

Bioensayos de insecticidas biológicos y orgánicos sintéticos en larvas del gusano de la mazorca del maíz [*Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae)]^{1,2}

*Leidy Sarmiento*³, *Diego M. Viteri*^{4*},
*Angela M. Linares-Ramírez*⁵ e *Irma Cabrera-Asencio*⁶

J. Agric. Univ. P.R. 105(2):203-221 (2021)

RESUMEN

El gusano de la mazorca [*Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae)], una plaga económica importante en el maíz (*Zea mays* L.), puede causar pérdidas de rendimiento mayores al 15 %. El método más eficiente para combatir esta plaga es el control químico; sin embargo, el uso excesivo de insecticidas ha causado resistencia a ciertos ingredientes activos. Los objetivos de esta investigación fueron: 1) evaluar el efecto de tres insecticidas biológicos, siete insecticidas orgánicos sintéticos y nueve combinaciones de insecticidas para el control de larvas de *H. zea* en bioensayos, y (2) corroborar la presencia de *H. zea* en larvas recolectadas en predios de maíz. Las larvas de *H. zea* de 12 a 28 mm de largo se colocaron en dietas artificiales a base de germen de trigo y fueron tratadas con 200 µL de solución de insecticida en dosis bajas y altas (0.02 a 9.60 g/L y 0.18 a 4.80 mL/L), de acuerdo con la etiqueta del producto. La mortalidad larval se evaluó a las 24, 48, 72, 96 y 120 h después de la aplicación de los insecticidas. Los tratamientos con mayor eficacia fueron clorpirifos y las combinaciones clorantraniliprol + *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Nematoda: Steinernematidae), nucleopoliedrovirus + *S. carpocapsae* y spinetoram + *S. carpocapsae*, que causaron más del 80 % de mortalidad de larvas provenientes de Isabela y Juana Díaz a las 48 h, mientras que, de larvas recolectadas en Lajas se obtuvieron esos mismos porcentajes de mortalidad a las 120 h a dosis altas. Los tratamientos menos efectivos fueron *Chromobacterium subtsugae* sp. nov. y nucleopoliedrovirus con menos del 10 y 45 % de mortalidad a las 120 h a dosis altas, respectivamente. Al

¹Manuscrito sometido a la Junta Editorial el 18 de marzo de 2021.

²Este trabajo fue financiado por el Instituto Nacional de Alimentos y Agricultura (NIFA, por sus siglas en inglés) del Departamento de Agricultura Federal, USDA-NIFA-HATCH (Proyecto #1012972).

³Exestudiante Graduada, Universidad de Puerto Rico, Departamento de Ciencias Agroambientales, Isabela, Puerto Rico 00662.

⁴Catedrático Asociado, Universidad de Puerto Rico, Departamento de Ciencias Agroambientales, Isabela, Puerto Rico 00662. *Autor para correspondencia: diego.viteri@upr.edu

⁵Catedrática Asociada, Universidad de Puerto Rico, Departamento de Ciencias Agroambientales, Lajas, Puerto Rico 00667.

⁶Catedrática, Universidad de Puerto Rico, Departamento de Ciencias Agroambientales, Juana Díaz, Puerto Rico 00795.

identificar las especies de *Helicoverpa*, se encontró que los 1,238 ejemplares recolectados fueron *H. zea*.

Palabras clave: insecticidas, larvas, mortalidad, resistencia

ABSTRACT

Bioassays of biological and organic synthetic insecticides for corn earworm [*Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae)] larvae

The corn earworm [*Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae)], an important pest of corn (*Zea mays* L.), causes yield losses of more than 15%. The most efficient method to combat this pest is chemical control. However, excessive use of insecticides has caused the development of resistance to some active ingredients. The objectives of this research were: 1) to evaluate the effect of three biological insecticides, seven organic synthetic insecticides and nine insecticide combinations to control *H. zea* larvae in bioassays, and (2) to corroborate the presence of *H. zea* from larvae collected in sweet corn fields. Larvae (12 to 28 mm) were placed on artificial diets based on wheat germ and they were treated with 200 µL of insecticide solution at low and high dosages (0.02 to 9.60 g/L and 0.18 to 4.80 mL/L), following the product label. Larval mortality was evaluated at 24, 48, 72, 96 and 120 h after applying the insecticides. The most effective treatments were the chlorpyrifos and the combinations chlorantraniliprole + *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Nematoda: Steinernematidae); nucleopolyhedrovirus + *S. carpocapsae*, and spinetoram + *S. carpocapsae*, which caused more than 80% of larval mortality at 48 h in Isabela and Juana Díaz, while in Lajas the same percentages of mortality were obtained at 120 h at high dosages. The least effective treatments were *Chromobacterium subtsugae* sp. nov. and nucleopolyhedrovirus with less than 10 and 45 % mortality, respectively, at 120 h and at high doses. All 1,238 specimens were identified as *H. zea*.

Key words: insecticides, larvae, mortality, resistance

INTRODUCCIÓN

El gusano de la mazorca, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), es considerado una plaga nativa de América (Luttrell y Jackson, 2012), distribuida en Norteamérica, Suramérica y el Caribe. En estado normal se distinguen seis estadios larvarios, que pueden tener diferentes colores y tonos, y pueden medir desde uno hasta 25 mm de longitud a los 28 días después de la eclosión (Olmstead et al., 2016). Las larvas de *H. zea* se alimentan de tejido de mazorcas y granos de maíz (*Zea mays* L.) ocasionando pérdidas en el rendimiento de hasta un 20 % (Bentivenha et al., 2016; Bohnenblust et al., 2013; Sahoo y Senapati, 2000).

Se han empleado diversos métodos para el control de *H. zea* en maíz, entre ellos podemos mencionar el control biológico, mediante el uso de parasitoides, predadores, microorganismos, además de utilizar extractos de plantas (Olmstead et al., 2016). Por ejemplo, *Trichogramma* spp.

(Hymenoptera: Trichogrammatidae) es un importante parasitoide de huevos de *H. zea* (Manandhar y Wright, 2015). Además, existen otros agentes entomopatógenos que han sido empleados para el biocontrol de *H. zea*, como el hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo y Vuillemin); los nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis heliothidis* (Khan, Brooks y Hirschmann) (Nematoda: Rhabditida: Heterorhabditidae), *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Nematoda: Steinernematidae), *S. feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae), *S. riobravis* (Cabanillas, Poinar y Raulston) (Nematoda: Steinernematidae); la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Berliner); y el nucleopoliedrovirus (Cabanillas y Raulston, 1996; Chakraborty et al., 1999; Cook et al., 2003; Lua y Reid, 2000; Purcell et al., 1992; Reay-Jones, 2019; Wraight et al., 2010).

