

# Control biológico de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) con aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis* (Berliner)

Jorge Enrique Díaz P.<sup>1</sup>

Fecha de recepción: 17 de noviembre del 20165 / Fecha de aceptación: 26 de abril del 2017

## Resumen

Con el fin de proporcionar una metodología para evaluar la actividad insecticida de diferentes aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis* contra *Spodoptera frugiperda*, y de esta manera contribuir con alternativas para el control biológico de este insecto plaga, se realizó esta investigación. En esta se probó la actividad insecticida de diez aislamientos de *B. thuringiensis* M3001, M3003, M3004, M3007, M3008, M4001, M2006, M5002, M5004 y M28 005, comparadas con un testigo comercial HD1 (*Subsp. Kurstaki*), contra *S. frugiperda*. Se determinó inicialmente la CL50 por el método "Probit", la cual fue de 5.88 E-4 mg de i.a/ml de dieta, de la cepa HD1 con diferentes dosis (0.0; 6.8 E-2; 3.4E-2; 6.8E-3; 6.8E-4; 6.8E-5 y 6.8E-6 mg de i.a/ml de dieta) en larvas de primer instar de *S. frugiperda*. Además de las observaciones cualitativas, se midió la mortalidad a las 96 y 120 horas; posteriormente, y determinada la CL50 con la cepa HD1, se procedió a utilizar esta concentración en cada uno de los aislamientos nativos de *B. thuringiensis* para ser comparada con la CL50 del testigo comercial. Los resultados indicaron que los aislamientos nativos M3008 y M4001 presentan mayores promedios de mortalidad, los cuales fueron del 75 % y 71,65 % respectivamente, en larvas de primer instar en dieta purificada, comparada con la mortalidad de la CL50 del testigo comercial.

**Palabras claves:** *Bacillus thuringiensis*, *Spodoptera frugiperda*, Bioensayo, Control Biológico.

## *Biological control of Spodoptera frugiperda (j.e. smith) with native isolates of Bacillus thuringiensis (Berliner)*

### Abstract

This research aims to provide a methodology in order to evaluate the insecticidal activity of various native isolates of *Bacillus thuringiensis* used against *Spodoptera frugiperda* - fall armyworm, and thus contribute with alternatives which can be used to the biological control of this pest. In this research study, the insecticidal activity of ten *Bacillus thuringiensis* (B.T.) isolates (M3001, M3003, M3004, M3007, M3008, M4001, M2006, M5002, M5004 and M28 005) was tested comparing them to a commercial strain HD1 (subsp. *Kurstaki*) against *S. frugiperda*. The HD1 of the strain's LC50 was initially determined by means of the probit analysis of the strain HD1 with different doses (0.0; 6.8 E-2; 3.4E-2; 6.8E-3; 6.8E-4; 6.8E-5 6.8E-6 mg ai / ml diet) on first instar larvae of *S. frugiperda*. In addition to qualitative observations, the mortality was measured at 96 and 120 hours. The concentration LC50 was subsequently used with the strain HD1 in each native B. T. isolates to be compared with the commercial strain LC50. The results indicated that the native isolates M3008 and M4001 have higher mortality ranges, whose percentages were 75% and 71.65% respectively in first instar larvae in purified diet, in comparison with the mortality rate of the LC50 of the commercial strain.

**Keywords:** *Bacillus thuringiensis*, *Spodoptera frugiperda*, Bioassay, Biological control.

---

<sup>1</sup> Ingeniero Agrónomo de la Universidad Nacional de Colombia. Especialista en Administración de la Informática Educativa, de la UDES. Magister de Gestión de la Tecnología Educativa, de la UDES. Docente de Matemáticas en la I.E. General Santander, Bogotá D.C., Colombia. jediazp@unal.edu.co

## Introducción

El desarrollo de resistencia de los insectos-plaga a ciertos insecticidas, el incremento de las plagas en el tiempo y en el espacio, la aparición de otras nuevas, la eliminación del control biológico natural, la contaminación ambiental, los problemas de salud pública, los incrementos en los costos de producción y la disminución de la eficiencia de control, son algunas de las razones que permitirán mirar con cierta reserva este tipo de control e incrementar el interés por

todas las facetas del control biológico de plagas (Cenipalma, 1992).

Se entiende por control biológico de insectos-plaga a la manipulación de microorganismos que realiza el hombre, con el fin de mantener la población de dichos insectos por debajo de los niveles a los cuales pueda causar daño económico (Acosta y Baquero, 1984).

