobrave* and *Rhabditis blumi* in alginate capsules were tested against three instar larvae of the fruit tomato worm

Heliothis virescens (Fabricius). The percentage of larvae mortality at different times was determined. The treatments' effectivity was evaluated in the field: control (water), Abatec (chemical control), *M. anisopliae* in emulsion, *M. anisopliae* Metasin, and encapsulated *S. riobrave*. In the laboratory, *M. anisopliae* in emulsion caused 90% of larvae mortality at a concentration of 1×10^8 spores/mL at 120 h, while encapsulated *S. riobrave* caused 100% mortality, and *R. blumi* 85% at a dose of 100 and 500 infective juvenile/mL post-infection at 144 h. In the field, Abatec showed less fruit damage by fruit worms (2.310 t/ha), followed by encapsulated *S. riobrave* (2.7 t/ha), *M. anisopliae* in emulsion (2.850 t/ha), and *M. anisopliae* (3.5 t/ha). No statistical differences were found in the tomato production, unlike the observed effects in commercial fruit quality, since the better treatment was Abatec followed by *M. anisopliae* in emulsion, encapsulated *S. riobrave*, and *M. anisopliae*. The formulations of *M. anisopliae* in emulsion and encapsulated *S. riobrave* were effective against the fruit worm *H. virescens* at the evaluated doses.

INTRODUCCIÓN

El tomate *Solanum lycopersicum* (L.) es uno de los cultivos hortícolas más importantes en México por los elevados beneficios económicos que genera (Reyes-Cortés et al. 2017). Durante 2023, el estado de Sinaloa aportó 561 124.58 t de la producción de tomate con una superficie sembrada de 11 655.4 ha y un rendimiento de 55.05 t/ha (SIAP 2023); sin embargo, los cultivos son afectados por plagas que ocasionan una disminución en su producción, como la del gusano del fruto *Heliothis virescens* (F.), que es una plaga polífaga, capaz de sobrevivir y desarrollarse en plantas que pertenecen a más de 37 familias diferentes (Blanco et al. 2007). El control de este patógeno se realiza con insecticidas convencionales sintéticos (Viteri et al. 2019), aunque el uso de insecticidas biológicos es cada vez más común debido a que son eficientes y amigables con el medio ambiente (Anjos et al. 2022).

Los hongos y nemátodos entomopatógenos son agentes que causan enfermedades letales a varias especies de plagas, por lo que son usados en su manejo integrado (Půža y Tarasco 2023). Dentro de los principales hongos destacan *Beauveria bassiana* (Vuill) y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff), los cuales pueden matar a gusanos de plagas en un lapso de cuatro a siete días debido a las esporas y toxinas fúngicas, además de formar nuevas esporas que se dispersan en el ambiente (Quesada-Moraga et al. 2020). La mayoría de los micoinsecticidas producidos comercialmente están elaborados a base de hongos entomopatógenos como *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Lecanicillium* spp. (anteriormente *Verticillium*) e *Isaria* spp. (antes *Paecilomyces*) (Espinel et al. 2018). Específicamente, *M. anisopliae* ha demostrado ser efectivo en el control de langostas, termitas y saltamontes en EUA, Australia y Brasil (van Lenteren et al. 2017). Asimismo, los nemátodos entomopatógenos son utilizados comúnmente

como agentes de control biológico de plagas. Las especies *Steinernema riobrave* Poinar y Raulston (1994) y *Rhabditis blumi* (Sudhaus) son parásitos obligados de insectos (Poinar 1979). Los estados juveniles son infecciosos, penetran por la boca o el ano de los insectos, los invaden y liberan a las bacterias para causar su muerte en 24 a 48 h, reproduciéndose en el cadáver (Gaugler 2002). *Steinernema carpocapsae* ataca a *Agrotis ipsilon*; *Phyllotreta striolata*, *S. longicaudum* y *H. bacteriophora* a larvas de escarabeidos (Guo et al. 2015, 2016). Estos organismos pueden producirse en masa utilizando diferentes métodos (Shapiro-Ilan et al. 2016, 2023), por lo que requieren ser formulados para su uso en campo.

Se ha demostrado que los hongos y nemátodos son efectivos como controladores de plagas en campo, por lo que es muy importante que en su formulación se consideren las condiciones ambientales, las especies de plagas objetivo y el momento justo de aplicación para lograr resultados óptimos (Půža y Tarasco 2023). Estos dependen también de otros factores como los portadores adecuados, la temperatura, el contenido de agua, las concentraciones del estadio infectante y la aireación del organismo (Kim y Jaffuel 2015, Peters 2016, Cruz-Martínez et al. 2017).