Entre los agentes de control biológico mencionados, el nucleopoliedrovirus ingresa a las larvas mediante el alimento que es consumido por estas e infectan las células intestinales ocasionando la muerte de las larvas en cuatro a 10 días (Nai et al., 2017). El nematodo *S. carpocapsae* ingresa al hospedero ya sea por la boca, espiráculos o ano de las larvas, y actúa desde la hemolinfa, donde liberan la bacteria *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), que rápidamente se multiplica y mata a las larvas por septicemia (Chaston et al., 2011). Otro método de control es mediante el empleo de genotipos de maíz que expresan las proteínas Cry1Ac, Cry2Ab (var. YieldGard Bt)⁷, Cry1Ab (var. DKC 80-12B, MON810), Cry1A.105 y Cry2Ab2 (var. DKC 80-12BGEN, MON89034) de *B. thuringiensis* (Botha et al., 2019; Reay-Jones, 2019). Además, existen variedades de maíz piramidadas con genes de *B. thuringiensis* para el control de *H. zea*, por ejemplo, Cry1A.105, Cry2Ab2 y Cry1F (híbridos SmartStaxTM) (Botha et al., 2019; Reay-Jones, 2019; Tabashnik et al., 2013; Van den Berg et al., 2013).

El uso de insecticidas convencionales y/o de nueva generación ha mostrado una mayor efectividad para el control de *H. zea*. Sin embargo, se requiere de varias aplicaciones para lograr un mayor control de esta plaga, lo que aumenta significativamente el costo de producción (Reisig, 2017). Los principales insecticidas registrados para el control de *H. zea* son: carbamatos, diamidas, espinosinas, organofosforados y piretroideos (Reisig y Kurtz, 2018). Los carbamatos y organofosforados actúan sobre el sistema nervioso y son inhibidores de la acetilcolinesterasa; los piretroideos afectan al sistema nervioso y son moduladores del canal de sodio; mientras que las espinosinas actúan sobre el receptor

⁷Los nombres de compañías y de marcas registradas solo se utilizan para proveer información específica y su uso no constituye garantía por parte de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico, ni endoso sobre otros productos o equipo que no se mencionan.

alostérico nicotínico de la acetilcolina. Las diamidas actúan sobre el sistema nervioso y muscular y son moduladores del receptor de la rianodina (Córdova et al., 2006; Tiwari y Stelinski, 2013).

Desafortunadamente, el uso excesivo de ciertos ingredientes activos ha causado resistencia del gusano de la mazorca a los insecticidas orgánicos sintéticos. Por ejemplo, se ha reportado resistencia de larvas de *H. zea* a insecticidas convencionales dentro del subgrupo de organofosforados y piretroides (Abd-Elghafar et al., 1993; Bentivenha et al., 2016; Filho et al., 2002; Pietrantonio et al., 2007; Reisig y Kurtz, 2018). Jacobson et al. (2009) evaluaron la resistencia a piretroides en larvas de *H. zea* de tercer estadio, mediante la aplicación tópica del insecticida bifentrina en dosis desde 0.02 hasta 6.00 µg de producto disuelto en acetona, colocando 1 uL de la solución (bifentrina+acetona) en el tergum (torax) de 30 larvas de *H. zea*. Los autores encontraron sinergismo negativo entre el insecticida bifentrina y el producto butóxido de piperonilo (inhibidor de enzimas oxidativas que degradan a los insecticidas). Por otro lado, Hutchison et al. (2007) observaron resistencia a piretroides en bioensayos en adultos de *H. zea* con un 44 a 66 % de supervivencia a 5 µg de cipermetrina y hasta 45 % de supervivencia a 10 µg.

En Puerto Rico, recientemente da Silva et al. (2020) publicaron su investigación referente a la respuesta de larvas de *H. zea* a indoxacarb, metomilo, spinetoram y spinosad, de los cuales los dos últimos produjeron alta mortalidad de larvas (> 90 %) en concentraciones letales CL₉₀ de 0.68 µg de ingrediente activo (i.a.)/cm² y 3.30 µg i.a./cm², respectivamente, seguidos por metomilo, y el menos tóxico fue indoxacarb. En este estudio no se reportó resistencia de *H. zea* a ninguno de los insecticidas evaluados. Sin embargo, es importante encontrar otras alternativas efectivas para el manejo de *H. zea*, con otros ingredientes activos evaluados en estadios larvarios tardíos, para evitar o retrasar la resistencia y poder establecer rotaciones de insecticidas eficientes. Los objetivos de la presente investigación fueron: 1) evaluar el efecto de tres insecticidas biológicos, siete insecticidas orgánicos sintéticos y nueve combinaciones de insecticidas para el control de larvas de *H. zea* mediante bioensayos, y (2) corroborar la presencia de *H. zea* en larvas/adultos recolectados en predios de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de larvas y bioensayos

Se recolectaron larvas de *H. zea* de cuarto (longitudes de larvas de 12 a 18 mm) y quinto estadio (19 a 28 mm), provenientes de predios

experimentales de maíz dulce ‘Suresweet 2011’ (Beaver et al., 2011), localizados en las Subestaciones Experimentales Agrícolas de Isabela ($18^{\circ} 27' 46''$ latitud norte; $67^{\circ} 02' 05''$ longitud oeste), Juana Díaz ($18^{\circ} 03' 09''$ latitud norte; $66^{\circ} 30' 24''$ longitud oeste), y Lajas ($18^{\circ} 01' 03''$ latitud norte; $67^{\circ} 04' 25''$ longitud oeste), de la Universidad de Puerto Rico. Los periodos de recolección fueron: agosto a noviembre del 2017; enero a marzo del 2018; junio y octubre del 2018 y enero del 2019.

Las larvas se mantuvieron en dietas artificiales elaboradas a base de germen de trigo (Frontier Scientific Services, Estados Unidos). Se usaron cuatro dosificaciones para los 19 tratamientos utilizados que fueron aplicados el día que se recolectaron las larvas. Sin embargo, en el presente trabajo solo se reportaron los porcentajes de mortalidad obtenidos con las dosis mínimas y máximas, según descritas en el Cuadro 1. Los ensayos se establecieron en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y cada repetición estuvo constituida por 15 larvas tratadas con $200 \mu\text{L}$ de solución de los diferentes tipos de insecticidas por dosis (Total= 60 larvas). Además, se incluyó un tratamiento a base de agua destilada con el mismo número de larvas para evaluar la mortalidad larval atribuida a efectos no relacionados con la aplicación de insecticidas (e.g., factores abióticos y parasitoides). Las larvas se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio de 18 a 20 °C, con un fotoperiodo 12:12 h día: noche. Se registró la mortalidad larval a las 24, 48, 72, 96 y 120 h después de la aplicación de los insecticidas.

Análisis estadístico

Se corrigió el porcentaje de mortalidad con base al control mediante la fórmula de Abbott (Fleming y Retnakaran, 1985). Se realizaron análisis de varianza, y todas las medias de los tratamientos fueron comparadas con el control (agua destilada) mediante la prueba de Tukey (HSD) al < 0.05 % de probabilidad utilizando el Software estadístico SAS (PROC GLIMMIX; SAS, 2012).

Corroborar la presencia de *H. armigera* y *H. zea* en maíz

Una parte de los adultos de *Helicoverpa* spp. se recolectaron en trampas con cebos de feromonas (Scentsy®, Estados Unidos). Las larvas fueron recolectadas en campos de maíz y fueron criadas hasta adultos en las dietas artificiales previamente mencionadas. Para la identificación, se extrajeron los abdómenes de los adultos machos y se colocaron en hidróxido de potasio (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) al 10 % durante 12 h aproximadamente. La presencia de un lóbulo y menos de 12 cornutis en el edeago vs. tres lóbulos y más de 15 cornutis, permitió discriminar entre *H. armigera* y *H. zea*, respectivamente (Brambila, 2009).

