

EFFECTO DE AGROQUÍMICOS SOBRE EL DESARROLLO DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Nomuraea rileyi* Y SU VIRULENCIA SOBRE *Spodoptera frugiperda*

Domenico Pavone¹ y Blas Dorta²

RESUMEN

El hongo entomopatógeno *N. rileyi* posee un gran potencial para ser utilizado en programas de control de *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero), evidenciado por las epizootias generadas en varias zonas productoras de maíz en Venezuela. La eficacia de los productos experimentales disponibles, basados en *N. rileyi*, depende de la formulación de los mismos, siendo una de las principales áreas de interés la compatibilidad del hongo con los agroquímicos empleados, lo que permite integrar varias técnicas de control. Se evaluó el efecto de algunos agroquímicos, comúnmente usados en cultivos de maíz, sobre el crecimiento de *N. rileyi* en medios agarizados, así como sobre su virulencia frente a larvas de *S. frugiperda*. En general, el efecto dependió en gran medida de la concentración del producto utilizado. Los insecticidas Lannate y Mimic no interfirieron con el desarrollo del hongo a ninguna concentración. El adherente Nu Film 17; los insecticidas Atabron y Karate; y el herbicida Accent, afectaron el crecimiento del hongo sólo cuando fueron usados en diluciones 1/10 del producto comercial puro. El fungicida Vitavax afectó la actuación del hongo en todas las concentraciones utilizadas (diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000 del producto comercial). Los bioensayos sugieren un efecto sinérgico entre el hongo y los insecticidas Karate y Mimic para el control del insecto, lo cual permitiría integrar estas técnicas de control y disminuir el uso de productos tóxicos en campo, contribuyendo con el manejo de la resistencia a agroquímicos. En el trabajo también se discute la importancia de complementar estos ensayos con información de tipo ecológico para garantizar aplicaciones eficientes.

Palabras clave adicionales: Compatibilidad, plaguicida, biocontrol, *Zea mays*

ABSTRACT

Effect of agrochemicals on development of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* and its virulence on *S. frugiperda*
The entomopathogenic fungus *N. rileyi* has great potential to be used in Integrated Pest Management Programs of *Spodoptera frugiperda*, because of epizootics generated in some corn fields in Venezuela. However, it is necessary to emphasize research on improved formulations in order to increase commercial products efficacy. One of the most important areas is fungal compatibility with chemicals commonly used in pest control. Compatibility of *N. rileyi* with certain chemical pesticides was evaluated. In general, the compatibility was dose-dependent or not affected at all. The insecticides Lannate and Mimic were ineffective at any concentration tested (1/10 to 1/1000 dilutions of the commercial product); the insecticides Atabron, Karate, the adherent Nu Film 17, and the herbicide Accent affected the fungus only at high concentrations (1/10 dilution of the commercial product), the fungicide Vitavax affected the fungus at any concentration (dilutions 1/10, 1/100 and 1/1000 of the commercial product). The bioassays suggest a synergistic effect between the fungus and some of the chemicals evaluated (Karate and Mimic) for the control of the insect, which would allow decreasing the use of toxic products in field, contributing with resistance pest management to chemicals products. It is also discussed the importance to complement these assays with ecological information to make effective applications.

Additional key words: Compatibility, pesticide, biocontrol, *Zea mays*

INTRODUCCIÓN

Los hongos entomopatógenos juegan un papel muy importante en el control de plagas debido a

su forma de acción, su fácil aplicación y la capacidad de generar epizootias en condiciones de campo (Ignoffo, 1981; Alves, 1986). El hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* (Farlow)

Recibido: Abril 1, 2009

Aceptado: Junio 11, 2010

¹ Lab. Biotecnología Aplicada, Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo. Campus de Bárbula, estado Carabobo. Venezuela. e-mail: dfpavone@yahoo.it

² Laboratorio de Procesos Fermentativos, Centro de Biología Celular, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela. e-mail: bdorta@gmail.com

Samson ha sido reportado en varias localidades de América, incluida Venezuela, por ser un importante controlador de larvas parásitas como *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en plantaciones de maíz (Ignoffo et al., 1976; García y Clavijo, 1985). *N. rileyi* ha eliminado hasta el 80% de la población de larvas de *S. frugiperda* en bioensayos de laboratorio (Pavone et al., 2009), lo cual lo convierte en una herramienta con gran potencial de uso en programas de control. En los casos en que es necesario aplicar conjuntamente agroquímicos y bioplaguicidas, el producto químico no debe ejercer efectos adversos sobre el desarrollo del agente biológico, ya que si esto ocurriera, el bioplaguicida no cumpliría con su función, acarreando pérdidas económicas y de tiempo al productor.

El estudio de la compatibilidad entre agentes biológicos y químicos de control es una de las principales áreas de investigación dentro de los programas de manejo integrado de plagas, MIP (García e Ignoffo, 1979; Morjan et al., 2002; Sosa-Gomez et al., 2003). La principal causa de la incompatibilidad entre estos agentes es que el producto químico afecta de alguna forma el desarrollo del patógeno, inhibiendo la germinación de las esporas de forma temporal o permanente.