Según Yáñez (2007), citado por Chango (2007), es calificado como una de las plagas más

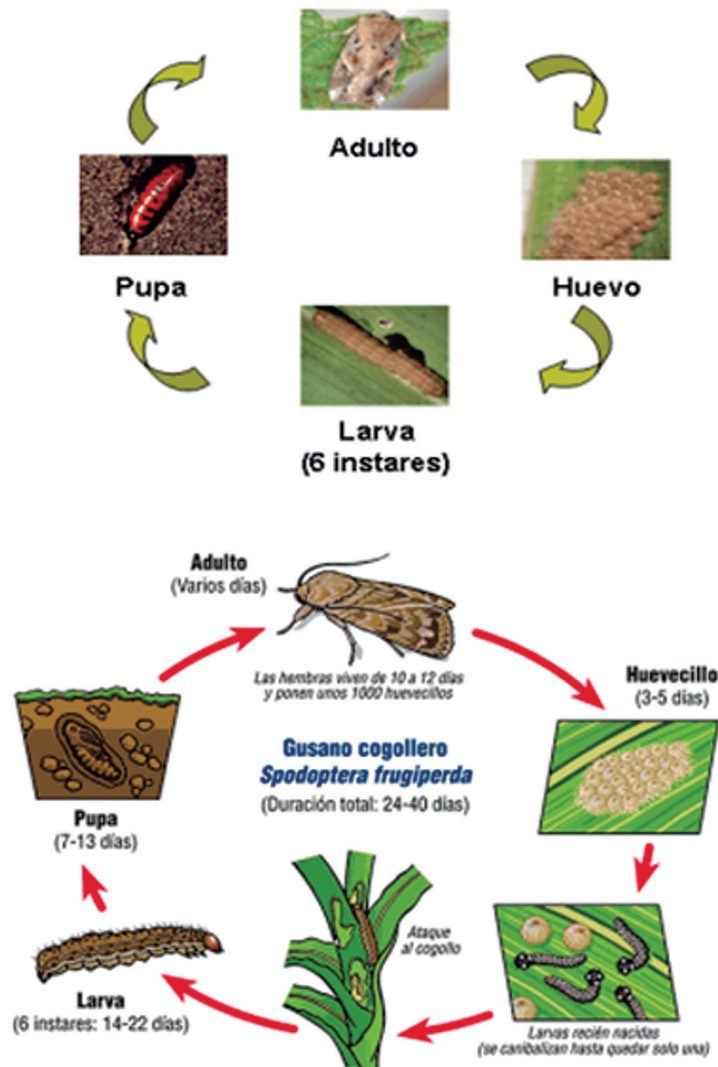


Figura 1. Ciclo biológico de la *Spodoptera frugiperdae*.  
Fuente: Ángulo, 2000.

significativas del maíz en las regiones tropicales y subtropicales del continente americano. En diversas entidades del país se han presentado pérdidas ocasionadas por este insecto, las cuales van desde 13 hasta el 60 % y los daños más serios corresponden a las zonas temporales de las regiones tropicales y subtropicales.

Su presencia es muy amplia, ocurre en todas las zonas productoras de maíz. Además de maíz, este insecto tiene una amplia gama de afectación en otras gramíneas como sorgo, arroz, pasto, algunas leguminosas como frijol, soya y cacahuate, y en cultivos hortícolas como papa, cebolla, pepino, col y camote.

El ciclo completo del insecto depende de la zona geográfica y de la temperatura, pero este

puede durar aproximadamente entre 24 y 40 días. El ciclo del insecto está dividido en cuatro instares: huevo, aproximadamente, tres días, larva entre 17-28 días, prepupa entre uno y dos días y adulto entre siete y once días.

Según Ángulo (2000), citado por Pepa (2013), "las larvas al nacer se alimentan del corion, más tarde se trasladan a diferentes partes de la planta o a las vecinas, evitando así la competencia por el alimento y el canibalismo. Su color varía según el alimento pero en general son oscuras con tres rayas pálidas estrechas y longitudinales; en el dorso se distingue una banda negruzca más ancha hacia el costado y otra parecida pero amarillenta más abajo, en la frente de la cabeza se distingue una "Y" blanca invertida".



**Figura 2.** Caracterización de larvas de *Spodoptera frugiperdae*.

Fuente: Pepa, 2013.