En este trabajo se evaluó la efectividad de un formulado en emulsión del hongo *Metarhizium anisopliae* y la de un formulado de los nemátodos *Steinernema riobrave* y *Rhabditis blumi* en cápsulas de alginato contra larvas de *H. virescens* en laboratorio y en campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional del Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR-IPN), unidad Sinaloa. Durante 2017 se realizaron

recolecciones de larvas de *H. virescens* en cultivos de tomate, tomatillo y garbanzo por utilizarlos como hospederos del insecto. Las larvas fueron alimentadas con dieta artificial a base de harina de maíz y trigo, levadura, vitaminas y bacteriostáticos hasta la formación de pupas y adultos.

En la evaluación en laboratorio se usó la cepa *Metarhizium anisopliae* (CIDS01) con número de acceso (KR998522). Las especies de nematodos utilizadas en la prueba de virulencia fueron *Steinernema riobrave* y *Rhabditis blumi*. En la prueba de campo se utilizó únicamente *S. riobrave*. En campo se establecieron cinco tratamientos: testigo (agua), Abatec (testigo químico), formulación en emulsión de *M. anisopliae*, *M. anisopliae* Metasin y la formulación de *S. riobrave* en cápsulas de alginato.

Producción, formulación y evaluación del hongo entomopatógeno

La propagación del hongo *M. anisopliae* (CIDS01) se realizó siguiendo el método bifásico estandarizado por García et al. (2006). En la fase líquida se preparó un medio de cultivo a base de melaza de caña de azúcar y sales minerales. Para propagar el hongo se tomaron 25 mL del inóculo de la fase líquida y se agregaron a 300 g de arroz previamente precocido en bolsas de plástico y esterilizado en autoclave a 1.5 psi y 121 °C por 15 min. La viabilidad de las esporas se midió utilizando la técnica de Inglis et al. (2012). En el bioensayo de patogenicidad del hongo *M. anisopliae* (CIDS01) se utilizaron larvas de tercer instar de *H. virescens* con tres réplicas de diez larvas cada una, aplicándose 1×10^8 esporas/mL sobre el insecto.

La formulación de *M. anisopliae* en emulsión se realizó siguiendo la metodología de Batta et al. (2011). Los compuestos se mezclaron previamente por separado y luego las dos fases se combinaron en proporciones de 1:1. La fase acuosa consistió en la mezcla de agua destilada estéril (45 %), dispersante no iónico InexA (2 %) y emulsionante soluble en agua Tween 80 (3 %), mientras que en la fase oleosa se mezclaron aceite de soya (47 %) y lecitina (3 %). Posteriormente fueron agitadas durante 30 min a 200 rpm con un agitador magnético, para finalmente agregar la suspensión de esporas del hongo y obtener la formulación en emulsión que contenía 1×10^8 esporas/mL.

Evaluación de la efectividad de los formulados en laboratorio

La evaluación de la efectividad del formulado se realizó mediante un bioensayo usando larvas de *H.*

virescens de tercer instar criados en laboratorio; se usaron diez larvas por tratamiento con tres repeticiones. Se aplicó 1 mL de la emulsión conteniendo 1×10^8 esporas/mL sobre el cuerpo de las larvas durante 10 s. Después las larvas se individualizaron en una caja Petri, adicionando una porción de dieta artificial y se incubaron a 27 ± 1 °C por 72 h. Cada 24 h se observó el número de larvas muertas (Céspedes et al. 2008).

Producción y formulación de los nematodos entomopatógenos

Los nematodos *S. riobrave* y *R. blumi* se propagaron en una caja Petri de 60 mm de diámetro invertida dentro de otra caja Petri de 100×15 mm en las cuales se les colocaron larvas de *G. mellonella* y *S. frugiperda*. Estas se pusieron en papel filtro Whatman núm. 1 situadas dentro de la caja Petri de 60 mm. Después se agregaron 5 mL de agua destilada estéril a la primera caja. Los insectos infectados permanecieron en la trampa durante una semana, para lograr la emergencia y migración de los juveniles infectivos (JI) hacia el agua. El procedimiento se repitió varias veces para obtener una mayor cantidad de cada especie (Matha y Áček 1984).

Para la cuantificación de los nematodos se tomó 1 mL de la solución inicial para formar una dilución 1:100 en agua destilada estéril, homogenizándola manualmente durante 30 s. Luego se tomó 1 mL y se colocó en una caja de Petri con cuadrícula. Se contaron los JI vivos bajo el estereoscopio, repitiendo esto en cinco ocasiones. Para determinar la concentración de nematodos en la solución se utilizó la siguiente fórmula:

$$A = D * C/B \quad (1)$$

donde A representa los mililitros de suspensión de la concentración conocida y de la suspensión a ser diluida, B el número de nematodos/mL de solución a ser diluida, C el volumen final de la nueva dilución en mililitros, y D la concentración deseada de la nueva dilución. C – A representan los mililitros de agua que deben agregarse para hacer la nueva dilución (Woodring y Kaya 1988).

