

Desarrollo de una metodología de crianza en laboratorio del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) como posible hospedante de insectos biocontroladores de interés agrícola

Fecha de recepción: 28/01/2009

Fecha de aceptación: 12/04/2009

Yerlin Chacón Castro¹

Cristian Garita Rojas²

Christopher Vaglio Cedeño³

Vladimir Villalba Velásquez⁴

Palabras clave

Spodoptera frugiperda, control biológico, *Zea mays*, dietas, hospedante, crianza en condiciones controladas.

Key words

Spodoptera frugiperda, biological control, *Zea mays*, host, controled conditions raising.

Resumen

Con el fin de desarrollar una metodología de crianza en laboratorio que permita la producción masiva de organismos biocontroladores de *Spodoptera*

frugiperda, se colectó ejemplares en estado larval en cultivos de maíz de diferentes localidades de Costa Rica. Dichas larvas fueron transportadas hasta el Laboratorio de Biocontroladores del CIB-ITCR, Cartago. Al inicio del ensayo, las larvas fueron alimentadas con hojas tiernas de maíz por espacio de dos meses. Luego se evaluó la dieta artificial BIO-MIX H-89, modificada para el desarrollo de huevo hasta pupa y durante la fase de adulto, se utilizó una solución de miel de abeja al 10% (v/v) como fuente de alimento. Se aplicó un ANOVA para medir las diferencias entre cada etapa del ciclo de vida con ambas dietas y se encontró que al implementar la dieta artificial, se redujo el

1. Profesora e investigadora de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: yerlincc@gmail.com.
2. Estudiante de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: cristianjavier@gmail.com.
3. Estudiante de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: vaglio@gmail.com.
4. Estudiante de la carrera de Ingeniería en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: vvillalba@itcr.ac.cr

ciclo de vida de esta especie a $45,10 \pm 1,20$ días, y se prolongó el periodo larval a $26,80 \pm 1,41$ días. Asimismo, se identificó el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* como controlador biológico de esta especie.

Abstract

To establish a methodology to breed in laboratory the massive production of biocontrollers organisms for *Spodoptera frugiperda* (Smith), some specimens in their larval stage were collected in corn plantations in different places of Costa Rica. The larvae were brought to the Biocontrollers Lab of the CIB – ITCR, Cartago. At the arriving the larvae were feed with corn leaves during two months. After that, the artificial diet BIO-MIX H-89 modified were used to feed the insects for the develop of them since egg to pupae phase. During its adult phase butterflies were feed with honey 10% (v/v). An ANOVA was applied to measure significant differences between its life cycle applying each diet, the results show that with artificial diet the life cycle gets shorter to $(45,10 \pm 1,20)$ days and the larval state gets longer to $(26,80 \pm 1,41)$ days The entomopathogenic mushroom *Beauveria bassiana* was identified as a biological controller for this specie.

Introducción

La agricultura ha acompañado la historia del hombre desde tiempos muy remotos, tanto como elemento básico de los procesos de socialización y formación de asentamientos humanos, como para la producción de alimentos. Paralelamente al crecimiento poblacional, fueron incrementándose las necesidades alimentarias, por lo cual los sistemas agrícolas se vieron obligados a transformarse para mejorar los rendimientos de su producción. Como resultado de este proceso, existen hoy grandes extensiones de terreno dedicadas a monocultivos,

donde se aplica indiscriminadamente insumos químicos que han alterado significativamente el balance entre los elementos de la naturaleza, dañando el ambiente y la salud de los seres vivos (Contreras, 2004).

El maíz es un cultivo originario del continente americano, específicamente de México, Centroamérica y Sudamérica. Es uno de los cereales de mayor importancia, ocupando el tercer lugar en consumo después del arroz y el trigo. En América Latina constituye una de las fuentes principales de nutrición para la población del área (Llanos, 1994), pero al igual que otras muchas especies vegetales, posee un conjunto de consumidores biológicos que encuentran en esta planta los recursos indispensables para su vida, como es el caso de *Spodoptera frugiperda* (Smith), conocido comúnmente como “gusano cogollero del maíz” y señalado como una plaga severa debido a su impacto negativo sobre el rendimiento de los granos del cultivo (García y Clavijo, 1989).