Según López (2008), “el daño puede manifestarse en la forma de raspado e ingestión de la epidermis superior y del mesófilo de las hojas, muy evidente cuando se presenta en plantas jóvenes, y es ocasionado por larvas pequeñas” (ver figura 3).

Otro daño diferente lo representa el corte de plantas jóvenes a nivel de la base del tallo, al ocasionar la pérdida irremediable de la planta (Clavijo, 2000) (ver figura 4).



**Figura 3.** Daños ocasionados por *Spodoptera frugiperda*.

Fuente: Peralta, 2014.



**Figura 4.** Daño severo sobre tallos de maíz.

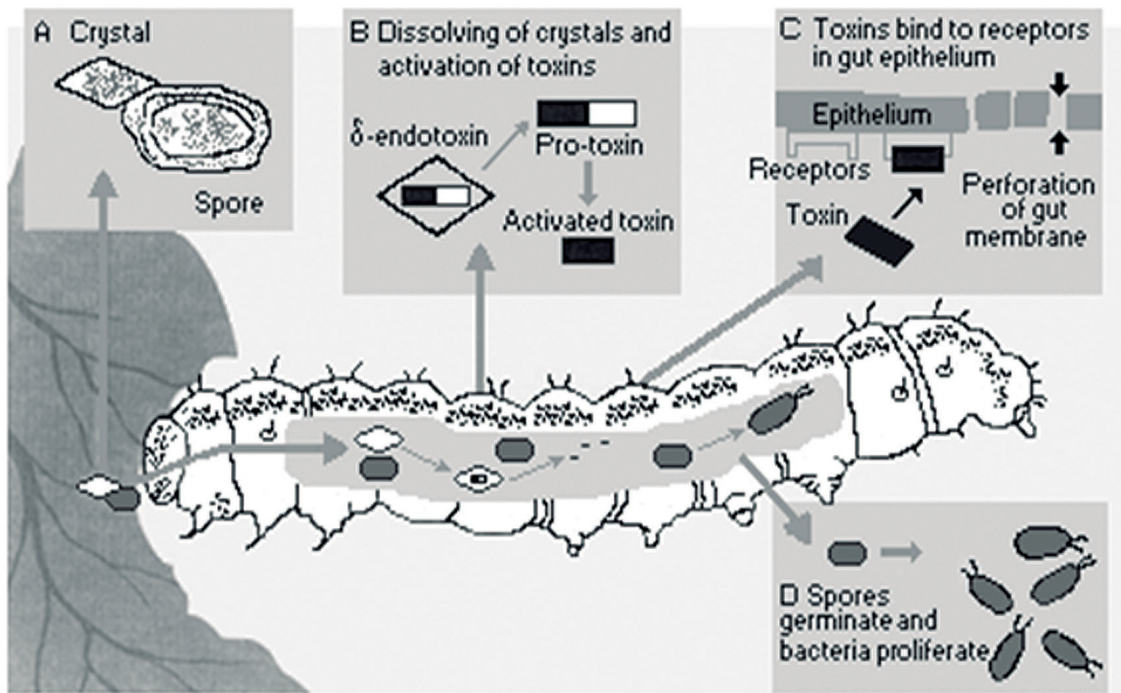
Fuente: López, 2015.

Según Soberón y Bravo (2016), "*Bacillus thuringiensis* (Bt) es una bacteria Gram positiva y aerobia estricta durante su ciclo de vida. Esta presenta dos fases principales, la fase de crecimiento vegetativo y la de esporulación, la cual es un programa de diferenciación de bacteria a espora".

