







Natural anti-UV formulation increases the survival of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium rileyi* conidia and enhances the biological control of *Spodoptera frugiperda* in corn plants

Formulación natural anti-UV aumenta la supervivencia de conidios de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium rileyi* y potencia el control biológico de *Spodoptera frugiperda* en plantas de maíz

Reinier Hernández-Campos¹, Roberto Montesinos-Matías^{2*}, Jorge A. Sánchez-González², Octavio Loera¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología, Unidad Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco, Núm. 186, Col. Leyes de Reforma 1 A Sección, Alcaldía Iztapalapa, Ciudad de México, C.P. 09310, México.

²Departamento de Control Biológico del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (DGSV-SENASICA-SADER). Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC, Col. Tepeyac C.P. 28110, Tecomán, Colima, México.

*Corresponding author

E-mail address: robertomontesinos1612@gmail.com (R. Montesinos-Matías)

Article history:

Received: 27 September 2024 / Received in revised form: 18 December 2024 / Accepted: 9 January 2025 / Published online: 20 January 2025.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2025.10.1.36>

ABSTRACT

Solar radiation (SR) decreases the effectivity of entomopathogenic fungi (EPF) propagules. The main objective was to evaluate a natural formulation (NF) based on humic acids (HA) with anti-UV effects, to improve the survival of conidia against SR, evaluating its capacity in the control (BC) of *Spodoptera frugiperda*. The strains used were *Beauveria bassiana* CHE-CNRCB 1029, *Metarhizium rileyi* CHE-CNRCB 682 and *Metarhizium rileyi* CHE-CNRCB 796. Compatibility evaluations (6.49, 9.51 and 12.39 mg/L of HA) were performed, as well as survival evaluations, anti-UV effects and pathogenicity bioassays (13.64, 20.45 and 27.27 AH mg/L). The two *M. rileyi* strains showed greater compatibility when comparing

the radial growth rate (RGR) and the survival percentage (CFU). The anti-UV effect was positive when HA suspensions were mixed with conidia from the three strains evaluated. Conidia mixed with HA maintained virulence against *S. frugiperda* (L2) larvae. Mortality by the spraying method for *B. bassiana* reached 66.66%, and 86.66% for both *M. rileyi* strains, while by the immersion method, it reached 73.33% for *B. bassiana* and between 85.71% and 87.03% for the *M. rileyi* strains, respectively. The persistence of conidia *B. bassiana* and *M. rileyi* increased under exposure to SR when mixed with an NF with anti-UV effects, maintaining its virulence against *S. frugiperda*. This finding represents an attractive alternative during the formulation of EPF.

Keywords: biological control, corn; humic acids, *Spodoptera frugiperda*

RESUMEN

La radiación solar (RS) disminuye la afectividad de los propágulos de hongos entomopatógenos (HEP). El objetivo principal fue evaluar una formulación natural (FN) basada en ácidos húmicos (AH) con efectos anti-UV, para mejorar la supervivencia de los conidios ante la RS, evaluando su capacidad en el control de *Spodoptera frugiperda*. Las cepas empleadas fueron *Beauveria bassiana* CHE-CNRCB 1029, *Metarhizium rileyi* CHE-CNRCB 682 y *Metarhizium rileyi* CHE-CNRCB 796. Se realizaron evaluaciones de compatibilidad (6.49, 9.51 y 12.39 mg/L de AH), además de evaluaciones de supervivencia, efectos anti-UV y bioensayos de patogenicidad (13.64, 20.45 y 27.27 AH mg/L). Las dos cepas de *M. rileyi* mostraron mayor compatibilidad al comparar la tasa de crecimiento radial (TCr) y el porcentaje de supervivencia (UFC). El efecto anti-UV fue positivo al mezclar las suspensiones de AH con conidios de las tres cepas evaluadas. Los conidios mezclados con AH mantuvieron su virulencia contra las larvas de *S. frugiperda* (L2). La mortalidad por el método de aspersión para *B. bassiana* alcanzó 66.66%, y del 86.66% para ambas cepas de *M. rileyi*, mientras que por el método de inmersión se alcanzó un 73.33% para *B. bassiana* y entre un 85.71% y 87.03% para las cepas de *M. rileyi*, respectivamente. Es posible incrementar la persistencia de los conidios de *B. bassiana* y *M. rileyi* bajo exposición a la RS, mediante su mezcla con una FN con efectos anti-UV, manteniendo su virulencia contra *S. frugiperda*. Este hallazgo representa una alternativa atractiva durante la formulación de HEP.

Palabras claves: ácidos húmicos; control biológico, Maíz; *Spodoptera frugiperda*

1. INTRODUCCIÓN

Para el 2050, se estima que la población mundial supere los nueve mil millones de personas lo que genera serías presiones en la demanda de alimentos (Soni *et al.*, 2023). Aunado a esta necesidad, los efectos negativos del cambio climático y los prolongados períodos de sequías, potencian las pérdidas de producción causados por plagas y enfermedades (Subedi *et al.*, 2023).

En México el maíz es de gran importancia, ya que forma parte de la dieta básica de los mexicanos. Según SENASICA (2020), el área total de tierras dedicada a la producción de maíz es de 27 496 118 ha (14% en referencia a la superficie total cultivada), de este total, solamente el 20% es cultivada bajo condiciones de riego, mientras que el 80% es utilizado en agricultura de temporal.

Además del déficit hídrico en el cultivo del maíz, las plagas y las enfermedades limitan su rendimiento (Yousaf *et al.*, 2023). El impacto del gusano cogollero puede causar pérdidas de producción entre 8,3 y 20,6 millones de toneladas por año, lo que representa del 21 al 53% de la producción (Abrahams *et al.*, 2017).

En México la incidencia del gusano cogollero ocurre en todo el territorio. Sin embargo, en la región productora de maíz conocida como “La Ciénega” (Jalisco), esta plaga afecta aproximadamente al 70% de las plantas, donde las pérdidas de producción van del 10 al 100%, sobre todo, si el cultivo presenta una altura entre 40 y 60 cm (SENASICA., 2020).

Debido a estas grandes pérdidas de las cosechas agrícolas producidas por los insectos plagas, es evidente la necesidad de buscar alternativas sostenibles para su control y disminuir las pérdidas que esta ocasiona.

El uso de microorganismos benéficos que inducen el crecimiento y la mejora en el desarrollo de los cultivos, son una excelente herramienta empleada en la producción agrícola (Zang *et al.*, 2021). Algunos de estos microorganismos son conocidos como endófitos (Avila Hernández *et al.*, 2020), los cuales habitan en el interior del tejido vegetal en algunas fases de su ciclo biológico, sin ocasionar daño aparente a su hospedero (Yan *et al.*, 2019). Cerca de 12 especies o subespecies de entomopatógenos, son utilizados como ingrediente activo en micoplaguicidas a nivel mundial (Angel-Cuapio and Loera, 2016; Jiang and Wang, 2023).

La adopción de estos micoplaguicidas comerciales basados en entomopatógenos, tiene uso limitado en campo abierto debido a la susceptibilidad a las condiciones ambientales como la radiación solar que oscila entre 320 y 400 nm (UV), la cual causa daños directos sobre el ADN, por la producción de radicales libres (Kaiser *et al.*, 2019).

Una alternativa novedosa para lograr un uso eficaz de estos microorganismos como agente de control biológico, radica principalmente en el empleo de formulaciones naturales que faciliten que estos microorganismos extiendan su supervivencia bajo la incidencia de la radiación solar (Kaiser *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2019), ya que éstos deben entrar en contacto con la plaga de manera efectiva una vez que salgan del cogollo de la planta. Dichas formulaciones deben contener coadyuvantes que proporcionen protección anti-UV.

En este trabajo se propone el empleo de sustancias húmicas (ácidos húmicos o AH) como aditivos naturales de protección anti-UV, proporcionando una mayor viabilidad a dichos microorganismos bajo la incidencia de la radiación solar, manteniendo los efectos de control biológico (Kaiser *et al.*, 2019; Jia *et al.*, 2023). Por lo anterior, el objetivo fue evaluar el potencial de una formulación natural con efectos anti-UV, para mejorar la supervivencia de los conidios de *B. bassiana* y *M. rileyi* ante la radiación solar, además de evaluar su uso en el control biológico del gusano cogollero *S. frugiperda*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención de los ácidos húmicos a partir de suelo

Los AH se obtuvieron a partir de 2 kg de un suelo regosol, de acuerdo con la metodología propuesta por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS) y Swift (1996).

2.2. Cepas utilizadas

Las cepas de hongos evaluadas fueron *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029 (número de acceso del GenBank (GB): PP860722); *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 (número de acceso del GB: PP982511) y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 (número de acceso del GB: OR227607). Estas cepas están resguardadas en la Colección de Hongos Entomopatógenos (CHE) del Departamento de Control Biológico, CNRF-DGSV-SENASICA (<https://www.gob.mx/senasica/documentos/coleccion-de-hongos-entomopatogenos>). A partir un de vial de gel de sílice (4 °C) se activaron en cajas de Petri que contenían agar Sabouraud dextrosa (SDA), medio V8 enriquecido con 5% de cutícula de chapulín (Montesinos Matías *et al.*, 2021) y se incubaron durante 14 días a 27°C, 75% de HR y fotoperiodo de 12:12 (Luz: Oscuridad).

2.3. Selección y preparación de sustancias naturales con efectos anti-UV

La selección de sustancias naturales con efectos de protección UV se basó a partir de estudios centrados en aditivos solubles en agua y, en sustancias aplicadas al cultivo del maíz, como estimulantes del crecimiento vegetal y atenuantes del estrés hídrico (Bitton *et al.*, 1972; Kaiser *et al.*, 2019).