El método de control comúnmente utilizado para este insecto es el uso de insecticidas sintéticos, los cuales desequilibran el ecosistema, destruyen los organismos benéficos y permiten en algunos casos que la plaga desarrolle poblaciones resistentes a los insecticidas (Valerio, 2006). Al analizar esta gama de problemas derivados del uso inadecuado y desmedido de estas sustancias químicas, se hace necesario replantear la manera de manejar los sistemas agrícolas y buscar nuevas soluciones para el control de plagas tales como el biocontrol, de manera que se restablezca el equilibrio de los ecosistemas y se cultive, coseche y consuma alimentos de alta calidad, que no pongan en riesgo la salud humana y que puedan colocarse en mercados cada vez más exigentes y preocupados por su calidad de vida.

El potencial biotecnológico de los enemigos naturales de las plagas es a veces impredecible o incierto, debido a que en

Paralelamente al crecimiento poblacional, fueron incrementándose las necesidades alimentarias, por lo cual los sistemas agrícolas se vieron obligados a transformarse para mejorar los rendimientos de su producción.

muchos casos se desconoce los ciclos biológicos (Villa, 2004), las condiciones y requerimientos alimenticios y ambientales ideales para el normal desarrollo del ciclo de vida tanto del hospedante como del biocontrolador, lo que trae como consecuencia una limitante al pensar en producciones masivas de estos agentes benéficos; de ahí la importancia de que se conozca bajo condiciones controladas estos aspectos del hospedante que le permitan al investigador determinar el potencial de su producción masiva en aquellas especies que presentan un desarrollo poblacional exitoso en el laboratorio (Navarro y Doreste, 1995).

En la mayoría de los casos, la producción del hospedante es la etapa más difícil y la que, por lo general, requiere de más tiempo de investigación, porque se debe elaborar una dieta sintética o artificial que permita un desarrollo normal de cada una de las etapas de su metamorfosis. Por tal razón, es necesario mantener colonias de investigación de tantas potenciales especies hospedantes de cada parasitoide como sea posible, con el objetivo de seleccionar aquellos en los que se logre resolver problemas relacionados con los parámetros de calidad de la cría según el objetivo que se pretenda con ella (huevos, larvas, prepupas, pupas y adultos) y los requerimientos específicos relacionados con los hábitos de control del parasitoide (Chambers, 1977).

El objetivo de este estudio fue desarrollar una metodología de crianza en laboratorio del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith), como posible hospedante de insectos biocontroladores de interés agrícola.

Materiales y métodos

Este estudio se realizó en el Invernadero de Investigación, en el Laboratorio de Biocontroladores, en el Laboratorio de Biología y en el Laboratorio de Docencia

de Cultivo de Tejidos del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) de la Escuela de Biología del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), en Cartago.

Colecta en campo

Durante los meses de junio a noviembre del 2007, en diferentes partes del país se efectuó colectas manuales de los insectos en plantaciones de maíz, específicamente sobre aquellas plantas que presentaban en las hojas apicales signos de defoliación y restos de excrementos del gusano plaga.

Crianza con dieta natural

Las larvas colectadas se transfirieron a una microjaula plástica rectangular (Figura 1A) en la que previamente se había colocado hojas tiernas de maíz que sirvieran de alimento a las larvas colectadas, pudiendo transportarlas vivas desde el campo hasta el laboratorio.

Al llegar al CIB, las larvas colectadas fueron individualizadas en microjaulas de desarrollo larval (Figura 1B) que estaban rotuladas con el código de ingreso; en ellas se introdujo pedacitos de hojas tiernas de maíz que les sirvieron de alimento y que fueron cambiadas todos los días hasta que las larvas llegaron a la etapa de pupa.

Las jaulas fueron colocadas en un estante de madera a una temperatura promedio de 19,5°C, con una humedad relativa promedio del 48% durante el día y del 67% en la noche. En la bitácora de trabajo se anotó las observaciones importantes de cada ejemplar, tales como cambio de instar, presencia de exuvia, así como el día en que cada larva pasó a la fase de pupa y la fecha de emergencia de los adultos, para determinar la duración promedio de cada etapa en días según la dieta y el sexo de los ejemplares evaluados. Estadísticamente, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una variable con el programa Statistix 7.