CUADRO 1.—Insecticidas y dosis de laboratorio utilizadas para el control de larvas de *Helicoverpa zea* (*Boddie*) (*Lepidoptera: Noctuidae*), provenientes de las Subestaciones Experimentales Agrícolas de Isabela, Juana Díaz y Lares de la Universidad de Puerto Rico en el 2017, 2018 y 2019.

Insecticidas	Ingrediente activo y porcentaje	Grupo principal o subgrupo	Nombre comercial	Casa comercial	Dosis de laboratorio (g o ml/L)	
					Máximas	Mínimas
Insecticidas biológicos						
<i>Bacillus thuringiensis</i> 6.40 %	11 A	Dipel®DF	Bayer	1.20 g	4.80 g	
<i>Chromobacterium subisugae</i> 30 %	UNB	Grandevø®	Marrone Bio Innovations AgBioTech	2.40 g 0.18 ml	9.60 g 0.36 ml	
Nucleopolihedrovirus 32 %	31 (baculovirus)	Heligen®	Koppert Biological Systems	1.20 g + 2.50 ml	3.00 g + 2.50 ml	
<i>Steinernema carpocapsae</i> (SC) 86 % + aceite de semilla de <i>Brassica napus</i> L. (aditivo)	UNB	Capsanem + Addit				
Insecticidas no convencionales						
Clorantraniliprol 18.40 %	28 (diamidas)	Coragen®	DuPont	0.34 ml	0.64 ml	
Emamectina benzoato 2.12 %	6 (avermetectinas)	Proclaim®@05SG	Syngenta	0.02 g	0.12 g	
Spinetoram 11.70 %	5 (espinosinas)	Radiant®SC	Dow AgroSciences	0.38 ml	1.46 ml	
Insecticidas convencionales						
Ciflutrina-beta 12.70 %	3 A (piretroides)	Baythroid®XL	Bayer	0.24 ml	0.42 ml	
Clorpirimifos 44.90 %	1 B (organofosforados)	Warhawk®	Loveland	2.40 ml	4.80 ml	
Metomil 90 %	1 A (carbamatos)	Lannate®SP	DuPont	0.60 ml	2.40 ml	
Combinaciones						
<i>C. subisugae</i> + clorantraniliprol	—	—	—	2.40 g + 0.34 ml	9.60 g + 0.64 ml	
<i>C. subisugae</i> + nucleopolihedrovirus	—	—	—	2.40 g + 0.18 ml	9.60 g + 0.36 ml	
<i>C. subisugae</i> + SC + aceite	—	—	—	2.40 g + 1.20 g + 2.50 ml	9.60 g + 3.00 g + 2.50 ml	
<i>C. subisugae</i> + spinetoram	—	—	—	2.40 g + 0.38 ml	9.60 g + 1.46 ml	
Clorantraniliprol + nucleopolihedrovirus	—	—	—	0.34 ml + 0.18 ml	0.64 ml + 0.36 ml	
Clorantraniliprol + SC + aceite	—	—	—	0.34 ml + 1.20 g + 2.50 ml	0.64 ml + 3.00 g + 2.50 ml	
Nucleopolihedrovirus + SC + aceite	—	—	—	0.18 ml + 1.20 g + 2.50 ml	0.36 ml + 3.00 g + 2.50 ml	
Nucleopolihedrovirus + spinetoram	—	—	—	0.18 ml + 0.38 ml	0.36 ml + 1.46 ml	
Spinetoram + SC + aceite	—	—	—	0.38 ml + 1.20 g + 2.50 ml	1.46 ml + 3.00 g + 2.50 ml	

RESULTADOS

Entre los bioinsecticidas, las aplicaciones de *C. subtsugae* causaron bajos porcentajes de mortalidad en dosis mínimas y máximas, respectivamente, en las localidades de Isabela (10, 6.67 %), Juana Díaz (12, 5.93 %) y Lajas (8.93, 3.57 %) a las 120 h, seguido por *B. thuringiensis* y nucleopoliedrovirus que causaron porcentajes de mortalidad menores al 45 % a las 120 h en todos los experimentos (Cuadros 2, 3 y 4). Lo contrario sucedió con las aplicaciones del nematodo entomopatógeno *S. carpocapsae*, que ocasionaron 80.09 y 100 % de mortalidad de larvas a las 120 h en Isabela, 54.17 y 83.33 % en Juana Díaz, y 63.99 y 94.38 % en Lajas, en dosis mínimas y máximas, respectivamente.

El clorantraniliprol ocasionó mortalidades de 55 y 65 % en Isabela, 59.86 y 91.07 % en Juana Díaz, y 7.69 y 43.41 % en Lajas en dosis mínimas y máximas, respectivamente. Los insecticidas emamectina benzoate y spinetoram, en dosis máximas superaron el 70 % de mortalidad a las 120 h en Isabela y Juana Díaz, pero en Lajas los resultados fueron inferiores al 54 %. Del mismo modo, estos insecticidas aplicados en dosis mínimas produjeron 38.75 y 56.68 % de mortalidad en Isabela a las 120 h, pero en Juana Díaz se observó que emamectina benzoate provocó solo el 15.56 % de mortalidad larval, mientras que spinetoram causó 62.66 % de mortalidad. Sin embargo, en Lajas los dos insecticidas mencionados no superaron el 24.10 % de mortalidad a las 120 h de evaluación al ser aplicados en las dosis mínimas (Cuadros 2, 3 y 4).

Ciflutrina-beta y metomilo, causaron mortalidad de larvas menores al 65.27 % en Isabela y 19.58 % en Juana Díaz a las 120 h, tanto en dosis mínimas como en dosis máximas (Cuadro 2 y 3). En Lajas, se observó que ciflutrina-beta produjo 36.38 y 60.97 % de mortalidad en dosis mínimas y máximas, respectivamente, mientras que metomilo no superó el 10.71 % de mortalidad larval en ambas dosis a las 120 h. Clorpirifos ocasionó los mayores porcentajes de mortalidad larval, con valores superiores al 73.75 y 94.17 % en dosis mínimas y máximas, respectivamente, en todas las localidades a las 48 h después de su aplicación (Cuadros 2, 3 y 4).

Las larvas expuestas a las combinaciones de *C. subtsugae* + nucleopoliedrovirus tuvieron una mortalidad de 5 y 8.85 % en Isabela, 12.05 y 13.81 % en Juana Díaz, y 15.83 y 25.30 % en Lajas a las 120 h, en dosis mínimas y máximas, respectivamente. La combinación de clorantraniliprol + *S. carpocapsae* provocó el 72.50 (dosis mínimas) y 98.33 % (dosis máximas) de mortalidad larval a las 24 h después de la aplicación de la mezcla en Isabela, y más del 89.88 % en Juana Díaz a las 48 h, independientemente de la dosis usada (Cuadro 3). En Lajas, la misma combinación causó un 30.36 (dosis mínimas) y un 85.03 %

CUADRO 2.—Porcentaje de mortalidad del gusano de la mazorca [*Helicoverpa zea* (*Boddie*) (Lepidoptera: Noctuidae)], en cuarto y quinto estadio larvario, evaluados desde 24 a 120 h en la Subestación de Isabela de la Universidad de Puerto Rico, durante los años 2017, 2018 y 2019.

