

# Evaluación de aislamientos nativos de *Nomuraea rileyi* para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Evaluation of native isolates of *Nomuraea rileyi* for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

CARLOS FELIPE BOSA O.<sup>1</sup>, DORA CHÁVEZ<sup>2</sup>, LISSETTE TORRES<sup>3</sup>, ALEJANDRO PARÍS<sup>4</sup>,  
LAURA VILLAMIZAR<sup>5</sup>, ALBA MARINA COTES<sup>6</sup>

Revista Colombiana de Entomología 30 (1): 93-97 (2004)

**Resumen.** El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda*, es la principal plaga de este cultivo. Debido a que en el país no se cuenta con un producto registrado a base de hongos entomopatógenos para el control de *S. frugiperda* y dado que *Nomuraea rileyi* es un microorganismo que se encuentra con más frecuencia causando epizootias en campo, se planteó como objetivo aislar y seleccionar cepas de este hongo con alta actividad biocontroladora contra *S. frugiperda*. Para ello, a partir de 10 aislamientos provenientes de los llanos orientales, se evaluó en laboratorio su actividad biocontroladora a una concentración de  $1 \times 10^7$  conidios.ml<sup>-1</sup>, mediante la aspersión sobre hojas de higuierilla (*Ricinus communis*) infestadas con larvas de segundo instar del insecto. Con tres aislamientos se obtuvo una mortalidad de 94,7, 95 y 100%, seleccionándose el aislamiento Nm07 procedente de Villavicencio (Meta), ya que ocasionó el 100% de mortalidad y los tiempos letales menores (TL<sub>50</sub> y TL<sub>90</sub>) que fueron de 6,2 y 7,9 días, respectivamente. Posteriormente, se determinó la concentración y dosis letal de este aislamiento obteniéndose una CL<sub>50</sub> de  $9,8 \times 10^3$  conidios.ml<sup>-1</sup> a los 11 días y una CL<sub>90</sub> de  $2,2 \times 10^5$  conidios.ml<sup>-1</sup> a los ocho días, respectivamente. Para la determinación de las dosis letales se aplicaron 5 µl de cada dosis sobre el dorso torácico de cada larva, determinándose una DL<sub>50</sub> de 44 conidios/larva a los 12 días y una DL<sub>90</sub> de 3,380 conidios/larva a los 10 días, respectivamente. Estos resultados permiten obtener parámetros de referencia para realizar estudios de producción masiva y formulación, dirigidos al control integrado de *Spodoptera* spp.

**Palabras clave:** Entomopatógeno. Control biológico. Gusano cogollero del maíz.

**Summary.** The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, is the major insect pest of the maize crop. Considering that the country does not have a registered product based on fungal entomopathogens for the control of *S. frugiperda*, and given that *Nomuraea rileyi* is a microorganism that is most frequently found to cause epizootics in the field, our objective was to isolate and select strains of this fungus with high biocontrol activity against *S. frugiperda*. To do this, the biocontrol activity of 10 isolates of *N. rileyi*, isolated under laboratory conditions from the Llanos Orientales, at  $1 \times 10^7$  conidia.ml<sup>-1</sup> was evaluated by spraying onto "higuierilla" leaves (*Ricinus communis*) infested with second instar larvae. A mortality of 94,7, 95 and 100% were obtained with three isolates, the isolate Nm-07 from Villavicencio being selected because it caused 100% mortality and the lowest lethal times (LT<sub>50</sub> and LT<sub>90</sub>) of 6, 2 and 7,9 days, respectively. Afterwards, both the lethal concentrations and doses of this isolate were determined, with LC<sub>50</sub> of  $9,8 \times 10^3$  conidia.ml<sup>-1</sup> at 11 days and LC<sub>90</sub> of  $2,2 \times 10^5$  conidia.ml<sup>-1</sup> at eight days, respectively. To determine the lethal doses 5 µl of *N. rileyi* suspensions were applied to the thoracic tergum of each larvae, with a LD<sub>50</sub> of 44 conidia/larvae after 12 days and a LD<sub>90</sub> of 3,380 conidia/larvae after 10 days, respectively. These results offer reference parameters to conduct studies on mass production and formulation directed towards the integrated control of *Spodoptera* spp.

