

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



**Sinergismo de Conidios y Extractos de Crecimiento de Hongos
Entomopatógenos sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**

Por:

ROBERTO RAMÍREZ BUENDÍA

T E S I S

Presentada como requisito parcial para obtener título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México.

Mayo del 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Sinergismo de Conidios y Extractos de Crecimiento de Hongos
Entomopatógenos sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

Por:

ROBERTO RAMÍREZ BUENDÍA

TESIS

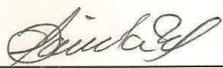
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

APROBADA:


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Asesor Principal


Dr. Ernesto Cerna Chávez
Coasesor


M.C. Miriam Desiree Dávila Medina
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Mayo del 2012

AGRADECIMIENTOS

A **Díos**, por ser el artífice de mi vida y que la ha llevado hasta este punto pues me ha dado la oportunidad de llegar a este momento tan deseado, gracias Díos mío.

A mi **ALMA TERRA MATER**, por aportar las herramientas para que yo pudiera ser un profesionista y por estar aquí para acogerme en este regreso para concluir lo interrumpido.

A mis padres **Medardo Ramírez Amaro** y **Delia Buendía Toledano** por ese gran apoyo que me dieron pues sin ese apoyo no hubiera podido dar este paso tan importante, gracias.

A mis abuelos, **Arnulfo Ramírez Amaro** y **Blandina Amaro Amaro**, por sus consejos y apoyo que siempre me dieron por todo gracias.

A mis abuelos, **Graciano Buendía** y **Amalía Toledano** por sus consejos y apoyo que siempre me dieron por todo gracias.

Al Dr. **Gabriel Gallegos Morales**, por el enorme apoyo que me ha dado para la realización del presente trabajo pues cuando otros me cerraron las puertas él las abrió.

A la empresa **AGROBIOLOGICAL CONTROL S.A de C.V.** y **CONACYT** por el recurso otorgado para la realización del proyecto "Desarrollo de insumos sustitutos de pesticidas químicos a base de metabolitos de hongos entomopatógenos con actividad sinérgica para el control de insectos plaga de importancia económica"; con clave: **138917** en prueba está el desarrollo de esta tesis.

A todos mis amigos, por su confianza y amistad y que me ayudaron mucho a crecer profesionalmente.

DEDICATORIA

A mis padres: **Delia Buendía Toledano** y **Medardo Ramírez Amaro**.

Por haberme dado lo más valioso que es la vida y por ese gran esfuerzo que ha momentos no fueron pocos, se hacía muy difícil cuidarme y educarme junto con todos los hermanos para ser lo que hoy soy.

A todos mis hermanos **Jair, Besoayisel, Sergio y Rubiceli**. Ha sido poco el tiempo que hemos convivido, este ha sido muy valioso pues es parte de mi identidad como persona y son mi apoyo moral siempre los necesito.

A mis abuelos **Graciano Buendía** y **Amalia Toledano** que descansan en paz y están con Dios, gracias por haberme tenido en su mente en todo momento, gracias.

A mis abuelos **Arnulfo Ramírez** y **Blandina Amaro** por su constante apoyo y por haberme dado su tiempo y amor, gracias.

A todos lo que creyeron en mí, les agradezco de todo corazón porque en momentos difíciles me dieron apoyo y consejos para no rendirme y seguir adelante por todo, gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS.....	III
DEDICATORIA	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	V
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
APÉNDICE.....	X
RESUMEN.....	XII
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS	3
REVISION DE LITERATURA	4
El maíz	4
Cultivo del maíz.....	5
Taxonomía del maíz.....	6
Descripción botánica del maíz y sus parientes silvestres	6
Condiciones para el cultivo del maíz.....	7
Marco económico.....	8
Cogollero del maíz (<i>Spodoptera frugiperda</i>)	8
Clasificación Taxonómica.....	9
Importancia.....	9
Bionomía y Ecología de la plaga	10
Plantas hospedantes.....	10
Características biológicas.....	10
Huevos.....	10
Larvas.....	11
Pupas	11
Adulto.....	12

Dinámica poblacional	13
Daños	13
Enemigos naturales	14
Control de <i>Spodoptera frugiperda</i>	14
Insecticidas químicos	14
Parasitoides	15
Entomopatógenos	16
Hongos entomopatógenos	17
Relación patógeno-hospedero	17
Características de la pared de los hongos entomopatógenos	18
Mecanismo patogénico	19
Toxinas de hongos entomopatógenos	22
<i>Nomuraea rileyi</i>	23
Ubicación taxonómica <i>Nomuraea rileyi</i>	24
Biología del hongo	25
<i>Beauveria bassiana</i>	26
Ubicación taxonómica de <i>Beauveria bassiana</i>	27
Biología del hongo	27
<i>Metarhizium anisopliae</i>	28
Ubicación Taxonómica	28
Biología del hongo	28
Importancia	29
Proceso de infección de hongos patógenos	29
Bacterias entomopatógenas	31
Taxonomía	31
MATERIALES Y MÉTODOS	34
Sitio experimental	34
Colecta y reproducción del gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i>	34
Dieta	35
Mantenimiento de la colonia	35

Siembra de maíz en maceta	37
Suspensión de conidias.....	37
Preparación de las suspensiones de conidios	38
Establecimiento de bioensayos	38
Tratamientos empleados en el bioensayo.....	39
Análisis de datos	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
CONCLUSIONES	47
LITERATURA CITADA.....	48

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Entidades federativas que producen maíz que se consumen en México	5
Cuadro 2. Concentraciones de conidios de hongos entomopatógenos utilizadas para establecer bioensayos de actividad	40
Cuadro 3. Mortalidad de larvas de primer estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> por entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extractos de crecimiento	42
Cuadro 4. Mortalidad de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extractos de crecimiento (potenciador) para el control de larvas de segundo estadio <i>Spodoptera frugiperda</i> en dieta natural.....	43
Cuadro 5. Mortalidad de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extractos de crecimiento (potenciador) para el control de larvas de tercer estadio <i>Spodoptera frugiperda</i> en dieta natural	44
Cuadro 6. La mortalidad de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento (potenciador) para el control de larvas de los tres primeros estadios larvales de <i>Spodoptera frugiperda</i> en dieta natural a base de plantas de maíz	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1. Estadística básica de maíz grano.....	4
Figura 2. Estados de desarrollo de <i>Spodoptera frugiperda</i> : a) Masas de huevecillos, b) Larvas recién emergidas (L1), c) Larva de quinto estadio, d) Región cefálica de, e) Pupa y f) Adulto	12
Figura 3. Daños causados por larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	13
Figura 4. a) Larva de <i>Ichneumonido</i> emergiendo de una larva de <i>Spodoptera frugiperda</i> , b) Adulto de <i>Campoletis sonorensis</i> y c) Adulto de <i>Pristomerus sp</i>	16
Figura 5. Larva infestada con micosis de <i>Nomuraea rileyi</i>	25
Figura 6. Preparación y envasado de dieta artificial. a) Mezcla de dieta con agua, b) Cosido de dieta, c) Recipiente (copa de 1 onza) con dieta, d) Recipientes de dieta en soporte para su uso	35
Figura 7. Huevecillos de <i>Spodoptera frugiperda</i> a) Colecta de huevecillos, b) Masa de huevecillos.....	36
Figura 8. Dieta artificial infestada, para desarrollo de larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	36
Figura 9. Larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> a) Desinfección de larvas con agua clorada al 1% b) Recipiente de 10 L con adultos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	37
Figura 10. Larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> tratadas con entomopatógenos, a) Control, b) Larvas micosadas con el hongo <i>Nomuraea rileyi</i> , y c) Recolección de larvas micosadas por <i>Nomuraea rileyi</i>	45