Se han realizado muchos estudios de compatibilidad entre *N. rileyi* y algunos agroquímicos y se ha demostrado el mayor efecto inhibitorio sobre el hongo por los fungicidas Bravo (Horton et al., 1980), Maneb y Propineb (Tang y Hou, 1998); mientras que no ejercen efectos letales fungicidas como Captafol, Zineb, Chlorothalonil, Fosetyl y Ziram (Gopalakrishnan y Mohan, 2000), herbicidas como Oxyfluorfen, Fluroxypyr, glyphosato, Glyphosato + Fluroxypir, Pendimetalin, 2,4-D, Trifluralin y Buthaclor, e insecticidas como Chlorpyrifos, Bifenthrin, Carbofuran, Methomyl, Buprofezin, Mevinphos, Decamethrin y Sumicidin (Tang y Hou, 1998), Monocrotophos, Phosphamidon y Dimetoato (Gopalakrishnan y Mohan, 2000) y Lannate (Ignoffo et al., 1975). En contraste, se ha encontrado que los insecticidas Quinalphos, Carbaryl, Endosulfan y Fenvalerate y los fungicidas Captan y Sulphur afectan a *N. rileyi* sólo a altas concentraciones (Gopalakrishnan y Mohan, 2000). El Benomilo y sulfato de cobre

tienen poco efecto sobre *N. rileyi*, mientras que Manzate, Dodine y Thiabendazol afectan en gran medida (Luz et al., 2007). Con respecto a la esporulación de *N. rileyi*, Triclorfon la reduce y Profenofos y Endosulfan la inhiben totalmente, mientras que Permetrin y Diflubenzuron no la afectan (Silva et al., 1993). Es evidente que la naturaleza de la sustancia y la concentración de la misma son parámetros fundamentales que determinan la compatibilidad con el hongo.

El objetivo de este trabajo es aportar información sobre la compatibilidad entre algunos agroquímicos comúnmente utilizados en el cultivo de maíz en Venezuela y el hongo *N. rileyi*, y su efecto sobre el gusano cogollero del maíz que permitan la incorporación del entomopatógeno a los correspondientes programas MIP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó el aislado LPFIBE-3 del hongo entomopatógeno *N. rileyi*, suministrado por el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos, Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Este aislado fue obtenido en una plantación de maíz en la finca Las Guacamayas del estado Guárico, a partir de larvas de *S. frugiperda*. El hongo fue mantenido en el laboratorio mediante subcultivo periódico en agar dextrosa papa (PDA).

El crecimiento y esporulación de *N. rileyi* se llevó a cabo en placas de Petri conteniendo agar PDA esterilizado en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Los inóculos de *N. rileyi* para ser usados en los ensayos de compatibilidad, los cuales estaban constituidos por una suspensión de esporas, fueron preparados a partir de cultivos esporulados de 10 días, mediante adición de Tween 80 al 0,1 % y agitación con barra magnética. La concentración de esporas fue determinada mediante el uso de una cámara de Neubauer y un microscopio óptico a una magnificación de 400X. Las larvas de *S. frugiperda* utilizadas en los bioensayos fueron obtenidas a partir de una cría desarrollada en el laboratorio, según el protocolo propuesto por Parra (1986).

Los agroquímicos utilizados (Cuadro 1) fueron preparados a diferentes concentraciones que incluyeron diluciones en agua destilada estéril

1/10, 1/100 y 1/1000 del producto comercial puro para los ensayos en medios agarizados, o la dosis recomendada por el fabricante y diluciones 1/10 y 1/100 a partir de ésta, para los ensayos con *S. frugiperda*.

La compatibilidad entre *N. rileyi* y los agroquímicos fue evaluada mediante el crecimiento de *N. rileyi* en medio agarizado en presencia del hongo y los productos químicos. Sin embargo, dado que esta evaluación *in vitro* podría no ser suficiente para predecir lo que ocurriría en condiciones de campo (Ambethgar, 2009), se realizaron adicionalmente bioensayos con *S. frugiperda*.

Para el primer procedimiento se utilizaron placas de Petri con PDA, sembradas con alícuotas de 0,1 mL de una suspensión de esporas de *N. rileyi* a una concentración de 10^7 esporas·mL⁻¹, con el objeto de garantizar un crecimiento homogéneo del hongo sobre toda la placa. Inmediatamente después de la siembra, se colocaron en las placas discos de papel de filtro estériles con diámetro de 0,5 cm. Sobre cada disco de papel se añadieron 5 µl de las diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000 a partir del producto comercial puro, excepto en los discos control a los cuales se les añadió Tween 80 al 0,1% estéril. Los resultados fueron evaluados cualitativamente mediante la presencia (+) o ausencia (-) de un halo de inhibición alrededor del punto de aplicación del agroquímico.