Se prepararon suspensiones madre líquidas de AH extraídos en polvo recién preparadas para cada ensayo en una solución de Tween 80 al 0.1% (900 mg (AH) a 6.6 L de Tween 80 al 0.1%), con una ligera modificación de la relación Tween 80 al 0.1% / AH (Kaiser *et al.*, 2019). Para los ensayos donde se evaluó el Índice biológico (IB) y la tasa de crecimiento radial (TCr), los AH se aplicaron y dispersaron sobre la superficie del medio de cultivo quedando concentraciones de 6.49, 9.51 y 12.39 mg/L. Cuando se evaluó el porcentaje de viabilidad, protección anti-UV y patogenicidad, los conidios suspendidos en Tween 80 al 0.05% se mezclaron en suspensiones homogéneas de la sustancia de prueba (AH) quedando las siguientes concentraciones: 13.64, 20.45 y 27.27 mg/L.

2.4. Evaluación de la compatibilidad a través del crecimiento de los agentes de control microbiano

Se realizó una prueba inicial para calcular las tasas de crecimiento radial (mm/día) de las cepas evaluadas: *M. rileyi* CHE-CNRCB 682, *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 y *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029. Se utilizaron cajas Petri de 90 mm, las cuales contenían diferentes medios: 1) medio V8 con 5% de cutícula de chapulín y 2) SDA. Los AH se prepararon como

se menciona anteriormente, se aplicaron y dispersaron sobre la superficie del medio de cultivo quedando las siguientes concentraciones finales: 6.49, 9.51 y 12.39 mg/L. Se preparó una suspensión de conidios de 8×10^6 conidios/mL viables en Tween 80 al 0.05% de *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796, la cual se sembró en cajas Petri y se incubaron a 27 °C durante 48 h (*B. bassiana*) a 72 h (*M. rileyi*) con fotoperiodo de 12:12 (Luz: Oscuridad) para obtener micelio. A continuación, se tomaron discos de 5 mm de diámetro con micelio, se colocaron a 10 mm del borde de cada caja Petri (90 mm) con los medios de cultivos anteriormente mencionados y se incubaron en las mismas condiciones. Se realizaron mediciones cada 24 h, con un Vernier modelo 50001, Stainless Hardened. Las evaluaciones se detuvieron hasta que el crecimiento radial de alguno de las cepas se aproximó a menos de 0.5 cm del borde de la caja Petri. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado por cada tratamiento. Se realizó un análisis de regresión lineal para estimar la tasa de crecimiento (mm/d).

2.4.1. Supervivencia e índice biológico

El número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 que crecieron en placas, con y sin AH, se utilizó como medida de la compatibilidad de los hongos con el co-formulado (AH). Los conidios (1×10^4 conidios/mL) suspendidos en Tween 80 (0.05%) se mezclaron en suspensiones de la sustancia de prueba (AH) (13.64, 20.45 y 27.27 mg/L). Se sembró 100 μ L de la suspensión de conidios mezclada con AH en cada placa que contenía el medio de cultivo apropiado. Las placas de agar se incubaron a oscuridad a 27 °C, 75% de HR y fotoperiodo de 12:12 (Luz: Oscuridad). Como testigo se usó la suspensión de conidios en Tween 80 al 0.1%. Las UFC se contabilizaron a los cinco días después de la incubación (Ayala-Zermeño *et al.*, 2015). El experimento se realizó por triplicado.

Para la determinación del IB, los AH se prepararon como se mencionó anteriormente, se aplicaron y dispersaron sobre la superficie del medio de cultivo apropiado para cada cepa, quedando las siguientes concentraciones finales: 6.49, 9.51 y 12.39 mg/L. Se preparó una suspensión de 8×10^6 conidios/mL viables en Tween 80 al 0.05%, la cual se sembró en cajas Petri (100 μ L) y se incubaron a 27 °C durante 72 h (*B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796) con un fotoperiodo de 12:12 (Luz: Oscuridad) para obtener micelio. A continuación, se tomaron discos de 5 mm de diámetro con micelio y se colocaron en tres puntos equidistantes en la caja Petri (90 mm). Se incubó en las mismas condiciones indicadas anteriormente. Se determinó el porcentaje de crecimiento micelial, el rendimiento de conidios por cm^2 y su germinación.

De acuerdo con Alves *et al.*, (2007), el índice biológico (IB) se clasifica de la siguiente manera: $\text{IB} > 66$ como compatibles, $42 \leq \text{IB} \leq 66$ como moderadamente compatible e $\text{IB} < 42$ como no compatible. En este trabajo de investigación el IB se estandarizó por puntaje de compatibilidad y se calculó de acuerdo con la metodología propuesta por Alves *et al.*, (2007) (ecuación 1.1).

$$\text{IB} = [47(\text{VG}) + 43(\text{PS}) + 10(\text{G})]/100 \quad (1.1)$$

Donde: VG- porcentaje de crecimiento micelial de la colonia después de 7 días (%), PS- porcentaje de esporulación de cepas después de 7 días, G- porcentaje de germinación de conidios (%). Los valores de las variables VG y PS se determinaron en comparación con el control.

Los parámetros porcentaje de crecimiento micelial de la colonia después de 7 días (VG), área de la colonia (AC), porcentaje de esporulación de cepas después de 7 días (PS) y el porcentaje de germinación de esporas después de 20 h (G) se calcularon mediante las ecuaciones 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, respectivamente.

$$VG = [(AC \times 100)] / \text{PROM del AC} \quad (1.2)$$

Donde: AC- área de la colonia, PROM del AC- promedio del área de la colonia.

$$AC = \pi \times r^2 \quad (1.3)$$

$$PS = [(\# \text{ COND} \times 100)] / \text{PROM} \# \text{ COND C} \quad (1.4)$$

Donde: # COND- número de conidios, PROM # COND C- promedio del número de conidios del control. El número de conidios por cepa se determinó con una cámara de Neubauer (Marienfeld, Alemania) y un microscopio de contraste de fases a 40× (marca Leica, Alemania).

El porcentaje de germinación de esporas (G) después de 20 h, en comparación con el control, se determinó mediante la ecuación 1.5.

$$G = [(\%G \times 100)] / \text{PROM} \%G \text{ C} \text{-----}(1.5)$$

Donde: %G -porcentaje de germinación de conidios, PROM %G C-promedio del porcentaje de germinación de conidios del control (Alves *et al.*, 2007; Duarte *et al.*, 2016).

2.5. Protección anti-UV en placas de agar

Los daños causados en la viabilidad de los conidios cuando estos son asperjados en condiciones de campo abierto se deben principalmente a la radiación UV-B (Moore *et al.*, 1993; Kaiser *et al.*, 2019). Esta longitud de onda se emplea para evaluar la capacidad de protección anti-UV que contienen intrínsecamente algunos compuestos como los extractos vegetales, los AH entre otros. Las placas con suspensiones de conidios de *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 se prepararon como se menciona anteriormente (SDA y V8 con 5% de cutícula de chapulín). Los conidios (1×10^4 conidios/mL) suspendidos en Tween 80 al 0.05% se mezclaron con la suspensión de AH a concentraciones de 13.64, 20.45 y 27.27 mg/L; se sembraron 100 μ L por placas con el medio de cultivo correspondiente a cada tipo de cepa. Tres placas por cada tratamiento fueron expuestas al mismo tiempo, y de manera aleatoria, bajo la incidencia de la radiación UV-B directa del sol pasadas las 16:00 horas (coordenadas geográficas 18°55'38.0"N 103°53'02.08"O y 45 msnm). El experimento se estableció en horas de la tarde para simular el efecto de la radiación solar que inciden sobre los HEP; cuando se tienen en cuenta los horarios correctos de aplicación; que coinciden con las primeras horas de la mañana y últimas en la tarde. Las placas de agar se colocaron encima de unas

parrillas metálicas a un metro de la superficie del suelo con una temperatura ambiental de 32 °C. Los tiempos de exposición a la radiación solar fueron de 0, 5, 10, 20, 40, 60 y 80 minutos, respectivamente. Después de la exposición a la radiación ultravioleta, las placas de agar se incubaron a 27 °C y 75% de HR durante cinco días. El porcentaje de supervivencia de conidios irradiados con UV-B para cada tiempo de exposición se calculó a partir del conteo de UFC, como la proporción de UFC de placas irradiadas y no irradiadas, del mismo tratamiento. Los datos obtenidos fueron ajustados por el modelo de decaimiento exponencial (Miranda-Hernández *et al.*, 2014). Los datos experimentales se ajustaron al modelo de decaimiento exponencial: $S=S_0 \cdot e^{-(kt)}$

Donde:

S: viabilidad de los conidios en el tiempo t

S₀: viabilidad inicial (%)

k: tasa de descomposición específica en viabilidad (h⁻¹)

t: tiempo (h)

Este modelo permitió comparar las curvas de ajuste a través de la velocidad específica de decaimiento (k), que estima la rapidez de inactivación de los conidios por radiación UV, cuando son expuestos a cada tratamiento (diferentes concentraciones de ácidos húmicos).

2.6. Bioensayo de patogenicidad contra *S. frugiperda*

Colonia de insectos. Se estableció en el área de Insectos Entomófagos del Departamento de Control Biológico del CNRF-DGSV-SENASICA. El pie de cría provino de una parcela demostrativa ubicada en el Rancho "La ilusión", ejido Tecolapa, Tecomán, Colima (coordenadas geográficas 18°59'07.37"N 103°50'20.83"O, 93 msnm). La forma de mantenimiento de la colonia se realizó con una alimentación a base de fragmentos de hojas frescas de maíz previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1%, con una frecuencia de tres veces por semana.

Inmersión. Consistió en emplear larvas de *S. frugiperda* de segundo instar (L2) (Montecalvo *et al.*, 2022), desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% durante 2.5 min, continuando con tres lavados en agua destilada estéril. A continuación, se colocaron en papel filtro estéril para eliminar el exceso de humedad. Las larvas de *S. frugiperda* fueron inoculadas por inmersión en suspensiones de conidios (10 seg), las cuales se mezclaron con el compuesto anti-UV a concentraciones de AH 13.63, 20.45, 27.27 mg/L similares (Keiser *et al.*, 2019). La concentración empleada para mezclar las suspensiones de conidios con los compuestos protectores anti-UV fue de 1×10^7 conidios/mL (cultivados en los medios de cultivo descritos previamente). El testigo consistió en sumergir las larvas en una solución de Tween 80 al 0.05%. En seguida, se dejaron sobre un papel estéril, para eliminar el exceso de humedad. Las larvas de *S. frugiperda*, se colocaron de manera individual en recipientes de plástico de 1 oz, para evitar el canibalismo. El bioensayo se mantuvo durante doce días (fotoperiodo natural de 12 h luz y 12 de oscuridad a 27 °C y 75% HR), se alimentaron utilizándose fragmentos de hojas tiernas de maíz, previamente desinfectadas. Se emplearon 30 larvas por tratamiento. Las lecturas de sobrevivencia y mortalidad fueron registradas cada 24 h, durante los días del bioensayo (Rodríguez-Gómez *et al.*, 2009).