Una vez que las larvas de *S. frugiperda* alcanzaron la fase de pupa, se preparó las

En el pie de cría establecido se empezó a observar el deceso de individuos en estadio larval, cuyo segmento abdominal se tornaba necrótico, disminuía su tamaño y presentaba crecimiento microbiano con apariencia polvosa y algodonosa en algunos casos. Estas larvas sintomáticas fueron separadas del resto.

jaulas de apareamiento a partir de potes cilíndricos de plástico de 14,0 cm de diámetro en la base y 24,5 cm de altura. En éstas se colocó hembras y machos, y se introdujo una pequeña planta de maíz para favorecer la oviposición de las hembras sobre las hojas de la planta. Después de la oviposición, se quitó la tapa de la jaula y se extrajo la planta de maíz para la revisión, conteo, identificación y colecta de las masas de huevos sin eclosionar, las cuales fueron separadas y colocadas en microjaulas de desarrollo larval. En la bitácora se anotó la fecha de cruce y el número de identificación de cada individuo, para determinar la duración del ciclo de vida según el sexo en las larvas alimentadas con dieta natural.

Crianza con dieta artificial

En una segunda etapa del Proyecto, se probó la dieta artificial BIO-MIX H-89 modificada (BIO SERV., INC. 1976) reportada por Navarro y Doreste (1995) para la cría del gusano elotero (*Heliothis zea*).

A partir de la tercera generación de larvas de *S. frugiperda* reproducidas en laboratorio, se implementó la dieta artificial colocándole a cada larva individualizada una porción de 1 cm³ del medio tres veces por semana, hasta que completara su etapa de pupa o crisálida en una microjaula de desarrollo larval (Figura 1C), para ser transferidas a una jaula más grande hasta que ocurriera la emergencia de los adultos.

Al emerger los adultos, tanto hembras como machos fueron transferidos a una jaula de copulación (Figura 1D), la cual se forró previamente por dentro con hojas de papel bond de 20 grs, blanco, para reciclaje (incluyendo la tapa), para evitar que las posturas de huevos quedaran adheridas a las paredes de la jaula, permitiendo así la manipulación de las masas de huevos. A los adultos colocados dentro de la jaula de copulación, se les dio un seguimiento diario de su comportamiento

para controlar la oviposición. Cada día la jaula fue revisada, recortándose los trozos de papel que contenían las masas de huevos, para colocarlas en bolsas plásticas transparentes. Cuando ocurrió la eclosión de las larvas del primer instar y con la ayuda de un pincel de cerdas finas, fueron transferidas a microjaulas plásticas que previamente contenían dieta artificial para reiniciar otro ciclo generacional del hospedante.

Identificación de posibles microorganismos biocontroladores

En el pie de cría establecido se empezó a observar el deceso de individuos en estadio larval, cuyo segmento abdominal se tornaba necrótico, disminuía su tamaño y presentaba crecimiento microbiano con apariencia polvosa y algodonosa en algunos casos. Estas larvas sintomáticas fueron separadas del resto.

Los microorganismos con posible actividad biocontroladora fueron aislados en la cámara de flujo laminar del CIB y colocados en placas Petri con los siguientes medios de cultivo selectivo: seis placas con V8, cuatro con PDA, dos con pulido de arroz (A), dos con un medio de zanahoria (Z), dos con el medio Jofee (J) y dos con medio DC. Las muestras aisladas fueron incubadas a temperatura ambiente y en oscuridad por 48 horas en el Laboratorio de Biocontroladores.

Bajo condiciones asépticas, se tomó cinco portaobjetos, uno por cada hongo por identificar. Se agregó dos gotas de toluidina, una en cada lado del gotero y con un asa bacteriológica previamente desinfectada, se tomó una pequeña muestra del cultivo fúngico en PDA y se colocó sobre una de las gotas de toluidina, se esparció suavemente y se le puso un cubre objetos a la muestra. Luego se flameó el asa y se efectuó el mismo procedimiento para montar la muestra del cultivo en V8. Con ayuda de un microscopio óptico en 10, 20, 40 y 100X, se caracterizó los

cuerpos fructíferos de los hongos y se los clasificó según el manual de los hongos comunes que atacan en América Latina (Finch y Finch, 1990).