Insecticidas	24 h		48 h		72 h		96 h		120 h	
	Dosis		Dosis		Dosis		Dosis		Dosis	
	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas
Control (agua destilada)	0.00 a ¹	0.00 a	0.00 a	0.00 a						
Insecticidas biológicos										
<i>Bacillus thuringiensis</i> 6.40 %	5.00 a	0.00 a	6.67 a	17.08 a	15.00 a	17.08 b	20.00 a	27.50 b	32.08 b	29.17 b
<i>Chromobacterium subtsugae</i> 30 %	1.67 a	3.33 a	1.67 a	3.33 a	1.67 a	3.33 a	1.67 a	3.33 a	10.00 a	6.67 a
Nucleopolydnavirus 32 %	1.67 a	5.00 a	8.33 a	10.00 a	11.92 a	10.00 a	11.92 a	20.00 a	24.10 a	44.36 b
<i>Steinernema carpocapsae</i> (SC) 86 % + aceite	10.24 a	40.11 b	28.15 b	88.69 b	66.37 b	96.13 b	73.81 b	100.00 b	80.09 b	100.00 b
Insecticidas no convencionales										
Clorantraniliprol 18.40 %	5.00 a	6.67 a	6.79 a	6.67 a	20.87 b	19.34 b	40.07 b	38.31 b	55.00 b	65.00 b
Emamectina benzoato 2.12 %	0.00 a	0.00 a	4.17 a	23.75 a	5.83 a	45.42 b	18.75 a	66.25 b	38.75 b	73.33 b
Spinetoram 11.70 %	10.26 a	20.95 a	20.18 a	37.06 b	29.76 b	43.81 b	46.43 b	62.62 b	56.68 b	72.94 b
Insecticidas convencionales										
Ciflutrina-beta 12.70 %	58.45 b	53.69 b	58.45 b	53.69 b	64.84 b	53.69 b	64.84 b	53.69 b	65.27 b	55.31 b
Clorpirifos 44.90 %	65.38 b	85.90 b	73.75 b	94.17 a	77.08 b	97.92 b	79.17 b	97.92 b	84.58 b	97.92 b
Metomil 90 %	0.00 a	26.67 b	0.00 a	33.33 b	7.69 a	33.33 b	22.05 a	33.33 b	47.44 b	43.33 b

¹Promedios con letra b son estadísticamente diferentes al control.

CUADRO 2.—(Continuación) Porcentaje de mortalidad del gusano de la mazorca /Helicoverpa zea (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), en cuarto y quinto estadio larvario, evaluados desde 24 a 120 h en la Subestación de Isabela de la Universidad de Puerto Rico, durante los años 2017, 2018 y 2019.

Insecticidas	24 h		48 h		72 h		96 h		120 h	
	Dosis		Dosis		Dosis		Dosis		Dosis	
	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas
Combinaciones										
<i>C. subisugae</i> + clorantraniliprol	0.00 a	15.26 a	0.00 a	21.36 b	1.79 a	25.07 b	1.79 a	33.08 b	1.79 a	60.71 b
<i>C. subisugae</i> + nucleopoliédrovirus	0.00 a	0.00 a	1.67 a	0.00 a	1.67 a	1.67 a	3.33 a	1.67 a	5.00 a	8.85 a
<i>C. subisugae</i> + SC + aceite	7.18 a	1.67 a	20.27 a	7.04 a	38.74 b	8.97 a	46.51 b	20.03 a	46.72 b	29.07 b
<i>C. subisugae</i> + spinetoram	11.92 a	20.77 a	17.44 a	40.05 b	26.52 b	58.86 b	34.39 b	65.61 b	43.68 b	74.37 b
Clorantraniliprol + nucleopoliédrovirus	15.00 a	13.33 a	18.33 a	43.46 b	23.33 b	73.33 b	23.33 b	80.00 b	66.41 b	96.67 b
Clorantraniliprol + SC + aceite	72.50 b	98.33 b	94.64 b	100.00 b	94.64 b	100.00 b	95.83 b	100.00 b	97.92 b	100.00 b
Nucleopoliédrovirus + SC + aceite	27.69 b	44.87 b	86.41 b	93.08 b	96.67 b	100.00 b	98.33 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b
Nucleopoliédrovirus + spinetoram	6.67 a	11.67 a	27.69 b	21.92 b	36.03 b	36.54 b	47.69 b	46.79 b	64.87 b	75.90 b
Spinetoram + SC + aceite	60.24 b	77.38 b	81.87 b	100.00 b	96.43 b	100.00 b	96.43 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b
Media	17.94	26.28	27.82	39.73	35.84	46.22	41.32	52.51	51.02	61.08

¹Promedios con letra b son estadísticamente diferentes al control.

CUADRO 3.—Porcentaje de mortalidad del gusano de la mazorca [*Helicoverpa zea* (*Boddie*) (*Lepidoptera: Noctuidae*)] en cuarto y quinto estadio larvario, evaluados desde 24 a 120 h en la Subestación de Juana Díaz de la Universidad de Puerto Rico, durante los años 2017, 2018 y 2019.

Insecticidas	24 h		48 h		72 h		96 h		120 h	
	Dosis		Dosis		Dosis		Dosis		Dosis	
	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas
Control (agua destilada)	0.00 a ¹	0.00 a								
Insecticidas biológicos										
<i>Bacillus thuringiensis</i> 6.40 %	6.67 a	3.33 a	12.16 a	10.24 a	19.58 a	16.36 a	19.87 a	30.51 a	23.72 a	37.69 b
<i>Chromobacterium subtsugae</i> 30 %	6.67 a	1.67 a	10.24 a	1.67 a	12.02 a	1.67 a	12.02 a	1.92 a	12.02 a	5.93 a
Nucleopoliérviru 32 %	5.12 a	1.67 a	6.79 a	3.45 a	13.69 a	3.45 a	18.69 a	12.04 a	18.69 a	19.94 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> (SC) 86 % + aceite	0.00 a	8.33 a	20.83 a	68.75 b	20.83 a	79.17 b	41.67 b	83.33 b	54.17 b	83.33 b
Insecticidas no convencionales										
Clorantraniliprol 18.40 %	33.46 b	25.77 a	43.55 b	47.26 b	49.05 b	71.08 b	49.05 b	82.17 b	59.86 b	91.07 b
Emamectina benzoato 2.12 %	5.00 a	18.33 a	10.24 a	39.76 b	10.24 a	49.74 b	10.42 a	65.13 b	15.56 a	74.94 b
Spinetoram 11.70 %	8.59 a	42.56 b	20.23 a	58.15 b	38.02 b	63.92 b	54.27 b	75.73 b	62.66 b	81.48 b
Insecticidas convencionales										
Ciflutrina-beta 12.70 %	7.22 a	24.44 a	7.22 a	16.67 a	7.22 a	17.92 a	7.22 a	19.58 a	7.22 a	19.58 a
Clorpirimfos 44.90 %	100.00 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b
Metomilo 90 %	5.00 a	6.67 a	7.04 a	16.67 a	10.73 a	16.67 a	18.72 a	16.67 a	18.72 a	16.67 a

¹Promedios con letra b son estadísticamente diferentes al control.