Aspersión. La metodología de bioensayo de patogenicidad se desarrolló según lo reportado por Montecalvo *et al.*, (2022). Las larvas de *S. frugiperda* se inocularon por el método de aspersión con 2 mL de 1×10^7 conidios/mL, mezclada con el compuesto anti-UV AH, 13.63, 20.45, 27.27 mg/L. La aspersión se realizó con una Torre de Potter (Burkard Scientific®, BS00281, Uxbridge, Reino Unido), con un nivel de precisión del 99% a escala de laboratorio, y calibrada a 15 psi equivalente a 103.425 KPa de presión. Para el testigo se asperjó una solución de Tween 80 al 0.05%. Después de la aspersión, las larvas se colocaron sobre un papel estéril. Se colocó una larva por cada recipiente de plástico (1 oz), para evitar canibalismo. Se emplearon 30 larvas por tratamiento. Estos se colocaron a 27 °C, 75% HR, con un fotoperiodo de 12 h luz y 12 de oscuridad. Se tomaron lecturas cada 24 h durante doce días. Se reportó como variables respuesta: porcentaje de sobrevivencia y porcentaje de mortalidad máxima alcanzada (Rodríguez-Gómez *et al.*, 2009).

2.7. Análisis estadístico

Los datos referentes de evaluación de compatibilidad, porcentaje de supervivencia, protección anti-UV y bioensayo de patogenicidad de los HEP, se verificaron en cuanto a la normalidad y la homogeneidad de varianza. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) unifactorial y multifactorial mediante el programa SPSS V.25, el diseño experimental fue completamente aleatorizado. Cuando se obtuvo el valor de F significativo después del ANDEVA, se realizó la prueba post-hoc de rango múltiple de Tukey para separación de medias ($P \leq 0.05$).

3. RESULTADOS

3.1. Evaluación de la compatibilidad a través de la tasa de crecimiento radial de los agentes de control microbiano

En la Fig. 1 se muestra la tasa de crecimiento radial (TCr) de las cepas de *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 en presencia de concentraciones de ácidos húmicos, 6.49, 9.51 y 12.39 mg/L. Como se puede apreciar en dos de los tres tratamientos (Fig. 1 A) causaron efecto inhibitorio en la tasa de crecimiento radial; sin embargo, la concentración intermedia de AH (9.51 mg/L) y HEP mostraron compatibilidad, sin diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo. La mejor combinación de AH para la cepa de *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029 fue 9.51 mg/L. En la Fig. 1 B se observa la tasa de crecimiento de la cepa de *M. rileyi* CHE-CNRCB 682, las concentraciones más altas fueron compatibles con los AH con respecto al tratamiento testigo, al no existir diferencias estadísticas significativas. La concentración de 6.49 mg/L de AH disminuyó 50% de la TCr, con relación al testigo.

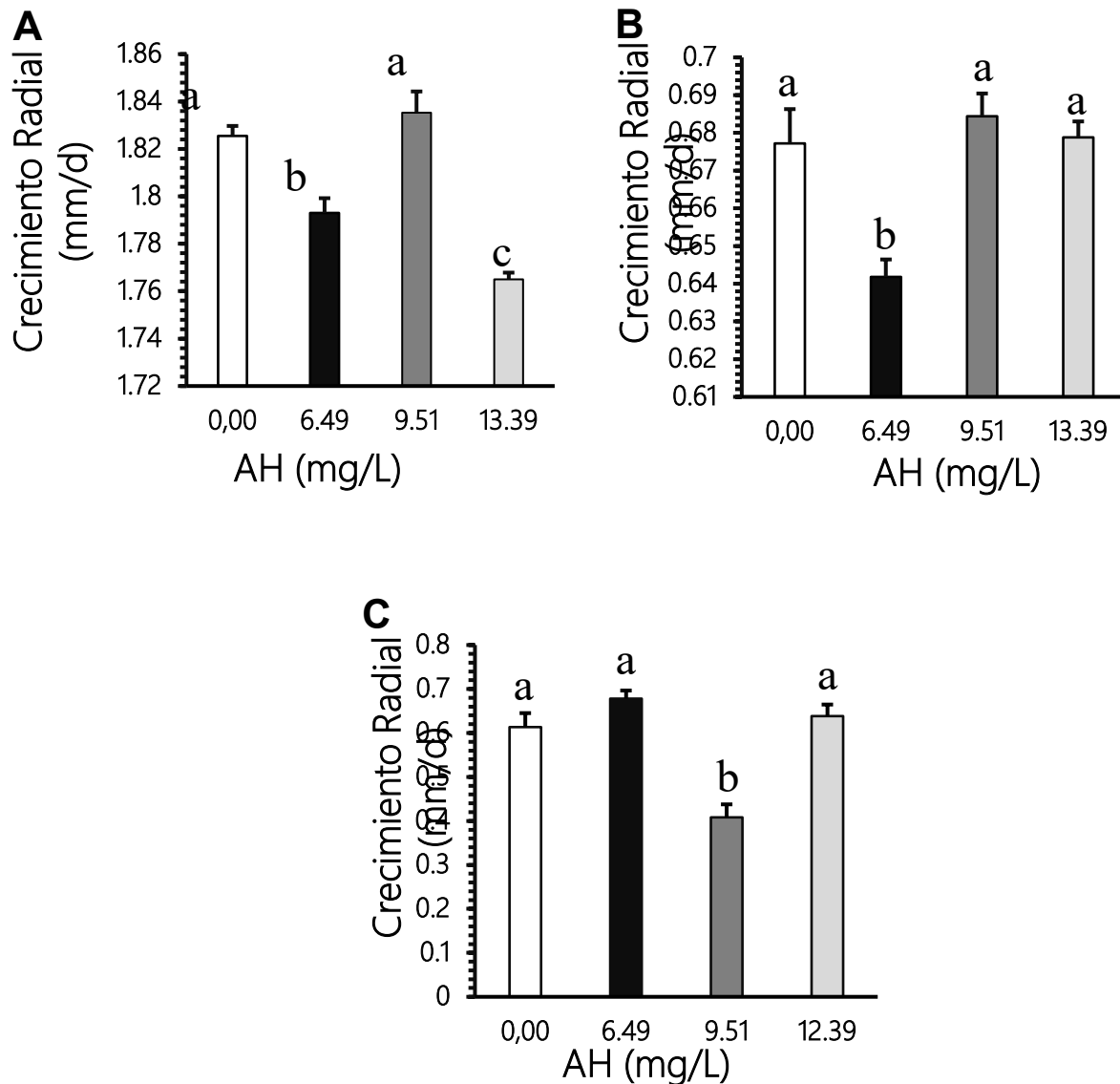


Fig. 1. Efecto de concentraciones de AH mezcladas con HEP sobre la tasa de crecimiento radial. **A)** *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, **B)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. Las letras iguales indican que no existe diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$).

Fig. 1. Effect of concentrations of HA mixed with EPF on radial growth rate. **A)** *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, **B)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 and **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. The same letters indicate no significant statistical differences ($P \leq 0.05$).

En relación a la cepa de *M. rileyi* CHE-CNRCB 796, que se muestra en la Fig. 1 C; se observó una compatibilidad en concentraciones de AH 6.49 y 12.39 mg/L. Se predominó el efecto de compatibilidad y no los efectos inhibitorios al evaluar la tasa de crecimiento radial, lo cual es de gran importancia, si se desea crear un producto biológicamente activo compatible con los inóculos empleados, y con potencial de mejorar la protección anti-UV, tanto en condiciones semicontroladas como campo abierto. Sin embargo, los resultados no son dependientes de las dosis, este comportamiento pudiera estar relacionado con los tipos de hongos empleados y las propiedades de los AH, como la acidez total, el contenido de grupos COOH y la composición elemental de los AH, características que pueden variar ligeramente el comportamiento del crecimiento de los hongos en una superficie determinada, sin llegar a afectar su desarrollo.

