

REPORTE PREELIMINAR DE ENTOMOPATÓGENOS DEL “GUSANO COGOLLERO” *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN CHIHUAHUA, MÉXICO

Magali Ordóñez-García¹,  Claudio Rios-Velasco², David Ignacio Berlanga-Reyes², Carlos Horacio Acosta-Muñiz², Miguel Ángel Salas-Marina³ y Octavio Jhonathan Cambero-Campos⁴.

¹Estudiante de Maestría, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc, Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. C.P. 31570, Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

³Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Km 9.6 Libramiento Norte Carretera Irapuato-León C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato, México. ⁴Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Km 9 Carretera Tepic-Compostela. C.P. 63780, Xalisco, Nayarit, Mexico.

 Correo: claudio.rios@ciad.mx

RESUMEN. El “gusano cogollero” *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) es la principal plaga del maíz en Latinoamérica. A la fecha se reportan diversos enemigos naturales, destacando los entomopatógenos. Dado lo anterior, el objetivo del estudio fue identificar a dichos entomopatógenos y estimar su porcentaje de ocurrencia. Se recolectaron larvas de *S. frugiperda*, en parcelas de maíz de 5 municipios del estado de Chihuahua, México. Las larvas fueron observadas diariamente para reconocer la presencia de entomopatógenos. De 5,870 larvas recolectadas, se encontró una incidencia de entomopatógenos de 595 (10.14 %). El 9.23 % de larvas muertas fue causada por 2 hongos Hypocreales *Metarhizium rileyi* (Farl) Kepler y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin con incidencias de 504 (8.58 %) y 38 (0.65 %), respectivamente. Se obtuvieron 49 (0.83 %) aislados de *Nucleopolyhedrovirus* (Baculoviridae) y 0.07 % de las larvas fueron infectadas por nematodos.

Palabras Clave: Gusano cogollero, hongos, baculovirus, nematodos

Preliminary report of entomopathogenous of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Chihuahua, Mexico

ABSTRACT. The fall armyworm (FAW) *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) is the main pest in corn in Latinamerica. To date, it have been reported several natural enemies, mainly the entomopathogens. Given the above, the aim of the study was to identify those entomopathogens and estimating their occurrence percentage. *Spodoptera frugiperda* larvae were collected in corn plots in 5 counties of the state of Chihuahua, Mexico. Larvae were observed daily to recognize the presence of entomopathogens. Of 5,870 larvae collected, an incidence of 595 (10.14 %) of entomopathogenous was found. The 9.23 % of dead larvae was caused by 2 species of Hypocreales fungi: *Metarhizium rileyi* (Farl.) Kepler and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, with incidences of 504 (8.59 %) and 38 (0.65 %), respectively. Forty-nine (0.83 %) *Nucleopolyhedrovirus* (Baculoviridae) isolates were obtained and 0.07 % of larvae were infected by nematode.

Key words: Fall armyworm, fungus, baculovirus, nematodes

INTRODUCCIÓN

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), es un insecto polífago y cosmopolita que ocasiona severos daños en diversos cultivos (Sparks, 1986), en maíz es la principal plaga que causa pérdidas superiores al 30 % (García-Gutiérrez *et al.*, 2012). En México, su control ha dependido del uso de insecticidas químicos, requiriéndose de varias aplicaciones por ciclo sin embargo, estos productos químicos tienen impactos negativos en el ambiente, particularmente por la eliminación de la entomofauna benéfica, intoxicación de trabajadores agrícolas, residualidad en los alimentos, además de inducir la aparición de resistencia en el insecto blanco (Gómez-Valderrama *et al.*, 2010; Shahid *et al.*, 2012), razones por las cuales el control biológico surge como una alternativa viable al uso de estos productos, particularmente mediante el uso de microorganismos entomopatógenos.

