

EVALUACIÓN DE INSECTICIDAS BIORRACIONALES y *Beauveria bassiana* (Vuill) PARA EL CONTROL DEL GUSANO DEL FRUTO DEL TOMATE

ASSESSMENT OF BIORATIONAL INSECTICIDES AND *Beauveria bassiana* (Vuill) FOR CONTROL OF THE TOMATO FRUIT BUDWORM

Cipriano **García-Gutiérrez***, A. Dagoberto **Armenta-Bojórquez**, L. Alberto **Gaxiola-Castro**,
Nadia **Vázquez-Montoya**, Monica **Acuña-Jiménez**

Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa, COFAA. Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes No. 250. 81101. Guasave, Sinaloa, México. (garciaciprian@hotmail.com; aarmenta@ipn.mx; gaxiolacastro25@gmail.com; nadiavazquez@hotmail.com; monicaacunajimenez@gmail.com)

RESUMEN

En Guasave Sinaloa se realizó una prueba experimental en tomate para evaluar la efectividad de los insecticidas biorracionales *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Versa™), Piretrinas (Abatec™) *Sterneinema carpocapsae* (Capsanem™) a dosis comerciales, y una cepa nativa de *Beauveria bassiana* (Vuill) a dosis de 2.1×10^8 esporas/ml, contra larvas del segundo ínstar del gusano del fruto *Heliothis virescens* (Fabricius). En cada tratamiento se evaluó el porcentaje de larvas muertas (LM), el promedio de frutos dañados por el insecto y el rendimiento de tomate. La bacteria *B. thuringiensis* causó 39.6% de larvas muertas, Piretrinas 32.3% y *S. carpocapsae* 23.3%, mientras que la cepa nativa de *B. bassiana* tuvo solo 16%, y el control 2.6%, a las 72 horas de haber sido aplicados. En el experimento no se encontraron diferencias estadísticas en frutos dañados entre la bacteria y piretrinas, pero si se encontraron entre la cepa de *B. bassiana*. Tampoco hubo diferencias estadísticas entre el rendimiento obtenido de tomates en los lotes tratados con bacterias, piretrinas y nematodos (Tukey; $p \leq 0.05$). Estos resultados indicaron una mayor efectividad de los insecticidas biorracionales respecto al hongo entomopatógeno para el control de larvas del segundo ínstar de *H. virescens* en cultivo de tomate tipo saladette utilizado en la industria alimenticia en Sinaloa, México.

Palabras clave: cultivo de tomate, hongos entomopatógenos, gusano del fruto de tomate.

INTRODUCCIÓN

En Sinaloa, México el tomate es el cultivo más importante, ocupando el primer lugar nacional con una producción de 983 mil toneladas

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.
Recibido: febrero, 2017. Aprobado: febrero, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en ASyD 17: 17-25. 2020.

ABSTRACT

An experimental trial was carried out on tomato in Guasave, Sinaloa, to evaluate the effectivity of biorational insecticides *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Versa™), Pyrethrins (Abatec™), *Sterneinema carpocapsae* (Capsanem™) at commercial doses, and a native strain of *Beauveria bassiana* (Vuill) at a dose of 2.1×10^8 spores/ml, against larvae of the second instar of the fruit budworm, *Heliothis virescens* (Fabricius). The percentage of dead larvae (DL), the average of fruits damaged by the insect, and the tomato yield were evaluated in each treatment. The bacteria *B. thuringiensis* caused 39.6% of dead larvae, Pyrethrins 32.3% and *S. carpocapsae* 23.3%, while the native strain of *B. bassiana* only had 16% and the control 2.6%, 72 hours after having been applied. In the experiment, no statistical differences were found between bacteria and pyrethrins in fruits damaged, but they were found between the strains of *B. bassiana*. There were also no statistical differences between the yield obtained from tomatoes in the batches treated with bacteria, pyrethrins and nematodes (Tukey; $p \leq 0.05$). These results indicated a higher effectiveness of biorational insecticides regarding the entomopathogenic fungus for control of the second instar larvae of *H. virescens* in tomato crop Type Roma used in the food industry in Sinaloa, Mexico.

Key words: Tomato crop, entomopathogenic fungi, tomato fruit budworm.

INTRODUCTION

The most important crop in Sinaloa, Mexico, is tomato, which occupies the first place nationally with a production of 983 thousand tons and an average yield of 64 t ha^{-1} , generating a production value of 3056 million pesos

y un rendimiento promedio de 64 t ha⁻¹, generando un valor en la producción de tres mil 56 millones de pesos (SIAP-SAGARPA, 2013). Sin embargo, esta producción es afectada por fitopatógenos y plagas defoliadoras, dentro de las que destaca *Heliothis virescens* (Fabricius) causando un daño directo al alimentarse del fruto del tomate, mermando así la calidad y la cantidad del producto comercial. Esta plaga se controla principalmente con insecticidas químicos. Sin embargo, las exigencias de los mercados internacionales requieren productos libres de pesticidas, lo que ha venido cambiando paulatinamente el control químico de plagas por una estrategia inocua al consumidor, bajo esquemas de agricultura orgánica (Cano, 2003).