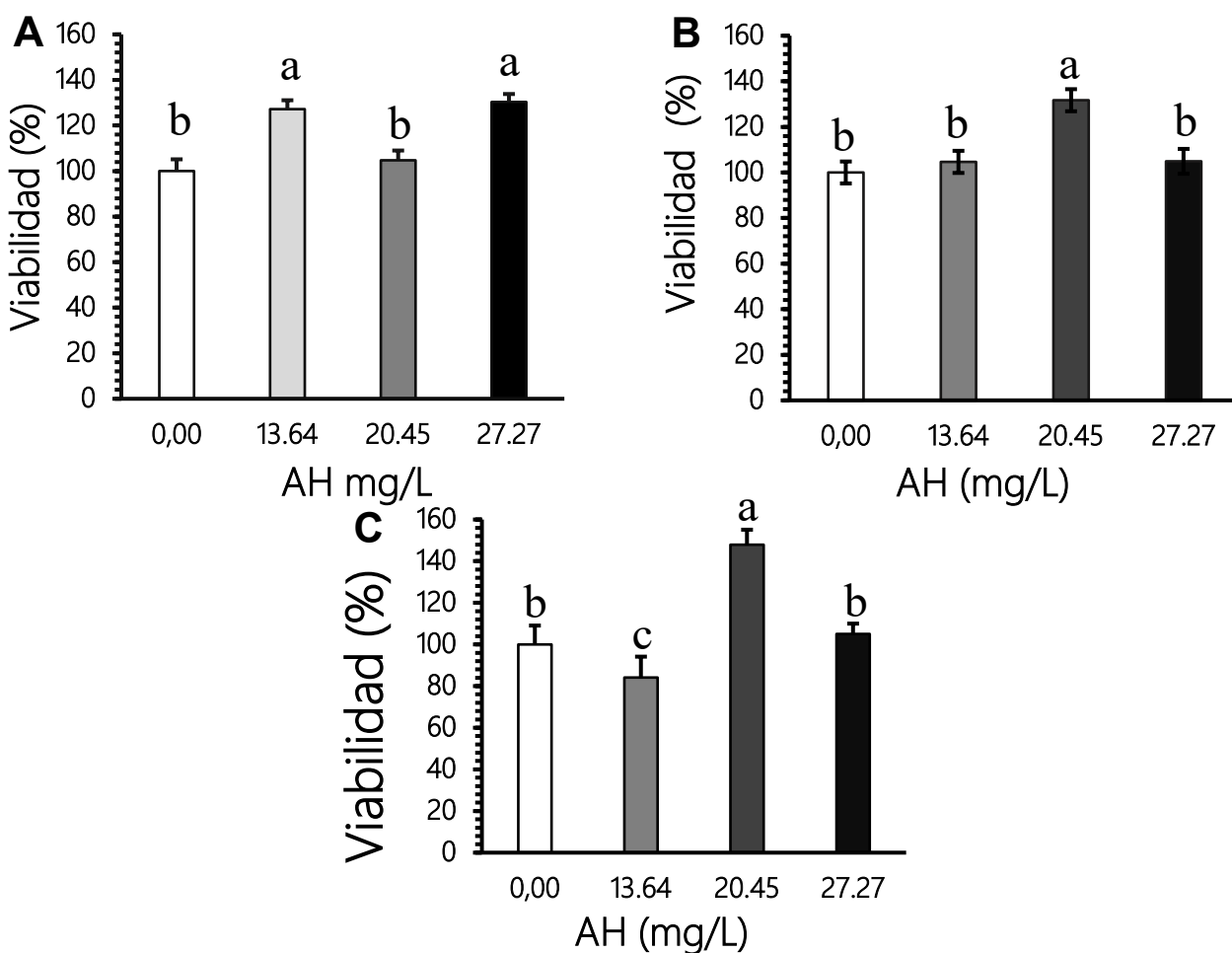


Fig. 2. Efecto de diferentes concentraciones de los AH mezcladas con HEP sobre el porcentaje de viabilidad. **A)** *B. bassiana* cepa CHE-CNRCB 1029, **B)** *M. rileyi* cepas CHE-CNRCB 682 y **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. Las letras iguales indican que no existe diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$).

Fig. 2. Effect of different concentrations of HA mixed with HEF on percentage of viability. **A)** *B. bassiana* strain CHE-CNRCB 1029, **B)** *M. rileyi* strains CHE-CNRCB 682 and **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. The same letters indicate no significant statistical differences ($P \leq 0.05$).

La Fig. 2 muestra los efectos obtenidos con respecto al porcentaje de viabilidad de las tres cepas empleadas *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. Las pruebas de compatibilidad realizadas (TCr) y de viabilidad, entre los HEP y las concentraciones de AH evaluadas, no mostraron inhibición significativa con respecto al crecimiento de los testigos, sin aplicación de AH.

Por otra parte, siguiendo el patrón de puntuación de compatibilidad, hubo resultados similares a los obtenidos por Alves *et al.*, (2007), al evaluar el índice biológico (IB) de compatibilidad, en el presente estudio se observan en la Tabla 1. En relación a la parte biológicamente activa de los AH no afectó la esporulación de las cepas estudiadas en las concentraciones de AH evaluadas, ya que se estimó un puntaje superior a 66 (Alves *et al.*, 2007); lo cual es indicativo de un alto grado de compatibilidad.

Tabla 1. Puntaje de compatibilidad entre las cepas de HEP y concentraciones de AH.

Table 1. Compatibility score between the EPF strains and HA concentrations.

Cepas	<i>B. bassiana</i> CHE-CNRCB 1029		<i>M. rileyi</i> CHE-CNRCB 682		<i>M. rileyi</i> CHE-CNRCB 796	
	IB	CC	IB	CC	IB	CC
Tratamientos (mg AH/L)						
Control 0.00	100.03 ± 3.04	C	100.00 ± 1.54	C	100.12 ± 3.56	C
AH- 6.49	103.08 ± 5.27	C	107.76 ± 1.86	C	115.79 ± 5.11	C
AH- 9.51	106.69 ± 5.54	C	111.46 ± 4.36	C	121.30 ± 3.47	C
AH- 12.39	120.45 ± 3.15	C	113.28 ± 4.13	C	103.21 ± 2.39	C

IB: índice biológico; **CC:** clasificación de compatibilidad Alves *et al.*, 2007; **C:** compatible; **MC:** moderadamente compatible; **NC:** no compatible.

IB: biological index; **CC:** compatibility classification Alves *et al.*, 2007; **C:** compatible; **MC:** moderately compatible; **NC:** not compatible.

En este trabajo se empleó una función de decaimiento exponencial, para modelar la susceptibilidad a la radiación solar de las cepas de *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796, al mezclarse con AH a concentraciones de 13.64, 20.45 y 27.27 mg/L. La Fig. 3 muestra la supervivencia (%) de conidios de *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029 (Fig. 3 A), *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 (Fig. 3 B) y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 (Fig. 3 C) a lo largo del tiempo según el ajuste de la curva del modelo. Se observó una reducción de los conidios viables en el tratamiento control, sin presencia de AH (Fig. 3 A-C). Las diferentes concentraciones empleadas de AH

aumentaron significativamente la supervivencia de los conidios a la exposición a la luz solar. Si se compara la supervivencia después de 60 min de exposición a radiación solar, se obtienen los datos mostrados en la Tabla 2, donde además se muestran los valores de tasa de decaimiento específico (k , h^{-1}) para cada cepa según la concentración de AH empleado.

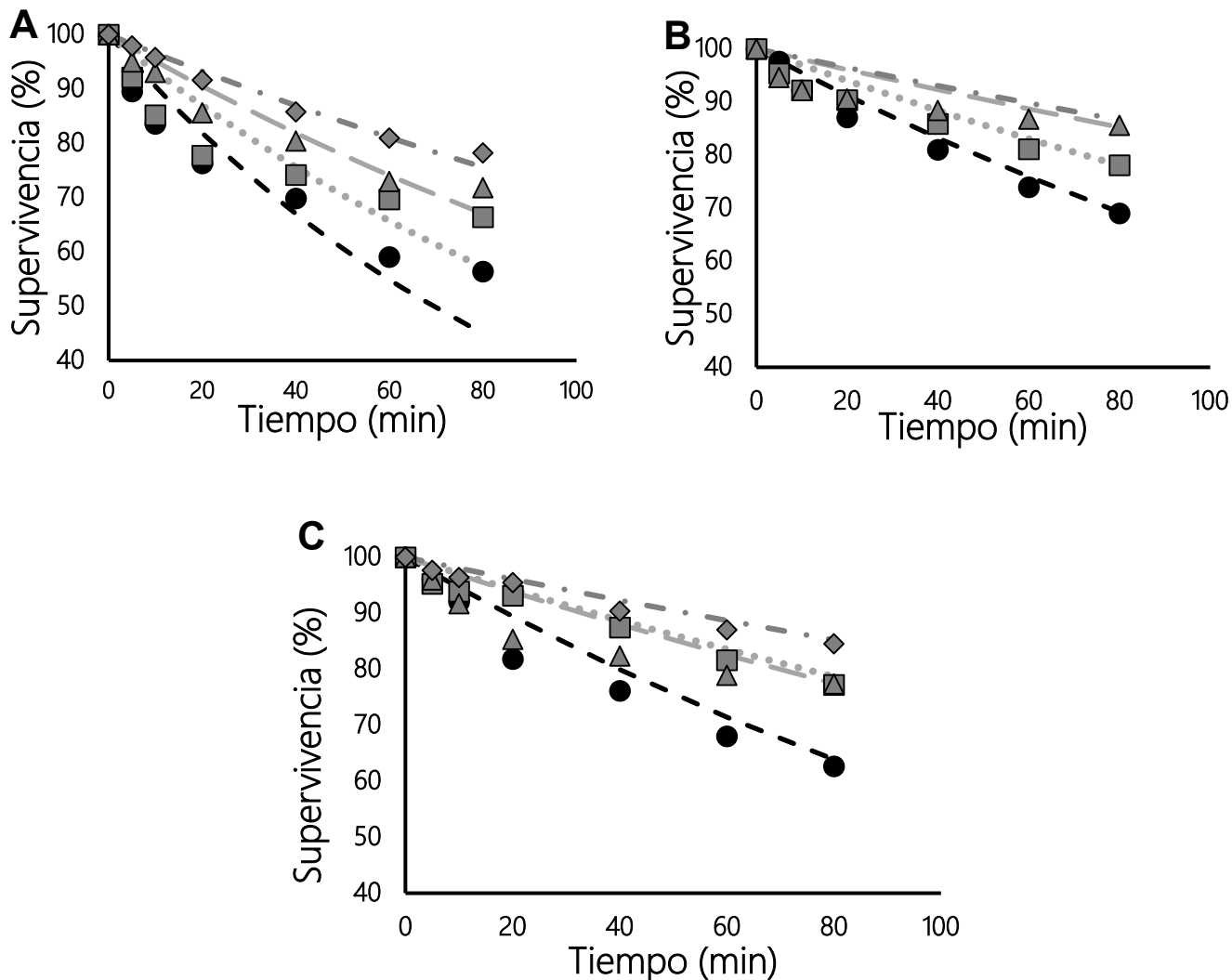


Fig. 3. Efecto de la radiación solar sobre la viabilidad (UFC) de las cepas: **A)** *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029 y **B** y **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. Modelo de decaimiento exponencial. Líneas negras discontinuas: modelo testigo; Puntos grises discontinúos: modelo con [AH] de 13.64; Líneas grises largas: modelo con [AH] de 20.45; Líneas grises con punto intermedio: modelo con [AH] de 27.27; Punto negro relleno: dato experimental (testigo); Cuadrado gris: dato experimental [AH] de 13.64; Triángulo gris: dato experimental [AH] de 20.45; Rombo gris: dato experimental [AH] de 27.27.