Para el caso de los bioensayos con *S. frugiperda* se utilizaron larvas del segundo instar

del insecto, individualizadas en frascos de plástico de 30 mL de capacidad, empleándose 20 larvas por tratamiento con dos repeticiones. En cada frasco se colocó un disco de hoja de *Ricinus communis* L. (tártago) de 2,5 cm de diámetro, el cual funcionó como dieta y vehículo de aplicación. Para cada tratamiento los discos fueron sumergidos en la respectiva dilución del agroquímico (dosis recomendada y diluciones 1/10 y 1/100 a partir de ésta), la cual fue previamente suplementada con esporas de *N. rileyi* a la concentración de 10^7 esporas·mL⁻¹. El control negativo consistió en suministrar discos de *R. communis* sumergidos en Tween 80 al 0,1% estéril. Las larvas fueron revisadas y alimentadas a diario hasta su muerte o hasta que alcanzaran el estado de pupa. Los ensayos se realizaron en cámaras termostatazadas a 26 +/- 2 °C, saturadas en humedad y en presencia de luz fluorescente continua.

A partir de los datos de mortalidad obtenidos en los ensayos con *S. frugiperda* se realizaron los respectivos análisis de Probit para calcular los tiempos letales 50 y 95 (TL₅₀, TL₉₅) y los intervalos de confianza. La existencia de diferencias significativas entre los distintos tratamientos se verificó mediante la comparación de los respectivos intervalos de confianza; de esta manera, la superposición de los mismos indicó la no existencia de diferencias significativas. Para ello se utilizó el paquete estadístico Probit Analysis Program (Raymond, 1985).

Cuadro 1. Agroquímicos utilizados en los ensayos de compatibilidad con *N. rileyi*

Tipo de agente	Nombre comercial	Nombre genérico	Grupo químico	Modo de acción	Dosis según el fabricante
Insecticida	Karate	Lambdacihalotrina	Piretroides	Inhibe estímulos nerviosos	2,0 mL·L ⁻¹
Insecticida	Atabron	Clorfluazuron	Benzoilureas	Inhibe formación quitina	1,5 mL·L ⁻¹
Insecticida	Lannate L	Metomilo	Carbamatos	Inhibe la colinesterasa	5,0 mL·L ⁻¹
Insecticida	Mimic	Tebufenocide	Diacilidrazinas	Evita el proceso de muda	1,25 mL·L ⁻¹
Fungicida	Vitavax	Carboxin + Thiram	Carboxanilidas + Tiocarbamato	Afecta respiración mitocondrial	10,0 mL·L ⁻¹
Herbicida	Accent	Nicosulfurón	Sulfonilureas	Inhibe división celular	0,2 g·L ⁻¹
Surfactante	Surfatron	-	Alkil aril polieter alcohol	Tensoactivo	3,0 mL·L ⁻¹
Surfactante	Nu film 17	-	-	Adherente, extendedor	5,0 mL·L ⁻¹
Aceite mineral	Rocío Blanco	-	Aceite mineral	Asfixia del insecto	10,0 mL·L ⁻¹

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Compatibilidad en medios agarizados. El agroquímico con mayor efecto adverso sobre el desarrollo de *N. rileyi* fue el fungicida Vitavax (Cuadro 2) ya que fue el único que presentó el halo de inhibición y afectó su crecimiento en todas las concentraciones empleadas, mientras que con los insecticidas Lannate y Mimic y el herbicida Accent no se observaron halos en ninguna de las concentraciones ensayadas. El halo de inhibición es un indicador del efecto inhibitorio ejercido por el agroquímico sobre el desarrollo del hongo, ya sea afectando el proceso de germinación o el crecimiento vegetativo. En el caso del adherente Nu film 17, los insecticidas Atabron y Karate, y el herbicida Accent, sólo se observó un efecto adverso a la dilución 1/10 del producto comercial, mientras que el surfactante Surfatron y el aceite emulsionado Rocío Blanco no afectaron el desarrollo del hongo a las concentraciones utilizadas.

Cuadro 2. Compatibilidad de *N. rileyi* con agroquímicos en medios agarizados. Se utilizaron diluciones realizadas a partir de productos comerciales puros. En los resultados, (+) indica presencia y (-) ausencia de halo de inhibición

Agroquímico	Compatibilidad		
	1/10	1/100	1/1000
Karate	+	+	-
Atabron	+	-	-
Lannate L	-	-	-
Mimic	-	-	-
Vitavax	+	+	+
Accent	-	-	-
Nu film 17	+	-	-
Surfatron	-	-	-
Rocío Blanco	-	-	-