**Key words:** Entomopathogen. Biological control. Fall army worm.

## Introducción

Uno de los factores más limitantes en la producción del maíz en Colombia lo constituyen los insectos plaga entre los que se destaca el gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, el cual puede ocasionar daños directos o indirectos

al cultivo pues actúa como trozador, comedor de follaje y comedor de estructuras (mazorcas). Este insecto está distribuido por todo el continente americano y puede encontrarse desde el nivel del mar hasta los 2.600 msnm. Sin embargo, el uso indiscriminado de algunos insecticidas químicos de amplio espectro para el

control de esta plaga, tales como el endosulfan, carbofuran, metamidofos y clorpirifos (fosforados, piretroides y carbamatos), ha favorecido la selección de genes resistentes a estos insecticidas, además de ocasionar efectos negativos sobre la fauna benéfica y de interferir con el equilibrio biológico (García *et al.* 2002).

1 B. Sc. M. Sc. Investigador Laboratorio de Control Biológico. Corpoica. C.I. Tibaitatá.

2 Bacterióloga. Laboratorio de Control Biológico. Corpoica. C.I. Tibaitatá.

3 B. Sc. Investigadora Laboratorio de Control Biológico. Corpoica. C.I. Tibaitatá.

4 I. A. Investigador Laboratorio de Control Biológico. Corpoica. C.I. Tibaitatá.

5 Química Farmacéutica M. Sc. Investigadora Laboratorio de Control Biológico. Corpoica. C.I. Tibaitatá. E-mail: laurafernandav@yahoo.es

6 Autor para correspondencia: Ph. D. Fitopatología Investigador Principal. Laboratorio de Control Biológico. Corpoica. C.I. Tibaitatá. Km 14 Vía Mosquera. Teléfono: 3443156. E-mail: acotes@corpoica.org.co

Según estadísticas del Ministerio de Agricultura (1996), el área sembrada con maíz en Colombia asciende a 79.351 ha con un rendimiento promedio de 3.243 kg/ha y con un gasto en insecticidas para el control de esta plaga de \$ 4,2 millones de dólares por año aproximadamente, lo cual incide considerablemente en los costos de producción.

Una alternativa promisoriosa para el control de esta plaga es la utilización de hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Nomuraea rileyi*. Su uso presenta varias ventajas frente a los insecticidas químicos, ya que su espectro de acción biológica es menor, disminuyendo el efecto sobre los insectos benéficos o no blanco, además es posible su producción sobre sustratos económicos y su aplicación en campo no representa riesgo toxicológico para otros seres vivos como aves, peces y mamíferos. En trabajos preliminares desarrollados en el C.I. Palmira de Corpoica con hongos entomopatógenos y productos no convencionales, se obtuvo en campo un 90% de control de larvas de *S. frugiperda* mediante el uso de una cepa seleccionada del hongo *N. rileyi* (García et al. 2002).

Considerando la importancia de este insecto, los resultados de control obtenidos mediante el uso de entomopatógenos y aprovechando la experiencia del Laboratorio de Control Biológico de Corpoica, se hace necesario desarrollar estudios encaminados al aislamiento y selección de cepas de hongos entomopatógenos, con actividad biocontroladora alta de la plaga con miras a desarrollar preformulados que sean seguros, eficaces y confiables. Por las razones anteriores, los objetivos del presente trabajo fueron aislar y seleccionar aislamientos nativos de *Nomuraea rileyi* con actividad biocontroladora alta contra *S. frugiperda*; así como determinar las concentraciones y dosis letales de los aislamientos seleccionados.