Resultados y discusión

Colecta y crianza en dieta natural

Con las colectas realizadas en las diferentes zonas del país, se comenzó el establecimiento del pie de cría de *Spodoptera frugiperda* en las instalaciones del CIB. Durante la colecta en campo se observó cómo esta plaga, de acuerdo con el nivel de incidencia en el cultivo, puede causar daños leves o daños muy severos, generando pérdidas económicas significativas que obligan al agricultor a tomar medidas inmediatas de control como el uso de un insecticida sistémico o de contacto.

Inicialmente, se obtuvo una descendencia de 29 larvas a partir de los 45 ejemplares introducidos en el Laboratorio, ya que sólo estos llegaron a la etapa adulta, permitiendo así el establecimiento del pie de cría. En un estudio acerca del control

biológico de *Spodoptera frugiperda* en maíz efectuado por Pérez (2000), se reporta que a 25 °C, cada hembra pone en promedio alrededor de 944 huevos, por lo que la sobrevivencia inicial después de la colecta garantizaba la descendencia que permitiera el establecimiento del pie de cría, con baja consanguinidad interespecífica por la diversa procedencia del material colectado.

Durante esta etapa de crianza con dieta natural, se obtuvo una alta tasa de mortalidad de los individuos en estudio. En el gráfico 1 se muestra los resultados porcentuales de la mortalidad y se observa que la tasa más alta corresponde a la primera generación, de modo que fue disminuyendo a medida que avanzaban las nuevas etapas generacionales.

En la primera etapa del ensayo, la mortalidad alcanzó el 46,15%. Una de las causas de la alta mortalidad fue el canibalismo practicado por las larvas, las cuales, aún en presencia de abundante alimento, se comían unas a otras, por lo que fue imperante la necesidad de individualizarlas, con lo que se logró

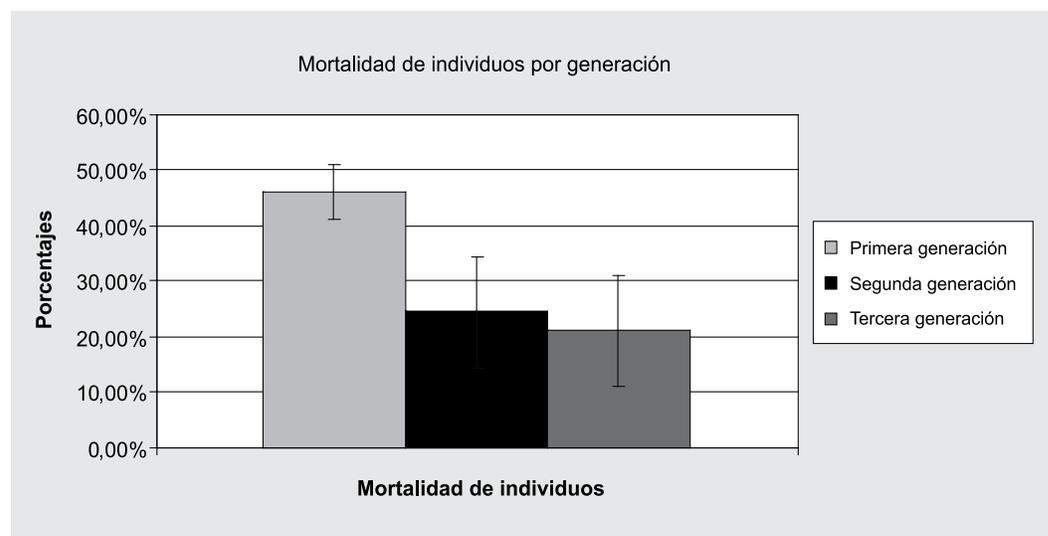


Gráfico 1. Porcentaje de mortalidad de los ejemplares de *S. frugiperda* criados en laboratorio.

reducir los índices de mortalidad en la segunda generación, reportándose un 24,53%.

La mortalidad en la tercera generación se redujo mediante la observación detallada y persistente del comportamiento de *S. frugiperda* en cada una de sus fases, lo cual sirvió de base para implementar algunas medidas como la individualización de las larvas, con lo que se descartaba la pérdida de individuos por canibalismo. En un estudio ecológico para esta especie, Álvarez (1991) reportó el canibalismo en campo, razón por la cual al eclosionar los huevos, las larvas se dispersan entre plantas vecinas.