Con relación a la línea de productos biorracionales que pueden ser útiles en este tipo de agricultura y que además sean efectivos para el control de las principales plagas que atacan al tomate, destacan diferentes formulaciones comerciales de nematodos, la bacteria *Bacillus thuringiensis*, los hongos entomopatógenos, y los insecticidas piretroides de baja toxicidad. Al respecto, Purcell *et al.* (1992) llevaron a cabo pruebas de campo para determinar la respuesta de diferentes concentraciones del nematodo *S. carpocapsae* contra *H. zea*, encontrando que las concentraciones de nematodos más eficaces fueron de 4000 y 40 000 nematodos/ml de agua, causando 57.6 y 74.5% de mortalidad de larvas, seis días después del tratamiento.

En cuanto a la evaluación de la efectividad insecticida de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, Jiménez (1995) encontró que las cepas nativas con códigos LBT-21 y LBT-24 son tóxicas para larvas de *H. virescens*, la cepa LBT-21 causó 72,3% de mortalidad de larvas en un cultivo de tabaco, después del tercer día de una aplicación a dosis comercial.

Por otro lado, Ames y Harper (1990) realizaron un bio-ensayo con una β -exotoxina de *B. thuringiensis* sobre larvas de *Heliothis zea* (Boddie) y los valores de LC₅₀ para larvas del cuarto instar fueron 4.9 a 286.2g i.a /mL de dieta, concluyendo que a mayor dosis mayor mortalidad de larvas de 3ro (19%) y 4to instar (38%), respectivamente. Se observó también que los insectos sobrevivientes a la intoxicación de β -exotoxina retardaron su paso a pupa. Por otro lado, Zenner *et al.* (2009) reportaron respuesta de *H. zea* a la toxina de Cry 1Ac de *B. thuringiensis*.

En relación al uso de hongos entomopatógenos, Cheung y Grula (1982) evaluaron la efectividad de

(SIAP-SAGARPA, 2013). However, this production is impacted by phytopathogens and defoliating pests, standing out *Heliothis virescens* (Fabricius) which causes direct damage by feeding off the tomato fruit, thus reducing the quality and quantity of the commercial product. This pest is controlled mainly with chemical insecticides. However, the demands from international markets require products that are free of pesticides, something that has gradually changed the chemical control of infestations towards a strategy that is safe for the consumer, under organic agriculture schemes (Cano, 2003).

Concerning the line of biorational products that can be used in this type of agriculture, and which are also effective for control of the main pests that attack tomato, different commercial formulations stand out, as the nematodes, bacteria *Bacillus thuringiensis*, entomopathogenic fungi, and low-toxicity pyrethrin insecticides. Regarding this, Purcell *et al.* (1992) carried out field trials to determine the response of different concentrations of the nematode *S. carpocapsae* against *H. zea*, and they found that the most efficient concentrations of nematodes were 4000 and 40000 nematodes/ml of water, causing 57.6 and 74.5% of larvae mortality, six days after the treatment.

In terms of assessing insecticide effectiveness of the bacteria *Bacillus thuringiensis*, Jiménez (1995) found that native strains with codes LBT-21 and LBT-24 are toxic for *H. virescens* larvae, the strain LBT-21 caused 72.3% of larvae mortality in tobacco crop, after the third day with one application at commercial dose.

On the other hand, Ames and Harper (1990) performed a bio-assay with β -exotoxine from *B. thuringiensis* on *Heliothis zea* (Boddie) larvae and the values of LC₅₀ for larvae of the fourth instar were 4.9 to 286.2g i.a/mL of diet, and they concluded that with a higher dose there is higher mortality of 3rd instar larvae (19%) and 4th instar larvae (38%). It was also observed that the insects that survived intoxication with β -exotoxine delayed their passage to pupae. On the other hand, Zenner *et al.* (2009) reported a response of *H. zea* to the toxin Cry 1Ac from *B. thuringiensis*.

Regarding the use of entomopathogenic fungi, Cheung and Grula (1982) assessed the effectiveness of an injection of *Beauveria bassiana* (Vuill) conidia in the hemocele of the larvae of corn cob maize

una inyección de conidios de *Beauveria bassiana* (Vuill) en el hemocele de larvas de gusano elotero del maíz *H. virescens*, encontrando una correlación positiva entre la actividad proteolítica exocelular del hongo y manifestaciones patogénicas, demostrando con esto la susceptibilidad del insecto a este hongo.