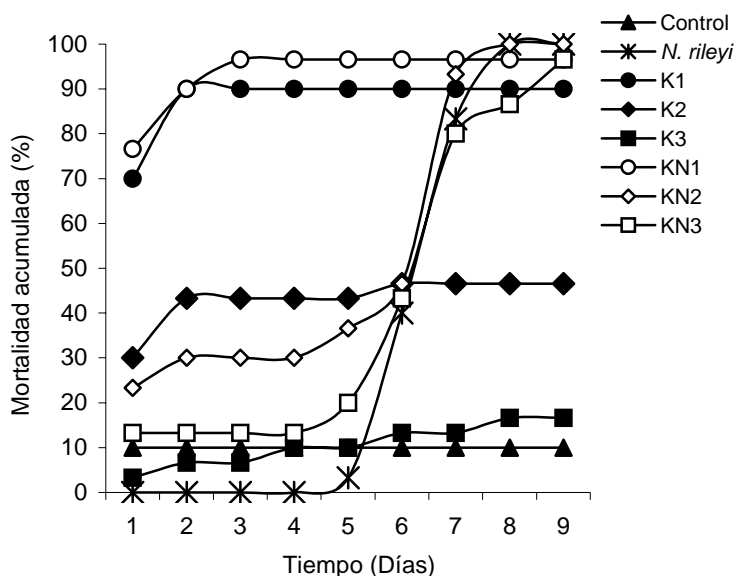
En un trabajo con el hongo *N. rileyi* realizado por Ignoffo et al. (1975) para comprobar su compatibilidad con agroquímicos donde haciendo ensayos *in vitro* verificó la compatibilidad de *N. rileyi* con varios fungicidas, herbicidas e insecticidas, de los cuales sólo el insecticida Lannate fue incluido en el presente estudio. Los resultados coinciden con los obtenidos en los ensayos con medios agarizados, donde las evidencias indican que *N. rileyi* es compatible

con el insecticida Lannate.

Compatibilidad en bioensayos con *S. frugiperda*. Los resultados de la evaluación del efecto de Karate sobre la virulencia de *N. rileyi* son presentados en la Figura 1. Se utilizó la dosis recomendada por el fabricante ($2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$) y diluciones a partir ésta, ya que a concentraciones más altas la mortalidad de *S. frugiperda* fue del 100 % en los primeros días de ensayo, enmascarando el efecto del hongo. Cuando se utilizó la concentración recomendada ($2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$) el insecticida eliminó el 100 % de la población de *S. frugiperda* con un TL_{50} de 0,78 días y TL_{95} de 2,27 días, independientemente de la presencia del hongo. A la dilución 1/10 de la dosis recomendada ($0,2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$) se observó una mortalidad de casi 40 % en los primeros 5 días, con un TL_{50} de 4,48 días en el tratamiento sin hongo. En este caso el valor de TL_{95} fue muy alto (130 días) debido a que nunca se alcanzó una mortalidad mayor al 40 %, creando la imposibilidad de calcular los respectivos intervalos de confianza (datos faltantes en las tablas de datos de las figuras 1, 2 y 3). Sin embargo, cuando *N. rileyi* fue agregado como tratamiento junto con el insecticida a la concentración $0,2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$, se obtuvo una mortalidad de 100 %, con un TL_{50} de 5,86 días y TL_{95} de 7,50 días, valores muy similares a los obtenidos en los tratamientos con *N. rileyi* mezclado con Karate a la concentración de $0,02 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ y *N. rileyi* solo. Resulta evidente a partir de los resultados que el Karate no interfirió con la actuación del hongo, incluso después de haber eliminado el 40 % de la población en la concentración intermedia, mientras que en el tratamiento que sólo contenía el insecticida a esta concentración la mortalidad se mantuvo en 40 %, diferencia que se observa si se compara los TL_{95} de cada tratamiento (7,5 y 130 días, respectivamente) con diferencias significativas entre éstos. A una concentración de $0,02 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$, el insecticida mató al 10 % de la población de *S. frugiperda*, actuando *N. rileyi* sobre el otro 90 % en los siguientes siete días. Los resultados sugieren que en dosis subletales (diluciones 1/10 y 1/100) el Karate es compatible con *N. rileyi*. Con estos resultados no quedaba claro si el hongo era compatible con el insecticida a la concentración recomendada o mayores a ésta, pero esto pudo

evidenciarse en los ensayos con medios agarizados (Cuadro 2), donde se probaron diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000 del producto comercial puro y no a partir de la dosis recomendada de $2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$, y los resultados demuestran que a diluciones 1/10 y 1/100 del

producto comercial, el hongo se ve afectado por Karate, puesto en evidencia por el halo de inhibición en los puntos donde se colocó el insecticida. A concentraciones más bajas (diluciones 1/1000 del producto comercial), no se observó ningún efecto sobre el desarrollo de *N. rileyi*.



N: *N. rileyi* solo

K1: Karate $2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$

K2: Karate $0,2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$

K3: Karate $0,02 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$

KN1: *N. rileyi* + Karate $2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$;

KN2: *N. rileyi* + Karate $0,2 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$;

KN3: *N. rileyi* + Karate $0,02 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$

Tratamiento	TL ₅₀ (días)	Intervalo confianza	TL ₉₅ (días)	Intervalo confianza
N	6,30 b	5,96 < TL ₅₀ < 6,56	7,47 b	7,09 < TL ₉₅ < 8,32
K1	0,78 a	0,30 < TL ₅₀ < 1,05	2,27 a	1,72 < TL ₉₅ < 5,19
K2	4,48	-	130,1	-
K3	-	-	-	-
KN1	0,52 a	0,001 < TL ₅₀ < 0,92	2,85 a	1,88 < TL ₉₅ < 81,07
KN2	5,86 b	4,58 < TL ₅₀ < 7,30	7,50 b	5,30 < TL ₉₅ < 11,58
KN3	6,57 b	6,16 < TL ₅₀ < 6,9	8,81 b	8,20 < TL ₉₅ < 10,03