El uso de hojas de maíz como alimento para *S. frugiperda* favoreció su baja sobrevivencia, debido a que las hojas se deshidrataban fácilmente y se dificultaba su ingesta por parte de los insectos; por tal razón, éstas tenían que ser cambiadas a diario. Según Marengo (1988) en su trabajo sobre los parasitoides de este insecto del maíz, cada larva del gusano cogollero consume 91 cm² de hojas de maíz, más 2 cm² que esclerotiza en sus estadíos iniciales, por lo que en este ensayo las plantas tiernas de maíz producidas y mantenidas en invernadero no generaban suficiente follaje como para alimentar

a la creciente población de larvas en el laboratorio.

El ciclo biológico de este insecto se encuentra altamente influenciado por condiciones ambientales como la temperatura, la humedad y el fotoperiodo. Considerando una temperatura promedio de 19,5°C en el estante en donde se colocaba las microjaulas de desarrollo larval y con la dieta a base de hojas tiernas de maíz, los huevos de esta especie tardaron entre cinco y seis días en promedio para eclosionar, el desarrollo larval fue de 21,6 días en promedio, el periodo pupal ocupó alrededor de 20,3 días y la fase de adulto, 18,4 días, por lo que el ciclo de vida promedio fue de 47,40 días (Cuadro 1).

Según Marengo (1988), la metamorfosis de este insecto está sumamente influenciada por la temperatura, la humedad y la alimentación, al utilizar hojas tiernas de maíz junto con trozos de papa y otros tubérculos, los huevos eclosionaron después de tres o cuatro días a 22°C, el desarrollo larval se completó entre los 12 y 24 días a 22°C, el período pupal duró de 15 a 31 días con una temperatura de 22°C y los adultos con movilidad parcial tuvieron una vida promedio de 21 días a 27°C. Estos resultados coinciden con los reportados en el cuadro 1, a pesar de la

La mortalidad en la tercera generación se redujo mediante la observación detallada y persistente del comportamiento de S. frugiperda en cada una de sus fases, lo cual sirvió de base para implementar algunas medidas como la individualización de las larvas, con lo que se descartaba la pérdida de individuos por canibalismo.

Cuadro 1. Duración promedio (días ± error estándar) de cada etapa del ciclo de vida del cogollero del maíz (*S. frugiperda*), alimentado con hojas tiernas de maíz y con la dieta artificial bajo condiciones ambientales (temperatura, humedad y fotoperiodo) no controladas.

Estadio	Dieta Artificial	Dieta Natural	V	P
Huevo	3,00±0,00	5,50±0,17	225 ^{NR}	0,0000 ^{NR}
Larva	26,80±1,41	21,60±1,04	27,23 ^b	0,0001 ^c
Pupa	15,3±0,73	20,3±2,19	4,71 ^a	0,0437 ^a
Total	45,10±1,20	47,40±1,60	15,27^d	0,001^e

NR: no reportado.

Letras iguales no presentaron diferencias significativas.

Letras diferentes presentaron diferencias estadísticamente significativas.

diferencia de temperatura promedio ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) bajo la cual se realizó los ensayos.

Crianza con dieta artificial

Se dio inicio al establecimiento de la población de *Spodoptera frugiperda* con la dieta artificial BIO-MIX H-89 modificada (Navarro y Doreste, 1995), para las larvas provenientes del pie de cría bajo condiciones naturales. Al aplicar la dieta artificial y con experiencia en el manejo de cada estadio del ciclo de vida de *S. frugiperda*, se logró disminuir la mortalidad a un 21,11% (Gráfico 1), ya que se registró 19 muertes durante el periodo larval, dos de ellas producto de la aparición del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

Navarro y Doreste (1995), en su investigación sobre el desarrollo de *Heliothis zea* (*Lepidoptera: Noctuidae*) sobre dietas natural y artificial, reportaron que a una temperatura de $24,8 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$, a una humedad relativa de $81 \pm 14\%$ y las larvas alimentadas bajo la dieta artificial BIO-MIX H-89 modificada, se obtuvo un porcentaje de sobrevivencia del 93%, un 10% más que al emplear una dieta natural basada en hojas tiernas de maíz (83%). Es evidente y así también se demuestra en esta evaluación, que el desarrollo óptimo de la crianza de *Spodoptera frugiperda* bajo condiciones controladas está seriamente correlacionado con el tipo de alimentación que reciben los insectos durante su desarrollo biológico y la temperatura promedio diaria bajo la cual se desarrolla el pie de cría; por lo tanto, el ciclo de vida de esta especie se acorta cuando la temperatura promedio es de 28°C y se alarga cuando ésta disminuye y ronda los 21°C . Heinrichs y colaboradores (2000) también concluyeron que el desarrollo embrionario de la especie puede tardar 6 días a 20°C y 2 días a 30°C , debido a que las bajas temperaturas favorecen la disminución de la actividad enzimática de los procesos fisiológicos de los insectos, mientras que al incrementar