APÉNDICE

	Página
Cuadro1. Análisis de varianza de la actividad de conidios de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento para el control de larvas de primer estadio <i>Spodoptera frugiperda</i> en dieta natural.	59
Cuadro 2. Análisis de varianza de la actividad de conidios de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento para el control de larvas de segundo estadio <i>Spodoptera frugiperda</i> en dieta natural. ...	59
Cuadro 3. Análisis de varianza de la actividad de conidios de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento para el control de larvas de tercer estadio <i>Spodoptera frugiperda</i> en dieta natural.	59

RESUMEN

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) es la plaga más importante del cultivo del maíz, de la cual se tiene registro de que ha llegado a ocasionar pérdidas desde un 40% hasta un 100% razón por lo cual es necesario buscar alternativas de control; por tal motivo se evaluaron tres hongos Hyphomycetes entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) y *Nomuraea rileyi* Farlow (Samson)) sobre larvas de los tres primeros estadios de *S. frugiperda*, cultivada en dieta artificial bajo condiciones de laboratorio. El experimento consistió de 6 tratamientos con 4 repeticiones y un testigo absoluto, evaluándose concentrados de conidios de cada entomopatógeno de forma individual y en mezcla con extracto de crecimiento, como agente potenciador de la actividad bioinsecticida. La suspensión se aplicó sobre dieta natural a base de trozos de maíz tierno, infestando con larvas de primer, segundo o tercer estadio de forma individual y por cada recipiente. Se encontró que la suspensión del hongo *N. rileyi* (6.0×10^6) en primer y segundo estadio provocó una mortalidad de 72 y 70% respectivamente, los demás entomopatógenos carecieron de actividad en este insecto tanto en 1^{er}, 2^{do} y 3^{er} estadio. Para el tercer estadio larval, el tratamiento de los conidios de *N. rileyi* (6.0×10^6) presentaron una reducción en la mortalidad, mientras que el tratamiento de la mezcla con el extracto de crecimiento (*N. rileyi*+potenciador) permaneció como la más activa, ya fue la que registró el mayor porcentaje de mortalidad (49%). Cabe mencionar que los entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae* no mostraron actividad bioinsecticida sobre las larvas de los primero tres estadios de *S. frugiperda*.

Palabras clave: Entomopatógenos, control microbial, gusano cogollero, plagas del Maíz

INTRODUCCIÓN

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) es la plaga más importante del maíz, reduce los rendimientos en 0.8 ton/ha, lo que equivale al 40 % de la producción (Allen, 1983). Esta plaga se encuentra distribuida en todas las regiones del continente americano. En México se localiza prácticamente en todas las áreas en donde se cultiva este grano. Las larvas afectan a plantas en desarrollo, donde se alimentan de las hojas y tallos en formación, principalmente de los cogollos (Rodríguez y De León, 2008). Este insecto ha sido reportado susceptible a más de 20 especies de hongos entomopatógenos que se encuentran habitando el suelo de manera natural o parasitando al insecto (Gardner & Fuxa 1980).

Los Hyphomycetes son entomopatógenos bien conocidos y comunes en la naturaleza, se aíslan de suelo y de un amplio rango de insectos hospederos, siendo considerados como excelentes agentes de control biológico (Gouli *et al.*, 2008; Tajick *et al.*, 2009). *Beauveria bassiana* es un Deuteromicete que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno lo hace capaz de parasitar a diferentes especies de insectos, al igual que *Metarhizium anisopliae*, se caracterizan por formar micelio septado y producir conidias, además de un alto contenido de aminopeptidasas que favorecen la acción sobre la cutícula del insecto. Otro hongo *Nomuraea rileyi* (Farlow) es un patógeno de más de 30 especies de lepidópteros y fundamentalmente de insectos muertos y de suelos cultivados, muy asociado a fitófagos, como es el caso de *S. frugiperda*, en campos de maíz (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2001).

Varias especies de hongos entomopatógenos son capaces de producir metabolitos secundarios, ácidos orgánicos y algunos de ellos están implicados en el proceso infectivo. Por ejemplo, se ha reportado la producción de Ácido Oxálico en *Beauveria* spp. y *Metarhizium anisopliae* (Hegedus y Khachatourians, 1995; Asaff *et al.*, 2006). Otro compuesto importante producido por algunos hongos entomopatógenos es el ácido 2,6-piridindicarboxílico (Ácido dipicolínico) producido por *Paecilomyces* spp. y *M. anisopliae* (Asaff *et al.*, 2006).

También se han reportado toxinas peptídicas cíclicas y lineales. De aquí la importancia de buscar mezclas sinérgicas de hongos entomopatógenos particularmente de conidias, y de sus metabolitos, produciéndolos bajo condiciones de cultivo sumergido, como los antes mencionados.

OBJETIVOS

- Evaluar la actividad antagónica de tres entomopatógenos moniliales sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.
- Determinar la actividad sinérgica de mezclas de conidios de entomopatógenos y de extractos de crecimiento de los mismos en cultivo sumergido.

HIPÓTESIS

La mezcla de conidios y extractos del crecimiento de los entomopatógenos, potenciarán la actividad patogénica de los hongos comparado con actividad la individual.

REVISIÓN DE LITERATURA

El maíz

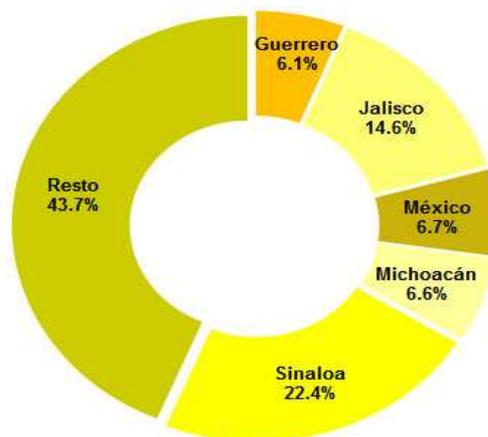
Mesoamérica, es la región que comprende una línea irregular desde el estado de Nayarit a la porción media de Veracruz en México, hasta Nicaragua. Se reconoce como centro de origen de la agricultura en el contexto mundial además de ser el centro de origen y diversidad de aproximadamente 225 especies vegetales cultivadas (Vavilov, 1931; Hernández, 1985; Ortega-Paczka, 2003; Engels *et al.*, 2006).

En los últimos siete años el volumen de producción de maíz ha permanecido con pocas variaciones (Figura 1), no así el valor económico, que ha manifestado incremento hasta del 100% de ahí la importancia del cultivo, siendo México un gran exportador de este grano (SIAP).



Figura 1. Estadística básica de maíz grano
Fuente: SIAP

Los cinco grandes productores de maíz México, 2010



Cuadro 1. Entidades federativas que producen maíz que se consume en México.
Fuente: SIAP

Cultivo del maíz

El maíz tuvo gran importancia desde el punto de vista alimenticio para casi todas las comunidades indígenas americanas anteriores a la América colonial; como los Mayas, Incas y Aztecas. La planta de maíz fue edificada como fuente de vida y riqueza para aquellas comunidades que lograron grandes culturas y conocimiento alto en muchos campos de la ciencia (Christopher, 1996).