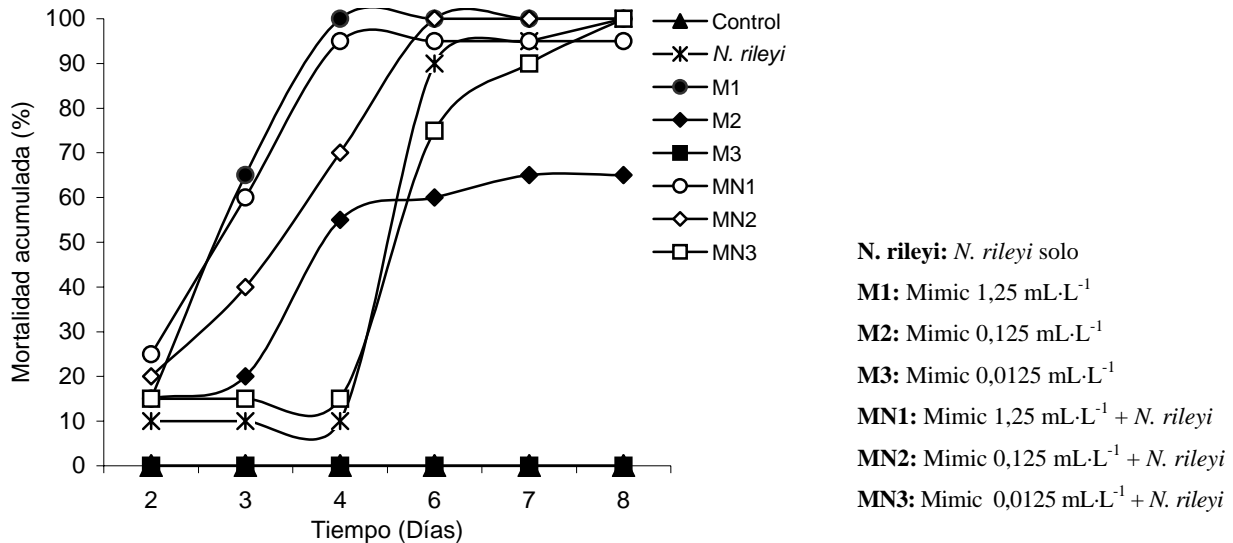
Figura 1. Efecto de Karate sobre la virulencia de *N. rileyi* frente a *S. frugiperda*

En el caso de Mimic (Figura 2), los resultados mostraron una tendencia similar a la observada en los ensayos con Karate. A la concentración recomendada por el fabricante ($1,25 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$), el efecto del hongo se vio enmascarado, debido a la muerte de casi toda la población en los primeros días del ensayo (TL₅₀ = 2,57 días y TL₉₅ = 3,79 días). Sin embargo, al disminuir la concentración ($0,125 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$), se observó un efecto inicial del insecticida que dura aproximadamente cuatro días, cuando comenzó a actuar el hongo. A esta concentración y sin la presencia de *N. rileyi*, se observó una mortalidad de 60 %. Los datos de TL₅₀ a esta concentración no presentaron

diferencias significativas independientemente de la presencia del hongo (TL₅₀ = 4,31 días; TL_{50Nr} = 4,52 días); sin embargo, si se comparan los TL₉₅ (TL₉₅ = 11,2 días; TL₉₅ = 5,54 días) sí se evidencian diferencias estadísticas. Cuando *N. rileyi* fue agregado como tratamiento junto con el insecticida a la concentración de $0,125 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$, se obtuvo un TL₅₀ de 3 días y un TL₉₅ de 5,54 días, valores muy similares a los obtenidos en el tratamiento con *N. rileyi* solo y con la menor concentración de insecticida utilizada ($0,0125 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$), sin diferencias significativas. Para la dosis más baja ($0,0125 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$), se observó que el insecticida no tuvo efecto sobre *S. frugiperda*,

estando la curva de este tratamiento completamente superpuesta con la del control. Estos resultados indican que a dosis por debajo de la recomendada por el fabricante ($0,125 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ y $0,0125 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$), donde no se observó ningún

efecto inhibitorio, el insecticida Mimic si es compatible con *N. rileyi*. En placas con medios agarizados no se observó ningún efecto sobre el desarrollo del hongo a concentraciones mayores a $1,25 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ (Cuadro 2).



Tratamiento	TL ₅₀ (días)	Intervalo de Confianza	TL ₉₅ (días)	Intervalo de Confianza
N	4,52 b	$3,78 < \text{TL}_{50} < 5,37$	5,42 b	$4,10 < \text{TL}_{95} < 7,70$
M1	2,57 a	$2,35 < \text{TL}_{50} < 2,79$	3,79 a	$3,40 < \text{TL}_{95} < 4,58$
M2	4,31 b	$3,65 < \text{TL}_{50} < 5,04$	11,2 c	$7,94 < \text{TL}_{95} < 34,2$
M3	-	-	-	-
MN1	2,63 a	$2,40 < \text{TL}_{50} < 2,86$	3,94 a	$3,52 < \text{TL}_{95} < 4,80$
MN2	3,00 ab	$1,95 < \text{TL}_{50} < 4,50$	5,54 b	$2,58 < \text{TL}_{95} < 14,5$
MN3	5,07 b	$4,64 < \text{TL}_{50} < 5,45$	7,42 b	$6,80 < \text{TL}_{95} < 8,52$