Fig. 3. Effect of solar radiation on CFU viability of the strains: **A)** *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029 and **B** and **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 and *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. Exponential decay model. Long gray lines: model with [AH] of 20.45; Gray lines with intermediate point: model with [AH] of 27.27; Filled black dot: experimental data (control); Gray square: experimental data [AH] of 13.64; Gray triangle: experimental data [AH] of 20.45; Gray rhombus: experimental data [AH] of 27.27.

En la Tabla 2 se observa que en las cepas empleadas la tasa de decaimiento específico (k , h^{-1}) es mucho mayor cuando no se emplean suspensiones de conidios mezcladas con concentraciones de AH, lo cual hace que la supervivencia ante la exposición a la radiación solar, sea menor.

Tabla 2. Supervivencia de conidios después de 60 minutos de exposición a radiación solar.

Table 2. Survival of conidia after 60 minutes of exposure to solar radiation.

Cepa	concentración de AH (mg/L)	k (h^{-1})	*Supervivencia (%)
<i>B. bassiana</i> CHE- CNRCB 1029	0.00	0.0087	56.38 ^c
	13.64	0.0064	66.40 ^b
	20.45	0.0049	71.83 ^{ab}
	27.27	0.0034	78.19 ^a
<i>M. rileyi</i> CHE- CNRCB 682	0.00	0.0050	69.01 ^c
	13.64	0.0034	78.06 ^b
	20.45	0.0024	85.61 ^a
	27.27	0.0021	86.95 ^a
<i>M. rileyi</i> CHE- CNRCB 796	0.00	0.0064	62.69 ^c
	13.64	0.0033	77.21 ^b
	20.45	0.0030	77.37 ^b
	27.27	0.0022	84.57 ^a

*Supervivencia después de 60 min de exposición

En la Fig. 4 se observa que la formulación de HEP + AH que se asperjó sobre larvas de *S. frugiperda* de segundo instar (L2) tuvo un alto grado de virulencia (80%); aunque se observaron diferencias estadísticas entre las tres cepas empleadas.

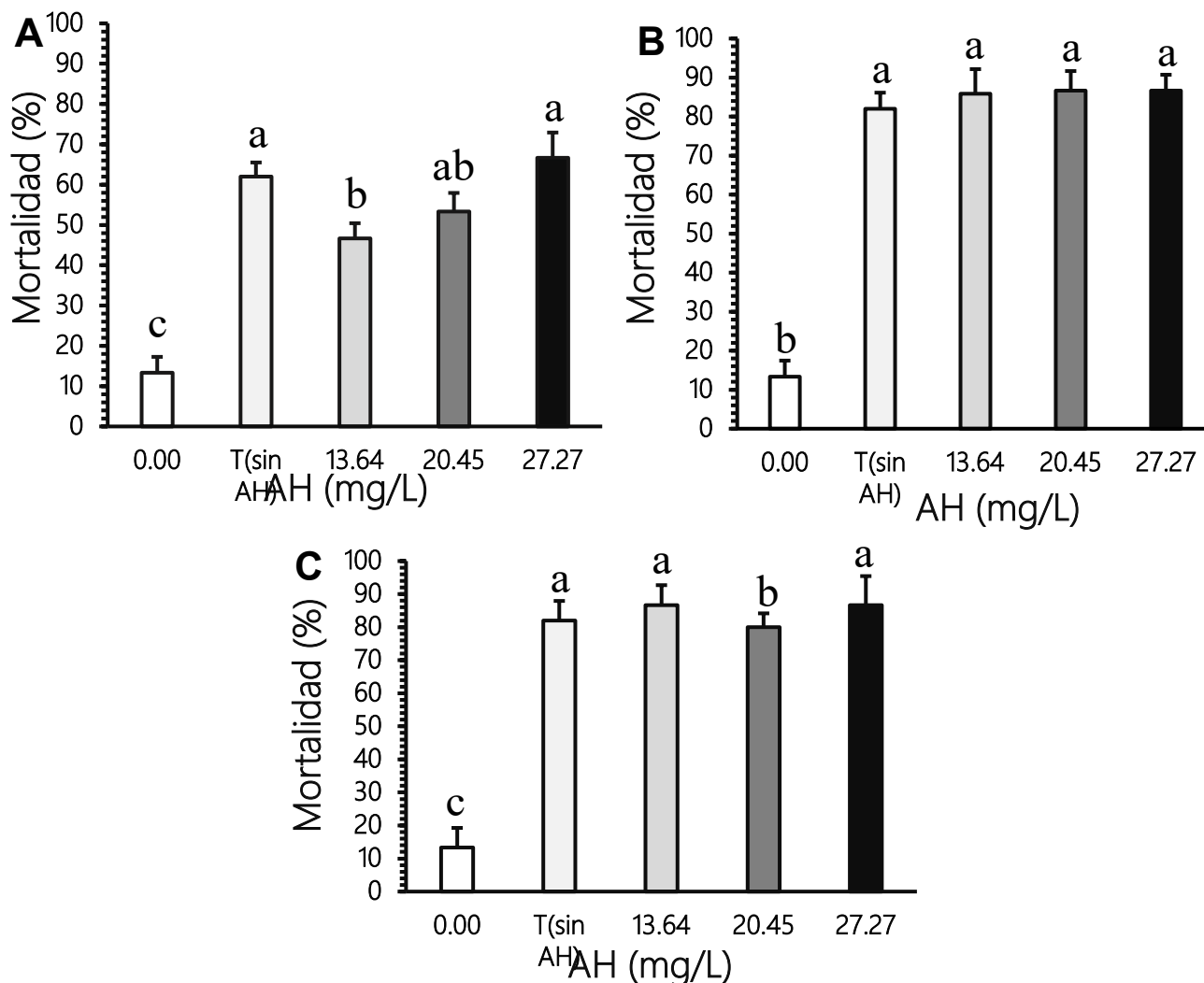


Fig. 4. Mortalidad (%) de larvas de *S. frugiperda* (L2) tratadas por aspersión con formulaciones de AH mezcladas con HEP (1×10^7 conidios/mL) a los 14 días. **A)** *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, **B)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. Las letras iguales indican que no existe diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$).

Fig. 4. Mortality (%) of *S. frugiperda* (L2) larvae sprayed with HA formulations mixed with HEP (1×10^7 conidios/mL) at 14 days. **A)** *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, **B)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 and **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. Equal letters indicate no significant statistical differences ($P \leq 0.05$).

La Fig. 4 A en la cual se emplea la cepa *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, se aprecia que el mayor porcentaje de mortalidad de *S. frugiperda* del 66.66% se alcanzó con 1×10^7 conidios/mL y AH de 27.27 mg/L. Este tratamiento no superó el 70% de mortalidad. La tendencia fue que a medida que se incrementó la concentración de AH en las formulaciones de (HEP + AH), causó mayor mortalidad de larvas de *S. frugiperda*. Por su parte, la Fig. 4 B empleando la aspersion de *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 mezclado con todas las concentraciones de AH, presentaron todos una mortalidad mayor al 80% contra larvas de *S. frugiperda*; alcanzando una máxima de 86.66%. Asimismo, la Fig. 4 C muestra resultados muy similares de mortalidad máxima alcanzada para la cepa *M. rileyi* CHE-CNRCB 796. En esta Fig. C, la concentración de 20.45 g/L de AH, presentó diferencias estadísticas significativas en la mortalidad, en comparación con los demás tratamientos. Estas mezclas de AH con *M. rileyi* no afectaron la mortalidad de larvas de *S. frugiperda*.

La Fig. 5 presenta los resultados del bioensayo de patogenicidad, empleando el método de inmersión de L2 de *S. frugiperda* en las suspensiones del HEP. Los resultados mostrados en la Fig. 5 indican que las L2 de *S. frugiperda* de segundo instar fueron más susceptibles a los dos aislados de *Metarhizium rileyi*, con respecto a la cepa de *B. bassiana*. Contrario a todos los resultados obtenidos anteriormente (aspersion), la mayor mortalidad fue del 73.33% y se logró con la formulación más diluida de 13.64 mg/L (Fig. 5 A). En la Fig. 5 B se evidenció que dos tratamientos de formulaciones (HEP + AH) empleadas presentaron mortalidad superior al 80%; aunque no se observaron diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de AH empleadas. Un comportamiento similar al de la Fig. 5 B, se observó en la Fig. 5 C donde dos tratamientos de formulaciones (HEP + AH) más el testigo sin AH presentaron mortalidades superiores al 80% (85.71, 86.66, 87.03%), respectivamente.

De acuerdo a los resultados, ambos métodos donde se combinan los AH con los HEP son efectivos para controlar la incidencia de *S. frugiperda* cuando se realizan bioensayos en condiciones de laboratorio. Sin embargo, se presentaron diferencias significativas entre uno y otro en cuanto al porcentaje de mortalidad. Por ejemplo; el método de aspersion presentó cinco tratamientos de formulaciones entre las diferentes cepas empleadas que superaron el 80% de mortalidad, por solo cuatro del método de inmersión.

La mortalidad del 86.66% se alcanzó cuando se mezclaron los HEP + AH, bajo un bioensayo por aspersion (Fig. 4 B), con la formulación HEP + AH a una concentración de 27.27 mg/L. Mientras que la mayor mortalidad por el método de inmersión fue del 86.66% (Fig. 5 C), para el tratamiento HEP + AH a una concentración 20.45 mg/L.