En la actualidad, se han reportado altas tasas de mortalidad de *S. frugiperda* causadas por entomopatógenos, tales como hongos, bacterias, virus, nematodos, entre otros (Estrada-Virgen *et al.*, 2013; Molina-Ochoa *et al.*, 2003). Dado lo anterior el objetivo del estudio fue identificar a los entomopatógenos del gusano cogollero *S. frugiperda* en el estado de Chihuahua y estimar su porcentaje de ocurrencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron larvas de todos los instares de *S. frugiperda* en parcelas de maíz, en cinco municipios del estado de Chihuahua, México, durante los meses de Agosto y Septiembre de 2014 (Cuadro 1). Las larvas recolectadas fueron transportadas al Laboratorio de Patología Vegetal y Control Biológico del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Cuauhtémoc, colocadas en contenedores plásticos de 1 oz. (Grupo Convermex, S.A. de C.V.), que contenían dieta artificial (Southland Products Incorporated, USA), mantenidas a 26 ± 2 °C, con una humedad relativa >70 % y un fotoperiodo 12:12 L: O. Los contenedores fueron revisados diariamente hasta la presencia de micosis, nematodos, virus o hasta que las larvas llegaron a la etapa adulta.

Las larvas micosadas fueron colocadas en cámaras húmedas y los posibles hongos entomopatógenos fueron aislados y purificados en medio de cultivo artificial papa dextrosa agar (PDA) y jugo de verduras (V8-Agar) e identificados de acuerdo con sus características micro y macroscópicas usando claves taxonómicas, para lo cual se realizaron montajes en porta y cubreobjetos con azul de lactofenol y fueron observados bajo un microscopio óptico (Carl Zeiss) (Barnett y Hunter, 1998; Dugan, 2006).

Las larvas infectadas por nematodos se observaron bajo un estereoscopio (Leica GZ6) y los especímenes de nematodos bajo un microscopio óptico (Carl Zeiss) e identificadas mediante claves taxonómicas (Nguyen y Smart Jr, 1996).

El tejido de las larvas con sintomatología de infección viral fue teñido con colorante Giemsa al 4 % y para observar la presencia de cuerpos de oclusión (COs) bajo un microscopio óptico, para lo cual se hicieron montajes en porta y cubreobjetos. Además se realizó una prueba de reproducción de síntomas de la infección viral. Para esto, se tomaron 100 μ L de la suspensión viral y se mezclaron con un volumen igual, de una solución que contenía sacarosa al 4 % y un colorante de alimentos al 1 %. La solución fue suministrada vía oral a grupos de larvas de *S. frugiperda* de segundo instar, previamente sometidos a un periodo de inanición de 24 h, de acuerdo al método de la gota descrito por Hughes y Wood (1981). Se tomaron 10 μ L de la suspensión y se colocaron en gotas de 2 μ L sobre papel encerado para ser ingeridas por las larvas

de *S. frugiperda*, evidenciada por la coloración azul de su cuerpo observada al estereoscopio. Las larvas que ingirieron la suspensión viral fueron colocadas en dieta artificial y mantenidas bajo condiciones controladas (26 ± 2 °C, HR >70 %, fotoperiodo 12:12 L: O) y revisadas diariamente para detectar la sintomatología, tales como pérdida de apetito y movilidad, cambio en la coloración, fragilidad y ruptura del tegumento (Caballero *et al.*, 2001; Vásquez *et al.*, 2002), las larvas infectadas fueron recuperadas en tubos de polipropileno de 15 mL con agua destilada estéril y conservadas a -70 °C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectaron 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 & Humber, comb. nov. (= *Nomuraea rileyi* (Farl.) Samson y 38 (0.65 %) a *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Cuadro 1; Fig. 1a, b). 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 Garcia, 1985; Vimala-Devi *et al.*, 1996).

De las larvas recolectadas, se obtuvieron 49 aislados de baculovirus, considerando a cada larva como un aislado, lo que corresponde a un 0.83 % (Cuadro 1; Fig. 1d), resultados similares fueron encontrados por Gómez-Valderrama *et al.*, (2010) quienes recolectaron un total de 2,140 larvas, de las cuales aislaron tres *Nucleopolyhedrovirus* (Baculoviridae) en Colombia, que corresponde a un 0.14 % de ocurrencia del virus, del mismo modo Valicente y Barreto (1999), encontraron 21 aislados de *Nucleopolyhedrovirus*, a partir de 14,000 larvas recolectadas que representan 0.15 % de ocurrencia. La complicación para encontrar larvas infectadas se debe principalmente a que las larvas infectadas pueden ser asintomáticas (Laarif *et al.*, 2003), sin embargo, a pesar de que la ocurrencia de este entomopatógeno fue relativamente baja, se ha demostrado su eficacia como potenciales agentes de control biológico, debido a su alta especificidad y virulencia (Barrera *et al.*, 2011).