Para realizar la prueba de virulencia de los nematodos entomopatógenos se utilizaron cajas Petri de 60×15 mm con un círculo de papel filtro Whatman núm. 1 de 5 cm de diámetro. Después se agregó la dieta artificial y posteriormente se colocó una larva de tercer instar de *H. virescens* por caja con tres réplicas. Los tratamientos fueron *S. riobrave* y *R. blumi* a dosis de 100, 250 y 500 JI/mL, con diez unidades experimentales por réplica y agua destilada como control. Las larvas fueron inoculadas y colocadas en una caja de Petri e incubadas a 23 ± 3 °C durante

siete días, registrando la mortalidad de larvas cada 24 h (Caccia et al. 2014).

Análisis estadístico

La mortalidad de las larvas se analizó con el paquete estadístico SAS v. 9.0. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y después una prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha \leq 0.05$). Como los datos no presentaban normalidad se tuvieron que transformar al arco seno para cumplir los supuestos para el ANDEVA.

Formulación de los nematodos entomopatógenos

Para la formulación de los nematodos entomopatógenos *S. riobrave* y *R. blumi* se partió de larvas de *G. mellonella*, *S. frugiperda* y *H. virescens*, las cuales fueron almacenadas en frascos ámbar de 50 mL. Para la encapsulación se utilizaron alginato de sodio y cloruro de calcio. Las cápsulas se formaron mezclando 10 mL de una suspensión de nematodos a una concentración de 500 JI/mL y 10 mL de alginato de sodio al 3 %, con lo cual se obtuvo una mezcla de alginato al 1.5 % y una concentración de nematodos de 250 JI/mL. La mezcla se goteó sobre una solución de cloruro de calcio al 4 % (Leyva-Hernández et al. 2018). Las cápsulas formadas se almacenaron en refrigeración a 15 °C para prolongar así la vida útil de los nematodos, facilitando además el transporte de estos agentes de control biológico a la evaluación de campo.

Evaluación de la efectividad de los formulados en campo

La evaluación de la efectividad del hongo y los nematodos se realizó en una parcela de tomate variedad saladette en un lote experimental de 0.5 ha en el CIIDIR-Sinaloa. El terreno se preparó considerando la metodología regional (comunicación personal) con una distancia entre surcos de 1.6×10 m de largo y una distancia de 25 cm entre plantas. El trasplante de las plántulas a campo se realizó 30 días después de la siembra, y se utilizó un sistema de riego por goteo. Los tratamientos evaluados fueron: testigo (agua), Abatec (testigo químico), formulación de *M. anisopliae* en emulsión, *M. anisopliae* Metasin y la formulación de *S. riobrave* en alginato, por haber resultado esta especie más virulenta que *R. blumi*. Los tratamientos se aplicaron una sola vez cuando el cultivo se encontraba en floración y en la formación de frutos a los 45 días, utilizando una bomba de mochila marca Truper de 3.8 L.

Evaluación del rendimiento de los frutos

La cosecha de frutos se realizó a los 60 días, recolectando frutos maduros de la parcela útil. Después

se pesaron en una báscula digital marca Torrey y se clasificaron de acuerdo con la calidad comercial y/o daños producidos por la plaga. Los resultados de rendimiento se extrapolaron a toneladas/hectárea. La evaluación de los frutos con daños de *H. virescens* se realizó después de obtener el rendimiento del tomate (García-Gutiérrez et al. 2020).

Análisis estadístico

Los datos del número de frutos dañados se sometieron a un ANDEVA y posteriormente se hizo la comparación de sus medias mediante una prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95 % ($p \leq 0.05$) en el programa estadístico SAS v. 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de patogenicidad de la cepa *M. anisopliae* sin formular y en emulsión

La cepa de *M. anisopliae* (CIDS01) sin formular y la cepa de *M. anisopliae* en emulsión fueron patógenas contra larvas del tercer instar de *H. virescens* a 1×10^8 esporas/mL, alcanzando la máxima mortalidad de larvas a las 120 h sin diferencia estadística significativa (Tukey $p \leq 0.05$). Este ensayo indicó la efectividad de ambas cepas desde las 48, 72, 96 y 120 h después de su aplicación y mostró la efectividad del hongo en emulsión (Fig. 1).