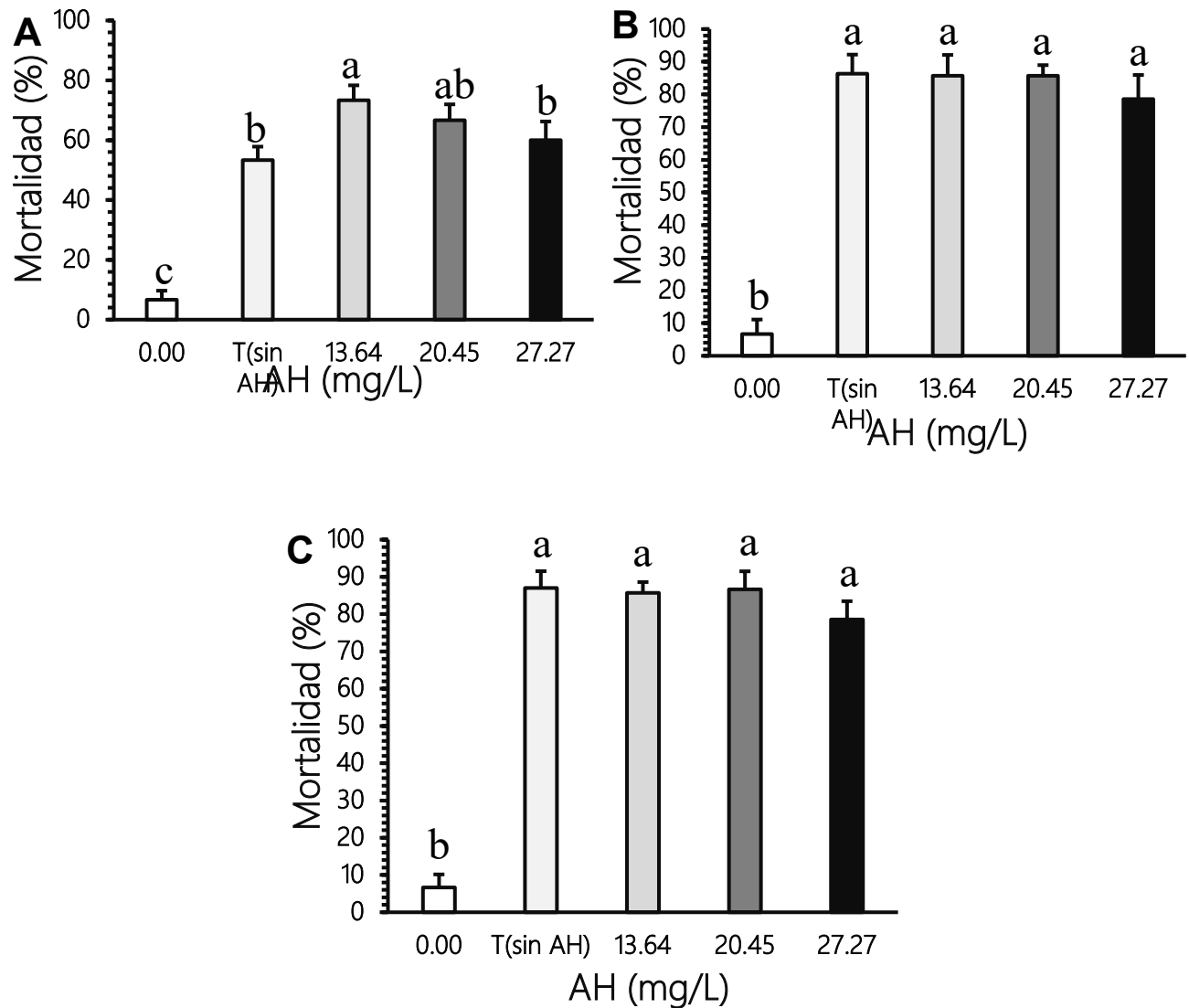


Fig. 5. Mortalidad (%) de larvas de *S. frugiperda* L2 tratadas con formulaciones de AH mezcladas con HEP (1×10^7 conidios/mL) a los 14 días, inmersión. **A)** *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, **B)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 en un bioensayo de (Inmersión). Las letras iguales indican que no existe diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$).

Fig. 5. Mortality (%) of *S. frugiperda* L2 larvae treated with HA formulations mixed with HEP (1×10^7 conidios/mL) at 14 days, immersion. **A)** *B. bassiana* CHE-CNRCB 1029, **B)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 and **C)** *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 an (Immersion) bioassay. Equal letters indicate no significant statistical differences ($P \leq 0.05$).

4. DISCUSIÓN

Los HEP como *B. bassiana* y *M. rileyi* son ampliamente utilizados para atenuar la incidencia de plagas tanto en condiciones semicontroladas (invernaderos), como en campo abierto, de hecho, tienen un rol fundamental en la protección vegetal y en el manejo integrado de plagas (Avila-Hernández *et al.*, 2020; Grewal y Joshi, 2023). Sin embargo, el método químico es el más utilizado para proteger a los cultivos y esto es debido a su alta efectividad. El uso excesivo de estos productos químicos, causan contaminación ambiental, así como el surgimiento de la resistencia de las plagas (Geiger *et al.*, 2010). En este trabajo de investigación, se evaluó el potencial de una formulación natural anti-UV (AH), para mejorar la supervivencia de conidios de *B. bassiana* y *M. rileyi* cuando son expuestos a la radiación solar. La compatibilidad entre los HEP y los AH, así como la patogenicidad de la mezcla de HEP + AH sobre *S. frugiperda* también fueron evaluadas con el objetivo de desarrollar un producto biológicamente activo (PBA), que actúe como control biológico del gusano cogollero (Usha *et al.*, 2014).

Las cepas de HEP empleadas en este estudio muestran que son compatibles con las concentraciones de AH probadas. Estudios previos con *B. bassiana* mostraron compatibilidad entre *B. bassiana* y formulaciones naturales como té negro, té verde, aceite de sésamo, ácidos húmico sódico y potásico (Kaiser *et al.*, 2019). Estos resultados también pueden asociarse al efecto de los AH sobre el crecimiento de *B. bassiana* y *M. rileyi*, donde tanto la estructura como la composición de estos AH no afectan el desarrollo de las cepas evaluadas. Aunque los estudios sobre la acción conjunta, específicamente entre HEP y sustancias naturales son escasos, hay reportes donde se evalúa la compatibilidad entre los HEP, los plaguicidas sintéticos y extractos naturales (Alves *et al.*, 1998; Kaiser *et al.*, 2019). La combinación de extractos de neem a bajas concentraciones con *B. bassiana*, fue compatible y sinérgica (Bharti *et al.*, 2023). Con *Metarhizium robertsii* en combinación con *Trichoderma asperellum* unido a concentraciones de malatión que oscilaban entre 0 ppm y 600 ppm, los HEP empleados como *M. robertsii* fueron compatibles cuando se mezclaron con el plaguicida sintéticos, manteniendo su patogenicidad (Reynoso-López *et al.*, 2021).

Los estudios de viabilidad en condiciones controladas, entre insecticidas, plaguicidas, extractos vegetales, compuestos naturales y HEP, tienen la ventaja de exponer a dichos compuestos a la máxima interacción entre ellos. Por tanto, los experimentos donde se evalúe la viabilidad, así como la compatibilidad bajo condiciones controladas, favorecen el diseño de estrategias para condiciones de invernadero y de campo abierto (Alves *et al.*, 1998). En el presente trabajo (Fig. 2) las tres concentraciones de AH empleadas (13.64, 20.45, 27.27 mg/L) pueden mezclarse con HEP, sin efectos inhibitorios, aprovechando de esta forma sus características de producto natural con efectos de protección anti-UV. Los efectos de toxicidad, antagonistas, neutrales y sinérgicos se han detectado al combinar HEP con insecticidas químicos para potenciar el control de insectos (Pelizza *et al.*, 2015). Hay reportes donde se compara la viabilidad para evaluar la compatibilidad entre HEP y sustancias naturales, con efectos potenciales de protección anti-UV; en estos estudios se indica que las sustancias evaluadas, excepto el extracto de espino amarillo, presentaron una buena compatibilidad. Es de resaltar que los conidios expuestos al ácido húmico

sódico y zeolita presentaron mejor viabilidad (Kaiser *et al.*, 2019). Una posible explicación de estos resultados está basada en la presencia de un ambiente estresante, por la combinación entre los HEP y sustancias naturales, donde el hongo podría responder con un significativo esfuerzo reproductivo, expresado en una mayor producción de conidios, favoreciendo de esta forma a una mejor viabilidad y compatibilidad. Lo anterior se demostró al someter a los HEP a condiciones de estrés moderado para incrementar la esporulación (Muñiz-Paredes *et al.*, 2017).

De acuerdo con el índice biológico desarrollado por Alves *et al.* (2007), los valores superiores a 66 del índice biológico ($IB > 66$) se clasifican como compatibles, valores entre 42 y 66 ($42 \leq IB \leq 66$) son moderadamente compatibles y valores menores a 42 ($IB < 42$), indican que no son compatibles. Los resultados obtenidos al mezclar los HEP con los AH a sus diferentes concentraciones (6.49, 9.51, 12.39 mg/L) fueron compatibles tanto para *B. bassiana* (IB entre 100 y 107.56), así como con *M. rileyi* (IB entre 84.59 y 102.26, para cada cepa), siendo los AH sustancias sin efecto para el crecimiento micelial y reproductivo de los hongos empleados (Kaiser *et al.*, 2019). Los AH como protectores anti-UV en una formulación con HEP solo se habían descrito por Keiser *et al.*, (2019), donde se mostró la posibilidad de usar compuestos húmicos mezclados con *B. bassiana*, para tolerar la radiación solar de los conidios, y con ello mejorar la eficacia de éstos cuando se aplican como agentes de control biológico en condiciones semicontroladas y campo abierto. Sin embargo, este trabajo, además de evaluar el efecto de protección anti-UV de los AH en formulaciones con HEP, también se emplearon cepas distintas de *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 796, endémicas de México. Se realizaron bioensayos contra *S. frugiperda*, con mortalidades superiores al 80%, mostrando que la formulación de HEP + AH, además de compatibles, presenta efectos anti-UV y de control sobre la principal plaga del cultivo del maíz.