la temperatura, se favorece la actividad metabólica de estos y por ende, se reduce su ciclo de vida, siempre que se encuentre bien alimentado.

Para fomentar la cría masiva de *S. frugiperda*, se elaboró una dieta artificial rica en carbohidratos y nutricionalmente superior al tratamiento basado en hojas de maíz. La primera vez que se preparó esta dieta, no se utilizó preservantes, porque el fin primordial era determinar si las larvas toleraban el cambio de dieta, lo que trajo como consecuencia la aparición de hongos saprófitos en ella. Para solventar este problema, se adicionó ácido ascórbico, formaldehído al 40%, metil-p-hidroxibenzoato y ácido sórbico como preservantes a partir de la segunda preparación del alimento, porque la vitamina C es esencial para muchos fitófagos, ya que actúa como estimulante alimenticio, en la esclerotización de la cutícula, en otras reacciones defensivas y como antioxidante (Cohen, 2004).

El uso de un agente gelificante mejora las condiciones de la dieta, al mantener un alto contenido de agua en la mezcla nutritiva semisólida en donde los insectos se alojan y alimentan, además de evitar el colapso de las galerías creadas en la dieta por los insectos, debido a la firmeza que ésta presenta, evitando que los componentes más densos precipiten o que los menos densos floten, manteniendo así las condiciones adecuadas para prevenir las reacciones que pueden darse entre los ingredientes y algunos gelificantes como proteínas, pectinas y otros carbohidratos, que son nutrientes que pueden ser utilizados por muchos investigadores (Chaudhury y Álvarez, 1999).

Con la dieta artificial se observó un crecimiento adecuado de las larvas, ya que les permitió completar su ciclo de vida hasta dejar una numerosa descendencia fértil. Al realizar un análisis de varianza, se determinó que existían diferencias significativas para el estadio larval. En

Con la dieta artificial se observó un crecimiento adecuado de las larvas, ya que les permitió completar su ciclo de vida hasta dejar una numerosa descendencia fértil.

promedio, las larvas con la dieta natural tardaron $21,60 \pm 1,04$ días, mientras que con la dieta artificial tardaron $26,80 \pm 1,41$ días (Cuadro 1). Esto resulta favorable si se desea probar el potencial controlador de algún insecto sobre *S. frugiperda*, ya que el estado larval es uno de los estadios preferidos por algunos enemigos naturales, como ciertas moscas Tachinidae o Hymenopteras, y Bracónidos, entre otros (Badii y Abreu, 2006).

Al efectuar el ANOVA, se puede afirmar que el ciclo de desarrollo completo de *S. frugiperda* es significativamente menor con la dieta artificial (45,10 días) (Cuadro 1), lo cual resulta favorable si se desea realizar otro tipo de pruebas y experimentación con posibles controladores biológicos, ya que provee un menor lapso para trabajar con estos. En un estudio sobre el gusano cogollero del maíz efectuado por Banegas (1989), se reportó que al alimentar las larvas de esta especie con una dieta artificial, la eclosión de los huevos ocurría entre dos y cuatro días con temperaturas que oscilaban entre 22 y 30°C. El estado larval pasa por un total de 6 estadios, por lo que puede variar entre 14 y 19 días a temperaturas entre 24 y 28°C, las pupas tardan alrededor de siete u ocho días si se encuentran entre 22 y 30°C, mientras que los adultos tienen una longevidad promedio de 7 días a 25°C. Se ha establecido un promedio preliminar en días de la duración de cada fase del ciclo de vida del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*), a una temperatura

promedio de 19,5°C para ambas fuentes de nutrimentos, según el sexo de los individuos estudiados (Cuadro 2).