## Materiales y Métodos

**Aislamiento, selección y evaluación de *N. rileyi*.** Se llevó a cabo una recolección de insectos con síntomas de infección en cuatro lotes sembrados con maíz en la zona del piedemonte llanero (Villavicencio, Meta) y en cuatro lotes en la zona de la altillanura (Puerto Gaitán, Meta). Para el piedemonte llanero se realizó el muestreo en tres lotes cultivados con maíz del Centro de Investigaciones "La Libertad" de Corpoica; el otro cultivo en donde se realizaron colectas correspondió a un lote comercial ubicado en la vereda de Pompeya Baja. En la altillanura, se hicieron muestreos en dos de las fincas con las mayores áreas de cultivo de maíz: Panorama y Santana. En cada una de ellas se escogieron dos lotes, teniendo en cuenta su ubicación y nivel de daño. Las larvas muertas o enfermas, con sintomatología típica de infección por hongos o bacterias, se colectaron y se dispusieron individualmente en viales de vidrio. De esta manera, las muestras se transportaron al Laboratorio

de Control Biológico del Centro de Investigaciones Tibaitatá de Corpoica, para su análisis.

A partir de las larvas recolectadas, se realizó el aislamiento de los hongos entomopatógenos potenciales en cajas de Petri con un medio de cultivo codificado como Agar-harina de soya (Agar-Soya). Este medio estuvo constituido por salvado de trigo, frijol soya triturado, extracto de levadura, sales minerales y agar. Luego, cada caja de Petri se incubó a 22°C bajo luz constante; las colonias características del hongo *N. rileyi* se purificaron y se conservaron en el medio Agar-Soya.

Con el fin de realizar la evaluación de la actividad biocontroladora de los diferentes aislamientos nativos de *N. rileyi*, se hizo una activación sobre larvas del insecto y se incubaron durante 12 días a 22°C en el medio de cultivo Agar-Soya. Posteriormente, con los conidios producidos por cada aislamiento se obtuvo una suspensión ajustada a una concentración de  $1 \times 10^7$  conidios. $\text{ml}^{-1}$ . Se hizo la aplicación por medio de un aspersor manual a un volumen de 0,4 ml por el haz y 0,4 ml por el envés de hojas de higuera (*Ricinus communis*) previamente sometidas a desinfección en hipoclorito de sodio al 0,5% y luego tres enjuagues con agua destilada estéril por 5 minutos cada uno; posteriormente, cada hoja se infestó con dos larvas de segundo ínstar del insecto. Se seleccionó, como cepa de referencia, un aislamiento de *N. rileyi* procedente del Centro de Investigaciones Palmira de Corpoica (Valle del Cauca), por haber presentado en estudios previos la actividad bioinsecticida más alta obteniéndose un porcentaje acumulado superior al 90%, al ser probada en campo (García et al. 2002).

El bioensayo se realizó bajo condiciones controladas de 20°C  $\pm$  0,2°C de temperatura y 65% de humedad relativa; se utilizó un diseño completamente aleatorio, donde la unidad experimental consistió en 2 larvas/hoja para un total de 20 repeticiones y cuarenta individuos por tratamiento. A su vez, se utilizaron testigos tratados (hojas desinfectadas, asperjadas con Tween 80 al 0,1% e infestadas con larvas) y testigos larva (hojas desinfectadas, no tratadas con el hongo e infestadas con larvas).

Las lecturas del bioensayo se realizaron cada 24 h, registrando el porcentaje de mortalidad diaria y determinando el tiempo al cual muere el 50 - 90% de la población ( $TL_{50}$ ,  $TL_{90}$ ) para cada aislamiento. Las larvas muertas diariamente se colocaron en cámaras húmedas para evidenciar si la muerte fue provocada por la infección del hongo evaluado. Los datos de mortalidad se corrigieron mediante la fórmula de Schneider - Orelli (Ciba Geygi 1973), obteniéndose el porcentaje de eficacia. Posteriormente, se sometieron a un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias por Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

**Determinación de las concentraciones y dosis letales de los aislamientos seleccionados.** Posteriormente, se seleccionaron los aislamientos de este hongo que cumplieron con los criterios de actividad biocontroladora alta sobre larvas del insecto, tiempos letales  $TL_{50}$  y  $TL_{90}$  menores y un crecimiento y esporulación óptimas en el medio de cultivo. A estos aislamientos seleccionados se les determinó la concentración letal media y noventa ( $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ ) y al mejor de ellos se le determinó la dosis letal media y noventa ( $DL_{50}$  y  $DL_{90}$ ).