Figura 2. Efecto de Mimic sobre la virulencia de *N. rileyi* frente a *S. frugiperda*

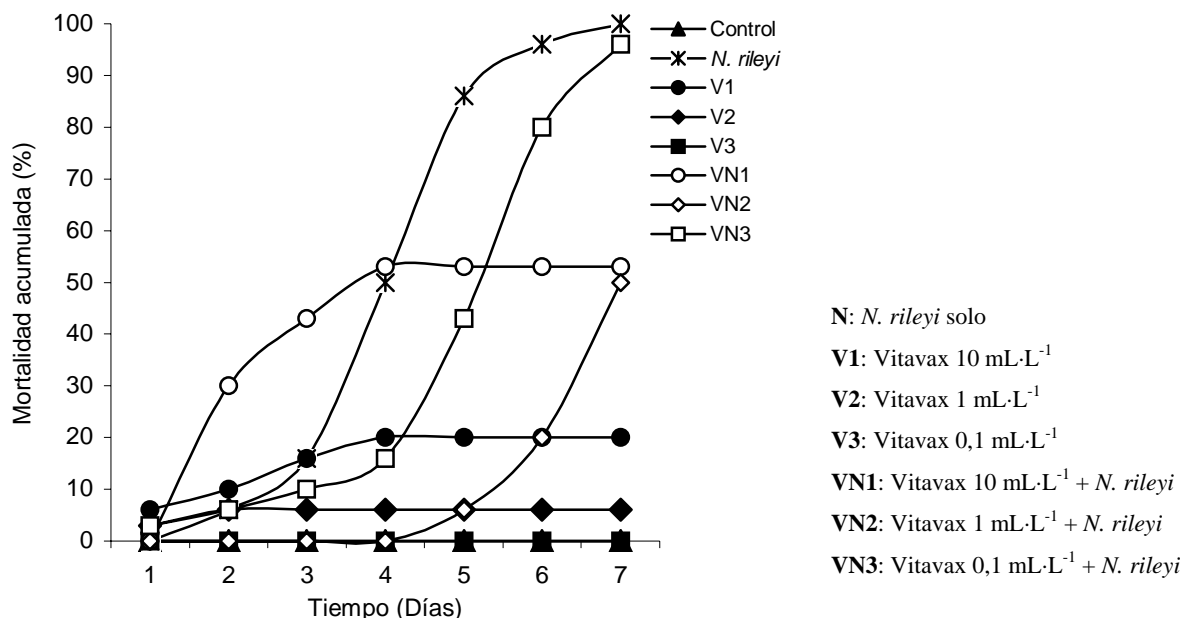
El fungicida Vitavax sí afectó en gran medida el desarrollo de *N. rileyi* en los ensayos con *S. frugiperda*, evidenciándose esto por las diferencias notables en los TL₅₀ obtenidos (5,7 días para el hongo solo y entre 8 a 9 días para los tratamientos con el agroquímico) (Figura 3). Si bien a partir de los resultados obtenidos no es posible asegurar que el fungicida mató al hongo, resulta evidente que sí retrasó la actuación del mismo. Los datos del presente ensayo fueron recabados hasta el día siete, lo cual imposibilita saber que hubiera ocurrido en días posteriores con la mortalidad de la población. Los datos obtenidos para la dosis recomendada (VN1, $10 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$) arrojan un TL₅₀ muy bajo (1,23 días); sin embargo, no se observó presencia del hongo sobre las larvas muertas por lo que

aparentemente estos individuos no murieron por efecto del hongo sino más probablemente por falta de alimentación, pues se observó buena parte de la dieta sin consumir y se infiere que la presencia del agroquímico a esta concentración habría disminuido el apetito de las larvas. Estos resultados coinciden con los obtenidos en los ensayos con medios agarizados (Cuadro 2).

El efecto de Lannate y Atabron sobre *S. frugiperda* fue mucho más fuerte, observándose una mortalidad del 100 % al segundo día de ensayo, a diluciones 1/10 y 1/100 de la dosis recomendada. Este hecho no permitió observar el efecto del hongo sobre el insecto (datos no mostrados). Sin embargo, la compatibilidad de *N. rileyi* con estos agroquímicos se puso en evidencia

en los ensayos con medios agarizados (Cuadro 2). En el caso del herbicida Accent, el adherente Nu Film 17 y el surfactante Surfatron, los ensayos con *S. frugiperda* mostraron la misma tendencia de mortalidad en todas las

concentraciones utilizadas (datos no mostrados) independientemente de la presencia del hongo, coincidiendo con los resultados de compatibilidad obtenidos en los ensayos con los medios agarizados (Cuadro 2).