Evaluación de la virulencia de *S. riobrave* y *R. blumi* en cápsulas de alginato contra *H. virescens* en laboratorio

En laboratorio, los nematodos *S. riobrave* y *R. blumi* fueron virulentos para larvas del tercer instar de *H. virescens*. *R. blumi* presentó mortalidad desde las 48 h y a las 144 h alcanzó los mayores porcentajes de larvas muertas en las tres concentraciones (100, 250 y 500 JI/mL), mientras que para *S. riobrave*, la mortalidad de las larvas se presentó desde las 24 h (pi), alcanzándose el 90 % de mortalidad las 48 h, con diferencia estadística en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) (Fig. 2). Por esta razón se eligió a *S. riobrave* para elaborar la formulación en cápsulas de alginato a una concentración de 250 JI/mL, además de que la mortalidad de larvas fue estadísticamente igual a la del tratamiento con 500 JI/mL (Fig. 2).

Evaluación de la efectividad de nematodos y hongos entomopatógenos en campo

Los datos de producción de tomate y daños en fruto en cada tratamiento aparecen en el Cuadro I. La menor cantidad de frutos dañados por *H. virescens*

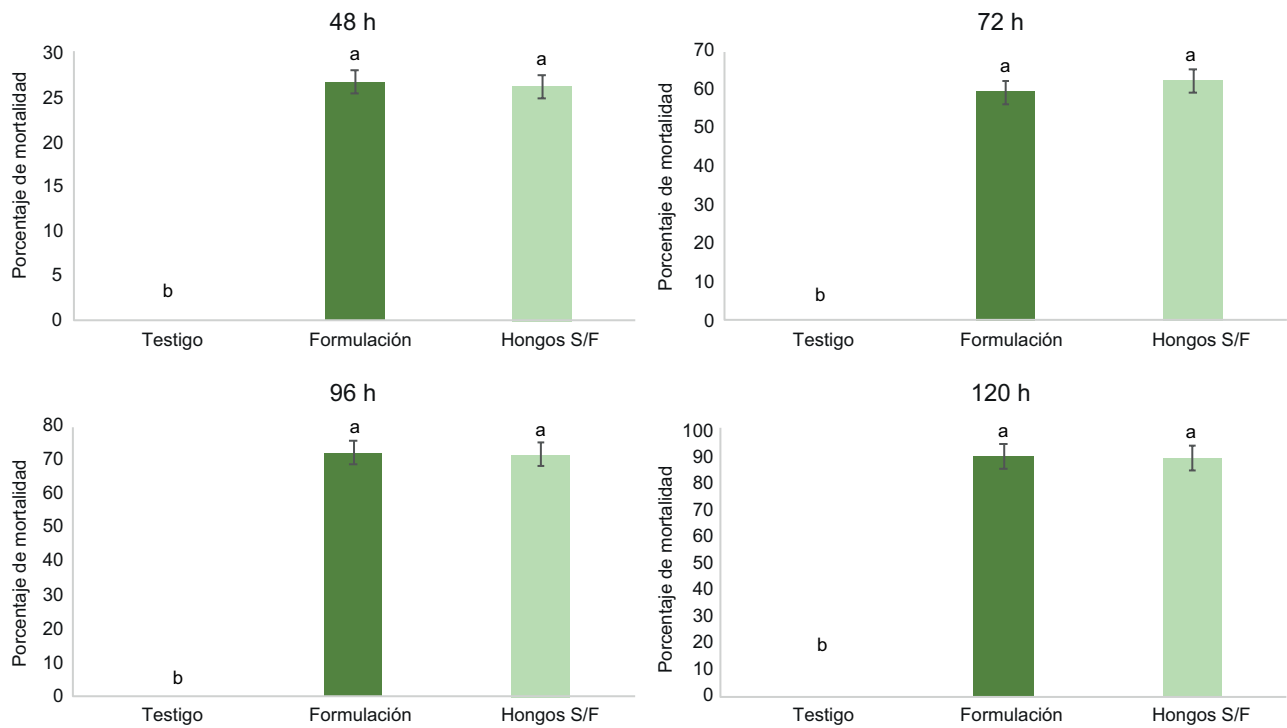


Fig. 1. Evaluación de la efectividad a diferentes tiempos de *M. anisopliae* en emulsión (formulación) y hongo sin formular (S/F) sobre larvas de tercer instar de *H. virescens*.