Por otro lado, Acuña *et al.* (2015) realizó una prueba en laboratorio aplicando esporas de *Metharizium anisopliae* a concentraciones de 1×10^8 esporas/mL sobre larvas neonatas del gusano del fruto del tomate *H. virescens*, encontrando una mortalidad de insectos de 100% a las 48 h. En el caso del tomate, el uso de insecticidas a base de hongos entomopatógenos nativos fue exitoso en la prueba de control del gusano del fruto a nivel de laboratorio.

Por lo anterior, nosotros consideramos que los productos biorracionales podrían ser útiles en la producción de tomate en invernadero o bajo cubierta, evitando así la contaminación con insecticidas sintéticos y obteniendo productos más limpios para la industria alimenticia en Sinaloa México, los cuales además serían una opción más de mercado como producto orgánico, con un mejor precio al comercializarlos en el mercado nacional o internacional, de aquí que el presente trabajo tuvo por objetivo: Evaluar la efectividad de insecticidas biorracionales y *Beauveria bassiana* para el control de larvas del segundo instar del gusano del fruto *H. virescens* en tomate tipo saladette.

METODOLOGIA

Se estableció la cría del gusano del fruto del tomate *H. virescens* en el laboratorio de bioinsecticidas del CIIDIR IPN Unidad Sinaloa, con la finalidad de obtener larvas del segundo instar, la cría inició con la colecta de larvas en una plantación de tomate y garbanzo en el ciclo agrícola Primavera-Verano de 2011. Se colectaron 100 larvas de cuarto y quinto instar, las cuales sirvieron como pie de cría. Las larvas fueron tomadas directamente de frutos de tomate infestados, colocándolos individualmente en recipientes de plástico de 35 mL transparentes (4.5×3.2 cm) con tapadera del No.1 para ser trasladados al laboratorio. Para la alimentación de larvas se utilizó la dieta meridica de Hernández *et al.* (1989), elaborada a base de harinas, vitaminas, minerales, un agente fungistático y medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA). La temperatura del cuarto de cría fue 28 ± 2 °C, con hu-

midad relativa del 60% y fotoperíodo de 12 h. Se encontró que el gusano del fruto del tomate, *H. virescens*, and they found a positive correlation between the proteolytic exocellular activity of the fungus and pathogenic manifestations, proving with this the susceptibility of the insect to this fungus.

On the other hand, Acuña *et al.* (2015) performed a lab test applying spores of *Metharizium anisopliae* at concentrations of 1×10^8 spores/mL on neonatal larvae of the tomato fruit budworm, *H. virescens*, and found an insect mortality of 100% after 48 h. In the case of tomato, the use of insecticides based on native entomopathogenic fungi was successful in the control trial of the fruit budworm in the laboratory.

Therefore, we consider that biorational products could be useful in tomato production in greenhouse or under cover, thus avoiding the contamination with synthetic insecticides and obtaining cleaner products for the food industry in Sinaloa, Mexico. In addition, these would be a more marketable option as organic product, with better price when trading in the national or international market. From this, the study had the following objective: to assess the effectiveness of biorational insecticides and *Beauveria bassiana* for control of second instar larvae of the fruit budworm *H. virescens* in tomato crop Type Roma.

METHODOLOGY

Breeding of the tomato fruit budworm, *H. virescens*, was established in the bioinsecticides laboratory of CIIDIR IPN Sinaloa Unit, with the aim of obtaining second instar larvae; breeding began with the collection of larvae from a tomato and chickpea plantation in the Spring-Summer agricultural cycle 2011. One hundred larvae of the fourth and fifth instar were collected, which served as broodstock. The larvae were taken directly from infested tomato fruits, placing them individually in transparent plastic containers of 35 mL (4.5×3.2 cm) with a No. 1 lid to be transported to the laboratory. The meridic diet by Hernández *et al.* (1989) was used for larvae feed, elaborated based on flours, vitamins, minerals, a fungistatic agent, and potato-dextrose-agar (PDA) medium. The temperature of the breeding room was 28 ± 2 °C, with relative humidity of 60% until obtaining pupae, adults and eggs.

medad relativa de 60% hasta obtener pupas, adultos y huevecillos.

Aislamiento nativo de una cepa de *Beauveria bassiana* (Vuill)

Se utilizó el aislamiento (código B1) de *B. bassiana* de la colección de hongos entomopatógenos del CIIDIR IPN Unidad Sinaloa. El hongo fue propagado en cajas Petri con medio de cultivo PDA. Las resiembras se colocaron en una incubadora (FELISA®) por 15 días a 27 °C para el desarrollo de los hongos. Una vez que los aislamientos presentaron crecimiento y esporulación se procedió a obtener el inóculo, para esto se realizó un raspado de esporas con un asa bacteriológica la cual fue colocada en tubos Falcon (Neptune) con 10 mL de agua destilada estéril con Tween 80, después se suspendieron empleando un Vórtex a velocidad máxima de 2 min (Acuña *et al.*, 2015).