Tratamiento	TL ₅₀ (días)	Intervalo de Confianza	TL ₉₅ (días)	Intervalo de Confianza
N	5,70 b	4,60 < TL ₅₀ < 24,18	14,4 a	8,09 < TL ₉₅ < muy alto
V1	-	-	-	-
V2	-	-	-	-
V3	-	-	-	-
VN1	1,23 a	1,90 < TL ₅₀ < 0	Muy alto	-
VN2	9,03 c	6,90 < TL ₅₀ < 321,22	28,9 a	13,2 < TL ₉₅ < muy alto
VN3	8,43 bc	7,10 < TL ₅₀ < 43,59	14,6 a	9,80 < TL ₉₅ < muy alto

Figura 3. Efecto de Vitavax sobre la virulencia de *N. rileyi* frente a *S. frugiperda*

Uno de los problemas más graves a la hora de hacer aplicaciones de agroquímicos es la selección de organismos resistentes a estos productos, debido a la aplicación indiscriminada y repetitiva de los mismos. Para ayudar a enfrentarlo se ha establecido el llamado “manejo de la resistencia en insectos”, como una extensión complementaria al manejo integrado de plagas, aplicando una serie de medidas que podrían evitar o al menos retrasar la aparición de la resistencia (Regupathy, 1995). Así, la aplicación de agroquímicos en conjunto con hongos entomopatógenos compatibles, puede mejorar la eficiencia del control, disminuir la cantidad de insecticida requerido, minimizar la

contaminación ambiental y retrasar la aparición de resistencia a los agroquímicos (Ambethgar, 2009). La aplicación de hongos entomopatógenos con dosis bajas de insecticidas, es de gran ayuda para evitar la aparición de resistencia (Ramaraje Urs et al., 1967; Fargues, 1975), siendo incluso más efectivos en el control (Anderson et al., 1989). Algunos insecticidas pueden actuar como agentes sinérgicos en el desarrollo de enfermedades de insectos causadas por hongos, por lo que son denominados factores epizootológicamente relevantes (Jacobson et al., 2001). En otros trabajos se ha sugerido una acción sinérgica de *N. rileyi* con insecticidas sobre *Spodoptera litura*

(Lepidoptera: Noctuidae) (Manjula y Murthy, 2005), recomendando aplicaciones al inicio de la epizootia natural para incrementar la mortalidad en la población de *S. litura*. Los resultados mostrados en el presente trabajo, indican un mecanismo de actuación conjunto entre el hongo y el insecticida, permitiendo disminuir las dosis de aplicación de este último. La integración de estas dos medidas de control permitiría un mejor manejo de las poblaciones plagas con menos aplicaciones de agroquímicos y menor impacto socioambiental y minimizando la posibilidad de selección de organismos resistentes.

Si bien el conocimiento del efecto *in vitro* de un agroquímico sobre un organismo biocontrolador es una información fundamental, no determina por completo el éxito de la aplicación conjunta. Algunos agroquímicos, como el fungicida Benlate por si solo y en combinación con Methyl Parathion o Carbaryl, son capaces de inhibir las epizootias naturales de *N. rileyi*, pudiéndose reducir las condiciones para la iniciación de la epizootia durante al menos tres semanas (Johnson et al., 1976). La combinación de fungicidas con insecticidas parece ser particularmente inhibitoria, posiblemente debido a las cualidades del fungicida aunado a la reducción en la población del hospedador necesaria para el establecimiento del inóculo que dará como resultado la epizootia. El momento de aplicación del agroquímico es un factor crítico, siendo en los momentos preepizooticos cuando más se observa el efecto inhibitorio (Horton et al., 1980). Estos hallazgos evidencian la necesidad de una evaluación meticulosa de los métodos de control de plagas, materiales y tiempo de aplicación, por lo que resulta importante que en los programas de manejo integrado que incluyan el uso de hongos entomopatógenos, deben ser consideradas las interacciones entre el insecto, el patógeno, los plaguicidas y las condiciones ambientales.

Este tipo de estrategias va más allá de una simple determinación de compatibilidad entre el hongo y el agroquímico. La información es de gran importancia, pero no es la única que debe ser tomada en cuenta. Factores como la densidad poblacional son fundamentales para el normal desarrollo del hongo. Si se aplica un insecticida en conjunto con algún hongo entomopatógeno y el primero es capaz de disminuir en gran medida la población del insecto, la adición del producto

biológico a la mezcla podría ser en vano, ya que el hongo no tendría a la disposición ninguna población para atacar. Es imprescindible que antes de realizar este tipo de mezclas, se tenga en cuenta toda la información necesaria (compatibilidad *in vitro* e información ecológica) para poder obtener el máximo provecho a cada aplicación.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que son factibles aplicaciones conjuntas entre algunos agroquímicos y *N. rileyi* que pueden ayudar a mejorar la efectividad de ambos agentes de control. La existencia de un efecto sinérgico cuando se aplica el hongo con dosis subletales del agroquímico puede tener implicaciones importantes en el impacto que las actividades agrícolas tienen sobre el ambiente y sobre la dinámica de las poblaciones de insectos plaga. El uso de menores cantidades de agroquímicos permitirá obtener alimentos menos contaminados, una mayor protección del ambiente y reducir la tasa de selección de organismos resistentes a estos productos.