Las condiciones metodológicas y el diseño experimental de los bioensayos para la determinación de las concentraciones letales, fueron las mismas descritas anteriormente; para ello se evaluaron cinco concentraciones correspondientes a  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^7$  conidios. $\text{ml}^{-1}$ . Los datos obtenidos en el experimento se analizaron mediante el programa estadístico Probit.

Para determinar la  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$  del mejor aislamiento de *N. rileyi* seleccionado, se hizo una aplicación tópica de 5  $\mu\text{l}$  con dosis de 5, 50, 500, 5.000 y 50.000 conidios/larva (las suspensiones de conidios se realizaron en solución de Tween 80 al 0,5%). La aplicación se hizo sobre el dorso torácico de larvas de segundo ínstar. El diseño experimental para este bioensayo fue igual al descrito anteriormente. De igual forma, los datos obtenidos se analizaron mediante el programa estadístico Probit.

## Resultados y Discusión

**Aislamiento, selección y evaluación de *N. rileyi*.** Se recolectaron 37 muestras (larvas muertas de *S. frugiperda* con síntomas aparentes de infección por hongos). En la finca Santana (lotes 4 y 5) fue donde se encontró el número mayor de insectos con signos de *Nomuraea rileyi*. Para la zona de la altillanura y del piedemonte llanero, se observó una alta incidencia de epizootias causadas por el hongo *N. rileyi* afectando diferentes instares larvales del insecto. Esto sugiere que las esporas del hongo son fácilmente dispersadas y arrastradas por el viento y la lluvia, adhiriéndose, germinando, esporulando e infectando nuevos insectos en el campo, comportamiento favorecido por la humedad alta presente en la región.

A partir de muestras analizadas correspondientes a larvas muertas de *S. frugiperda* procedentes del departamento del Meta, se obtuvieron diez (10) aislamientos nativos de *N. rileyi*, los cuales presentaron morfología típica tanto microscópica como macroscópica del hongo, con algunas diferencias ligeras en cuanto a la tonalidad en el color de la esporulación. Estos diez aislamientos, se purificaron mediante repiques sucesivos en el medio de cultivo específico, para su posterior conservación en cuarto frío a 4°C (Tabla 1).

**Tabla 1.** Aislamientos de *N. rileyi* obtenidos a partir de larvas de *S. frugiperda* colectadas en el departamento del Meta (Colombia)

Código del aislamiento	Procedencia	Morfología macroscópica en medio sólido
Nm-01-6 ( <i>N. rileyi</i> )	La libertad (Villavicencio- Meta)	Esporulación polvosa
Nm-04-2	Finca Santana, Puerto Gaitán (Meta)	Esporulación algodonosa
Nm-04-3	Finca Santana, Puerto Gaitán (Meta)	Esporulación polvosa
Nm-04-11	Finca Santana, Puerto Gaitán (Meta)	Esporulación polvosa
Nm-06-4	Finca Panorama, Puerto Gaitán (Meta)	Esporulación polvosa
Nm-2P	Finca Panorama, Puerto Gaitán (Meta)	Esporulación algodonosa
Nm-5P	Finca Panorama, Puerto Gaitán (Meta)	Esporulación polvosa
Nm-07	Finca Panorama, Puerto Gaitán (Meta)	Esporulación polvosa
Nm-9P	Finca Panorama, Puerto Gaitán (Meta)	Esporulación polvosa
Nm-10*	La libertad Villavicencio (Meta)	Esporulación polvosa
Nm 004 Corpoica- Palmira	Corpoica Palmira	Esporulación algodonosa

(\*) Aislada de *Anticarsia gemmatalis*

El número limitado de aislamientos nativos obtenidos de *Nomuraea rileyi* (10), con respecto a la alta cantidad de muestras recolectadas (37), pudo haberse debido a la dificultad en purificar este hongo y a las exigencias nutricionales requeridas para su crecimiento y esporulación; ya que las muestras biológicas traídas de campo presentaron en su superficie muchos microorganismos saprófitos como hongos y bacterias, que interfirieron con el aislamiento y purificación de éste, debido a su crecimiento rápido en los medios, en comparación con los inóculos de *N. rileyi*, que presentan un crecimiento más lento, lo cual conllevó a una competencia entre estos microorganismos por espacio y por nutrientes en el medio de cultivo.