La base de la alimentación de nuestro país y América Latina es el maíz originario de México el cual es fuente de almidón, fructosa y otros derivados de uso industrial para consumo humano y animal.

Taxonomía del maíz

Ubicación taxonómica del maíz de acuerdo USDA-NRCS (2009)

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

Superdivisión: Spermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Cyperales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *mays* L.

Descripción botánica del maíz y sus parientes silvestres

El maíz es una planta de porte robusto y de hábito anual; el tallo es simple, erecto, de elevada longitud alcanzando alturas de uno a cinco metros con pocos macollos o ramificaciones, su aspecto recuerda al de una caña de azúcar por la presencia de nudos y entrenudos y su médula esponjosa. Las hojas nacen en los nudos de manera alterna a lo largo del tallo; se encuentran abrazadas al tallo mediante la vaina que envuelve el entrenudo y cubre la yema floral, de tamaño y ancho variable. Las raíces primarias son fibrosas presentando además raíces adventicias, que nacen en los primeros nudos por encima de la superficie del suelo, ambas tienen la misión de mantener a la planta erecta (Jugenheimer, 1988).

Es una planta monoica de flores unisexuales, que presenta flores masculinas y femeninas bien diferenciadas en la misma planta: la inflorescencia masculina es terminal, se conoce como panícula (o espiga) consta de un eje central o raquis y ramas laterales; a lo largo del eje central se distribuyen los pares de espiguillas de forma polística y en las ramas con arreglo dístico, y cada espiguilla está protegida

por dos brácteas o glumas, que a su vez contienen en forma apareada las flores estaminadas; en cada florecilla componente de la panícula hay tres estambres donde se desarrollan los granos de polen. La coloración de la panícula está en función de la tonalidad de las glumas y anteras, que pueden ser de coloración verde, amarilla, rojiza o morada. Las inflorescencias femeninas (mazorcas) se localizan en las yemas axilares de las hojas, son espigas de forma cilíndrica que consisten de un raquis central u olote donde se insertan las espiguillas por pares, cada espiguilla con dos flores pistiladas una fértil y otra abortiva, estas flores se arreglan en hileras paralelas, las flores pistiladas tienen un ovario único con un pedicelo unido al raquis, un estilo muy largo con propiedades estigmáticas donde germina el polen.

La inflorescencia femenina (mazorca) puede formar alrededor de 400 a 1000 granos arreglados en promedio de ocho a 24 hileras por mazorca; todo esto encerrado en numerosas brácteas o vainas de las hojas (totomoxtle), los estilos largos saliendo de la punta del raquis como una masa de hilo sedoso se conocen como pelo de elote; el jilote es el elote tierno. Por las características mencionadas, el maíz es una planta de polinización abierta (anemófila) propensa al cruzamiento, la gran mayoría de los granos de polen viajan de 100 a 1000 m (Reyes, 1990; Jugenheimer, 1988). En la mazorca cada grano o semilla es un fruto independiente llamado cariósido que está insertado en el raquis cilíndrico u olote; la cantidad de grano producido por mazorca está limitada por el número de granos por hilera y de hileras por mazorca. Como cualquier otro cereal, las estructuras que constituyen el grano del maíz (pericarpio, endospermo y embrión) le confieren propiedades físicas y químicas (color, textura, tamaño, etc.) que han sido importantes en la selección del grano como alimento.

Condiciones para el cultivo del maíz

El maíz se siembra en una gran variedad de regiones agroecológicas que van de altitudes de 0 m hasta cerca de los 4,000 metros (Roberts *et al.*1957; Ortega-

Paczka, 2003), se cultiva desde el Ecuador hasta altas latitudes en los dos hemisferios, se siembra en regiones de precipitación pluvial desde menos de 400 mm hasta los 3,000 mm, en suelos y climas muy variables. De acuerdo a la literatura revisada la mejor producción se logra en climas en donde las temperaturas medias en los meses calurosos varían entre 21 y 27°C, con un periodo libre de heladas en el ciclo agrícola variable de 120 a 180 días (Reyes, 1990).

Marco económico

En México, la conservación de las razas nativas del maíz al interior de las parcelas de cultivo de los propios agricultores, tiene un valor económico especial como base de la reproducción del cultivo (Nadal y Wise, 2004). El maíz abarca la mitad del total de la superficie destinada a los demás cultivos juntos, 7.4 millones de hectáreas. Tomando en cuenta la información del Atlas Nacional de México, los espacios dedicados al cultivo del maíz son los espacios de la economía campesina. Prácticamente tres millones de personas trabajan en el cultivo del maíz, equivalente a más del 40% de la fuerza de trabajo del sector agrícola o cerca de un ocho por ciento del total de la fuerza laboral de México (Nadal y Wise, 2004; UNAM, 2007; SAGARPA, 2008).

Cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*)

El gusano cogollero es la larva de la palomilla nocturna de *Spodoptera frugiperda*, que ataca principalmente maíz, sorgo y arroz, aunque también, en menor grado, hortalizas y algodón, entre otros cultivos.

Esta plaga se encuentra ampliamente distribuida en todas las regiones agrícolas tropicales y subtropicales del continente americano. Esta plaga,

considerada la más importante del maíz en México, es de origen tropical y ataca con más rigor las siembras tardías en las costas y las regiones cálidas de riego. Menos infestados son los maizales de los altiplanos, donde el ataque del cogollero disminuye al entrar las lluvias o al alcanzar las plantas un metro de altura. Los gusanos se localizan en las plantas, en donde se alimentan de las hojas y tallos en formación y principalmente de los cogollos (Rodríguez y De León, 2008).

Clasificación Taxonómica

Según Borror *et al.* (1989), este insecto pertenece a:

Clase: Insecta

Orden: Lepidóptera

Familia: Noctuidae

Subfamilia: Amphipyrinae

Género: *Spodoptera*

Especie: *frugiperda* (J. E. Smith)

Importancia

El gusano cogollero, es considerado en muchos aspectos plaga potencial del maíz, provocando pérdidas promedio de 30 a 40 % en México (Rodríguez y De León, 2008). No obstante, Capinera (1999), Nagoshi y Meagher (2008), mencionan, que esta plaga muestra una amplia gama de hospederos, con más de 80 especies de plantas registrados, pero que prefiere gramíneas (sorgo, forraje y zacate bermuda), sin embargo, también se les ha encontrado en otros cultivos como alfalfa, algodón y soya.

Bionomía y Ecología de la plaga

Plantas hospedantes

Las orugas de *S. frugiperda* son polífagas y se encuentran en más de 80 especies de 23 familias (Pashey,1988; Andrews,1988), pero atacan principalmente gramíneas como el maíz (Van Dine, 1913; Smith, 1919; Cowdey, 1923; Cifuentes, 1967; Popov y Reines, 1975 y Raulston y cols,1986); no obstante se ha detectado en los cultivos de frijol, tomate, maní, soya, cebolla, alfalfa, col, eucalipto, gladiolo, pepino, tabaco, espinaca, nabo y algodón (Luginbill, 1928; Bruner y Deschappelles, 1965; Metcalf y Flint, 1965).

Características biológicas.