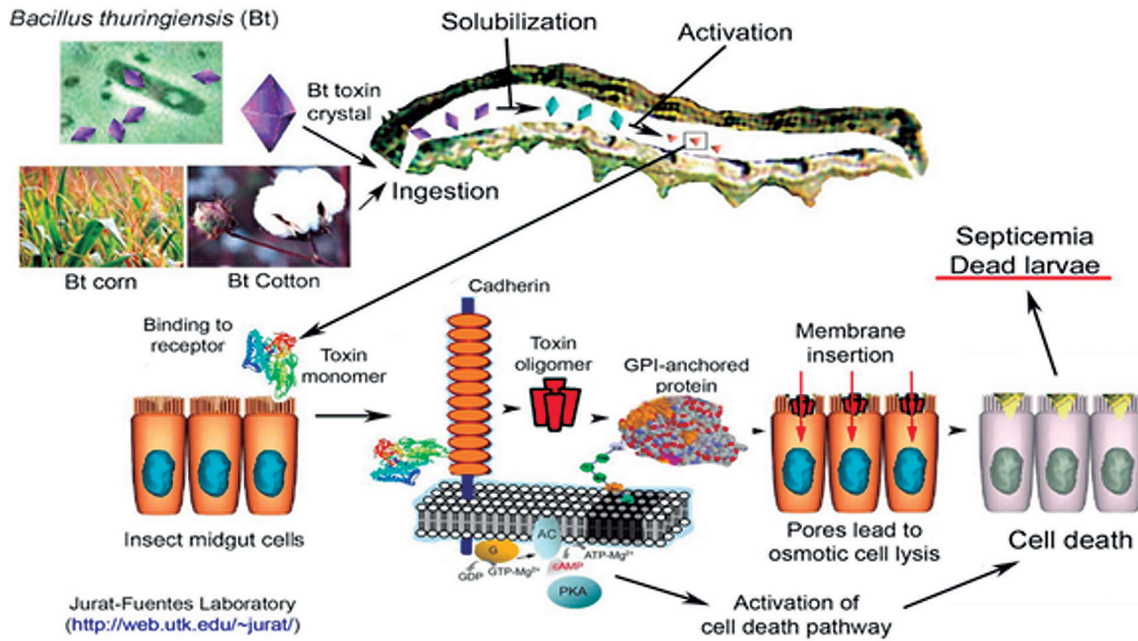
De acuerdo a Sauka y Benintende (2008), "*Bacillus thuringiensis* es el insecticida biológico más aplicado en el mundo y se utiliza para

controlar diversos insectos que afectan la agricultura, la actividad forestal y que transmiten patógenos humanos y animales".

Esta bacteria al esporular produce simultáneamente una toxina. Los insectos al consumir las esporas y una vez dentro la toxina se activa, debido al pH alcalino del tubo digestivo del insecto, y posteriormente se presenta la muerte del mismo (Sánchez, 2008) (ver figuras 5 y 6).



**Figura 5.** Mecanismo de toxicidad de Bt.  
Fuente: Sánchez, 2008.



**Figura 6.** Modo de acción propuesto para las toxinas Cry en lepidópteros.  
Fuente: Jurat-Fuentes Laboratory, 2008.

## Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en las instalaciones del insectario del Instituto de Biotecnología y en el laboratorio de control biológico de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. La temperatura promedio interna del laboratorio fue de  $27 \pm 5$  °C, humedad relativa de  $75 \pm 5\%$  y un fotoperiodo de 12:12 (luz-oscuridad). La cepa y los aislamientos de *Bacillus thuringiensis* fueron cultivados y fermentados en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia.

### Cepas

Para la investigación se consideraron una cepa comercial (HD1), 10 aislamientos nativos de un organismo patógeno y uno de su hospedero, los cuales presentaron las siguientes características:

### Cepa entomológica

Se recolectó una raza de *Spodoptera frugiperda* en un cultivo de sorgo de la zona de El Espinal (Tolima), para ello se procedió a la recolección de larvas de todos los instares, en campo.

Así, se realizó la cría masiva de *Spodoptera frugiperda*, y posteriormente las larvas de primer instar fueron llevadas a copas plásticas con 1,35 ml de dieta y su respectiva dosis de *Bacillus thuringiensis*.

### Cepas bacterianas

Estas fueron seleccionadas por el Instituto de Biotecnología, de acuerdo a la concentración de proteína que produjeron y su posible espectro de acción, comparada con la cepa comercial HD1. La caracterización de cada uno de los aislamientos nativos se puede observar en las tablas 1 y 2.

**Tabla 1.** Hoja de vida de los aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis*.

Cepa	Localización	Altura msnm	HR (%)	Precipitación promedio (mm)	Tipo de suelo
M2006	Funza (Cundinamarca)	2.550	82	780	Ar
M3001	Funza (Cundinamarca)	2.550	82	780	L
M3003	Funza (Cundinamarca)	2.550	82	780	L
M3004	Funza (Cundinamarca)	2.550	82	780	L
M3007	Funza (Cundinamarca)	2.550	82	780	L
M3008	Funza (Cundinamarca)	2.550	82	780	L
M4001	Funza (Cundinamarca)	2.550	82	780	Ar
M5002	Tunja (Boyacá)	2.985	74	820	Ar
M5004	Tunja (Boyacá)	2.985	74	820	Ar
M28005	Silvania (Cundinamarca)	1.750	77	2125	FA

**Ar:** Arcilloso **L:** Limoso **FA:** Franco-Arcilloso

Fuente: propia del autor.