Si bien es cierto que en la literatura existen medios recomendados para el crecimiento de hongos del género *Nomuraea*, éstos no son los más eficientes para el aislamiento, crecimiento y esporulación del hongo, debido a que no son selectivos y muchos carecen de los requerimientos nutricionales específicos para la total esporulación del hongo. Por tal razón fue necesario mejorar el medio de cultivo semi-selectivo descrito por Vimala (1994), que permitiera inicialmente realizar el aislamiento adecuado del hongo a partir de las muestras recolectadas.

El criterio para haber utilizado en todos los ensayos biológicos larvas de segundo instar del insecto, fue motivado porque los primeros estadios de lepidópteros (primer y segundo instar) son más susceptibles de controlar en campo que instares avanzados. Además, en ensayos previos de estandarización para comparar la patogenicidad de un aislamiento de *Nomuraea* utilizando diferentes instares larvales de *S. frugiperda*, se aplicó una concentración de  $1 \times 10^7$  conidios.ml<sup>-1</sup> sobre hojas de higuera, las cuales se infestaron independientemente con larvas de segundo y de cuarto instar del insecto, obteniéndose porcentajes de mortalidad del 100 y del 80%,

respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos por Bustillo y Posada (1986), quienes evaluaron la patogenicidad de un aislamiento de *Nomuraea rileyi* sobre larvas de tercer instar de *S. frugiperda*, encontrando que éstas fueron muy susceptibles al hongo, con una mortalidad de 83,7%. De otro lado, Múnera et al. (1999) determinaron que larvas de primer instar de *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) fueron más susceptibles a la patogenicidad de un aislamiento de *B. bassiana* obteniéndose el 87,5% de mortalidad, a diferencia del 27,5% de mortalidad obtenido cuando se utilizaron larvas de quinto instar del insecto.

Este comportamiento podría atribuirse a diferentes mecanismos de defensa presentes en los estadios larvales de los insectos; según Watanabe (1987) éstos pueden ser de índole cuticular cuando se lleva a cabo la penetración de los hongos, también factores en la hemolinfa contra el crecimiento del patógeno y la resistencia por parte del insecto a los metabolitos tóxicos producidos por los hongos. Por otra parte, Tanada y Kaya (1993) afirman que la composición de los aminoácidos de la superficie del integumento de las larvas, varía según el estadio larval en que se encuentren las larvas y el tiempo antes de la muda; lo anterior podría explicar, la mayor susceptibilidad del segundo instar de *S. frugiperda* a *N. rileyi* al suponer que la composición de su integumento en un momento dado, permitió la efectiva penetración y por lo tanto una mayor mortalidad que la obtenida con el cuarto instar del insecto.

De otra parte, con el fin de simular las aplicaciones en campo, las suspensiones de conidios de los diferentes aislamientos se asperjaron sobre hojas de higuera (utilizadas como alimento) y no sobre las larvas del insecto; ya que si las aspersiones se realizaban sobre las hojas y sobre los insectos, se estaría propiciando la patogenicidad de los microorganismos en los in-

sectos bajo condiciones obligadas, lo que conllevaría a obtener falsos positivos. Además, autores como Múnera et al. (1999), en ensayos realizados en laboratorio, cuando compararon dos métodos de inoculación de conidios de un aislamiento de *Beauveria bassiana* contra larvas de *Erinnyis ello*, aspersión directa sobre las larvas contra aspersión sobre el sustrato de alimentación, no encontraron diferencias significativas en los porcentajes de mortalidad.