Evaluación de la patogenicidad de los aislamientos de *B. bassiana*

Para determinar la patogenicidad del aislamiento de *B. bassiana* código B1 contra *H. virescens* se emplearon 330 larvas del segundo instar provenientes de la cría, éstas se confinaron individualmente en los recipientes de plástico de 35 mL con tapa del No. 1. Un día previo a la realización del bioensayo se puso 1 cm³ de dieta merídica para la alimentación del insecto. La inoculación de los hongos se efectuó de manera tópica con la ayuda de una micropipeta (Labmate) colocando 50 µL de la suspensión de esporas en cada larva. Para cada aislamiento se utilizó una concentración de 1 × 10⁸ esporas/mL y un control. Los insectos inoculados se pusieron en una cámara a una temperatura de 28 °C ± 2 y HR de 60%. Las lecturas de mortalidad de larvas fueron tomadas a las 24, 48 y 72 h. Las larvas de *H. virescens* que presentaron alteraciones en sus actividades normales se colocaron en cámara húmeda para facilitar el crecimiento del hongo.

Evaluación de la efectividad de insecticidas biorracionales en campo

El día 15 de Noviembre del 2011 se estableció una parcela de tomate híbrido Tisey (tipo saladette) en el campo experimental del CIIDIR IPN Unidad

Native isolate of a strain of *Beauveria bassiana* (Vuill)

The *B. bassiana* isolate (code B1) was used, from the entomopathogenic fungi collection of the CIIDIR IPN Sinaloa Unit. The fungus was propagated in Petri dishes with PDA growth medium. The subcultures were placed in an incubator (FELISA®) for 15 days at 27 °C for fungi development. Once the isolates presented growth and sporulation, the inoculum was obtained, and for this purpose spores were put using an inoculation loop and placed in Falcon tubes (Neptune) with 10 mL sterile distilled water with Tween 80, then they were suspended using a Vortex at maximum speed for 2 min (Acuña *et al.*, 2015).

Assessment of the pathogenicity of *B. bassiana* isolates

To determine the pathogenicity of the *B. bassiana* isolate code B1 against *H. virescens*, 330 larvae of the second instar from the broodstock were used, which were confined individually in the plastic lid containers No. 1 of 35 mL. One day before performing the bioassay, 1 cm³ of meridic diet was added to feed the insect. Fungi inoculation was performed topically with the help of a micropipette (Labmate®), placing 50 µL of the spore suspension on each larvae. For each isolate, a concentration of 1 × 10⁸ spores/mL and a control were used. The insects inoculated were placed in a chamber at a temperature of 28 °C ± 2 and RH of 60%. Measurements for larvae mortality were taken at 24, 48 and 72 h. The *H. virescens* larvae that presented alterations in their normal activities were placed in a humid chamber to facilitate the fungus growth.

Assessment of the effectiveness of biorational insecticides in the field

On November 15, 2011, a hybrid Tisey (Type Roma) tomato plot was established in the experimental field of CIIDIR IPN Sinaloa Unit. In the experimental lot, 4 biorational treatments and one control were applied, using a completely random block design with three repetitions. The tomato crop was established according to regional technology, the plantation was made at a distance between furrows of

Sinaloa. En el lote experimental se aplicaron 4 tratamientos biorracionales y un control, utilizando un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones. El cultivo de tomate se estableció de acuerdo a la tecnología regional, la plantación se hizo a una distancia entre surcos de 1.6 m × 10 m de largo a una distancia entre planta de 25 cm, la parcela útil consistió en un tramo de 3 m centrales del surco para eliminar el efecto de orilla, para delimitar la parcela útil se puso una jaula de madera de 3 m de largo por 1.5 m de ancho y 1 m de altura, forradas con malla anti áfidos de color blanco y se colocaron en la mitad de los tratamientos colocando una para cada repetición de cada tratamiento, a los costados del experimento se plantaron tres surcos de tomate que sirvieron como barreras. El conteo de larvas muertas se efectuó revisando cuidadosamente las plantas de tomate presentes en 2 m lineales del surco.

Infestación artificial de *H. virescens* en la parcela experimental de tomate

Para asegurar la presencia del insecto plaga en la parcela experimental se realizó la infestación con huevecillos y larvas del segundo ínstar de *H. virescens* de la décima generación filial de la cría en laboratorio. Se pusieron 150 larvas por repetición, 450 por tratamiento, las larvas fueron colocadas con un pincel de pelo de camello núm. (00) en las inflorescencias de la planta.