Durante la aplicación de HEP en condiciones de campo, experimentan una reducción de su infectividad hacia la plaga, debido a factores ambientales desfavorables, como la radiación solar intensa (280 - 320 nm y 320 - 400nm), así como las elevadas temperaturas. Los niveles de radiación solar son la principal causa de muerte de los propágulos fúngicos, cuando se encuentran sobre el haz de hojas (Jia *et al.*, 2023). La radiación solar causó una caída significativa en la supervivencia de los conidios en los ensayos de laboratorio (Fig. 3), cuando las cepas de los hongos evaluados no se mezclaron con sustancias (AH) protectoras anti-UV. Estos resultados concuerdan con estudios previos, donde se muestra la susceptibilidad de los conidios de *B. bassiana* a la radiación UV, sin presencia de compuestos anti-UV (Kaiser *et al.*, 2019). La supervivencia de los conidios ante la radiación solar depende del tiempo de exposición (Teng, 1962; Jia *et al.*, 2023). Los hallazgos también coinciden con estudios previos, donde se emplean aceites de origen vegetal y mineral, como adyuvantes para proteger a los conidios de HEP ante los factores ambientales adversos como la radiación solar y altas temperaturas (Kirti *et al.*, 2018).

Hay entomopatógenos relacionados con *S. frugiperda*, entre estos se encuentran: virus, hongos, nematodos, bacterias y protozoos (Akutse *et al.*, 2019), pero son pocos los que inducen epizootias en este lepidóptero (Gómez *et al.*, 2013). Los más efectivos son los nucleopoliedrovirus (NPV) y los HEP, específicamente *Metarhizium rileyi*. Sin embargo, la estrategia diseñada en esta investigación se centró, en evaluar el potencial de una formulación natural anti-UV, que al ser mezclada con HEP, mejore la supervivencia de los

conidios de *B. bassiana* y *M. rileyi* ante la radiación solar. Los resultados de patogenicidad obtenidos por aspersión (Fig. 4) e inmersión (Fig. 5) indicaron que las larvas L2 de *S. frugiperda* fueron susceptibles a los HEP, aunque los mayores porcentajes de mortalidad se lograron al aplicar *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB796. La mortalidad larvaria más alta observada para *B. bassiana* cepa CHE-CNRCB 1029 por el método de aspersión fue de solo 66.66%, mientras que por el método de inmersión fue del 73.33%. La baja susceptibilidad de las larvas L2 de *S. frugiperda*, ante la cepa de *B. bassiana*, podría estar relacionada con las características de variabilidad genética de la cepa evaluada, además de los biotipos presente en algunas poblaciones de *S. frugiperda* (Akutse *et al.*, 2019). Hay cepas de *B. bassiana* aisladas de suelo que causaron mortalidades cercada al 98% de larvas de *S. frugiperda*, sin embargo, esta misma cepa de *B. bassiana*, pero aisladas de plantas de *Zea mays* L, solo indujeron mortalidad del 75% (Ramírez-Rodríguez and Sánchez-Peña, 2016). Los reportes referentes a la efectividad del control biológico del gusano cogollero con *B. bassiana* varían (Montecalvo and Navasero, 2021).

Por otra parte, como ya se mencionó, *S. frugiperda* fue más susceptible a *M. rileyi* CHE-CNRCB 682 y *M. rileyi* CHE-CNRCB796 por aspersión (Fig. 4) e inmersión (Fig. 5), con una mortalidad entre el 85 y el 87.03%, respectivamente. Entre las características más notorias de *M. rileyi* está la capacidad inducir epizootias naturales a las poblaciones de lepidópteros; por lo cual, se diferencian de otros HEP (Barros *et al.*, 2021). Lo anterior puede relacionarse con cantidades suficientes de inóculos de dichos hongos, siempre disponibles para sus brotes (Chandler *et al.*, 2011). En investigaciones previas, donde se realizaron bioensayos en condiciones de laboratorio, se reportó que cepas de *M. rileyi* indujeron una mortalidad cercana al 90% en larvas de *S. frugiperda*. Sin embargo, cuando estas mismas cepas fueron asperjadas de manera convencional en condiciones de campo abierto, sin sustancia anti-UV o adyuvante, la mortalidad alcanzó el 30%, y una formulación que cause menos del 50%, es ineficaz (Faria *et al.*, 2022).

En una investigación similar, donde también se realizaron varios bioensayos en condiciones de laboratorio, encontraron que algunos aislados de *M. rileyi*, combinados con un adyuvante de origen oleoso, causaron una mortalidad de hasta el 70% de las larvas del gusano cogollero, las cuales se encontraban entre el segundo y sexto instar; pero también reportaron una mortalidad aún más baja, entre el 20 y 30%, cuando no se empleó ningún adyuvante (Gu *et al.*, 2023). Las formulaciones de conidios en aceite y en polvo son las más utilizadas para los efectos del control biológico (Chawanda *et al.*, 2023), aunque los resultados obtenidos en la investigación indican que los conidios de *M. rileyi* también pueden mezclarse con sustancias húmicas, con efecto protector anti-UV, obteniéndose resultados de mortalidad superiores al 80%. Gu *et al.*, (2023) también reportaron que, para una mayor mortalidad larvaria del gusano cogollero, se deben aplicar las formulaciones en forma de granulados y no por el método de aspersión. Sin embargo, basado en experiencias adquiridas y contrario a lo planteado anteriormente, si se asperjan formulaciones de conidios mezclados con AH, la viabilidad de los conidios en condiciones de campo abierto podría incrementar su viabilidad bajo factores ambientales adversos, logrando un contacto más prolongado con las larvas, con la posibilidad de un control biológico más efectivo de *S. frugiperda*.

Algunos resultados similares han sido reportados por Barros *et al.*, (2021), donde aplicaron por aspersión a *M. rileyi* de manera secuencial bajo condiciones de producción, lograron reducciones significativas del gusano cogollero; plantearon algunas diferencias en la efectividad de *M. rileyi*, en campo o laboratorio, indicaron que están muy relacionadas con la densidad poblacional del insecto plaga, de las concentraciones y dosis aplicadas. Otras están relacionadas con factores ambientales como: temperatura, lluvia y la radiación solar (Barros *et al.*, 2021). Por ejemplo, las longitudes de ondas que oscilan entre 290 y 310 nm inducen lesiones directas al ADN que provocan mutaciones y fallos de transcripción (Griffiths *et al.*, 1998). Las longitudes de ondas entre 340 y 380 nm son suficientes para causar daños indirectos al ADN a través de la producción de radicales libres (Kaiser *et al.*, 2019). Así, cuando se empleen HEP, debe considerarse el desarrollo de formulaciones que contengan compuestos compatibles con efectos anti-UV, para incrementar la supervivencia de los conidios. Finalmente, basado en las experiencias adquiridas durante el desarrollo de la investigación y en los resultados reportado por Kaiser *et al.*, (2019), los AH han mostrado ser compatibles con los HEP empleados, además de tener una buena capacidad de protección anti-UV, por lo cual pueden considerarse como un aditivo importante para el desarrollo exitoso de formulaciones.

5. CONCLUSIÓN

Los AH a concentraciones de 6.49, 9.51 y 12.39 mg/L son compatibles con las cepas de *B. bassiana* CHE-CNRCB 1020, *M. rileyi* CHE-CNRCB 796 y *M. rileyi* CHE-CNRCB 682, expresados en términos de tasa de crecimiento radial y porcentaje de supervivencia (medido por UFC). Además, los AH mostraron potencial de protección anti-UV (13.64, 20.45 y 27.27 mg/L), manteniendo la virulencia hacia larvas de segundo instar de *S. frugiperda*, lo que representa un aditivo importante en la formulación de HEP.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONAHCYT por la beca otorgada a R. Hernández Campos, así como a la UAM-Iztapalapa y al Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRF-DGSV) del SENASICA, por brindar sus instalaciones y financiamiento para el desarrollo de los experimentos. A los revisores por sus comentarios valiosos que ayudaron a mejorar la presentación del documento científico.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Reinier Hernández-Campos realizó el trabajo experimental, analizó los datos y escribió el manuscrito. Jorge A Sánchez-González supervisó la investigación. Octavio Loera y Roberto Montesinos-Matías proporcionaron la idea inicial del proyecto, diseñaron el estudio, supervisaron y revisaron el manuscrito. Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

Abrahams, P., Bateman, M., Beale, T., Clotey, V., Cock, M., Colmenarez, Y., Corniani, N., Day, R., Early, R., Godwin, J., Gomez, J., Moreno, P.G., Murphy, S.T., Opong-Mensah, B., Phiri, N., Pratt, C., Richards, G., Silvestri, S., Witt, A. 2017. Fall armyworm: Impacts and implications for Africa. Evidence Note (2), September 2017. UKAID, CABI, London. https://doi.org/10.1564/v28_oct_02

Akutse, K.S., Kimemia, J.W., Ekesi, S., Khamis, F.M., Ombura, O.L., Subramanian S. 2019. Ovicidal effects of entomopathogenic fungal isolates on the invasive fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Applied Entomology. 143(6), 626-634. <https://doi.org/10.1111/jen.12634>

Alves, S.B., Haddad, M.L., Faion, M., Baptista, G.C. de., Rossi-Zalaf, L.S. 2007. Novo Índice biológico para a classificação de agrotóxicos para fungos entomopatogênico. In Resumos, 10th Simpósio de Controle Biológico. Brasília, Brasil.

Alves, S.B., Moino, A., Almeida, J.E.M. 1998. Productos fitossanitarios e entomopatógenos. In: Alves SB (ed) Controle microbiano de insectos. FEALQ, Piracicaba, Brazil. pp 217–238

Angel-Cuapio, A., Loera, O. 2016. Use of agroindustrials waste as texturizers to entomopathogenic fungi production on solid-state culture. Mexican Journal of Biotechnology, 1(1):21-33.