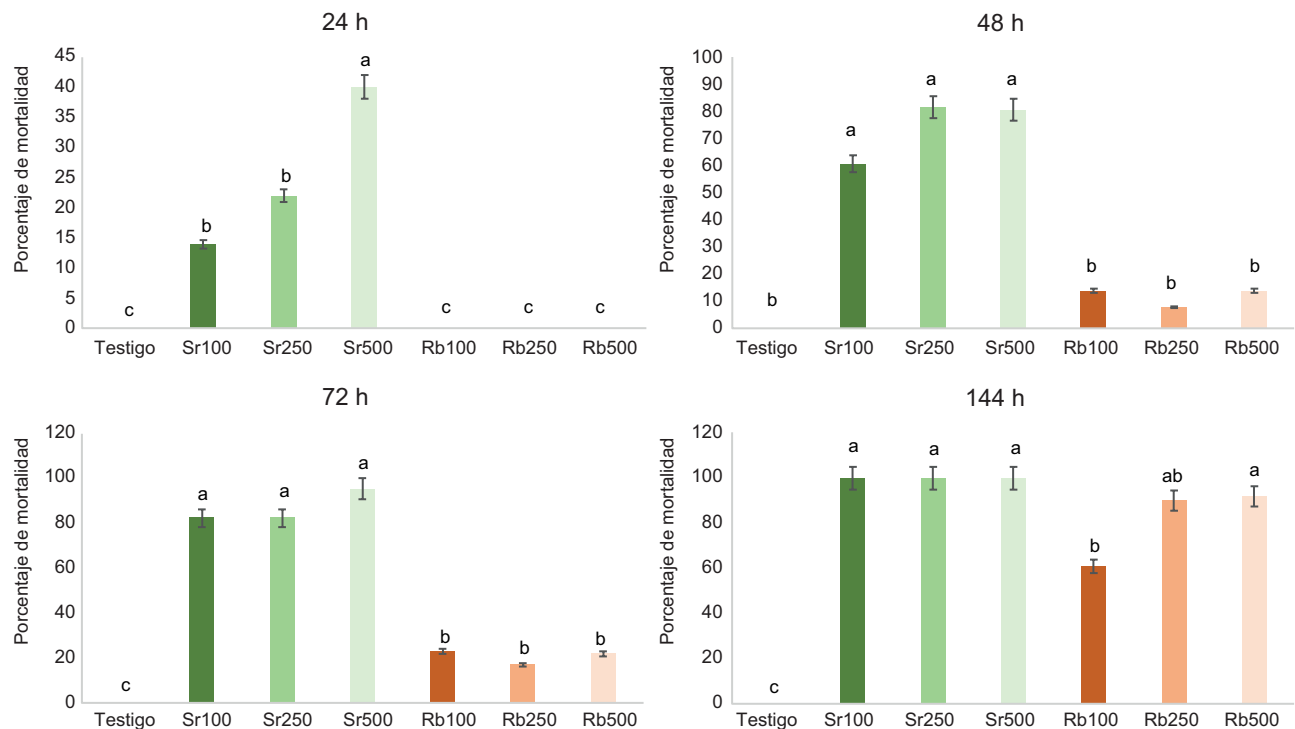


Fig. 2. Porcentaje de mortalidad a diferentes tiempos de larvas de tercer instar de *H. virescens* en laboratorio causada por *Steinernema riobrave* (Sr) y *Rhabditis blumi* (Rb) a concentraciones de 100, 250 y 500 JI/mL. (JI: juveniles infectivos.)

CUADRO I. PRODUCCIÓN COMERCIAL DE TOMATE, PRODUCCIÓN DE FRUTOS DAÑADOS POR *H. virescens* Y PRODUCCIÓN TOTAL DE TOMATE EN LA EVALUACIÓN DE CAMPO DE TRATAMIENTOS APLICADOS.

Núm. de tratamiento	Tratamiento	Producción comercial* (ha)	Producción de Frutos dañados* (t/ha)	Producción total* (t/ha)
1	Abatec	35.86 ^a	2.31 ^c	38.17 ^a
2	<i>S. riobrave</i> (encapsulado)	27.88 ^{ab}	2.70 ^b	30.59 ^a
3	<i>M. anisopliae</i>	30.10 ^{ab}	3.50 ^{ab}	33.60 ^a
4	<i>M. anisopliae</i> (emulsión)	29.34 ^{ab}	2.85 ^b	32.19 ^a
5	Testigo (agua)	23.66 ^b	3.99 ^a	27.66 ^a

*Comparación de medias.

Medias con letras iguales dentro de cada columna son iguales (Tukey $p \leq 0.05$).

se obtuvo con Abatec, con diferencias estadísticas significativas respecto al testigo. Los tratamientos con nematodos y hongos no presentaron diferencias entre sí ni con Abatec®, aun cuando este último, en promedio, tuvo mayor número de frutos dañados. En cuanto a la producción comercial de tomate, las formulaciones del hongo en emulsión y el nematodo en cápsulas de alginato fue estadísticamente igual a los del hongo comercial. En lo que respecta a la producción total, estos mismos productos y el control fueron estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$).