## Medio de cultivo de las bacterias

De producción: para la fermentación de las cepas de *Bacillus thuringiensis* se utilizó caldo nutritivo (HCO); este proceso se llevó a cabo a 29 °C y 200 rpm.

## Obtención del ingrediente activo (espora y cristal)

Después de la fermentación, se determinó la cantidad de ingrediente activo por la técnica de LOWRY, centrifugando a 4.000 rpm durante 15 minutos a 4 °C en un equipo Survall RC-3B.

**Tabla 2.** Características del cristal, bacilo, prueba de electroforesis, inmunodetección (Elisa) de cada uno de los aislamientos de Bt evaluados.

Muestra	Cristal	Bacilo	Electroforesis	Elisa
M2006	Rómbico	Encadenados alargados	130-70	Cry I
M3001	Rómbico y esférico	Encadenados alargados	130-70	Cry I
M3003	Rómbico y esférico	Encadenados alargados	130-70	Cry I
M3004	Rómbico y esférico	Encadenados alargados	130-70	Cry I
M3007	Rómbico y esférico	Encadenados alargados	130-70	Cry I
M3008	Rómbico y bipiramidal	Grandes encadenados	130-70	Cry I
M4001	Rómbico	Encadenados delgados	130-70	Cry I
M5002	Rómbico	Encadenados delgados	130-70	Cry I
M5004	Rómbico y bipiramidal	Encadenados delgados	130-70	Cry I
M28005	Rómbico	Encadenados	130-70	Cry I

Fuente: propia del autor.

**Tabla 3.** Tratamientos con *Bacillus thuringiensis* realizados bajo condiciones de laboratorio sobre larvas de primer instar de *S. frugiperda* para determinar la CL50.

Tratamiento	Dosis (mg/ml de Bt)
T0	0.0
T1	6.8E <sup>-2</sup>
T2	3.4 E <sup>-2</sup>
T3	6.8 E <sup>-3</sup>
T4	6.8 E <sup>-4</sup>
T5	6.8 E <sup>-5</sup>
T6	6.8 E <sup>-6</sup>

Fuente: propia del autor.



## Determinación de rangos de mortalidad para el testigo comercial HD1

Con el fin de establecer parámetros de evaluación y comparación con aislamientos a ensayar, como cantidad de dosis a usar, metodología para realizar la lectura de mortandad y otros, se procedió a determinar estos parámetros con la cepa comercial en una dieta purificada (ver tabla 3).

## Determinación de la actividad insecticida de los 10 aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis* con relación al estándar HD1

Después de obtener la CL50 de la cepa comercial HD1, se utilizó esta concentración expresada en i.a. para cada uno de los 10 aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis* (ver tabla 4).

**Tabla 4.** Aislamientos de *Bacillus thuringiensis* evaluados.

Tratamiento	Aislamiento
T1	M3001
T2	M3003
T3	M3004
T4	M3007
T5	M3008
T6	M2006
T7	M4001
T8	M5002
T9	M5004
T10	M28005
T11	HD1

Fuente: propia del autor.

Para cada aislamiento a probar, se suspendió en el agua que se agrega a la licuadora en el momento de preparar la dieta, luego de licuada la dieta se vertieron 2 ml por vaso plástico; posteriormente, cuando se gelificó se colocó una larva de primer instar por copa y se utilizó un pincel; por cada aislamiento se utilizó una dosis con tres unidades experimentales, cada una de ellas con 20 larvas colocadas individualmente para un total de 60 larvas por aislamiento, incluyendo al testigo absoluto. En total se utilizaron 780 larvas de primer instar para el segundo ensayo.

## Prueba de efectividad

Estas se realizaron con el fin de determinar si la muerte del insecto fue causada por la bacteria o por un factor externo a esta, como manipulación, inapetencia u otros organismos.

Para esta se colectaron larvas muertas en las diferentes dosis y aislamientos, se les agregó agua y con la ayuda de un vortex se hizo una suspensión homogénea, de la cual se sacó parte para realizar un cultivo en agar nutritivo y comprobar que efectivamente la bacteria fue ingerida por el insecto; de la otra parte se tomó una gota para montarla en una lámina porta-objeto y hacer observaciones al microscopio, para distinguir fauna bacteriana externa de células de *Bacillus thuringiensis* (Arango *et al.*, 1993).