Ávila-Hernández, J. G., Carrillo-Inungaray, M. L., De la Cruz-Quiroz, R., Wong-Paz, J. E., Muñoz-Márquez, D. B., Parra-Saldívar, R., Aguilar, C.N., Aguilar-Zárte, P. 2020. *Beauveria bassiana* secondary metabolites: a review inside their production systems, biosynthesis, and bioactivities. Mexican Journal of Biotechnology, 5(4), 1-33. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2020.5.4.1>

Ayala-Zermeño, M.A., Gallou, A., Berlanga-Padilla, A.M., Serna-Domínguez, M.G., Arredondo-Bernal, H.C., Montesinos-Matías, R. 2015. Characterisation of entomopathogenic fungi used in the biological control programme of *Diaphorina citri* in Mexico. Biocontrol Science and Technology. 25(10), 1192-1. <http://dx.doi.org/10.1080/09583157.2015.1041878>

Barros, S.K.A., de Almeida, E.G., Ferreira, F.T.R., Barreto, M.R., Lopes, R.B., Pitta, R.M. 2021. Field efficacy of *Metarhizium rileyi* applications against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Neotropical Entomology*. 50, 976-988. <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00903-0>

Bharti, K., Joshi, N., Khosla, S., Kaur, R. 2023. Compatibility of entomopathogenic fungus *Metarhizium rileyi* with biorationals. *Indian Journal of Entomology*. 225-228. <https://doi.org/10.55446/IJE.2022.801>

Bitton, G., Henis, Y., Lahav, N. 1972. Effect of several clay minerals and humic acid on the survival of *Klebsiella aerogenes* exposed to ultraviolet irradiation. *Applied Microbiology*. 23, 870-874. <https://doi.org/10.1128/am.23.5.870-874.1972>

Butt, T.M., and Goettel, M.S. 2000. Bioassays of entomogenous fungi. In: Navon and Ascher., (Ed) *Caby Digital Library: Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. pp. 141-195. <https://doi.org/10.1079/9780851994222.0141>

Chandler, D., Bailey A.S., Tatchell, G.M., Davidson, G., Greaves, J., Grant, W.P. 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Science*. 1573:1987-1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0390>

Chawanda, G., Tembo, Y.L., Donga, T.K., Kabambe, V.H., Stevenson, P.C., Belmain, S.R. 2023. Agroecological management of fall armyworm using soil and botanical treatments reduces crop damage and increases maize yield. *Frontiers in Agronomy*. 5, 1114496. <https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1114496>

Duarte, R.T., Gonçalves, K.C., Espinosa, D.J.L., Moreira, L.F., De Bortoli, S.A., Humber, R.A., and Polanczyk, R.A. 2016. Potential of entomopathogenic fungi as biological control agents of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and compatibility with chemical insecticides. *Journal of Economic Entomology*. 109, 594-601. <https://doi.org/10.1093/jee/tow008>

Faria, M., Souza, D.A., Sanches, M.M., Schmidt, F.G.V., Oliveira, C.M., Benito, N. P., Lopes, R.B. 2022. Evaluation of key parameters for developing a *Metarhizium rileyi*-based biopesticide against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize: laboratory, greenhouse, and field trials. *Pest Management Science*. 78(3), 1146-1154. <https://doi.org/10.1002/ps.6729>

Geiger, F., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W., Emmerson, M., Morales, M., Ceryngier, P., Liira, J., Tscharrnke, T., Winqvist, C. 2010. Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology*. 11, 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2009.12.001>

Gómez, J., Guevara, J., Cuartas, P., Espinel, C., Villamizar, L. 2013. Microencapsulated *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus: Insecticidal activity and effect on arthropod

populations in maize. *Biocontrol Science and Technology*. 23, 829–846. <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.802288>

Grewal, G.K. and Joshi, N. 2023. Evaluation of adjuvants on growth and virulence of *Metarhizium rileyi* against *Spodoptera litura* (F.). *Indian Journal of Entomology*. 81(3): 597-602. <https://doi.org/10.55446/IJE.2021.358>

Griffiths, H.R., Mistry, P., Herbert, K.E., Lunec, J. 1998. Molecular and cellular effects of ultraviolet light-induced genotoxicity. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 35:189–237. <https://doi.org/10.1080/10408369891234192>

Gu, M., Tian, J., Lou, Y., Ran, J., Mohamed, A., Keyhani, N.O., Zhang, W. 2023. Efficacy of *Metarhizium rileyi* granules for the control of *Spodoptera frugiperda* and its synergistic effects with chemical pesticide, sex pheromone and parasitoid. *Entomologia Generalis*. 43(6), 1211-1219. <https://doi: 10.1127/entomologia/2023/2079>

Jia, H., Camara, I., Zhang, Z., Gao, Y., Yang, X., Sangbaramou, R., Tan, S. 2023. Effect of ultraviolet radiation on *Beauveria bassiana* virulence and development of protective formulations. *Archives of Microbiology*. 205(4), 112. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03457-4>

Jiang, Y. and Wang, J. 2023. The Registration Situation and Use of Mycopesticides in the World. *Journal of Fungi*. 9(9), 940. <https://doi.org/10.3390/jof9090940>

Kaiser, D., Bacher, S., Mène-Saffrané, L., Grabenweger, G. 2019. Efficiency of natural substances to protect *Beauveria bassiana* conidia from UV radiation. *Pest Management Science*. 75(2), 556-563. <https://doi.org/10.1002/ps.5209>

Kim, J.C., Lee, M.R., Kim, S., Lee, S.J., Park, S.E., Baek., S. 2019. Longterm storage stability of *Beauveria bassiana* ERL836 granules as fungal biopesticide. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 22, 537–542. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.04.001>

Kirti, D., Neelam, J., Sangha, K. S., Devi, K., Joshi, N. 2018. Oils as UV protectants of *Beauveria bassiana* conidia and bioefficacy against *Lipaphis erysimi* (Kalt). *Indian Journal Entomology*. 80(3):761–768. <https://doi.org/10.5958/0974-8172.2018.00189.X>

Miranda-Hernandez, J.F., Saucedo-Castañeda, G., Alatorre-Rosas, R., Loera, O. 2014. Oxygen-rich culture conditions enhance the conidial infectivity and the quality of two strains of *Isaria fumosorosea* for potentially improved biocontrol processes. *Pest Management Science*. 70, 661–666. <https://doi.org/10.1002/ps.3605>

Montecalvo, M. P and Navasero, M.M. 2021. Comparative virulence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of the International Society Southeast Asian Agriculture Science*. 27(1), 15-26.

Montecalvo, M.P., Navasero, M.M., Navasero, M.V., 2022. Lethal effect of native *Metarhizium rileyi* (Farlow) Samson isolate to invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith), infesting corn in the Philippines. *International Journal of Agricultural Technology*. 18(1): 257-270.

Moore, D., Bridge, P.D., Higgins, P.M., Bateman, R.P Prior, C. 1993. Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. *Annals Applied Biology*. 122: 605–616. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04061.x>

Muñiz-Paredes, F., Miranda-Hernández, F., Loera, O. 2017. Production of conidia by entomopathogenic fungi: from inoculants to final quality tests. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 33, 1573-0972 (electronic version). <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2229-2>

Pelizza, S.A., Scorsetti, A.C., Fogel, M.N., Pacheco-Marino, S.G., Stenglein, S.A., Cabello, M.N., Lange, C.E. 2015. Compatibility between entomopathogenic fungi and biorational insecticides in toxicity against *Ronderosia bergi* under laboratory conditions. *BioControl*. 60: 81-91. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9606-7>

Reynoso-López, E.A., Méndez-Hernández, J.E., E.k-Ramos, J., Montesinos-Matías, R., Loera, O. 2021. *Metarhizium robertsii* in combination with *Trichoderma asperellum* reduce the malathion doses used to control ambrosia beetles: The case of *Xyleborus affinis*. *Biocontrol Science and Technology*. 31(10), 1080-1097. <https://doi.org/10.1080/09583157.2021.1923656>

Rodríguez-Gómez, D., Loera, O., Saucedo-Castañeda, G., & Viniegra-González, G. 2009. Substrate influence on physiology and virulence of *Beauveria bassiana* acting on larvae and adults of *Tenebrio molitor*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25, 513-518. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9917-x>

SENASICA. 2020. (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria) Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, consultado en línea, México, <https://www.gob.mx/senasica>, (consultado febrero 6, 2022).

Soni, P.G., Basak, N., Rai, A.K., Sundha, P., Chandra, P., Yadav, R.K. 2023. Occurrence of Salinity and Drought Stresses: Status, Impact, and Management. In: Kumar, A., Dhansu, P., Mann, A. (eds) *Salinity and Drought Tolerance in Plants*. Springer. Singapur. https://doi.org/10.1007/978-981-99-4669-3_1

Subedi, B., Poudel, A., Aryal, S. 2023. The impact of climate change on insect pest biology and ecology: Implications for pest management strategies, crop production, and food security. *Journal of Agriculture and Food Research*. 14, 100733. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100733>

Swift, R. 1996. Organic matter characterization, *In: Methods of Soil Analysis: Part 3. Chemical Methods*. D.L. Sparks, A.L. Page, P. A. Helmke, R.H. Loeppert, P.N. Soltanpour,

M.A. Tabatabai, and M.E. Sumner (eds.). American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA. pp:1011-1069. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c35>

Teng, C. 1962. Studies on the biology of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with the reference to microbial control of insects. Acta Botanica Sinica. 10:210–232.

Usha, J., Babu, M.N., Padmaja, V. 2014. Detection of compatibility of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (bals.) Vuill. With pesticides, fungicides and botanicals. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. 4(2): 613-624.

Yan, L., Zhu, J., Zhao, X., Shi, J., Jiang, C., Shao, D. 2019. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. Applied Microbiology and Biotechnology. 103: 3327–3340. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09713-2>

Yousaf, M.I., Riaz, M.W., Shehzad, A., Jamil, S., Shahzad, R., Kanwal, S., Hussain, Q. 2023. Responses of maize hybrids to water stress conditions at different developmental stages: accumulation of reactive oxygen species, activity of enzymatic antioxidants and degradation in kernel quality traits. PeerJ. 11, e14983. <https://doi.org/10.7717/peerj.14983>

Zang, L.S., Wang, S., Zhang, F., Desneux, N. 2021. Biological control with *Trichogramma* in China: History, present status, and perspectives. Annual review of entomology. 66, 463-484. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-060120-091620>