La formulación en emulsión de *M. anisopliae* fue patogénica a dosis de 1×10^8 , alcanzando 90 % de mortalidad de larvas a las 120 h. Al respecto, Fite et al. (2020) usaron una concentración de 1×10^9 esporas/mL, obteniendo 71% de mortalidad de larvas de *Helicoverpa armigera* (Hubner) a los 11 días. Por su parte, Shanker et al. (2023) aplicaron una concentración de 1×10^{10} esporas/mL, obteniendo 87.7 % de mortalidad a las 120 h en este mismo insecto. Según Yasin et al. (2019), entre más elevada sea la concentración utilizada del hongo, más eficiente será el control del insecto.

Por otro lado, se observó que la formulación del hongo en emulsión mejoró la adhesión de las esporas al follaje, a la vez que protegió al hongo de la radiación solar, reduciendo el efecto hidrofóbico de las esporas. De esta manera se obtuvo una mayor dispersión del ingrediente activo y una mayor cobertura en el follaje de la planta, resultado que ha sido mencionado por Batta et al. (2012).

El nematodo *S. riobrave* provocó una mortalidad de 90 % a las 48 h en larvas de tercer instar de *H. virescens*, y fue más virulento que *R. blumi* a 100, 250 y 500 JI/mL a los siete días. Al respecto, Leyva-Hernández et al. (2018) usaron 500 JI de *S. riobrave*, causando 90 % de mortalidad a larvas de *S.*

frugiperda a las 96 h. Sin embargo, con *R. blumi* no se registró mortalidad de larvas de este insecto. Por su parte, Fallet et al. (2022) reportaron mortalidad de 58 % de larvas de *S. frugiperda* con *S. riobrave* (10 JI). Lo anterior indica la importancia de la concentración de JI en la formulación y la especie de insecto a controlar.

En este trabajo, la infectividad de *R. blumi* encapsulados inició a las 48 h. Al respecto, Lalitha et al. (2023) obtuvieron 96 % de sobrevivencia de *S. carpocapsae*, *S. monticolum* y *R. blumi* después de tres semanas de haber sido encapsulados con goma arábica y perlas de gel de alginato de sodio. Este retraso, en comparación con la acción de *S. riobrave* de 24 h, se puede deber al tiempo que tarda el nematodo en salir de la cápsula. Bogantes et al. (2018) utilizaron 10 y 20 cápsulas con 40 JI por cápsula, obteniendo 4 y 12 % de infección, respectivamente, a las 48 h. En este estudio, los tratamientos de nematodos en cápsulas y nematodos sin formular presentaron una mortalidad acumulada superior al 30 % a las 48 h, lo cual indica que las concentraciones de los nematodos utilizados fueron efectivos para infectar a *H. virescens*. Estos resultados confirman que para el control de una plaga es importante la especie y la concentración de nematodos para utilizar (Yasin et al. 2019; Acharya et al. 2020).

El mejor tratamiento para el control del gusano del fruto del tomate fue Abatec, con el cual se obtuvo el menor número de frutos dañados por larvas y la mayor producción de tomate comercial. Las formulaciones de nematodos y hongos no mostraron diferencia estadística con el insecticida Abatec. Estos datos son similares a los reportados por García et al. (2020), quienes no encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos de hongos entomopatógenos sin formular y el insecticida Abatec.

CONCLUSIONES

En laboratorio, el hongo *M. anisopliae* en emulsión causó 90 % de mortalidad de larvas del fruto del tomate a las 120 h con 1×10^8 esporas/mL, mientras que *S. riobrave* causó mortalidad del 100 % y *R. blumi* de 85 % a las 144 h con 100 y 500 JI/mL (pi). En condiciones de campo, el insecticida Abatec mostró la menor cantidad de frutos dañados por el gusano (2.310 t/ha), seguido de *S. riobrave* en cápsulas de alginato (2.700 t/ha) y *M. anisopliae* en emulsión (2.850 t/ha), entre las cuales se presentaron diferencias estadísticas; sin embargo, no hubo diferencias en la producción total, mientras que entre los frutos de calidad comercial sí hubo diferencias estadísticamente significativas, siendo el mejor tratamiento Abatec seguido del hongo en emulsión *S. riobrave* encapsulado y *M. anisopliae*^R, por lo que las formulaciones elaboradas del hongo en emulsión y los nematodos encapsulados fueron efectivas contra el gusano del fruto a las dosis evaluadas.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. A. Dagoberto Armenta Bojórquez por el análisis estadístico de datos. A la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) por el financiamiento del proyecto: “Evaluación de la efectividad, persistencia, residualidad y seguridad de formulaciones de hongos y nematodos entomopatógenos para el control de plagas agrícolas” (SIP-IPN 20180316).