Aplicación de insecticidas biorracionales en parcela experimental

La aplicación de los insecticidas biorracionales y el hongo se realizó con la finalidad de evaluar su efecto sobre la infestación artificial de *H. virescens* durante la etapa de fructificación del cultivo de tomate. Los tratamientos y dosis por hectárea fueron: Capsanem® (50 mill/Ji), producto a base de nemátodos *Steinernema carpocapsae*; Versa® *Bacillus turbingiensis* (300 g); el insecticida Abatec® piretrinas *Chrysanthemum cinerariaefolium* (250 g) que por su baja toxicidad es considerado como un biorracional, *Beauveria bassiana* aislamiento B1 (1×10^8 esporas/mL); y como control se usó agua más Tween 80 al 0.1%. La aplicación de los tratamientos se llevó a cabo de manera convencional con una bomba de mochila marca Truper® con capacidad de 3.8 L.

1.6 m × 10 m length at a distance between plants of 25 cm, the useful plot consisted of a stretch of 3 m centrally in the furrow to eliminate the edge effect; a wooden box crate of 3 m length by 1.5 m width and 1 m height was placed to limit the useful plot, lined with white anti-aphid mesh and placed in the middle of the treatments, placing one for each repetition of each treatment; to the sides of the experiment three tomato furrows were planted which served as barriers. Counting dead larvae was carried out by inspecting carefully the tomato plants present in 2 m linearly of the furrow.

Artificial infestation of *H. virescens* in the experimental tomato plot

To ensure the presence of the pest insect in the experimental plot, infestation was made with eggs and larvae of the second instar of *H. virescens* from the tenth filial generation of laboratory breeding. The number of larvae placed per repetition was 150, 450 per treatment; the larvae were placed with a camel hair brush No. (00), on the plant's inflorescences.

Application of biorational insecticides in the experimental plot

The application of biorational insecticides and the fungus was carried out with the aim of assessing its effect on the artificial infestation of *H. virescens* during the fructification stage of the tomato crop. The treatments and doses per hectare were: Capsanem® (50 mill/Ji), product based on *Steinernema carpocapsae* nematodes; Versa® *Bacillus turbingiensis* (300 g); the insecticide Abatec® pyrethrins *Chrysanthemum cinerariaefolium* (250 g), which due to its low toxicity is considered as biorational, *Beauveria bassiana* isolate B1 (1×10^8 spores/mL); and as control, water plus Tween 80 at 0.1% was used. The application of treatments was made conventionally with a backpack pump brand Truper® with 3.8 L capacity.

Assessment of tomato fruit damage and production

The tomato harvest was carried out manually, collecting mature fruits only from the useful plot; for this, buckets of 20 L capacity were used where fruits from each treatment were weighed in a digital

Evaluación de daños en fruto y producción de tomate

La cosecha de tomate se realizó de forma manual, colectando frutos maduros únicamente de la parcela útil, para esto se utilizaron cubetas de 20 L de capacidad en la que se pesaron los frutos de cada tratamiento en una báscula digital marca TORREY®, también se clasificaron los frutos de tomate por el tamaño. Los resultados de producción se extrapolaron a t ha⁻¹.

Por otro lado, se contaron los frutos de tomate y después se sacó el promedio de los frutos con daño característico causado por las larvas, las cuales se observaron cómo perforaciones irregulares en el fruto.

Los datos de producción y frutos dañados obtenidos por tratamiento fueron analizados mediante un análisis de varianza y un análisis de comparación de medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 5% ($p \leq 0.05$) empleando el programa estadístico SAS (2005).

RESULTADOS Y DISCUSION

Patogenicidad de cepas de *B. bassiana* contra *H. virescens*

Se confirmó en laboratorio la patogenicidad del aislamiento nativo de *B. bassiana* sobre larvas del segundo ínstar de *H. virescens* causando 90-100% de mortalidad de larvas. Por esta razón se usó esta cepa como un tratamiento a evaluar en campo.

Evaluación de la efectividad de biorracionales y *B. bassiana* contra *H. virescens*

Con el aislamiento B1 de *B. bassiana*, a las 72 h de la inoculación de conidios sobre las larvas de *H. virescens* no se observaron larvas muertas, después presentaron signos de la infección. De esta manera se confirmó la patogenicidad de estos hongos, tal como lo encontraron Cheung y Grula (1982) para *H. virescens*, y Acuña *et al.* (2015) para este mismo insecto, pero con diferente hongo *M. anisopliae* a las 72 h después de haber infectado al insecto, en el control se observó la mínima mortalidad natural de larvas.

A las 24 h de haber realizado la aplicación de los biorracionales se observó que el tratamiento que tuvo diferencia significativa fue Versa (*B.t*) con 5.0% de

machine TORREY®; the tomato fruits were also classified by size. The results of production were extrapolated to t ha⁻¹.