También se encontraron larvas infectadas por nematodos, con una incidencia del 0.07 % (Cuadro 1; Fig. 1c) y son considerados como agentes con alto potencial para el control de *S. frugiperda* (Molina-Ochoa *et al.*, 2003).

La incidencia de entomopatógenos (hongos, virus y nematodos) fue de 10.11 % (Cuadro 1), siendo superior a la encontrada por Wyckhuys y O'Neil (2006), quienes encontraron una incidencia del 3.8 %. Asimismo 483 (8,23%) larvas del gusano cogollero murieron por causas desconocidas (Cuadro 1).

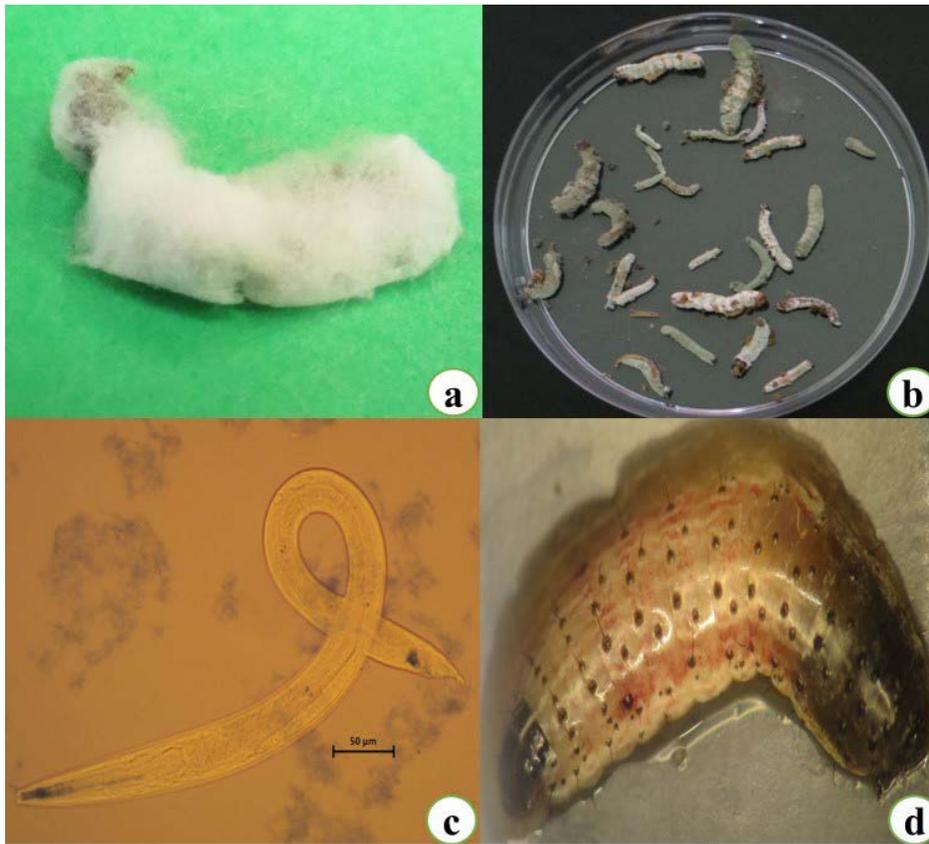


Fig.1. Entomopatógenos encontrados en el estado de Chihuahua, en larvas de *Spodoptera frugiperda* en 2014: a) larva micosada por *Beauveria bassiana*, b) larvas micosadas por *Metarhizium rileyi*, c) morfología microscópica de nematodos y d) larva infectada por *Nucleopolyhedrovirus*.

Cuadro 1. Entomopatógenos asociados a *Spodoptera frugiperda* en maíces del estado de Chihuahua, en 2014.

	Parcela	Fecha (Día y mes)	Total de larvas	Entomopatógenos			Nematodos	Muerte por causas desconocidas
				Hongos		Virus		
				<i>M. rileyi</i>	<i>B. bassiana</i>	NPV		
Cuauhtémoc	Los Adobes	29 Ago-26 Sep	2,467	125	33	17	3	198
Cusihuiriac	Juan Ordóñez	28 Ago-30 Sep	1,744	73	5	28	0	172
Bachíniva	Bachíniva	10 Sep	697	167	0	0	0	5
Namiquipa	Namiquipa	10 Sep	365	48	0	4	0	51
Guerrero	Guerrero	23 Sep	597	91	0	0	1	57
Total			5,870	504	38	49	4	483

*Número de muestreos realizados en cada municipio: Cuauhtémoc (4), Cusihuiriac (4), Bachíniva (1), Namiquipa (1) y Guerrero (1).