CUADRO 3.—(Continuación) Porcentaje de mortalidad del gusano de la mazorca (*Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae)] en cuarto y quinto estadio larvario, evaluados desde 24 a 120 h en la Subestación de Juana Díaz de la Universidad de Puerto Rico, durante los años 2017, 2018 y 2019.

Insecticidas	24 h		48 h		72 h		96 h		120 h	
	Dosis		Dosis		Dosis		Dosis		Dosis	
	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas
Combinaciones										
<i>C. subisuga</i> + clorantraniliprol	13.33 a	31.67 b	21.67 a	45.83 b	32.85 b	67.95 b	41.51 b	72.72 b	56.28 b	86.15 b
<i>C. subisuga</i> + nucleopoliédrovirus	3.59 a	5.00 a	3.71 a	6.79 a	8.83 a	10.24 a	8.83 a	10.24 a	12.05 a	13.81 a
<i>C. subisuga</i> + SC + aceite	10.00 a	5.00 a	21.67 a	17.08 a	49.04 b	45.03 b	68.37 b	60.19 b	72.95 b	73.04 b
<i>C. subisuga</i> + spinetoram	37.14 b	18.33 a	43.64 b	36.48 b	80.56 b	45.81 b	91.17 b	60.98 b	100.00 b	70.15 b
Clorantraniliprol + nucleopoliédrovirus	45.83 b	21.90 a	45.83 b	19.30 a	51.76 b	27.43 b	75.63 b	37.91 b	86.86 b	59.98 b
Clorantraniliprol + SC + aceite	34.64 b	43.10 b	89.88 b	100.00 b	98.33 b	100.00 b				
Nucleopoliédrovirus + SC + aceite	22.02 a	49.40 b	67.14 b	80.83 b	96.15 b	92.56 b	96.15 b	94.49 b	100.00 b	100.00 b
Nucleopoliédrovirus + spinetoram	17.02 a	10.00 a	39.04 b	32.77 b	46.61 b	44.21 b	50.07 b	55.58 b	66.55 b	71.07 b
Spinetoram + SC + aceite	45.83 b	71.19 b	89.52 b	95.00 b	94.76 b	100.00 b	94.76 b	100.00 b	98.33 b	100.00 b
Media	20.36	24.92	33.02	39.84	42.01	47.66	47.92	53.96	53.28	60.24

¹Promedios con letra b son estadísticamente diferentes al control.

CUADRO 4.—Porcentaje de mortalidad del gusano de la mazorca [*Helicoverpa zea* (*Boddie*) (Lepidoptera: Noctuidae)] en cuarto y quinto estadio larvario, evaluados desde 24 a 120 h en la Subestación de Lajas de la Universidad de Puerto Rico, durante los años 2017, 2018 y 2019.

Insecticidas	24 h		48 h		72 h		96 h		120 h	
	Dosis		Dosis		Dosis		Dosis		Dosis	
	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas	Mínimas	Máximas
Control (agua destilada)	0.00 a ¹	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
Insecticidas biológicos										
<i>Bacillus thuringiensis</i> 6.40 %	1.67 a	0.00 a	8.33 a	20.51 b	16.92 b	31.03 b	22.44 b	39.87 b	22.44 b	39.87 b
<i>Chromobacterium subtsugae</i> 30 %	5.00 a	0.00 a	5.00 a	1.67 a	5.36 a	3.57 a	5.36 a	3.57 a	8.93 a	3.57 a
Nucleopoliérvirus 32 %	1.67 a	1.67 a	1.67 a	3.33 a	1.79 a	3.57 a	1.79 a	3.57 a	5.36 a	9.23 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> (SC) 86 % + aceite	0.00 a	3.33 a	5.10 a	42.60 b	23.50 b	81.05 b	47.94 b	89.03 b	63.99 b	94.38 b
Insecticidas no convencionales										
Clorantraniliprol 18.40 %	0.00 a	3.33 a	1.67 a	11.90 a	1.67 a	15.71 a	3.59 a	15.71 a	7.69 a	43.41 b
Emamectina benzoato 2.12 %	15.00 b	31.03 b	15.00 b	31.03 b	22.18 b	39.62 b	24.10 b	39.62 b	24.10 b	53.72 b
Spinetoram 11.70 %	0.00 a	6.90 a	5.63 a	17.50 a	10.75 a	30.01 b	10.75 a	30.01 b	13.04 a	35.09 b
Insecticidas convencionales										
Ciflutrina-beta 12.70 %	11.67 a	40.00 b	26.07 b	43.57 b	31.74 b	43.57 b	32.56 b	54.87 b	36.38 b	60.97 b
Clorpirifos 44.90 %	68.33 b	83.33 b	92.86 b	100.00 b	94.64 b	100.00 b	94.23 b	100.00 b	94.23 b	100.00 b
Metomilo 90 %	0.00 a	10.24 a	6.67 a	10.24 a	10.00 a	10.24 a	10.00 a	10.24 a	10.00 a	10.71 a

¹Promedios con letra b son estadísticamente diferentes al control.

CUADRO 4.—(Continuación) Porcentaje de mortalidad del gusano de la mazorca /Helicoverpa zea (*Boddie*) (Lepidoptera: Noctuidae)] en cuarto y quinto estadio larvario, evaluados desde 24 a 120 h en la Subestación de Lejas de la Universidad de Puerto Rico, durante los años 2017, 2018 y 2019.

Insecticidas	24 h		48 h		72 h		96 h		120 h	
	Dosis		Dosis		Dosis		Dosis		Dosis	
	Mínimas	Máximas								
Combinaciones										
<i>C. subisugae</i> + clorantraniliprol	8.33 a	16.67 a	18.81 b	23.69 a	26.19 b	41.67 b	35.48 b	42.38 b	43.75 b	42.38 b
<i>C. subisugae</i> + nucleopoliedrovirus	1.67 a	10.00 a	3.33 a	13.33 a	6.79 a	15.24 a	15.83 b	19.29 a	15.83 a	25.30 b
<i>C. subisugae</i> + SC + aceite	10.00 a	18.33 b	35.12 b	63.69 b	40.95 b	72.02 b	48.45 b	76.79 b	54.17 b	76.79 b
<i>C. subisugae</i> + spinetoram	1.67 a	47.62 b	1.67 a	67.14 b	5.24 a	84.52 b	12.14 a	89.64 b	17.14 a	91.43 b
Clorantraniliprol + nucleopolihedrovirus	6.79 a	22.14 b	8.59 a	27.44 b	16.92 a	34.36 b	27.69 b	48.46 b	32.69 b	67.82 b
Clorantraniliprol + SC + aceite	0.00 a	3.33 a	5.24 a	39.88 b	22.98 b	72.26 b	24.23 b	76.28 b	30.36 b	85.03 b
Nucleopoliedrovirus + SC + aceite	5.00 a	20.12 b	50.38 b	77.95 b	67.56 b	85.64 b	83.08 b	92.56 b	88.08 b	92.56 b
Nucleopoliedrovirus + spinetoram	24.17 b	17.18 a	38.33 b	52.44 b	48.45 b	56.28 b	53.69 b	65.22 b	63.93 b	78.65 b
Spinetoram + SC + aceite	17.38 a	84.40 b	48.57 b	94.64 b	74.40 b	96.43 b	76.19 b	98.21 b	79.52 b	98.21 b
Media	8.92	20.98	18.90	37.13	26.40	45.84	31.48	49.77	35.58	55.46

¹Promedios con letra b son estadísticamente diferentes al control.