On the other hand, the tomato fruits were counted and then the average of fruits with characteristic damage caused by larvae was calculated, which were observed as irregular perforations in the fruit.

The data of production and fruits damaged obtained by treatment were analyzed through a variance analysis and a means comparison analysis through the Tukey test with a significance level of 5% ($p \leq 0.05$) using the statistical software SAS (2005).

RESULTS AND DISCUSSION

Pathogenicity of *B. bassiana* strains against *H. virescens*

The pathogenicity of the native isolate of *B. bassiana* on larvae of the second instar of *H. virescens* was confirmed as causing 90-100% of larvae mortality. For this reason, this strain was used as a treatment to be assessed in the field.

Assessment of the effectivity of biorationals and *B. bassiana* against *H. virescens*

Dead larvae were observed with the isolate B1 from *B. bassiana*, 72 h after inoculation with conidia on *H. virescens* larvae, although they presented signs of infection later. Thus, the pathogenicity of these fungi was confirmed, as was found by Cheung and Grula (1982) for *H. virescens*, and Acuña *et al.* (2015) for this same insect but with a different fungus *M. anisopliae*, 72 h after having infected the insect; the minimum natural mortality of larvae was observed in the control.

At 24 h after having applied the biorationals it was observed that the treatment that had a significant difference was Versa (*B.t*) with 5.0% dead larvae, followed by Abatec (pyrethrins) with 3% and Capsanem (nematodes) with 2% of mortality. When it comes to the fungus, the larvae mortality was null, as well as with the control 0.3%. After 48 h, higher percentages of larvae mortality were observed with Versa (16.6%) followed by Capsanem (9.3%), Abatec 4.6%, and the isolate B1 4.33%, which was similar to the control (2.3%). At 72 h, the larvae mortality increased in the three treatments: Versa®

larvas muertas, seguido por Abatec (piretrinas) 3% y Capsanem (nematodos) 2% de mortalidad, respectivamente. En cuanto al hongo, la mortalidad de larvas fue nula, así como en el control 0.3%. Después de 48 h se observaron los porcentajes de mortalidad de larvas más altos con Versa (16.6%) seguido por Capsanem (9.3%), Abatec 4.6% y el aislamiento B1 4.33%, el cual fue similar al control (2.3%). A las 72 h la mortalidad de larvas se incrementó en los tres tratamientos: Versa®, 39.6%, Abatec® 32.3% y Capsanem® 23.3%, con el hongo entomopatógeno murieron 16.6% de larvas y el control tuvo 2.6% (Cuadro 1).

En este experimento la efectividad insecticida de la bacteria *B. thuringiensis* fue alta, esto concuerda con los ensayos de Jiménez (1995) quién encontró que las cepas LBT-21 y LBT-24 son tóxicas para larvas de *H. virescens*, destacando la cepa LBT-21 con 72.3% de larvas muertas en campos de tabaco, después del tercer día de una aplicación a dosis comercial, estos resultados de toxicidad de la bacteria fueron similares a los de nuestro trabajo respecto al tiempo, en nuestro ensayo se observó que a las 72 h se eliminó el 36.9% de larvas, lo cual se considera efectivo para el control del insecto. Por otro lado, Ames *et al.* (1990) observó que pupas sobrevivientes a la intoxicación por la β -exotoxina fueron deformes, en nuestro caso se observaron larvas así solo en aquellos casos de larvas del tercero y cuarto ínstar.

Respecto a la efectividad del nematodo *S. carpocapsae* contra *H. zea*. Purcell *et al.* (1992) mencionan que de 4000 a 40 000 nematodos/mL, causan mortalidades de larvas de 74.5%, a los seis días después del tratamiento, mientras que en nuestro trabajo se observó una mortalidad de larvas de 9.33% a las 48 h. Por otro lado, Cheung y Grula (1982) inyectaron conidios de *B. bassiana*, encontrando manifestaciones patogénicas, demostrando con esto la susceptibilidad del insecto a este hongo, mientras que Acuña *et al.* (2015) realizaron una aplicación de esporas de *M. anisopliae* a concentraciones de 1×10^8 esporas/mL sobre el gusano del fruto del tomate *H. virescens*, encontrando 100% de insectos muertos a las 48h, confirmado con esto la patogenicidad de larvas a este hongo.

En este trabajo la cepa de *B. bassiana* tuvo resultados de mortalidad de insectos en campo poco apreciables, esto posiblemente a que el hongo no logró esporular sobre los insectos. Por otro lado, Quesada-

Cuadro 1. Comparación de medias de la mortalidad de larvas de *H. virescens* tratadas con biorracionales en campo.

Table 1. Means comparison of the mortality of *H. virescens* larvae treated with biorationals in the field.