Al considerar el resultado anterior, se procedió al análisis de regresión "Método Probit" para el instar estudiado, al utilizar los datos de mortalidad originales.

La salida del análisis de regresión "Método Probit", mediante el paquete estadístico SAS, en los cuales se indica el intercepto y su pendiente, da como ecuación la siguiente:

$$Y = 7,032 + 0,629$$

## Cálculo matemático de la concentración letal media

Con base en la ecuación de regresión "Probit", se hace  $Y = 5$  (valor Probit correspondiente al 50 % de la variable dependiente de mortalidad) y se obtiene el valor de  $X$  (variable independiente), a este valor se le halla el antilogaritmo y se logra el valor real de la CL50, expresada en miligramos de ingrediente activo por mililitro de dieta purificada.

$$Y = 7,032 + 0,629X$$

$$Y = 5$$

$$X = 5 - 7,032 / 0,629$$

$$X = -3,230$$

Ahora antilogaritmo de -3,230

Se obtiene: CL50 =  $5,88 \text{ E}^{-4}$  (mg/ml de dieta)

El análisis de la concentración letal media, el límite de confianza y los pendientes de la línea de regresión para condiciones de laboratorio no mostró diferencias significativas entre las replicaciones del bioensayo, por presentarse en

todos los casos sobrexposición de los límites de confianza del 95 % (Tabashnik, 1990).

## Comparación de la mortalidad observada y esperada en la determinación de la CL50 de *B. thuringiensis*. En primer instar larval de *S. frugiperda*.

En la ecuación de regresión obtenida para el tiempo de evaluación de 120 horas, se sustituyeron los valores de  $X$  por el logaritmo de las concentraciones que se usaron en el experimento. Posteriormente, se determinó el valor de  $Y$  que se presenta en la tabla 6.

La prueba de  $X^2$  de bondad de ajuste para el dato obtenido en el instar estudiado ( $X^2 = 5,91$ ) fue no significativo al compararlo con  $X^2$  tablas con K-2 grados de libertad y un nivel de significancia  $\alpha = 0,005$  igual a 9,48. Se indica que la ecuación de regresión es una representación satisfactoria de los datos del experimento, ya que no existe discrepancia entre la mortalidad observada y esperada.

**Tabla 6.** Porcentaje de mortalidad de aislamientos nativos de *Bt.* en dieta purificada, en larvas de primer instar de *S. frugiperda* a las 120 horas.

Aislamientos	Mortalidad (%)
M2006	23,30
M3001	43,30
M3003	26,5
M3004	30,0
M3007	40,0
M3008	75,0
M4001	71,65
M5002	36,65
M5004	21,65
M28005	30,0

\* Concentración:  $5,88 \text{ E}^{-4}$  mg/ml de dieta =  $3,25 \mu\text{g}/\text{cm}$

Fuente: propia del autor.

**Tabla 5.** Comparación de la mortalidad observada y esperada en la determinación de la CL50 del Bt., en larvas de primer instar de *S. frugiperda*.

log (dosis)	Y	P	n	No. Animales muertos		Discrepancia	(r-np) <sup>2</sup>
				Obs (r)	Esp (np)	(r-np)	Np(1-p)
-1.16	6.30	90	25	25.00	22.50	2.5	2.770
-1.46	6.11	87	25	21.60	21.70	-0.1	-0.003
-2.16	5.67	75	25	15.60	18.80	-3.2	2.184
-3.16	5.04	51	25	11.00	12.80	-1.8	0.518
-4.16	4.41	28	25	8.30	7.00	1.3	0.335
-5.16	3.78	11	25	3.30	2.80	0.5	0.100

$$X^2 = 5,91 \quad (4GL) P > 0,05 \quad X^2 \text{ Tab} = 9,48$$

Fuente: propia del autor.

## Diseño experimental

Para el primer ensayo de la determinación de CL50 se utilizó un diseño completamente al azar, con siete tratamientos (cada uno con 25 larvas de primer instar) y tres replicaciones. Para el segundo ensayo de la determinación de aislamientos promisorios de Bt, se arregló un diseño completamente al azar, con 11 tratamientos (cada uno con 20 larvas de primer instar) y tres replicaciones.

## Análisis estadístico

Con el dato de mortalidad obtenido a las 120 horas, en condiciones de laboratorio y previamente hecha la transformación de estas mediante la fórmula  $y = \arcseno \sqrt{X}$ , los resultados del ensayo fueron sometidos a un análisis de varianza con el procedimiento Anova del software estadístico SPSS, versión 23, con un nivel de significación del 5 % (valor alfa de 0,05).