CONCLUSIONES

En el estado de Chihuahua, existen diversos microorganismos entomopatógenos que actúan de manera natural en la regulación de las densidades poblacionales del gusano cogollero del maíz *S. frugiperda*, lo cual puede verse favorecido por las condiciones ambientales que prevalecen en el estado. Siendo los hongos entomopatógenos los de mayor presencia, seguido por los virus y en una proporción más baja los nematodos, por otra parte, no se detectó la presencia de larvas con infección bacteriana. Bachiniva fue el municipio que presentó la mayor incidencia de hongos, mientras que Cusihuirachi mostró una mayor incidencia de larvas infectadas con virus.

LITERATURA CITADA

- Barnett G.J y Hunter B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth ed., St. Paul, MN, APS Press. 218 pp.
- Barrera, G., Simón, O., Villamizar, L., Williams, T., y Caballero, P. 2011. *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide: Genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. *Biological Control*, 58(2): 113-120.
- Caballero, P., Williams, T., y López-Ferber, M. 2001. Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Universidad Pública de Navarra: Phytoma-España. 517 pp.
- Dugan FM. 2006. The identification of fungi. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 176 pp.
- Estrada-Vírgen, O., Cambero-Campos, J., Robles-Bermudez, A., Rios-Velasco, C., Carvajal-Cazola, C., Isiordia-Aquino, N., y Ruíz-Cancino, E. 2013. Parasitoids and entomopathogens of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Nayarit, Mexico. *Southwestern Entomologist*, 38(2): 339-344.
- García-Gutiérrez, C., González-Maldonado, M. B., y Cortez-Mondaca, E. 2012. Uso de enemigos naturales y bioracionales para el control de plagas de maíz. *Ra Ximhai*, 8(3): 57-71.
- Gómez-Valderrama, J. A., Guevara-Agudelo, E. J., Barrera-Cubillos, G. P., Cotes-Prado, A. M., y Villamizar-Rivero, L. F. 2010. Aislamiento, identificación y caracterización de nucleopoliedrovirus nativos de *Spodoptera frugiperda* en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(2): 5511-5520.
- Hughes PR y Wood HA. 1981. A synchronous per oral technique for the bioassay of insect viruses. *Journal of Invertebrate Pathology*, 37: 154-159.
- Ignoffo, C. M., y Garcia, 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.
- Laarif, A., Fattouch, S., Essid, W., Marzouki, N., Ben Salah, H., y Ben Hammouda, M. 2003. Epidemiological survey of *Phthorimaea operculella* granulosis virus in Tunisia. *EPPO Bulletin*, 33(2): 335-338.
- Molina-Ochoa, J., Lezama-Gutierrez, R., Gonzalez-Ramirez, M., Lopez-Edwards, M., Rodriguez-Vega, M. A., y Arceo-Palacios, F. 2003. Pathogens and parasitic nematodes associated with populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Mexico. *Florida Entomologist*, 86(3): 244-253.

- Nguyen, K., y Smart Jr, G. 1996. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nemata: Rhabditida). *Journal of nematology*, 28(3): 286.
- Shahid, A. A., Rao, Q. A., Bakhsh, A., y Husnain, T. 2012. Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. *Archives of Biological Sciences*, 64(1): 21-42.
- Sparks. 1986. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): potential for area-wide management. *Florida Entomologist*, 69: 603-614.
- Valicente FH y Barreto M. 1999. Levantamento dos inimigos naturais da lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na região de Cascavel, PR. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil, Jaboticabal* 28 (2): 333-337.
- Vásquez, J., Zeddam, J., y Tresierra, A. 2002. Control biológico “cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera; Noctuidae) con el baculovirus SfVPN, en Iquitos-Perú. *Folia Amazónica*, 13(1-2): 25-39.
- 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.
- Wyckhuys KAG y O’Neil RJ. 2006. Population dynamics of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) and associated arthropod natural enemies in Honduran subsistence maize. *Crop Protection*, 25: 1180-1190.