Tratamiento	Tiempo en horas		
	24	48	72
Abatec® (Piretrinas)	3.0 ^{ab}	4.6 ^c	32.3 ^a
Versa® (<i>B. thuringiensis</i>)	5.0 ^a	16.6 ^a	39.6 ^a
Capsanem® (Nematodos)	2.0 ^{bc}	9.3 ^b	23.3 ^b
B1 <i>B. bassiana</i>	0.0 ^c	4.3 ^c	16.6 ^c
Control	0.3 ^c	2.3 ^c	2.6 ^d

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, Tukey ($p \leq 0.05$). ♦ Different letters indicate significant differences between treatments, Tukey ($p \leq 0.05$).

39.6%, Abatec® 32.3% and Capsanem® 23.3%, with the entomopathogenic fungus 16.6% of the larvae died, and the control had 2.6% (Table 1).

In this experiment the insecticide effectiveness of the bacteria *B. thuringiensis* was high, and this agrees with the assays by Jiménez (1995) who found that strains LBT-21 and LBT-24 are toxic for *H. virescens* larvae, with the strain LBT-21 standing out with 72.3% of dead larvae in tobacco fields after the third day of application at a commercial dose; these toxicity results of the bacteria were similar to those of our study in terms of time. In our study it was found that 39.6% of the larvae were eliminated after 72 h, which was considered effective for the insect's control. On the other hand, Ames *et al.* (1990) observed that pupae which survived to the intoxication by β -exotoxin were deformed, and in our study larvae such as these were observed only in the cases of larvae of the third and fourth instar.

Regarding the effectiveness of the nematode *S. carpocapsae* against *H. zea*., Purcell *et al.* (1992) mention that 4000 to 40 000 nematodes/mL cause larvae mortality of 74.5% six days after the treatment, while in our study a larvae mortality of 9.33% was observed at 48 h. On the other hand, Cheung and Grula (1982) injected *B. bassiana* conidia and pathogenic manifestations were found, proving with this the susceptibility of the insect to this fungus; meanwhile, Acuña *et al.* (2015) carried out an application of *M. anisopliae* spores at concentration of 1×10^8 spores/mL on the tomato fruit budworm, *H. virescens*, and found 100% of dead insects at 48h,

Moraga *et al.* (2006) sostienen que la presencia de aleloquímicos como la tomatina presentes en la hoja de tomate, es conocida por sus propiedades antifúngicas que en este caso pueden retardar la infección de *Beauveria*, ya que estudios realizados por Tanada y Kaya (1993) reportan que esta sustancia inhibe el desarrollo del hongo *in vitro*.

Daños en fruto y rendimiento de tomate

En los daños en frutos de los diferentes tratamientos no hubo diferencia significativa entre el producto Versa® (1.8%), Abatec® 3.2% y Capsanem® 5.9%, este último no presentó diferencia con el aislamiento de *B. bassiana* B1 (8.5%), los porcentajes de pérdida más altos se obtuvieron en el control (13.8%).

En cuanto a la producción comercial, no hubo diferencia significativa entre los distintos tratamientos. Sin embargo, cabe señalar que en el tratamiento B1 se registró la mayor producción 12.100 t ha⁻¹.

En cuanto a la mortalidad de larvas a nivel de campo, los mejores tratamientos fueron *B.t* (Versa®), Piretrinas (Abatec®) y Nematodos (Capsanem®), los cuales tuvieron una efectividad superior al 23%. Sobre esto, Jiménez (1995) encontró que las cepas de LBT-21 y LBT elaboradas con *B. thuringiensis*, son efectivas contra larvas de *H. virescens*, eliminando al 72.3% en una parcela experimental de tabaco en campo.

Los mejores tratamientos para evitar los daños de *H. virescens* en frutos de tomate, por debajo del umbral de económico (3.25%), fueron: Versa® y Abatec®; los tratamientos que superaron este umbral fueron Capsanem® 5.9% y el hongo B1 8.5%, que fueron significativamente más eficientes que el control (Cuadro 2).

CONCLUSIONES

Los mejores insecticidas biorracionales para reducir el porcentaje de frutos dañados por *H. virescens* en tomate saladette fueron *B. thuringiensis* y Piretrinas, los Nematodos y hongos fueron menos efectivo para el control de larvas del segundo instar de desarrollo del insecto. Se recomienda aplicar los nematodos y el hongo más de una vez, para aumentar su potencial como agentes del control de este insecto plaga en cultivos de tomate saladette en Sinaloa México.

confirming with this the pathogenicity of larvae by this fungus.

In this study the *B. bassiana* strain had insect mortality results in the field that were scarcely noticeable, possibly because there was no sporulation by the fungus on the insects. On the other hand, Quesada-Moraga *et al.* (2006) maintain that the presence of allelochemicals such as tomatine present in the tomato leaf is known for its antifungal properties that in this case can delay the infection by *Beauveria*, since studies carried out by Tanada and Kaya (1993) report that this substance inhibits the development of the fungus *in vitro*.