Huevos

Las hembras depositan los huevos durante las primeras horas de la noche, tanto en el haz como en el envés de las hojas, estos son puestos en varios grupos o masas cubiertas por segregaciones del aparato bucal y escamas de su cuerpo. Una hembra puede ovipositar en promedio 1000 huevecillos en grupos de 10 a 350 en cada postura, las larvas nacen a los tres días o menos, cuando la temperatura es elevada (> 25°C).

Larvas

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

Las larvas pasan por 6 ó 7 estadios, siendo de mayor importancia para tomar las medidas de lucha los dos primeros; en el primero estas miden de 2-3 mm y la cabeza es negra completamente, el segundo mide de 4-10 mm y la cabeza es carmelita claro; las larvas pueden alcanzar hasta 35 mm en su último estadio. A partir del tercer estadio se introducen en el cogollo, haciendo perforaciones que son apreciados cuando la hoja se desvaina.

Pupas

Las pupas son de color caoba y miden 26 mm; esta fase se desarrolla en el suelo y el insecto está en reposo hasta 8-10 días que emerge el adulto.

El período de tiempo para el desarrollo larval es menor a medida que aumentan las temperaturas, con 22 y 13 días a 20 y 30°C, respectivamente; a temperatura ambiente (media=26,5°C) este es de 15+5 días con la particularidad de que se presentaron 7 estadios (Blahutiak ,1970; Piedra ,1974; Pérez *et al.*, 1994).

Adulto

La mariposa vuela con facilidad durante la noche, siendo atraída por la luz; es de coloración gris oscura algo maculada, las hembras tienen a las traseras de color blancuzco, mientras que los machos tienen arabezcillos llamativos en las alas delanteras, y las traseras son blancas.

El ciclo de vida oscila entre 19 y 48 días lo que está en correspondencia con la dependencia de la temperatura de las distintas fases; a temperaturas elevadas el ciclo se acorta (Jassic y Reines, 1974; Piedra, 1974). A temperatura de 26,5°C las hembras ponen 1216 huevos, a 25 °C 944 y a 30°C se reduce a 386.

Los valores del límite inferior de temperatura oscila entre 10.3 y 14.6 °C, para las distintas fases del ciclo biológico. Según los estudios realizados la plaga puede tener entre 11 y 12 generaciones anuales.



Figura 2. Estados de desarrollo de *Spodoptera frugiperda*: a) Masas de huevecillos cubiertos por escamas, b) Larvas recién emergidas (L1), c) Larva de quinto estadio, d) Región cefálica de larva con la “Y” invertida característica, e) Pupa y f) Adulto.

Dinámica poblacional

Aun cuando se habla de *S. frugiperda* en zonas tropicales y subtropicales, causando severos daños; su supervivencia es posible todo el año en áreas con latitudes menores a los 27°N, donde las temperaturas por debajo de 9.9°C son escasas (Murua y Virla, 2004).

Daños

Durante las etapas de crecimiento vegetativo del maíz, las larvas consumen principalmente las hojas que indirectamente afectan el rendimiento del cultivo, reduciendo el área fotosintética de éstas; el ataque a plantas pequeñas, daña o destruye el tejido meristemático, ocasionando reducción de la población de plantas o modificación de su arquitectura.

En estudios cuantitativos sobre la selectividad de la plaga contra la planta de maíz, se ha demostrado el daño en etapa de crecimiento a las 5, 8 y 13 hojas, las pérdidas son de 26 y 20% respectivamente; cuando el ataque se produce en etapas más tempranas el daño puede ser mayor, ya que las plantas no pueden recuperarse.



Figura 3. Daños causados en el cogollo por larvas de *Spodoptera frugiperda*

Enemigos naturales

La protección de los enemigos naturales de *S. frugiperda* constituye uno de los elementos más importantes para establecer un equilibrio en la biorregulación de la plaga, en este campo se ha carecido de un trabajo sistemático a nivel de producción con el propósito de conocerlos y luego protegerlos, a nivel mundial se reportan más de 53 especies de insectos que afectan esta plaga (Lexama ,1993).

Control de *Spodoptera frugiperda*

La implementación de las estrategias del control de plagas, sobre todo la reducción de las poblaciones de insectos, requiere del uso de diversos métodos de control. La experiencia práctica y lógica ha demostrado que la integración de todos los procedimientos y técnicas en un único modelo orientado a la producción rentable con un mínimo de perturbaciones, se puede desarrollar sin la participación de ningún tipo de control químico (Kilgore y Duontt, 1967). No obstante Andrews (1989), sugiere que el manejo integrado de plagas (MIP), debe ser un sistema de criterios ecológicos, ventajas económicas y un mínimo de riesgo, basado en ocho ideas centrales: 1) El agroecosistema, 2) El control natural, 3) La biología y la ecología de los organismos, 4) El cultivo como enfoque central, 5) El muestreo y uso de umbrales y niveles críticos, 6) El uso de tácticas compatibles, 7) La integración de tácticas alternativas y 8) Los efectos secundarios de fitoprotección.

Insecticidas químicos

Los insecticidas químicos son en la actualidad los más usados para el control de insectos plaga, por medio de su acción química, se clasifican de acuerdo a su

modo de acción: de contacto, ingestión e inhalación y sistémicos; al respecto Hruska y Gladstone (1987) indican que para el control de *S. frugiperda*, típicamente se requieren de 2 a 4 aplicaciones de insecticidas químicos durante el ciclo del cultivo. Al respecto el CESAPEG (2008), ha autorizado el uso de Cipermetrina, Clorpirifos Etil, Diazinon y Endosulfan para el control de esta plaga.

Parasitoides

Los insectos parasitoides son una clase especial de depredador que generalmente es del mismo tamaño o tamaño parecido que el organismo que ataca, también se caracterizan por que se desarrollan dentro o sobre un organismo, el cual casi siempre muere al ser atacado (Fig. 4). El estadio larval de estos organismos es parasítico, mientras que los adultos son de vida libre y activos para buscar a los organismos que parasitan (hospederos) (Rodríguez y Arredondo, 2007). Entre las especies de parasitoides, se han reportado a especies de las familias Hymenóptera, Díptera y otros órdenes. En nuestro país se han hecho varios estudios sobre la diversidad de parasitoides. Martínez y López (2009), reportan para el estado de Oaxaca 21 familias de Hymenópteros parasitoides, encontrados en cultivos de maíz y frijol, para los estados de Colima, Jalisco y Michoacán. Molina-Ochoa *et al.*, (2004) mencionan a 11 especies de parasitoides atacando a larvas de *S. frugiperda* representados en tres familias: Ichneumonidae, Braconidae y Eulophidae. Sin embargo Rios *et al.*, (2008-2009) reportan, además de las antes mencionadas la presencia del orden Díptera específicamente de la familia Tachinidae y diversos entomopatógenos atacando a *S. frugiperda*.

Un inventario de los parasitoides y parásitos de *S. frugiperda* se llevó a cabo usando referencias relacionadas con parásitos de huevos, larvas, pupas y adultos colectados de diferentes cultivos en su ámbito de distribución. Además, un inventario

fue realizado de los cultivos y países donde estos parásitos atacaron a *S. frugiperda* en América. La plaga fue colectada principalmente en maíz y en arroz. *Chelonus insularis* (Braconidae) (Cresson) fué el parasitoide más ampliamente distribuido. *C. insularis*, *Chelonus sp.* y *Euplectrus platyhypenae* (Howard) fueron los parasitoides más prevalecientes en Norteamérica. En Centroamérica, *C. insularis* fue el parasitoide más prevalente, y en la región Sudamericana fueron *Archytas incertus*, *A. marmoratus* (Tachinidae), *C. insularis* y *Meteorus laphygmae* (Viereck). *Diapetimorpha introita* (Cresson) fue el parasitoide de pupas más importante principalmente en Norteamérica. *Noctuidonema guyanense* (Remillet & Silvain) fue el nematodo ectoparásito más importante atacando a adultos de *S. frugiperda* y otros noctuidos en el Sur y Sureste de los Estados Unidos de América y México, Cuenca del Caribe, Centroamérica y Norte de Sudamérica (Molina-Ochoa, 2003).