**Tabla 7.** Anova.

Mortalidad	Suma de cuadrados	gl	F	Media cuadrática	Sig.
Entre grupos	1.527,905	6	254,651	534,767	,000
Dentro de grupos	6,667	14	,476		
Total	1.534,571	20			

Fuente: propia del autor.

La significancia (Sig) de los tratamientos es 0,00, menor al valor de alfa de 0,05, por tanto se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) de igualdad entre tratamientos y de la cual se puede concluir que los tratamientos discriminados en dosis presentan diferencias altamente significativas entre sí. El coeficiente de variación obtenido fue de 14,81 %, lo cual concuerda con lo reportado por Dulmage *et al.*, citado por Gallegos (1990), donde menciona que para validar un bioensayo, el coeficiente de variación debe ser menos o igual al 20 %.

## Discusión de resultados

Con la concentración letal media para larvas de primer instar de *Spodoptera frugiperda* con la cepa HD1 de *Bacillus thuringiensis*, la cual fue de 3,25  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , que comparado con los resultados obtenidos por (7), para tres cepas nativas de *Bacillus thuringiensis*, se estimaron valores de CL50 de 7.636, 3.867 y 3.966  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente; así se presentó un nivel menor de CL50.

Esto se puede evidenciar por lo corroborado por López-Edwards *et al.* (1999), quienes encontraron que las larvas de *Spodoptera frugiperda* tienen diferentes grados de susceptibilidad a *Bacillus thuringiensis*, relacionado con la ubicación geográfica del insecto.

Además, Hernández (1988) menciona que las larvas de *Spodoptera frugiperda* presentan una susceptibilidad diferente al *Bacillus thuringiensis*, y ello está relacionado a la especie o subespecie que se utilice en el control biológico.

Es transcendental resaltar que la susceptibilidad de una especie de lepidóptero a las toxinas de *B. thuringiensis* obedece directamente al tipo de toxinas que contenga cada cepa, ya que se conoce que existe una enorme variedad de proteínas Cry, con más de 250 diferentes genes que las codifican (Crickmore *et al.*, 1998), (Del Rincón *et al.*, 2006).

Es importante destacar que la cepa nativa (M3008) fue la más tóxica de las diez estudiadas, de modo que sería importante continuar con una identificación a nivel molecular de su contenido de genes Cry, como ya se ha realizado con anterioridad para disímiles cepas de *B. thuringiensis* por medio de la técnica del PCR (Chak *et al.*, 1994; Bravo *et al.*, 1998, citado por Del Rincón *et al.*, 2006).

Las larvas de primer instar de *Spodoptera frugiperda* se ven afectadas con el uso de toxinas de *Bacillus thuringiensis*, al afectar su desarrollo larval y el fenómeno de alimentación, producto de la intoxicación bacteriana, tal como lo registran Navon y Federici (1992), Stapel *et al.* (1998) y Flórez (2000).

## Conclusiones

Se determinó la concentración letal media para larvas de primer instar de *Spodoptera frugiperda* con la cepa HD1 de *Bacillus thuringiensis*, la cual fue de 5,88  $\text{E}^{-4}$  mg/ml de dieta.

El desarrollo de la metodología planteada es viable de realizar para insectos que se pueden criar en condiciones de laboratorio. Esta permite comparar directamente la efectividad de cepas o aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis*, a las que no se les conoce su actividad, con cepas con las que ya se les ha determinado su actividad en insectos lepidópteros.

El aislamiento nativo de mejor comportamiento en dieta purificada en larvas de primer instar de *Spodoptera frugiperda* es la M3008, seguidamente del aislamiento M4001.

En lo concerniente al tiempo de evaluación del bioensayo, se concluye que el tiempo óptimo de evaluación de los tratamientos es de 120 horas, porque en ese periodo el porcentaje de mortalidad larval se estabiliza.

## Agradecimientos

El autor de este trabajo de investigación expresa su agradecimiento a la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, por permitir el uso de los laboratorios de Entomología y cuarto climatizado. Al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, por la financiación del proyecto y por permitir el uso de los laboratorios.

A todas las demás personas que colaboraron con el desarrollo de este trabajo.