Si bien es cierto que no se encontró diferencia significativa en el tiempo de desarrollo entre machos y hembras ($V=0,89$; $gl=1$; $p=0,3531$), es relevante el hecho de que los machos fueron más longevos al ser alimentados con la dieta natural, pero las hembras vivieron más tiempo que los machos al utilizar la dieta artificial durante el periodo larval (Cuadro 2). La importancia de este tipo de observaciones radica en que, al establecer una metodología de crianza en laboratorio para *S. frugiperda* con control del ambiente en que se desarrollan los ejemplares, dependiendo de la alimentación que se le proporcione a las larvas, bien sea natural o artificial, ello podría llegar a favorecer el predominio de un sexo o del otro, lo que permitiría controlar factores de tipo reproductivo como la oviposición de las hembras.

Identificación de posibles organismos biocontroladores

Tres semanas después de haber efectuado los primeros aislamientos, se observó que en los primeros predominaba la presencia de cinco tipos de micelio según su color (verde, blanco algodonoso, blanco lechoso, gris y gris oscuro), por lo que fue necesario subcultivar esas colonias para su posterior identificación (Figura 2).

Se dio la aparición de un díptero y algunos hongos (Figura 2) que se ha podido vincular con la muerte de algunas larvas (Figura 3) durante el proceso de esta investigación; sin embargo, en el caso del díptero no se comprobó su poder o acción controladora, debido a su inestable presencia, por lo que estos no fueron identificados a nivel de género.

El aislamiento de un hongo que colonizó varias larvas en esta investigación, implica la aparición de un organismo con actividad entomopatógena con posible

Cuadro 2. Duración promedio (días) del ciclo de vida según el sexo del cogollero del maíz (*S. frugiperda*), alimentado con hojas tiernas de maíz y con la dieta artificial bajo condiciones ambientales (temperatura, humedad y fotoperiodo) no controladas.

Alimentación				
N	Hojas de Maíz		BIO-MIX H-89 Modificada	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra
50	58,8	54,9	45,8	53,6

capacidad de combatir plagas tanto en campo como en laboratorio. En el proceso de identificación se determinó que era *Beauveria bassiana*, una especie con actividad biocontroladora conocida. En general, los hongos entomopatógenos afectan todos los estadios del insecto, principalmente adultos y estados inmaduros (ninfas, larvas), pero el estado de pupa y huevo no son afectados por la acción del entomopatógeno. La especificidad de este entomopatógeno es variada, ya que algunos de ellos son muy específicos para una sola especie de insectos, mientras que otros tienen un amplio espectro de acción, por lo que no se descarta la posibilidad de que los hongos aislados conserven su actividad biocontroladora frente a otros lepidópteros y demás grupos de insectos (Herrera, 2005).

El hongo con micelio verde correspondió al género *Penicillium* sp (Figura 4 A-B) y los cultivos que presentaron colonias fúngicas gris claro y oscuro se debían a hongos del género *Aspergillus* sp. (Figura 4 C-D); si bien es cierto *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. no poseen actividad biocontroladora, Viaud *et al.* (1998) reportaron que existe recombinación parasexual en el género *Beauveria* sp., así como en *Aspergillus* sp., que podrían conferirle algún tipo de actividad entomopatógena.

Conclusiones

Mediante el presente trabajo se logró determinar que el uso de la dieta artificial BIO-MIX H-89 modificada fue la más efectiva para criar en laboratorio al gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*, ya que se reduce significativamente el ciclo de vida completo para la especie y se amplía en cinco días el estadio larval, lo cual contribuye al aislamiento e identificación de organismos biocontroladores de interés agrícola. Además, como posibles parasitoides de los ejemplares colectados, se observó la aparición de un díptero que no fue identificado, así como la aparición de

hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*, el cual ejerció su actividad biocontroladora durante el estadio larval de *Spodoptera frugiperda*.

Se recomienda, para efectos de una investigación posterior, estudiar la viabilidad de la producción a escala de los hongos obtenidos y su eficacia en el biocontrol de organismos plaga y no sólo en *S. frugiperda*. Además, se propone optimizar el ciclo biológico de esta especie para que sea posible utilizarla como un hospedante masivo para la producción de organismos biocontroladores.