Figura 4. a) Larva de *Ichneumonido* emergiendo de una larva de *Spodoptera frugiperda*, b) Adulto de *Campoletis sonorensis* y c) Adulto de *Pristomerus sp*

Entomopatógenos

Son microorganismos parásitos que frecuentemente matan a su huésped. Debido a su tamaño diminuto y a su rápida reproducción en el hospedero, los patógenos son más fáciles de reproducir masivamente que los parasitoides. Varios tipos de microorganismos han sido usados en el control biológico, como: bacterias, virus, hongos y protozoarios, además los nematodos que atacan artrópodos se

consideran dentro de este grupo, el control microbial se considera como una subdivisión del control biológico (Rodríguez y Arredondo, 2007).

Hongos entomopatógenos

El potencial que tienen los hongos entomopatógenos como agentes de control, al constituir un grupo con más de 750 especies de casi 100 géneros que pueden infectar insectos, ha sido reconocido. La mayoría de estos hongos pertenecen a las divisiones Zygomycota (entomoptorales), Deuteromicota (Hipomicetos) y Ascomycota (Hegedus y Khachatourians, 1995; Khachatourians, 1996) y se encuentran comúnmente en la naturaleza (Deshpande, 1999; Milner, 2000). Sin embargo, solo algunos hongos entomopatógenos han sido estudiados a fondo y son utilizados comercialmente. (Wraight *et al.*, 1998; Monzón, 2001)

Relación patógeno-hospedero

Los hongos entomopatógenos son de gran importancia dentro de los agroecosistemas por su capacidad natural para regular las poblaciones de insectos, la cual depende de la susceptibilidad del hospedero o de la asociación patógeno-hospedero. En este último caso, el insecto hospedero puede ejercer una presión de selección que favorezca a pocos genotipos del patógeno; es decir, hay una selección natural de estos microorganismos en términos de especialización con respecto al hospedero (Maurer, 1997; St. Leger *et al.*, 1997).

Para que la manifestación epizootica de los hongos entomopatógenos tenga lugar, los factores bióticos y abióticos tienen una enorme influencia. Entre los factores abióticos que afectan la viabilidad y la persistencia de los hongos entomopatógenos en el campo se encuentran los rayos ultravioleta, la temperatura,

la humedad relativa y los funguicidas. La susceptibilidad y la relación con los hospederos se relacionan con los nutrimentos presentes en los insectos, que son el medio para la propagación, dispersión y persistencia de los hongos.

Las esporas de los entomopatógenos tienen requerimientos específicos de agua y temperatura, así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno y que les permiten llevar a cabo el proceso infectivo sobre el hospedero (Hajek, 1997).

Los hongos entomopatógenos, a diferencia de otros agentes entomopatógenos, no necesitan ser ingeridos por el insecto para controlarlo (Carruthers y Hural, 1990), pudiendo ocurrir la infección por contacto y adhesión de las esporas a las partes bucales, membranas intersegmentales o a través de los espiráculos (Charnley, 1997; Jeffs *et al.*, 1997; Kershaw y Talbot, 1998).

Características de la pared de los hongos entomopatógenos

La pared celular de los hongos está constituida por polisacáridos (80%), proteínas (3-20%), lípidos, pigmentos y sales inorgánicas en cantidades menores. La quitina forma microfibrillas y es el polisacárido característico de la pared celular en hongos, pero también existe en los insectos. Este polímero es un polisacárido no ramificado, constituido de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc), donde los monómeros están unidos por enlaces β -1,4.

Las proteínas son glicoproteínas, cuya fracción glicosilada está formada por galactosa y manosa (Ruiz, 1991; Wessels, 1999). Los lípidos en la pared celular de los hongos están presentes en un rango de 1 a 10% de su peso seco; son ácidos grasos, siendo los más abundantes C16 y C18. La coloración característica de la

pared celular se debe a la presencia de melaninas, producto de la oxidación de diferentes fenoles. La importancia de estos pigmentos se debe a su carácter protector ante efectos deletéreos ocasionados por la luz o por las enzimas líticas (Ruiz, 1991).

En la pared celular ocurren cambios durante las diferentes etapas de desarrollo de los hongos, cambios que ocurren mediante el ensamblaje de los componentes celulares como polisacáridos microfibrilares, la asociación de polisacáridos de reforzamiento y de complejos de proteínas (Glicoproteínas). Las glicoproteínas inician su ensamblaje a nivel del lumen, en el interior del retículo endoplásmico rugoso; posteriormente, son transportadas a diferentes compartimientos membranosos del retículo endoplásmico liso y del aparato de Golgi, hasta alcanzar la superficie celular mediante el aparato vesicular. Este conglomerado vesicular conduce a las glicoproteínas y otros componentes hacia la pared celular pasando por la membrana plasmática; los otros componentes siguen esta vía para integrarse a la pared celular, tanto para la formación de la espora, como del desarrollo de micelio (Ruiz, 1991; Harold, 1999; Wessels, 1999).

Mecanismo patogénico

Los hongos entomopatógenos inician su proceso infectivo en los insectos hospederos cuando las esporas viables son retenidas por contacto en la superficie del integumento, mientras encuentran un espacio propicio para establecer la asociación patógeno-hospedero y formar los túbulos germinales y a veces el apresorio, que facilitarán la invasión del hongo (Hajek, 1997; Deshpande, 1999; Milner, 2000; Asaff *et al.*, 2002; Barranco, 2002; Jones, 1994).

Se ha sugerido que iones divalentes como el Ca^{+2} y el Mg^{+2} reducen las fuerzas de repulsión electrostática de la superficie de la del insecto, por lo que

pueden afectar su hidrofobicidad y promover la adhesión pared celular fúngica-cutícula, creando condiciones favorables para el establecimiento de la espora y la subsecuente invasión del hospedero (Barnes y Moore, 1997; Jeffs *et al.*, 1997; Kershaw y Talbot, 1998; Wessels, 1999).

La germinación de la espora se inicia con el hinchamiento de la misma, que es favorecido por una humedad alta (70% durante 14h); la germinación es disparada por mensajeros que generalmente son carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares del insecto (Hegedus y Khachatourians, 1995; Khachatourians, 1996). La hidratación de la espora es favorecida por la acción antidesecante de su cubierta mucilaginosa, que además funciona como protector ante la presencia de polifenoles tóxicos y enzimas, secretadas por sistema inmune del insecto.

Metarhizium anisopliae presenta un alto contenido de aminopeptidasas e hidrofobina, las cuales favorecen la acción de enzimas extracelulares sobre la cutícula del insecto. Sin embargo, se han encontrado esterases y proteasas en conidias no germinadas, lo que sugiere una modificación de la superficie cuticular previa a la germinación, ya que durante la hidratación la espora no solo absorbe agua, sino también nutrientes (Jones, 1994; Kershaw y Talbot, 1998). Los lípidos que se encuentran en la cutícula de la mosquita blanca pueden afectar potencialmente la germinación de la espora como resultado de su acción fungilítica o fungiestática, o actuando como una barrera en la matriz de quitina del exoesqueleto del insecto, previniendo que la espora entre en contacto con los nutrimentos y se inicie la señal de disparo de la germinación (James, 2003).