Al cabo de los 10 días de haber hecho la aplicación, el aislamiento que ocasionó la actividad biocontroladora mayor (100%) fue el codificado como Nm-07 procedente de la finca Panorama (Puerto Gaitán, Meta), esta actividad fue seguida por la producida por el aislamiento Nm-06-4 (proveniente de Puerto Gaitán -Meta) con el 95% de mortalidad, y por los aislamientos Nm-01-6 y Nm-10 (provenientes de Villavicencio - Meta) con una mortalidad del 95%. Las actividades biocontroladoras de estos cuatro aislamientos no fueron significativamente diferentes entre sí, ni diferentes con la actividad obtenida con la cepa de referencia de *Nomuraea rileyi* Nm-004, procedente de Palmira, con la cual se obtuvo también el 100% de mortalidad (Tabla 2).

Teniendo en cuenta los criterios para la selección de aislamientos expuestos en la metodología, se seleccionaron, para el ensayo posterior, los aislamientos nativos Nm-07 y Nm-06-4 por presentar la actividad biocontroladora más alta correspondiente al 100 y 95% de mortalidad, respectivamente. Además, estos aislamientos exhibieron tiempos letales 50 y 90 bajos, correspondientes a 6,2 días y 7,9 días, respectivamente, para el aislamiento Nm-07 y de 6 días, 7 horas y 9 días, para el aislamiento Nm-06-04; en comparación con la cepa de referencia (Tabla 2), con la que los tiempos letales 50 y 90 fueron de 6,8 y 8,4 días, respectivamente.

Así mismo, estos aislamientos produjeron una esporulación polvosa en el medio de cultivo, lo que permitió la fácil recolección y manipulación de los conidios del medio, a diferencia de la cepa de referencia que, en el medio de cultivo, presentó una esporulación algodonosa (con presencia de micelio) lo que dificultó la recolección de los conidios.

**Determinación de las concentraciones y dosis letales de los aislamientos seleccionados.** Para la determinación de las concentraciones letales de los aislamientos seleccionados, se evaluaron cinco concentraciones:  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^7$  conidios.ml<sup>-1</sup>. Las lecturas de los tratamientos se realizaron diariamente hasta los 15 días después de aplicación.

El análisis estadístico Probit determinó para el aislamiento Nm-07 una concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de  $9,8 \times 10^3$  conidios.ml<sup>-1</sup> y una concentración letal noventa (CL<sub>90</sub>) de  $2,2 \times 10^5$  conidios.ml<sup>-1</sup>.

Para el aislamiento Nm 06-04, el análisis Probit determinó una  $CL_{50}$  de  $1,3 \times 10^4$  conidios.ml<sup>-1</sup> y una  $CL_{90}$  de  $7,9 \times 10^5$  conidios.ml<sup>-1</sup>, valores que fueron ligeramente mayores a los obtenidos con el aislamiento Nm-07 (Tabla 3). Teniendo en cuenta que el aislamiento nativo Nm-07 fue el que obtuvo una menor  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ , se seleccionó para determinarle la dosis letal media y la dosis letal noventa ( $DL_{50}$  y  $DL_{90}$ ).

Los valores de  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ , obtenidos en este estudio, sugieren que la cepa seleccionada es virulenta y altamente promisorio para el control de larvas de *S. frugiperda* en campo, si se comparan estos resultados con los de autores como Vimala (1994) y Gonzáles *et al.* (1996), quienes mencionaron que aislamientos de *N. rileyi* evaluados sobre larvas de segundo ínstar de *S. littura*, tuvieron un rango de  $CL_{50}$  que varió entre  $9,3 \times 10^6$  y  $1 \times 10^8$  conidios.ml<sup>-1</sup>.

Al determinarse la  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$ , se observó que los porcentajes de mortalidad menores se obtuvieron cuando se aplicaron las dosis de cinco y cincuenta conidios sobre cada larva, con estas dosis letales sólo hasta el noveno día se presentó mortalidad en las larvas, la cual fue de 2,5 y 20% respectivamente; y se incrementaron hasta obtenerse el 22,5 y el 50% de mortalidad respectivamente, al cabo de los quince días de realizado el ensayo.