Bibliografía

- Álvarez R. 1991. Reseña histórica y aspectos bioecológicos del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Memorias Seminario *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero) en sorgo, maíz y otros cultivos. 12-14 pp.
- Badii, M. y Abreu, J. 2006. *Biological control: a sustainable way of pest control. International Journal of Good Conscience*. 1(1). 82-89 pp.
- Banegas, J. 1989. Tabla de vida del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith) en dos sistemas de cultivo y prueba de dos hipótesis. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 23-32 pp.
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo del maíz. Turrialba, Costa Rica. 88 p.
- Chambers, D. 1977. *Quality control in mass rearing. Annual Review of Entomology*. 22 (1). 289-308 pp.
- Chaudhury, M. y Álvarez, L. 1999. A new starch-grafted gelling agent for screwworm (*Diptera: Calliphoridae*) larval diet. *Journal of Entomology*. 92:1138-1141.
- Cohen, A. 2004. *Insect diet: science and technology*. Florida, Estados Unidos de América. CRC Press. 324 p.
- Contreras, J. 2004. Utilización de insectos en el control de plagas hortícolas. Feria

- de Calidad Ambiental y Ecoeficiencia 2004. Departamento de Producción Vegetal, Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, España. 131-139 pp.
- Fernández, J. L. 2002. Estimación de umbrales económicos para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (*Lepidoptera: Noctuidae*) en el cultivo del maíz. *Prod. Prot. Veg.* 17 (3). 200-202 pp.
- Finch, H. y Finch, A. 1990. Los hongos comunes que atacan cultivos en América Latina. México, D.F. Editorial Trillas. 187 p.
- García, J.L. y Clavijo, S. 1989. Efecto de la alimentación sobre la longevidad, fertilidad y fecundidad de *Spodoptera frugiperda* (Smith). *Entomología.* 5 (6). 47-53 pp.
- Heinrichs E., Foster J., Rice M. y Molina, J. 2000. Insectos plaga del maíz en Norteamérica. Universidad de Minnesota. Minnesota, Estados Unidos. 340-341 pp.
- Herrera, J. 2005. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de dos especies de mosca de la fruta (*Ceratitidis capitata* y *Anastrepha obliqua*) bajo condiciones de laboratorio. Trabajo Final de Graduación para optar por el grado de Bachiller en Ingeniería en Biotecnología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 45-50 pp.
- Kouassi, M. 2001. *Les possibilités de la lutte microbiologique emphase sur le champignon entomopathogène B. bassiana*. Consultado 27 noviembre 2007. Disponible en: www.vertigo.uqam.ca/.../mathias_de_kouassi.html. Universidad de Québec. Montreal, Canada.
- Llanos, M. 1994. El maíz: su cultivo y aprovechamiento. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 127-142 pp.
- Madrigal, A. 2001. Fundamentos del control biológico de plagas. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 453 p.
- Marenco, R. 1988. Parasitoides del gusano cogollero *S. frugiperda* (Smith) en maíz, en la zona atlántica de Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 2-9 pp.
- Navarro, R. y Doreste, E. 1995. Desarrollo de *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) sobre dieta natural y artificial. *Revista Agronomía Tropical.* 32 (1-6). 81-101 pp.
- Pérez, E. 2000. Control biológico de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en maíz. Departamento de Manejo de Plagas, INISAV. Consultado en: <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/SPODOPTTE.htm>. Visitado el 14 de abril del 2008. Playa Ciudad de la Habana, Cuba.
- Polanczyk, R. y Alves, S. 2005. Interacción entre *Bacillus thuringiensis* y otros entomopatógenos en el control biológico de *Spodoptera frugiperda*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología.* 74:1. San José, Costa Rica. 24-33 pp.
- Viaud, M., Counteaudier, Y., Riba, G. 1998. *Molecular analysis of hypervirulent somatic hybrids of the entomopathogenic fungi Beauveria bassiana and Beauveria sulfurescens.* *Applied and Environmental Microbiology.* 64 (1). 88-93 pp.
- Villa, M. 2004. Determinación de estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (*Lepidoptera: Noctuidae*) para la construcción de un modelo de predicción. *Folia Entomológica Mexicana.* 43 (1). 307-312 pp.
- Wong, H. 2003. *Molecular biology of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana: Insect-cuticle degrading enzymes and development of a new selection marker for fungal transformation.* Tesis de Doctorado. Universidad Ruperto-Carola. Heidelberg, Alemania. 147 pp.