Después del hinchamiento de la espora tiene lugar la formación del tubo germinativo mediante el proceso de polarización típico del crecimiento apical de los hongos, que estimula la síntesis de la pared celular. Los iones H^+ y Ca^{2+} entran en la punta de la hifa a través de un mecanismo de transporte pasivo y son expulsados por mecanismos dependientes de energía. Este flujo transcelular permanece constante y mantiene el desarrollo del tubo germinativo y la formación del apresorio una estructura especializada formada en el tubo germinativo (Riquelme, 1998; Harold,

1999; Wessels, 1999). El tubo germinativo rastrea y reconoce la superficie del insecto para la localización de sitios receptores, habilitando a la hifa para la penetración de la cutícula (Wessels, 1999). El apresorio sirve para el anclaje de la espora y ejerce una presión hacia el interior del insecto. Paralelamente, el hongo excreta una gran cantidad de enzimas entre las que se incluyen proteasas, quitinasas, quitobiasas, lipasas, lipooxigenasas y otras enzimas hidrolíticas, que van degradando la cutícula y proporcionan a su vez nutrientes al hongo (Monzón, 2001).

Una vez dentro del insecto, el hongo prolifera formando cuerpos hifales secundarios, que se ramifican en la procutícula conformada principalmente de fibrillas lameladas de quitina embebidas en una matriz proteínica que actúa como cubierta física protectora ante las secreciones extracelulares del patógeno. Posteriormente, los cuerpos hifales se encuentran con la capa epidérmica y con su respectiva membrana basal y se diseminan a través del hemocele. Así, invaden diversas estructuras como tejidos musculares, cuerpos grasos, tubos de Malpighi, mitocondrias, hemocitos, retículo endoplásmico y membrana nuclear (Deshpande, 1999).

Al agotarse los nutrientes, el hongo inicia un crecimiento miceliar invadiendo todos los órganos del hospedero. Finalmente, las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie iniciando la formación de esporas cuando la humedad relativa es adecuada (Gillespie y Claydon, 1989).

Cabe destacar que durante la penetración del hongo desde la cutícula del insecto hasta el hemocele, la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos; algunos de ellos son nutrientes pero otros pueden inhibir su crecimiento, ya que el insecto activa su sistema inmune a través de procesos como la melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento (St. Leger y Roberts, 1997). Sin embargo, los hongos desarrollan una serie de actividades que les permiten evitar este tipo de defensas, tales como cambios en la pared celular y producción de sustancias inmunomoduladoras o toxinas fúngicas (Khachatourians, 1991).

Toxinas de hongos entomopatógenos

La literatura de las últimas décadas cita un número considerable de metabolitos secundarios de bajo peso molecular que han sido aislados de patógenos de insectos, muchos de los cuales han demostrado poseer una actividad insecticida marginal (Gillespie y Claydon, 1989). Varias especies de hongos entomopatógenos son capaces de producir ácidos orgánicos y algunos de ellos han sido implicados en el proceso infectivo. Por ejemplo, se ha reportado la producción de ácido oxálico por *Beauveria* spp., *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Metarhizium anisopliae* (Hegedus y Khachatourians, 1995; Asaff *et al.*, 2006). Este compuesto ha sido descrito como un factor de virulencia en hongos fitopatógenos y se ha sugerido que en el caso de los hongos entomopatógenos puede ser un elemento que coadyuve a la solubilización de la proteína cuticular (Bidochka y Khachatourians, 1991). Otro compuesto importante producido por algunos hongos entomopatógenos entre los que destaca *Paecilomyces* spp. y *M. anisopliae* es el ácido 2,6-piridindicarboxílico (ácido dipicolínico). Asaff (2006), dice que posee propiedades insecticidas contra larvas de *Calliphora erythrocephala* (Claydon y Grove, 1982).

También se han reportado toxinas peptídicas cíclicas y lineales. A las primeras pertenece una familia de péptidos. El primer compuesto de esta naturaleza en ser caracterizado fue la Beauvericina, extraída del micelio de *Beauveria bassiana*, y posteriormente se han aislado de diferentes especies de *Fusarium* y *Paecilomyces* (Logrieco, 1998). Otros péptidos son las Eniatinas aisladas de *Fusarium* (Grove y Pople, 1980), que son tóxicas contra larvas de *Choristoneura fumiferana* (Strongman, 1987). La acción insecticida de estos péptidos es específica para ciertos grupos de insectos y su toxicidad se debe a la acción sinérgica de un complejo de compuestos, entre los que se incluye la Beauvericina. La Beauvericina es sintetizada de manera similar a las Eniatinas y en su biosíntesis interviene una enzima multifuncional conocida como Eniatina sintetasa cuya expresión es constitutiva (Billich y Zocher,

1988). Dos ciclotetrapéptidos muy parecidos denominados beauverólidos H e I fueron aislados del micelio de *B. bassiana* y *B. brogniarti*, aunque no tuvieron actividad insecticida contra *Melolontha melolontha*. También se aislaron beauverólidos L y La del micelio de *Beauveria tenella* y *Paecilomyces fumosoroseus*, estos compuestos tienen una fuerte acción inmunomoduladora pero no un efecto insecticida (Jegorov, 1994). Otro metabolito aislado de *B. bassiana* y *L. (V.) lecanii*, conocido como basianólido, mostró una fuerte acción insecticida tanto por ingestión como por inyección contra larvas de gusanos de seda *Bombix mori* (Kanaoka, 1978). Algunos aislados de *M. anisopliae* producen las llamadas Destruixinas, de las que la Dimetildextruxina y la Protodextruxina están relacionadas con la virulencia (Kershaw y Talbot, 1998; Gillespie y Claydon, 1989; Monzón, 2001). Las destruxinas son los compuestos mejor caracterizados, ya que su modo de acción también inhibe la síntesis de ADN, ARN y de proteínas en las células de los insectos (Quiot *et al.*, 1985). Además, las destruxinas son capaces de inhibir la secreción de fluidos por el tubo de Malpighi en *Schistocerca gregaria* (James *et al.*, 1993). Las destruxinas A, B y E producidas por *M. anisopliae*, mostraron propiedades insecticidas al ser probadas en larvas de *Plutella xylostella*, así como en larvas y adultos de *Phaedon cochleariae*, con un nivel de mortalidad alto en las poblaciones de insectos; además, causaron deformaciones en los élitros y a las anteriores del insecto (Amiri, 1999).

Nomuraea rileyi

N. rileyi fue descrita en un principio como *Botrytis rileyi* (Farlow) y transferido al género *Spicaria* por Charles en 1936 (citado por Ignoffo, 1981), posteriormente las especies de *Spicaria* fueron ubicadas en *Paecilomyces*, sin embargo la presencia de la fiálide atípica de *Paecilomyces* y la coloración verde de su colonia permitieron que no fuese ubicada en ese género y se ubicó en el de *Penicillium*, sin embargo investigadores y científicos continuaron usando el nombre del antiguo género

Spicaria y fue hasta 1974 que se reestructuró el género de *Nomuraea* cambiando de *Spicaria rileyi* a *Nomuraea rileyi* (Ignoffo, 1981).