## Referencias

- Acosta, M. y Baquero, G. M. (1984). *Desarrollo del control biológico de insectos plaga del algodonero en Colombia*.
- Angulo, J. M. y Negrete Barón, F. (2000). *El gusano cogollero del maíz (Spodoptera frugiperda Smith)*. Recuperado de: [http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4870/2/20061127153058\\_1%20gusano%20cogollero%20del%20maiz.pdf](http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4870/2/20061127153058_1%20gusano%20cogollero%20del%20maiz.pdf)
- Arango, A. R. y Rodríguez, F. A. (1993). *Propuesta de una metodología para la eficiencia de tres cepas de Bacillus thuringiensis sobre Heliothis virescens*. Bogotá:
- Cenipalma. (1992). *Control microbiano de insectos*. Bogotá: Cenipalma.
- Chango, L. I. (2012). *Control de gusano cogollero (Spodoptera frugiperda) en el cultivo de maíz (Zea mays L.)*. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.
- Clavijo, S. y Pérez Greiner, G. (2000). *El Maíz en Venezuela*. Venezuela: Fundación Polar.
- Del Rincón-Castro, M. C., Méndez-Lozano, J. e Ibarra, J. E. (2006). Caracterización de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* con actividad insecticida hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae). *Folia Entomológica Mexicana*. 45 (2). México: Sociedad Mexicana de Entomología.
- Flórez, R. (2000). *Efecto de la variedad de maíz sobre el desarrollo y susceptibilidad de larvas de Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: noctuidae) A Bacillus thuringiensis*. México: Universidad de Colima.
- Gallegos, M. (1990). Implementación de la concentración mínima letal como método para cuantificar actividad de formulaciones de *Bacillus thuringiensis*. *Biota*.
- Hernández M. J. L. (1988). Evaluation de la Toxicité de *Bacillus thuringiensis* sur *Spodoptera frugiperda*. *Entomophaga*. (33). Pp. 163-171.
- Jurat-Fuentes, J. L. (2008). Jurat-Fuentes Laboratory, insect physiology and molecular pathology. Disponible en <http://web.utk.edu/~jurat/>
- López-Edwards, M., Hernández-Mendoza, J. L., Pescador-Rubio, A., Molina-Ochoa, J., Lezama-Gutiérrez, R., Hamm, J. J. & Wiseman, B. R. (1999). Biological differences between five populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) collected from corn in Mexico. *Florida Entomologist*, 82 (2). Pp. 254-262.
- López Pérez, J. T. (2008). Selección artificial para el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) con el virus SJNPV y efectividad biológica en campo en combinación con un abrillantador óptico. México: Universidad de Guadalajara.
- García, R. F., Mosquera, A., Vargas, S. C. y Rojas, L. (1999). Manejo integrado del gusano cogollero del maíz. *Boletín técnico*. Corpoica.
- Pepa, G. H. (2013). *Oruga Militar Tardía: "Un Bicho Muy Peligroso En Maíz"*. Recuperado de: <http://www.cordobatimes.com/el-campo/2013/12/04/oruga-militar-tardia-un-bicho-muy-peligroso-en-maiz/>

- Peralta, R. (2014). *Spodoptera frugiperda* [Smith] en Maíz. Recuperado de: <http://horizonteadigital.com/spodoptera-frugiperda-smith-en-maiz/>
- Navon, A., Hare, J. D. & Federici, B. A. (1993). Interactions among *Heliothis virescens* larvae, cotton condensed tannin and the CryIA(c)  $\delta$ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Chemical Ecology*. 9 (11). Pp. 2485–2499.
- Stapel, O. J., Waters, D., Ruberson, J. & Lewis, J. W. (1998). Development and Behavior of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae in Choice Tests with Food Substrates Containing Toxins of *Bacillus thuringiensis*. *Biological Control*. (11) 1. Pp. 29-37.
- Sánchez, M. (2008). Maíz transgénico y economía española. Recuperado de: <http://curiosidadesdelamicrobiologia.blogspot.com.co/2008/04/maiz-transgnico-y-economia-espaola.html>
- Sauka, D. H. y Benintende, G. B. (2008). *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. *Revista argentina de microbiología*. (40) 2.
- Soberón, M. y Bravo, A. (s.f.). *Bacillus thuringiensis* y sus toxinas insecticidas. En E. Martínez Romero & J. C. Martínez Romero (Eds.), *Microbios* (capítulo 12). México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Tabashnik, B. E., Cushing, N. L., Finson, N. & Johnson M. W. (1990). Field Development of Resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*. (83) 5. Pp. 1671-1676.