Tomato fruit damage and yield

In fruit damage from different treatments there was no significant difference between the products Versa® 1.8% and Abatec® 3.2%; Capsanem® 5.9% presented a difference with the *B. bassiana* B1 isolate (8.5%), the highest percentages of loss were obtained in the control (13.8%).

In terms of commercial production, there was no significant difference between the different treatments. However, it should be mentioned that the highest production was found in treatment B1, of 12.100 t ha⁻¹.

Regarding the larvae mortality at the field level, the best treatments were *B.t* (Versa®), pyrethrins (Abatec®) and nematodes (Capsanem®), which had effectiveness higher than 23%. About this, Jiménez (1995) found that the strains of LBT-21 and LBT elaborated with *B. thuringiensis* are effective against *H. virescens* larvae, eliminating 72.3% in an experimental tobacco plot in the field.

The best treatments to avoid damages from *H. virescens* in tomato fruits, under the economic threshold (3.25%) were: Versa® and Abatec®; the treatments that exceeded this threshold were Capsanem® 5.9% and the fungus B1 8.5%, which were significantly more efficient than the control (Table 2).

CONCLUSIONS

The best biorational insecticides to reduce the percentage of fruits damaged by *H. virescens* in tomato Type Roma were *B. thuringiensis* and pyrethrins, while nematodes and fungi were less effective for second instar larvae control of this insect. It is recommended

Cuadro 2. Comparación de medias de frutos con daño y producción de tomate aplicando biorracionales para el control de *H. virescens*.

Table 2. Means comparison of tomato fruit damage and production applying biorationals for the control of *H. virescens*.

Tratamientos	% frutos dañados	Producción (t h ⁻¹)
Capsanem® (Nematodos)	5.9 ^{bc}	11.73 ^a
Abatec (Piretrinas)	3.2 ^c	11.25 ^a
Versa (Bt)	1.8 ^c	11.93 ^a
B 1 <i>B. bassiana</i>	8.5 ^b	12.10 ^a
Control	13.8 ^a	11.89 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). ♦ Different letters indicate significant differences between treatments according to the Tukey test ($p \leq 0.05$).

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto SIP 20140490 “Diseño y evaluación de bioinsecticidas micro y nanoencapsulados para el control de plagas del tomate en Sinaloa”.

LITERATURA CITADA

- Acuña J. M., García G. C., Rosas G. N M., López M. M., y Saíenz H. J C. 2015. Formulación de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin con polímeros biodegradables y su virulencia contra *Heliothis virescens* (Fabricius). Rev Int Contam Ambie Vol 31 (4) 219-226.
- Ames, H. D., and J. D. Harper. 1990. Bioassay of β -exotoxin of *Bacillus thuringiensis* against *Heliothis zea* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 46: 247–250.
- Cano. 2003. Producción orgánica de tomate bajo invernadero. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. México. pág. 88.
- Cheung, P. Y. K., and E. A. Grula. 1982. In vivo events associated with entomopathology of *Beauveria bassiana* for the corn

to apply the nematodes and the fungus more than once in field, to increase their potential as control agents of this pest insect of tomato crops in Sinaloa, Mexico.

—End of the English version—

-----*-----

earworm *Heliothis zea*. *Journ. of Invertebr. Pathol.* 39(3): 303-313.

Hernández, D., Ferrer F, y Linares B. 1989. Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Yaritagua Venezuela. *Agronomía Tropical* 39:45-61.

Jiménez, R. J. 1995. Lucha biológica contra el cogollero del tabaco *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) con biopreparados nacionales y comerciales a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner en Cuba. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad Central de Las Villas, Inisav, La Habana, 1995.

Purcell, M., M.W. Johnson, L.M. Lebeck, and A.H. Hara. 1992. Biological control of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) with *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) in corn used as a trap crop. *Environ Entom* 21:1441-1447.

Quesada-Moraga, E., A. Carrasco-Díaz, and C. Santiago-Álvarez. 2006. Insecticidal and antifeedant activities of proteins secreted by entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis* (Lep. Noctuidae). *J. Appl. Entomol.* 130: 442–452.

Tanada, Y. y Kaya, H. 1993. *Insect Pathology*, Academic Press. Fungal Infections San Diego, California. USA. pp: 318-366.

Sitios Web

- SIAP-SAGARPA. 2013. Producción agrícola, cultivo de tomate (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). <http://www.sagarpa.gob.mx>
- Zenner, J. Álvarez y H. Arévalo. 2009. Respuestas de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae), Procedente del Piedemonte Lianero Colombiano, a la Toxina Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis*. Source: *Southwestern Entomologist*, 35(1):85-98