AGRADECIMIENTO

Trabajo financiado con fondos del Programa de Beca-Crédito otorgado a Domenico Pavone y del Proyecto S1-2001000918 a cargo del Dr. Blas Dorta, ambos provenientes del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología, FONACIT.

LITERATURA CITADA

1. Alves, S. 1986. Fungos Entomopatogénicos. *In*: Alves, S. (ed.). Controle microbiano de insetos. Editorial Manole. São Paulo. pp. 73-126.
2. Ambethgar, V. 2009. Potential of entomopathogenic fungi in insecticide resistance management (IRM): A review. *Journal of Biopesticides* 2(2): 177-193.
3. Anderson, T., A. Hajek, D. Roberts, H. Preisler y J. Robertson. 1989. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Effects of combinations of *Beauveria bassiana* with insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 82: 83-89.

4. Fargues, J. 1975. Elude experimentale dans la nature de l'utilisation combinee de *Beauveria bassiana* et d'insecticides a dose reduite contre *Leptinotarsa decemlineata*. Annales de Zoologie Ecologie Animale 7: 247 - 264.
5. García, C. y C. Ignoffo. 1979. Sensitivity of *Nomuraea rileyi* to antibiotics, sulfonamides and fungicidal substances. Journal of Invertebrate Pathology 33: 124-125.
6. García, J.L. y S. Clavijo. 1985. Incidencia del hongo *Nomuraea* sp (Deuteromycete: Ascomycotina) en larvas de *Spodoptera frugiperda* criadas en el laboratorio y alimentadas con plantas provenientes de campos comerciales de maíz. Boletín de Entomología Venezolana 4(7): 53-59.
7. Gopalakrishnan, C. y K. Mohan. 2000. Effect of certain insecticides and fungicides on the conidial germination of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. Entomon. 25(3): 217-223.
8. Horton, D., G. Carner y S. Turnispeed. 1980. Pesticide inhibition of the entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* in soybeans. Environ. Entomol. 9: 304-308.
9. Ignoffo, C., D. Hostetter, C. García y R. Pinnell. 1975. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* to chemical pesticides used on soybeans. Environ. Entomol. 4(5): 765-768.
10. Ignoffo, C., N. Marston, D. Hostetter, B. Puttler y J. Bell. 1976. Natural and induced epizootics of *Nomuraea rileyi* in soybean caterpillars. J. Invertebr. Pathol. 27: 191-198.
11. Ignoffo, C. 1981. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. In: Burges H. (ed.). Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic Press, London. pp 513-538.
12. Jacobson, R., D. Chandler, J. Fenlon y K. Russell. 2001. Compatibility of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin with *Amblyseius cucumaris* Oudemans (Acarina: Phytoseiidae) to control *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber plants. Biocontrol Science and Technology 11: 391-400.
13. Johnson, D., L. Kish y G. Allen. 1976. Field evaluation of selected pesticides on the natural development of the entomopathogen, *Nomuraea rileyi*, on the velvetbean caterpillar in soybean. Environ. Entomol. 5(5): 964-966.
14. Luz, C., M. Bastos y L. Nunes. 2007. In vitro susceptibility to fungicides by invertebrate-pathogenic and saprobic fungi. Mycopathologia 164: 39-47.
15. Manjula, K. y K. Murthy. 2005. Combined effect of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson and insecticides against third instar larvae of *Spodoptera litura* Fab. Indian Journal of Plant Protection 33(1): 141-142.
16. Morjan, W., L. Pedigo y L. Lewis. 2002. Fungicidal effects of glyphosate and glyphosate formulations on four species of entomopathogenic fungi. Environ. Entomol. 31(6): 1206-1212.
17. Parra, J. 1986. Criação de insetos para estudos com patógenos. En: Alves, S. (ed.). Controle microbiano de insetos. Editorial Manole. São Paulo. pp 348-372.
18. Pavone, D., M. Díaz, L. Trujillo y B. Dorta. 2009. A granular formulation of *Nomuraea rileyi* Farlow (Samson) for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Interciencia 34(2): 130-134.
19. Ramaraje Urs, N., H. Govindu y K. Shivashankara. 1967. The effect of certain insecticides on the entomogenous fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology 9: 398-403.
20. Raymond, M. 1985. Presentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinnateur. Sèv. Ent-med et Parasitol. 22: 117-121.
21. Regupathy, A. 1995. Problems and prospects

- of management of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* in India. In: G.A. Constable y N.W. Forrester (eds.). Challenging the Future. Proc. World Cotton Conference-I. CSIRO. Melbourne, Australia. pp. 556-562.
- 22.Silva, L., R. Silva y M. Heineck. 1993. *In vitro* evaluation of the effect of different insecticides on the sporulation of the fungus, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. Anais da Sociedade Entomol do Brazil 22: 99-103.
- 23.Sosa-Gomez, D., K. Delpin, F. Moscardi y M. Nozaki. 2003. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop. Entomol. 32(2): 287-291.
- 24.Tang, L. y R. Hou. 1998. Potencial application of the entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*, for control of the corn earworm, *Helicoverpa armigera*. Entomol. Exp. Appl. 88: 25-30.