REFERENCIAS

- Acharya R., Hwang H.S., Mostafiz M.M., Yu Y-S. y Lee K-Y. (2020). Susceptibility of various developmental stages of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, to entomopathogenic nematodes. *Insects* 11, 868. <https://doi.org/10.3390/insects11120868>
- Anjos D.V., Tena A., Viana-Junior A.B., Carvalho R.L., Torrezan-Silingardi H., Del-Claro K. y Perfecto I. (2022). The effects of ants on pest control: A meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B* 289, 20221316. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.1316>
- Batta Y.A., Rahman M., Powis K., Baker G. y Schmidt O. (2011). Formulation and application of the entomopathogenic fungus: *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko (Zygomycetes: Entomophthorales). *Journal of Applied Microbiology* 110 (3), 831-39. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04939.x>
- Blanco C.A., Terán-Vargas A.P., López J.D., Kauffman J.V. y Wei X.K. (2007). Densities of *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in three plant hosts. *Florida Entomologist* 90, 742-750. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2007\)90\[742:DOHVAH\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2007)90[742:DOHVAH]2.0.CO;2)
- Bogantes D., Flores L., Castellón E. y Uribe L. (2018). Encapsulamiento de nemátodos entomopatógenos en materiales basados en biopolímeros y su efecto sobre *Galleria mellonella*. *Agronomía Costarricense* 42 (2), 9-27. <https://doi.org/10.15517/rac.v42i2.33774>
- Caccia M.G., del Valle E., Doucet M.E. Y Lax P. (2014). Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomopathogenic nematode *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research* 74 (1), 123-126. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392014000100019>
- Céspedes Y., del Pozo E., García I. y Méndez A. (2008). Efecto de la temperatura sobre el hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson y su efectividad sobre *Spodoptera frugiperda* J.E. SMITH. *Revista Protección Vegetal* 23 (3), 176-182.
- Cruz-Martínez H., Ruiz-Vega J., Matadamas-Ortiz P.T., Cortés-Martínez C.I. y Rosas-Díaz J. (2017). Formulation of entomopathogenic nematodes for crop pest control: A review. *Plant Protection Science* 53, 15-24. <https://doi.org/10.17221/35/2016-PPS>
- Espinel C.C., Torres A.T., Villamizar-Rivero L.F., Bustillo-Pardey A.E., Zuluaga M.V.M. y Cotes-Prado A.M. (2018). Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga. En: *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros* (Cotes A.M., Ed.). Agrosavia, Mosquera, Bogotá, Colombia, 24.
- Fallet P., de Gianni L., Machado R.A., Bruno P., Bernal J.S., Karangwa P., Waweru B., Bazagwira D., Degen T., Toepfer S. y Turlings T.C.J. (2022). Comparative screening of Mexican, Rwandan and commercial entomopathogenic nematodes to be used against invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Insects* 13 (2), 205. <https://doi.org/10.3390/insects13020205>
- Fite T., Tefera T., Negeri M., Damte T. y Sori W. (2020). Evaluation of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Bacillus thuringiensis* for the management of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory and field conditions. *Biocontrol Science and Technology* 30 (3), 278-295. <https://doi.org/10.1080/09583157.2019.1707481>
- García-Gutiérrez C., Hernández-Vázquez V.M. y González-Maldonado M.B. (2006). Hongos entomopatógenos. En: *Biotecnología financiera aplicada a bioplaguicidas* (García-Gutiérrez C. y Medrano-