Ubicación taxonómica *Nomuraea rileyi*

Orden: Deuteromicetes

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Nomuraea*

Especie: *rileyi*

N. rileyi se encuentra distribuido en diferentes agroecosistemas y zonas geográficas en donde frecuentemente ocasiona epizootias naturales sobre *S. frugiperda* y otros lepidópteros de importancia económica como *Anticarsia gemmatalis* (Hubner) (Lepidóptera: Noctuidae), *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidóptera: Noctuidae), *Trichoplusia ni* (Hubner) (Lepidóptera: Noctuidae) y *Helicoverpa virescens* (Lepidóptera: Noctuidae). Es así como este microorganismo se ha convertido en un excelente agente de control biológico con gran potencial para ser utilizado dentro de estrategias de manejo integrado de la plaga (León y Pulido, 1991). A pesar de este potencial como agente biocontrolador, no existe ningún bioplaguicida registrado a base de este microorganismo (Villamizar, 2004).



Figura 5. Larva infectadas con micosis de *Nomuraea rileyi*.

Biología del hongo

En el hongo *N. rileyi*, las infecciones se producen por los conidios o propángulos asexuales presentes en el suelo, superficie foliar, aire etc. Al entrar en contacto con las larvas, quedan adheridos y luego de germinar atraviesan el tegumento del insecto. Una vez en el interior del hemocele, el micelio se ramifica hasta ocuparlo completamente. La muerte del hospedante es frecuentemente una combinación de la acción de toxinas obstrucción física de la circulación de hemolinfa, invasión de órganos, etc., finalmente el tegumento es nuevamente atravesado por las hifas y, si las condiciones ambientales y humedad ambientales son favorables, se producen conidias en la superficie externa del cadáver. Estas conidias son unidades infectivas que se ponen en contacto con nuevos hospederos, luego de ser dispersados por agentes externos como el viento y las precipitaciones (McCoy *et al.*, 1980, citado por Pendland *et al.*, 1997; Horton *et al.*, 19890, Sprenkel y Brooks, 1975).

Se caracteriza por presentar estructuras reproductivas en forma de conidios, crece lentamente en medios de cultivos presentando en un inicio una colonia de color verde pálida, cambiando conforme maduran sus conidias a verde malaquita o verde olivácea.

Su hifa vegetativa es septada, de pared lisa, hialinas o ligeramente pigmentadas; su estructura reproductiva es un conidióforo septado que nace de la hifa formando densos grupos de racimos con 2 o 3 fiálides compactadas alrededor del conidióforo, las fiálides son cilíndricas con las bases ocasionalmente ensanchadas y cuello muy corto o ausente de 4.7-6.5 x 2.3- 3µm. los conidios en cadena, de forma elipsoidal algunas veces cilíndricos de 3.6-4.5 x 2-3.1µm (Samson, 1974).

La temperatura optima para el crecimiento micelial y esporulación del hongo es de 25°C, el tiempo promedio para iniciar la esporulación a 15, 20 y 25°C es de 21, 10 y 9 días respectivamente (Ignoffo *et al.*,1976). A temperaturas de 5, 35, 37 y 40 °C y entre 40 y 60% de humedad relativa no presenta germinación de conidias, (Ignoffo, 1981).

Beauveria bassiana

Dentro de los hongos entomopatógenos *B. bassiana* fue de los primeros en ser descritos desde 1935, denominándose “muscardina blanca” afectando al gusano de seda, desde entonces es uno de los agentes de control microbiológico de insectos más importantes. Balsamo en honor de Agostino Bassi de Lodi nombra al hongo *Botrytis bassiana*, pero en 1912 Vuillemin, crea el género *Beauveria* y *bassiana* como especie tipo. En 1972 Hoog, menciona a dos especies, *B. bassiana* y *B. brongniartii* (=Tenella) que afectaban a diferentes grupos de insectos (Rosas, 2002). Las conidias de *B. bassiana* son, hialinas, de forma globosa a oval, conidióforos solos o agrupados en masas irregulares. Las conidias de *B. brongniartii* son elípticas (Fargues *et al.*, 1974). La temperatura para su desarrollo óptimo es de 23-25 °C.

Ubicación taxonómica de *Beauveria bassiana*

La clasificación de acuerdo a Alexopolus y Mims (1979), McCoy *et al.*, (1988) y Samson (1988) es la siguiente

Reino: Mycota

División: Amastigomicotina

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Deuteromycetes

Subclase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Beauveria*

Especie: *bassiana*

Biología del hongo

B. bassiana es un hongo imperfecto, con hifas septadas y estructuras reproductivas llamadas conidióforos, donde se encuentran las conidias (Tanada y Kaya, 1993), el micelio ramifica para formar los conidióforos simples e irregulares que terminan en vértices en forma de racimos, con la base globosa en forma de botella y en un adelgazamiento en forma de inserción de las conidias que miden de 2 a 3 μ , con esterigmas curvados irregulares o dispuestos en zig-zag de color blanco cremoso (Rosas, 1994; DGSV, 1999).

Se ha reportado atacando a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de gran importancia agrícola. Entre las plagas más importantes controladas por este hongo están la broca del café, la palomilla del repollo y el picudo del plátano (*Cosmopolites sordidus*).

Metarhizium anisopliae

El hongo entomopatógeno *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin, tiene distribución cosmopolita y presenta más de 200 especies de insectos hospederos; dentro de ellos, *S. frugiperda* (Maniania y Fargues, 1984).

Ubicación Taxonómica

Según (Alexopoulos y Mims, 1979; McCoy *et al.*, 1988; Samson, 1988)

Reino: Mycota

División: Amostigomicotina

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Metarhizium*

Especie: *anisopliae*

Biología del hongo

M. anisopliae forma conidióforos simples o agregados, posee conidias alargadas, ovoides o cilíndricas dispuestas en cadena originadas de un conidióforo

en forma de botella, las conidias miden de 6 a 8 μm y tienen un color verde olivo por lo que la enfermedad en los insectos se llama “muscardina verde”. Este hongo es considerado cosmopolita (Berlanga *et al.*, 1997; CB-08, 1999).

Importancia

El primer intento de control microbiano con esta especie fue realizado por Metschnikoff en 1979 para el control de larvas de *Cleonus puntiventris* (Curculionidae) Germ, en remolacha azucarera. En 1884 Krassiltschik continuó con estos estudios, obteniendo de 50 a 80% del control de insectos después de 10 a 15 días de la aplicación (McCoy *et al.*, 1988).

Lazama (1993) Menciona a *M. anisopliae* causando porcentajes de mortalidad superiores al 94% sobre *S. frugiperda* en el estadio de huevo. Al igual Lezema *et al.* (1996) reportan que estudios de laboratorio han demostrado que *S. frugiperda* es susceptible al hongo *M. anisopliae* en los estados biológicos de huevo y larva, con porcentajes de mortalidad de 100% y valores de TL_{50} de 2.5 a 2.9 días en huevo y 1.3 a 3.1 días en larvas, a una concentración de 1×10^8 conidias/mL; sin embargo, no se tiene antecedentes de evaluaciones de este hongo bajo condiciones de campo (Lezema *et al.*, 2005).