(dosis máximas) de mortalidad larval a las 120 h. Las combinaciones de nucleopoliedrovirus + *S. carpocapsae* y spinetoram + *S. carpocapsae* ocasionaron porcentajes de mortalidad superior al 81.87 % a partir de las 48 h después de la aplicación en dosis mínimas, y mayores al 93.08 % en dosis máximas en Isabela (Cuadro 2). De igual forma las mismas combinaciones ocasionaron porcentajes de mortalidad de larvas superiores al 67.14 % en Juana Díaz en dosis mínimas y 80.83 % en dosis máximas a las 48 h (Cuadro 3) y más del 67.56 % en dosis mínimas y de 85.64 % en dosis máximas a las 72 h en Lajas (Cuadro 4).

*Corroborar la presencia de *H. zea**

Se trabajó con la identificación morfológica de 1,238 adultos machos, de los cuales 544 fueron recolectados en Isabela, 510 en Lajas y 184 en Juana Díaz. Todos los especímenes fueron identificados como *H. zea*.

DISCUSIÓN

Aplicaciones con *B. thuringiensis* causaron menos del 40 % de mortalidad de larvas a las 120 h en el presente estudio, lo que sugiere la resistencia de las poblaciones de *H. zea* de las tres localidades a este insecticida biológico. Little et al. (2019), Welch et al. (2015) y Yang et al. (2019, 2020) también reportaron resistencia de larvas de *H. zea* para insecticidas a base de las endotoxinas Cry y Vip en diferentes poblaciones en ensayos de campo y laboratorio. Igualmente, otras investigaciones señalan que el insecticida desarrollado a base de *B. thuringiensis* subesp *kurstaki* cepa: ABTS-351 (ej., Dipel®DF) presenta menor toxicidad para *H. zea* en comparación a otras cepas de *B. thuringiensis* como, GM-7, GM-IB-92, HD1, IB-62 e IB-7 (Ornelas et al., 2016). De igual forma, larvas expuestas a nucleopoliedrovirus no alcanzaron porcentajes de mortalidad mayores al 45 % a las 120 h usando dosis máximas. A diferencia de los resultados presentados en este estudio, otras investigaciones muestran que larvas de *H. zea* recién emergidas y expuestas a nucleopoliedrovirus tuvieron más del 70 % de mortalidad (Rowley et al., 2011). Adicionalmente, tomando como referencia a *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), por el número de investigaciones que se han realizado respecto al efecto de nucleopoliedrovirus en esta plaga, se conoce que en India y en Turquía reportan porcentajes de mortalidad superiores a 80 % a los 14 días de evaluación en larvas de segundo estadio (Cherry et al., 2000; Eroğlu et al., 2019; Scholz et al., 1998). En este contexto, la baja eficacia de nucleopoliedrovirus en nuestros experimentos se podría atribuir al tamaño larval y tiempo de evaluación, ya que se

usaron larvas de cuarto y quinto estadio evaluadas cinco días después de la aplicación del insecticida. En las larvas tratadas con *C. subtsugae*, los porcentajes de mortalidad fueron aún más bajos (15 %) en todos los ensayos evaluados, por lo que este no sería un agente de control biológico recomendado para un control inmediato de larvas en estadios tardíos en aplicaciones de campo. No se han reportado investigaciones sobre la eficacia de *C. subtsugae* en el control de *H. zea*, sin embargo, en otros lepidópteros como las larvas de la palomilla gitana [*Lymantria dispar* (Linnaeus) (Lepidoptera: Erebidae)] y el gusano de tabaco [*Manduca sexta* (Linnaeus) (Lepidoptera: Sphingidae)], las aplicaciones de *C. subtsugae* no ocasionaron mortalidad en las larvas, y únicamente se observó una disminución del peso de hasta un 40 % (Martin, 2004; Martin et al., 2007). Por consiguiente, se recomendaría realizar estudios enfocados en la reducción del tamaño y peso, cambios en los patrones de alimentación, y porcentaje de mortalidad en evaluaciones de más de cinco días en larvas de *H. zea* expuestas a *C. subtsugae* e incluso a nucleopoliedrovirus. Además, sería importante verificar la eficacia de *C. subtsugae* sobre neonatos y larvas de segundo y tercer estadio. Contrario a los bioinsecticidas mencionados, las aplicaciones con *S. carpocapsae* causaron mortalidades superiores al 79 %. Cabanillas y Raulston (1996) también reportaron mortalidades en larvas de *H. zea* de hasta 77 % cuando se aplicó *S. carpocapsae*. Por consiguiente, sería importante evaluar la eficacia de este nematodo entomopatógeno en aplicaciones dirigidas a mazorcas. Otros estudios han reportado que, en condiciones de campo, *S. carpocapsae* puede reducir la población de *H. zea* y *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en más de un 53 % (Purcell et al., 1992; Richter y Fuxa, 1990).

Los porcentajes de mortalidad de larvas ocasionados por las aplicaciones de spinetoram a dosis máximas fueron inferiores a los reportados por da Silva et al. (2020), donde spinetoram y spinosad (espino-sinas) causaron el 90 % de mortalidad en larvas de *H. zea* a dosis de 0.68 y 3.30 µg i.a./cm², respectivamente, a las 48 h de evaluación. Por lo tanto, diferencias en los porcentajes de mortalidad de larvas de *H. zea* expuestas a spinetoram podrían estar relacionadas con el tamaño larval y el método de aplicación usado. De lo mencionado anteriormente, en la presente investigación se trabajó con larvas en cuarto y quinto estadio, y con aplicaciones líquidas de los insecticidas sobre la larva comparado a da Silva et al. (2020) que utilizaron larvas de tercer estadio y los insecticidas fueron aplicados sobre la dieta. En general, los ingredientes activos clorantraniliprol, emamectina benzoato y spinetoram curiosamente tuvieron menor eficacia en Lajas, reflejados en bajos porcentajes de mortalidad, que podrían deberse a que las poblaciones

de *H. zea* son expuestas de forma constante a estos ingredientes activos en siembras de incremento de maíz o soya [*Glycine max* (L.) Merr.] realizadas por empresas privadas en el valle de Lajas.