De otra parte, los porcentajes de mortalidad mayores se obtuvieron cuando se aplicaron las dosis de 500, 5.000 y 50.000 conidios/larva. Con estas tres dosis a partir del quinto día se obtuvo el 5% de mortalidad, y se incrementó en un 22,5, 32,5 y 60%, respectivamente, al cabo de los siete días post aplicación. A los quince días de realizado el ensayo, se obtuvo una mortalidad acumulada del 85% con la dosis de 500 conidios/larva; de 92,5% de mortalidad con la dosis de 5.000 conidios/larva y de 95% de mortalidad con la dosis de 50.000 conidios/larva. Estos resultados demuestran que con las dosis más altas de 5.000 y 50.000 conidios/larva se obtuvo una mortalidad similar en larvas del insecto correspondientes al 92,5 y 95%, respectivamente (Fig. 1).

En la determinación de las dosis letales cincuenta y noventa del aislamiento Nm-07 de *N. rileyi*, se estableció una  $DL_{50}$  de 44 conidios/larva necesarios para matar el 50% de la población y una  $DL_{90}$  de 3.380 conidios/larva necesarios para matar el 90% de las larvas utilizadas. Estos resultados indicarían que para controlar la población de la plaga en campo se necesitaría aplicar concentraciones bajas del hongo; lo que significaría un ahorro de tiempo y dinero en las etapas de producción masiva y formulación, necesarias para el desarrollo de un bioplaguicida.

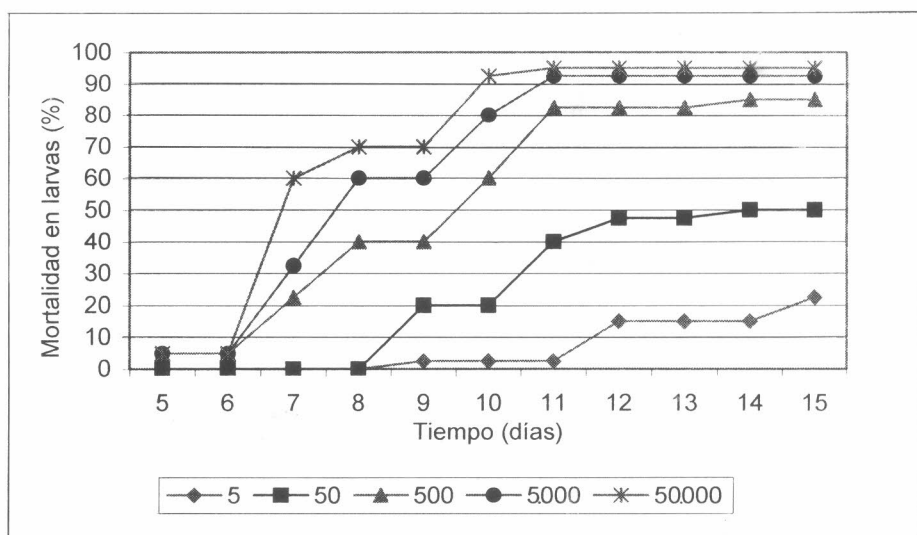
### Conclusiones

- Las mayores actividades biocontroladoras se obtuvieron con cuatro aislamientos

**Tabla 2.** Actividad biocontroladora de los aislamientos nativos de *N. rileyi* sobre *S. frugiperda*

Aislamiento	Germinación de conidios (%) (24 horas)	TL50 (días, horas)	TL90 (días, horas)	Mortalidad acumulada corregida (%)
Nm-01-6	94,623	6d 7h	8d 9h	94,73 a
Nm-04-2	71,493	7d	—	75,00 b
Nm-04-3	70,539	7d	—	73,00 b
Nm-04-11	71,296	6d 8h	—	80,00 b
Nm-06-4	97,770	6d 7h	9d	95,00 a
Nm-2P	75,471	5d 8h	—	80,00 b
Nm-5P	62,836	6d 8h	—	80,00 b
Nm-07	85,747	6d 2h	7d 9h	100,00 a
Nm-9P	87,058	5d 7h	8d 1h	90,00 a
Nm-10	68,310	6d 6h	10d 2h	94,73 a
Nm 004 (Palmira) (Cepa de referencia)	81,311	6d 8h	8d 4h	100,00 a

(\*)Letras iguales no presentan diferencias significativas a un nivel de significancia 0,05 (Prueba de Tukey). d=días, h=horas.