- Roldán H., Eds.) Artes Gráficas La Impresora, Durango, México, 91-118.
- García-Gutiérrez C., Armenta-Bojórquez A.D., Gaxiola-Castro L.A., Vázquez-Montoya N. Acuña-Jiménez M. (2020). Evaluación de insecticidas biorracionales y *Beauveria bassiana* (Vuill) para el control del gusano del fruto del tomate. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 17 (1), 17-25. <https://doi.org/10.22231/asyd.v17i1.1320>
- Gaugler R. (2002). *Entomopathogenic nematology*. CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido, 388 pp.
- Guo W., Yan X., Zhao G.Y. y Han R.C. (2015). Efficacy of entomopathogenic *Steinernema* and *Heterorhabditis* nematodes against *Holotrichia obliqua*. *Journal of Pest Science* 88, 359-368. <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0626-y>
- Guo W., Yan X., Zhao G. y Han R. (2016). Increased efficacy of entomopathogenic nematode-insecticide combinations against *Holotrichia obliqua*. *Journal of Economic Entomology* 110 (1), 41-51. <https://doi.org/10.1093/jeetow241>
- Inglis G.D., Enkerli J. y Goettel M.S. (2012). Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales. En: *Manual of techniques in invertebrate pathology* (Lacey L.A., Ed.). Academic Press, Amsterdam, Holanda, 189-253. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00007-5>
- Kim J. y Jaffuel G. (2015). Enhanced alginate capsule properties as a formulation of entomopathogenic nematodes. *BioControl* 60, 527-535. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9638-z>
- Lalitha K., Nithya K., Bharathi B.G., Venkatesan S y Subramanian M.S. (2023). Long-term storage does not affect the infectivity of entomopathogenic nematodes on insect hosts. *Applied Microbiology and Biotechnology* 107, 419-431.
- Leyva-Hernández H.A., García-Gutiérrez C., Ruiz-Vega J., Calderón-Vázquez C.L., Luna-González A. y García-Salas S. (2018). Evaluación de la virulencia de *Steinernema riobrave* y *Rhabditis blumi* contra larvas del tercer instar de *Spodoptera frugiperda*. *Southwestern Entomologist* 43 (1), 189-197. <https://doi.org/10.3958/059.043.0111>
- Matha V. y Áček Z. (1984). Changes in haemocyte counts in *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Galleriidae) larvae infected with *Steinernema* sp. (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica* 30 (1), 86-89. <https://doi.org/10.1163/187529284X00482>
- Peters A. (2016). Formulation of nematodes. En: *Microbial-based biopesticides: Methods and protocols* (Glare T.R. y Moran-Diez M.E., Eds.). Springer, Nueva York, 121-135. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6367-6>
- Poinar G.O. (1979). *Nematodes for biological control of insects*. CRC Press. Boca Raton, Florida, EUA, 289 pp. <https://doi.org/10.1201/9781351074957>
- Půža V. y Tarasco E. (2023). Interactions between entomopathogenic fungi and entomopathogenic nematodes. *Microorganisms* 11, 163. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010163>
- Quesada-Moraga E., Yousef-Naef M. y Garrido-Jurado I. (2020). Advances in the use of entomopathogenic fungi as biopesticides in suppressing crop pests. En: *Biopesticides for sustainable agriculture* (Quesada-Moraga E., Yousef-Naef M. y Garrido Jurado I., Eds.). Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, Inglaterra, 63-98. <https://doi.org/10.19103/AS.2020.0073.05>
- Reyes-Cortés K.M., Sánchez-Torres Y. y Cruz Cruz M. (2017). Análisis de la comercialización de jitomate de invernadero en la región del Valle de Tulancingo, basado en el análisis de redes de vínculos. *Boletín Científico de las Ciencias Económico Administrativas del ICEA* 5 (9). <https://doi.org/10.29057/icea.v5i9.2111>
- Shanker R., Prajapati M.R., Singh R.P., Singh R., Singh J. y Kumar P. (2023). Isolation, molecular characterization of indigenous *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) isolate, using ITS-5.8s rDNA region, and its efficacy against the *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 33, 23. <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00670-7>
- Shapiro-Ilan D.I., Morales-Ramos J.A. y Rojas M.G. (2016). In vivo production of entomopathogenic nematodes. En: *Microbial-based biopesticides: Methods and protocols*. (T.R. Glare y M.E. Moran-Diez, Eds.). Springer, Nueva York, EUA, 137-158 pp. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6367-6>
- Shapiro-Ilan D.I., Garrigos L.L y Richou H. (2023). Production of entomopathogenic nematodes. En: *Mass production of beneficial organisms* (Morales J.A., Rojas G. y Shapiro-Ilan D.I., Eds.). Academic Press, San Diego, EUA, 293-315. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822106-8.00005-1>
- SIAP (2023). Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de información Agropecuaria y Pesquera, Gobierno de México [en línea]. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119> 19/3/2024
- Van Lenteren J.C., Bolckmans K., Köhl J., Ravensberg W.J. y Urbaneja A. (2017). Biological control using invertebrates and microorganisms: Plenty of new opportunities. *BioControl* 62 (1), 1-21. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9801-4>
- Viteri D.M., Sarmiento L., Linares A.M. y Cabrera I. (2019). Efficacy of biological control agents, synthetic insecticides, and their combinations to control tobacco

- budworm (*Heliothis virescens* [Lepidoptera: Noctuidae]) in pigeon pea. Crop Protection 122, 175-179. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.05.008>
- Woodring J.L. y Kaya H.K. (1988). Steinernema and Heterorhabditid nematodes: A handbook of techniques. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, Arkansas, EUA, 30 pp.
- Yasin M., Wakil W., Ghazanfar M.U., Qayyum M.A., Tahir M. y Bedford G.O. (2019). Virulence of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier). Entomological Research 49 (1), 3-12. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12260>