Aplicaciones de los insecticidas cifultrina-beta y metomilo causaron porcentajes de mortalidad larval menor al 66 % en las tres localidades. Los piretroides y carbamatos han sido los insecticidas más utilizados para el control de plagas en maíz, por los que su moderada y baja eficacia era de esperarse. Estudios previos realizados en Puerto Rico reportan que metomilo produjo el 50 % de mortalidad de larvas de tercer estadio, en concentraciones de 0.18 µg i.a./cm², siendo menos tóxico para *H. zea* que el insecticida spinetoram en poblaciones recolectadas en Isabela (da Silva et al., 2020). Bajo este contexto, las poblaciones de *H. zea* de Juana Díaz y Lajas tienen mayor resistencia a este ingrediente activo probablemente debido a sus aplicaciones recurrentes para el control de diferentes lepidópteros en siembras de cereales, hortalizas y leguminosas en estas regiones de la isla. Contrariamente, con clorpirifos los porcentajes de mortalidad larval fueron de 97 % a las 120 h en las tres localidades y se recomendaría el uso de este organofosforado para el control de infestaciones severas de *H. zea* (en aplicaciones mínimas debido a su alta toxicidad).

Las mezclas de *S. cariocapsae* con clorantraniliprol y spinetoram ocasionaron más de 75 % de mortalidad a las 48 h en las estaciones de Isabela y Juana Díaz; mientras que *S. cariocapsae* + nucleopoliedrovirus causaron valores similares de mortalidad en Lajas a dosis máximas en el mismo periodo de tiempo. Por lo tanto, es probable que las mezclas de estos ingredientes activos tengan un efecto sinergista, lo que da como resultado un aumento en el porcentaje de mortalidad en menor tiempo de exposición, a diferencia de cuando los insecticidas fueron aplicados de forma individual. Resultados similares usando mezclas de *S. cariocapsae* con clorantraniliprol y spinetoram fueron reportados en bioensayos para el gusano cogollero (*S. frugiperda*) por Viteri et al. (2018) y sería de suma importancia validar estos resultados en aplicaciones en el campo.

CONCLUSIONES

Aplicaciones del nematodo entomopatógeno *S. cariocapsae* causaron más del 80 % de mortalidad larval a las 96 h, en dosis máximas, siendo el único bioinsecticida eficiente en relación a *B. thuringiensis*, *C. subtsugae* y nucleopoliedrovirus, que causaron mortalidades menores al 45 % de *H. zea*. Los insecticidas clorpirifos, y las combinaciones clorantraniliprol + *S. cariocapsae* y spinetoram + *S. cariocapsae* cau-

saron sobre el 90 % de mortalidad de larvas de *H. zea* a las 48 h en Isabela, 72 h en Juana Díaz en dosis mínimas y máximas, y en Lajas mayor a 85 % a las 120 h en dosis máximas. El uso de estos insecticidas sería efectivo para aplicaciones en el campo.

LITERATURA CITADA

- Abd-Elghafar, S.F., C.O. Knowles y M. L. Wall, 1993. Pyrethroid resistance in two field strains of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 86: 1651-1655.
- Bentivenha, J.P., P. Moraes, E. Baldin, A. Specht, I. da Silva y T. Hunt, 2016. Battle in the New World: *Helicoverpa armigera* versus *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *PLoS ONE*. 11: 1-15.
- Beaver, J.S., B.R. Brunner y A. Armstrong, 2011. Release of sweet corn (*Zea mays* L.) open-pollinated cultivar Suresweet 2011. *J. Agric. Univ. P.R.* 95: 105-110. <https://doi.org/10.46429/jaupr.v95i1-2.2553>
- Bohnenblust, E., J. Breining, S. Fleischer, G. Roth y J. Tooker, 2013. Corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) in northeastern field corn: infestation levels and the value of transgenic hybrids. *J. Econ. Entomol.* 106: 1250-1259.
- Botha, A.S., A. Erasmus, H. du Plessis y J. Van den Berg, 2019. Efficacy of Bt maize for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. *J. Econ. Entomol.* 20: 1-7.
- Brambila, J., 2009. Instructions for dissecting male genitalia of *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) to separate *H. zea* from *H. armigera*. USDA-APHIS-PPQ. 1-16.
- Cabanillas, H.E. y J.R. Raulston, 1996. Effects of furrow irrigation on the distribution and infectivity of *Steinerinema riobravis* against corn earworm in corn. *J. Nematol.* 19: 273-281.
- Chakraborty, S., C. Monsour, R. Teakle y S. Reid, 1999. Yield, biological activity, and field performance of a wild-type *Helicoverpa* nucleopolyhedrovirus produced in *H. zea* cell cultures. *J. Invertebr. Pathol.* 73: 199-205.
- Chaston, J.M., G. Suen, S.L. Tucker, A.W. Andersen, A. Bhasin, E. Bode, H.B. Bode, A.O. Brachmann, C.E. Cowles, K.N. Cowles, C. Darby, L. de Léon, K. Drace, Z. Du, A. Givaudan, E.E. Herbert, K.A. Jewell, J.J. Knack, K.C. Krasomil, R. Kukor, A. Lanois, P. Latreille, N.K. Leimgruber, C.M. Lipke, R. Liu, X. Lu, E.C. Martens, P.R. Marri, C. Médigue, M.L. Menard, N.M. Miller, N. Morales, S. Norton, J.C. Ogier, S.S. Orchard, D. Park, Y. Park, B.A. Quroollo, D.R. Sugar, G.R. Richards, Z. Rouy, B. Slominski, K. Slominski, H. Snyder, B.C. Tjaden, R. van der Hoeven, R.D. Welch, C. Wheeler, B. Xiang, B. Barbazuk, S. Gaudriault, B. Goodner, S.C. Slater, S. Forst, B.S. Goldman y H. Goodrich, 2011. The entomopathogenic bacterial endosymbionts *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: convergent lifestyles from divergent genomes. *PLoS ONE*. 6: 1-13.
- Cherry, A.J., R.J. Rabindra, M.A. Parnell, N. Geetha, J.S. Kennedy y D. Grzywacz, 2000. Field evaluation of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus formulations for control of the chickpea pod-borer, *H. armigera* (Hubn.), on chickpea (*Cicer arietinum* var. Shoba) in southern India. *Crop Prot.* 19: 51-60.
- Cook, R., A. Carter, P. Westgate y R. Hazzard, 2003. Direct silk applications of corn oil and *Bacillus thuringiensis* as a barrier to corn earworm larvae in sweet corn. *HortTechnology*. 13: 509-514.
- Córdova, D., E.A. Benner, M.D. Sacher, J.J. Rauh, J.S. Sopa, G.P. Lahm, T.P. Selby, T.M. Stevenson, L. Flexner, S. Gutteridge, D.F. Rhoades, L. Wu, R.M. Smith y Y. Tao, 2006. Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pestic. Biochem. Phys.* 84: 196-214.
- da Silva, R., D. Trujillo, O. Bernardi, J.C. Rodriguez, W.D. Bailey, T.M. Gilligan y D. Carrillo, 2020. Comparative toxicity of *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. *Insects*. 11: 1-10.