**Figura 1.** Determinación de la dosis letal del aislamiento Nm-07 de *N. rileyi* contra larvas de *S. frugiperda*. Dosis en conidios/larva.

**Tabla 3.** Comparación de las concentraciones letales para los aislamientos de *N. rileyi* seleccionados sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* (Análisis Probit, significancia del 0,90%)

Concentraciones letales	Aislamiento Nm07	Aislamiento Nm-06-04
<b>CL10</b>	$4,35 \times 10^2$ conidios.ml <sup>-1</sup>	$2,2 \times 10^3$ conidios.ml <sup>-1</sup>
<b>CL50</b>	$9,8 \times 10^3$ conidios.ml <sup>-1</sup>	$1,2 \times 10^4$ conidios.ml <sup>-1</sup>
<b>CL90</b>	$2,2 \times 10^5$ conidios.ml <sup>-1</sup>	$7,9 \times 10^5$ conidios.ml <sup>-1</sup>

tos de *N. rileyi* (Nm 01-06, Nm-10, Nm 06-04 y Nm-07) ocasionando mortalidades entre 94,73 y 100%.

- Con el aislamiento Nm-07 se obtuvieron los menores valores de concentración y dosis letal
- Teniendo en cuenta su virulencia alta y la mortalidad causada bajo condiciones de laboratorio sobre larvas de *S. frugiperda*, el aislamiento Nm-07 de *N. rileyi* fue seleccionado como el más promisorio para hacer estudios de formulación y la posterior evaluación bajo condiciones de campo.

### Literatura citada

- BUSTILLO, A.; POSADA, F. 1986. Patogenicidad de un aislamiento de *Nomuraea rileyi* sobre larvas del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*. Revista Colombiana de Entomología 12 (1): 5-15.
- CIBA GEYGI. 1973. Manual de ensayos de campo. 215 p.
- GARCÍA, F.; MOSQUERA, M.; VARGAS, C.; ROJAS, L. 2002. Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del maíz

- y otros cultivos en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 28 (1): 53-60.
- GONZÁLES, H.; CARBALLO, M.; BLANCO, H. 1996. Efecto de cepas de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill sobre la mortalidad de *Ecdytopha torticornis* (Meyrick) (Lep: Tortricidae) en macadamia. [http://www.catie\\_ac.cv/-cicmip/rev40hgonz40](http://www.catie.ac.cv/-cicmip/rev40hgonz40).
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. 1996. Anuario estadístico del sector agropecuario y pesquero. Oficina de información y Estadística. Bogotá. 206 p.
- MÚNERA, D.; DE LOS RÍOS J.; BELLOTTI, A. 1999. Patogenicidad sobre *Erinnys ello* (Lepidoptera: Sphingidae) en condiciones de laboratorio por hongos entomopatógenos recolectados en cultivos comerciales de yuca, *Manihot esculenta* en el Valle del Cauca, Colombia. Revista Colombiana de Entomología 25 (3-4): 161-167.
- TANADA, Y.; KAYA, H. 1993. Insect pathology. Academic Press INC. New York. 666 p.
- VIMALA, P. 1994. Conidia production of the entomopathogenic fungus *Nomureae rileyi* and its evaluation for control of *Spodoptera litura* (Fab.) on *Ricinus communis*. Journal of Invertebrate Pathology 63: 145-150.
- WATANABE, H. 1987. The host population. Epizootiology of insect diseases. John Wiley and Sons. USA. 555 p.

Recibido: Abr. 22/2003

Aceptado: Ago. 07/2003