- Eroğlu, G.B., R. Nalçacıoğlu y Z. Demirbağ, 2019. A new *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus isolate from *Heliothis peltigera* (Denis & Schiffermuller) (Lepidoptera: Noctuidae) in Turkey. *J. Turk. Biol.* 43: 340-348.
- Filho, M.M., T.M. Della, I. Cruz, R.N. Guedes y J.C. Galvão, 2002. Chlorpyrifos spraying of no-tillage corn during tasselling and its effect on damage by *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) and on its natural enemies. *J. Appl. Entomol.* 126: 422-430.
- Fleming, R y A. Retnakaran, 1985. Evaluating single treatment data using Abbott's formula with reference to insecticides. *J. Econ. Entomol.* 78: 1179-1181.
- Hutchison, W.D., E.C. Burkness, B. Jensen, B.R. Leonard, J. Temple y D.R. Cook, 2007. Evidence for decreasing *Helicoverpa zea* susceptibility to pyrethroid insecticides in the midwestern United States. *Plant. Health. Prog.* 8: 1-57.
- Jacobson, A., R. Foster, C. Krupke, W. Hutchison, B. Pittendrigh y R. Weinzierl, 2009. Resistance to pyrethroid insecticides in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in Indiana and Illinois. *J. Econ. Entomol.* 102: 2289-2295.
- Little, N., B. Elkins, R. Mullen, O. Perera, K. Parys, K. Allen y D. Boykin, 2019. Differences between two populations of bollworm, *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae), with variable measurements of laboratory susceptibilities to Bt toxins exposed to non-Bt and Bt cottons in large field cages. *PLoS ONE*. 14: 1-16.
- Lua, L.H. y S. Reid, 2000. Virus morphogenesis of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus in *Helicoverpa zea* serum-free suspension culture. *J. Gen. Virol.* 81: 2531-2543.
- Luttrell, R.G. y R.E. Jackson, 2012. *Helicoverpa zea* and Bt cotton in the United States. *GM Crops & Food*. 3: 213-27.
- Manandhar, R. y M.G. Wright, 2015. Enhancing biological control of corn earworm, *Helicoverpa zea* and thrips through habitat management and inundative release of *Trichogramma pretiosum* in corn cropping systems. *Biol. Control*. 89: 84-90.
- Martin, P.A., 2004. A stilbene optical brightener can enhance bacterial pathogenicity to gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Biocontrol. Sci. Technol.* 14: 375-383.
- Martin, P.A., D. Gundersen-Rindal, M. Blackburn y J. Buyer, 2007. *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., a betaproteobacterium toxic to colorado potato beetle and other insect pests. *Int. J. Syst. Evol. Micr.* 57: 993-999.
- Nai, Y.S., Y.F. Huang, T.H. Chen, K.P. Chiu y C.H. Wang, 2017. Determination of nucleopolyhedrovirus taxonomic position. *InTechOpen*. 8: 1-33.
- Olmstead, D.L., B.A. Nault y A.M. Shelton, 2016. Biology, ecology and evolving management of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in sweet corn in the United States. *J. Econ. Entomol.* 109: 1667-76.
- Ornelas, J.F., M.G. Maldonado, M. Elías, M. Flores, M.G. Lozano y L.J. Wong, 2016. Evaluación de la mortalidad causada por cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* y formulados preparados contra *Trichoplusia ni*, *Spodoptera exigua*, y *Helicoverpa zea*. *J. Southwest Entomol.* 41: 1095-1110.
- Pietrantonio, P.V., T.A. Junek, R. Parker, D. Mott, K. Siders, N. Troxclair, J. Vargas-Campilis, J. K. Westbrook y V.A. Vassiliou, 2007. Detection and evolution of resistance to the pyrethroid cypermethrin in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Texas. *Environ. Entomol.* 36: 1174-1188.
- Purcell, M., M.W. Johnson, L.M. Lebeck y A.H. Hara, 1992. Biological control of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) with *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinemematidae) in corn used as a trap crop. *Environ. Entomol.* 21: 1441-1447.
- Reay-Jones, P.F., 2019. Pest status and management of corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) in field corn in the United States. *J. Integr. Pest Manag.* 10: 1-19.
- Reisig, D.D., 2017. Factors associated with willingness to plant non-Bt maize refuge and suggestions for increasing refuge compliance. *J. Integrat. Pest Manag.* 8: 1-10.
- Reisig, D.D. y R. Kurtz, 2018. Bt Resistance implications for *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) insecticide resistance management in the United States. *Environ. Entomol.* 47: 1357-1364.
- Richter, A.R. y J.R. Fuxa, 1990. Effect of *Steinernema feltiae* on *Spodoptera frugiperda* and *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *J. Econ. Entomol.* 83: 1286-1291.

- Rowley, D.L., H.J. Popham y R.L. Harrison, 2011. Genetic variation and virulence of nucleopolyhedroviruses isolated worldwide from the heliothine pests *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea*, and *Heliothis virescens*. *J. Invertebr. Pathol.* 107: 112-126.
- Sahoo, B.K. y B. Senapati, 2000. Determination of economic thresholds for pod borer complex in pigeonpea. *Indian J. Pl. Prot.* 28: 176-179.
- SAS Institute, 2012. SAS/STAT user's manual, version 9.4. SAS Institute, Cary, NC.
- Scholz, B.C., C.J. Monsour y M.P. Zalucki, 1998. An evaluation of selective *Helicoverpa armigera* control options in sweet corn. *J. Aust. Exp. Agric.* 38: 1-8.
- Tabashnik, B.E., T. Brévault e Y. Carrière, 2013. Insect resistance to Bt crops: Lessons from the first billion acres. *J. Nat. Biotechnol.* 31: 510-521.
- Tiwari, S. y L.L. Stelinski, 2013. Effects of cyantraniliprole a novel anthranilic diamide insecticide, against Asian citrus psyllid under laboratory and field conditions. *Pest Manag. Sci.* 69: 1066-1072.
- Van den Berg, J., A. Hilbeck y T. Bohn, 2013. Pest resistance to Cry 1Ab Bt maize: field resistance, contributing factors and lessons from South Africa. *Crop Prot.* 54: 154-160.
- Viteri, D.M., A.M. Linares y L. Flores, 2018. Use of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in combination with low-toxicity insecticides to control fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Fla. Entomol.* 101: 327-329.
- Welch, K.L., G.C. Unnithan, B.A. Degain, J. Wei, J. Zhang, X. Li e Y. Carrière, 2015. Cross-resistance to toxins used in pyramided Bt crops and resistance to Bt sprays in *Helicoverpa zea*. *J. Invertebr. Pathol.* 132: 149-156.
- Wraight, S.P., M.E., Ramos, P.B. Avery, S.T. Jaronski y J.D. Vandenberg, 2010. Comparative virulence of *Beauveria bassiana* isolates against lepidopteran pests of vegetable crops. *J. Invertebr. Pathol.* 103: 186-199.
- Yang, F., J. González, J. Williams, D.C. Cook, R.T. Gilreath y A. Kerns, 2019. Occurrence and ear damage of *Helicoverpa zea* on transgenic *Bacillus thuringiensis* maize in the field in Texas, U.S. and its susceptibility to Vip3A Protein. *Toxins.* 11: 1-102.
- Yang, F., J.C. González y N. Little, 2020. First documentation of major Vip3Aa resistance alleles in field populations of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) in Texas, USA. *Sci Rep.* 10: 1-8.