Proceso de infección de hongos patógenos

El proceso se inicia cuando la espora o conidia se adhiere a la cutícula del insecto, luego desarrolla un tubo germinativo y un apresorio, con éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto. La germinación ocurre aproximadamente a las 12 horas post-inoculación y la formación de apresorios se

presenta de 12 a 18 horas post-inoculación (Vicentini y Magalhaes, 1996). En la penetración participa un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales causan descomposición del tejido en la zona de penetración, lo que facilita el ingreso del hongo. Después de la penetración, la hifa se ensancha y ramifica dentro del tejido del insecto, colonizando completamente la cavidad del cuerpo del insecto, esto sucede en 3 ó 4 días después de la inoculación. A partir de la colonización se forman pequeñas colonias y estructuras del hongo, lo que corresponde a la fase final de la enfermedad del insecto, ocurre 4 ó 5 días después de la inoculación (Hajek y Leger, 1994).

Otra forma mediante la cual el hongo puede causar la muerte del insecto, es mediante la producción de toxinas. Los hongos entomopatógenos tienen la capacidad de sintetizar toxinas que son utilizadas en el ciclo de la relación patógeno-hospedante. Entre estas toxinas se han encontrado dextruxinas, demetildextruxina y protodextruxina, las cuales son sustancias de baja toxicidad, pero de mucha actividad tóxica sobre insectos, ácaros y nematodos (Sandino, 2003). Las destruxinas afectan varios organelos tales como mitocondria, retículo endoplásmico y membrana nuclear, paralizando las células y causando disfunción del intestino, túbulos de Malpighi, hemocitos y tejido muscular. La esporulación ocurre en 2 a 3 días, dependiendo de las condiciones de temperatura y humedad relativa del ambiente.

La infección por el entomopatógeno puede ser afectada principalmente por la baja humedad relativa y por la falta de habilidad para utilizar los nutrientes disponibles sobre la superficie de la cutícula o por la falta de factores necesarios para el reconocimiento de un hospedero susceptible o sitio de infección penetrable. El reconocimiento de un hospedero susceptible involucra signos químicos y topográficos. También puede fracasar la invasión del hongo por la presencia de

compuestos inhibitorios tales como fenoles, quinonas y lípidos en la superficie de la cutícula (Hajeck y Leger, 1994).

Los síntomas que causan los entomopatógenos son variables: las ninfas disminuyen sus movimientos, disminuyen la producción de espuma y pueden abandonar los lugares de ataque. Los adultos infectados presentan movimientos lentos, no se alimentan, reducen su radio de vuelo y las hembras no ovipositan. Pueden morir en lugares distantes de donde fueron contaminados. El ciclo total de la enfermedad es de 8 a 10 días. Después de la muerte, los individuos presentan un crecimiento micelial blanco seguido por la típica esporulación verde. En algunas ocasiones no se presenta la esporulación sobre el tegumento, solamente se ve la presencia de micelio y se debe a condiciones inadecuadas de humedad durante el proceso de esporulación (Lecuona, 1996).

Bacterias entomopatógenas

Las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, llamadas bacteriosis, se presentan en todos los organismos, desde los más simples a los más complejos al igual que la mayoría de los patógenos de insectos, las bacterias entomopatógenas infectan al insecto vía oral; de las bacterias reportadas como entomopatógenas la más importante es *Bacillus thuringiensis*, ésta es la más conocida y extensamente utilizada como agente de control microbiano, con más del 90% del mercado de bioinsecticidas (Rodríguez y Arredondo, 2007).

Taxonomía

B. thuringiensis es una bacteria perteneciente a la familia Bacillaceae del género *Bacillus*, situado taxonómicamente dentro del grupo de bacilos gram positivos

formadores de una endoespora, dentro de especies con flagelación peritrica. *B. thuringiensis* está dentro del grupo I del género, que es donde se encuentran aquellas especies con espora elipsoidal que no provocan hinchamiento del perfil bacilar. La principal diferencia de *B. thuringiensis* con respecto a otros bacilos es la formación, durante la fase de esporulación, de uno o más cuerpos cristalinos de naturaleza proteica adyacentes a la espora, y algunos de estos cristales resultan tóxicos para algunas especies de insectos, con alta eficiencia y especificidad y bajo impacto sobre el medio ambiente. El cristal presenta una gran diversidad de formas dependiendo de la proteína que lo constituya, encontrándose cristales bipirimidales, cúbicos, romboidales, esféricos, rectangulares, triangulares e irregulares con tamaños variados (Iriarte y Caballero, 2001).

B. thuringiensis es habitante de muchos ambientes, y se han aislado de suelo, insectos, polvo de productos almacenados, residuos, hojas y coníferas (Ibarra, 2003).

Bt requiere ser ingerido para que lleve a cabo su efecto patotóxico. La bacteria sin el cristal no tiene la capacidad de invadir a su hospedero. Al ingerirse el complejo espora-cristal, los cristales se disuelven en el mesenterón, debido a su contenido altamente alcalino. Una vez disuelta, las proteínas del cristal sufren proteólisis por las proteasas digestivas del insecto; sin embargo, su degradación no es completa, quedando intacta una proteína de aprox. 65 Kdal. Esta es la llamada delta-endotóxina (proteínas Cry), la cual adquiere una configuración tridimensional que le confiere gran especificidad para acoplarse a un componente glicoproteico de la membrana de las células epiteliales lo cual causa trastornos metabólicos. En consecuencia, la larva puede morir de inanición en 4 o 5 días. Por otro lado al disminuir el pH del contenido estomacal a causa de la delta-endotóxina (proteínas Cry), crea un ambiente favorable para la germinación de las esporas ingeridas junto con los cristales, iniciando la proliferación de las bacterias en el individuo paralizado, pudiendo sobrevenir la muerte por septicemia, o por la combinación del efecto tóxico. A pesar de que las larvas muertas contienen gran cantidad de esporas y cristales debido a que proliferan en los cadáveres, estas normalmente no representan focos de infección para otros individuos, ya que, desafortunadamente Bt posee una

residualidad muy reducida en campo, debido principalmente al efecto degradador de los rayos UV del sol. Además en el cadáver se presentan otras bacterias saprofitas que compiten con Bt (Ibarra *et al.*, 2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

El estudio se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizado a 25° 23' N, 101 ° 00 W, con una altitud de 1743 msnm. El área utilizada fue una cámara bioclimática acondicionada para el desarrollo de insectos en el Departamento de Parasitología.

Colecta y reproducción del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*

Las larvas del gusano cogollero fueron obtenidas de una cría axénica del insecto en el Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). La reproducción se realizó de la manera siguiente:

Se colectaron larvas y masas de huevecillos de plantas de maíz en campo, colectándose larvas que no estuvieran infectadas por patógenos y colocándolas en bolsas de papel kraft y en cajas petri para su traslado a su lugar de reproducción en la cámara bioclimática, la cual se mantuvo a una temperatura de 25 ± 2 °C con un fotoperiodo de 12:12 horas luz/ oscuridad y 50-60 % de HR.

Dieta

Se usó la dieta artificial de la compañía Soutland Products Incorporated, para la cría del gusano cogollero esta contiene harina de soya, harina de trigo, vitaminas, proteínas entre otros componentes, su preparación consistió en, mezclar 324 gr de dieta en 2 litros de agua, se dejó hervir, batiéndose constantemente para después añadir el aceite de linaza cruda (Raw linseed oil) posteriormente se mezcló en una licuadora por tres minutos, una vez mezclándose vació en vasos pequeños de plástico, de numero "0"(Envases Cuevas S. A.) colocando de 5 a 10 ml por vaso.

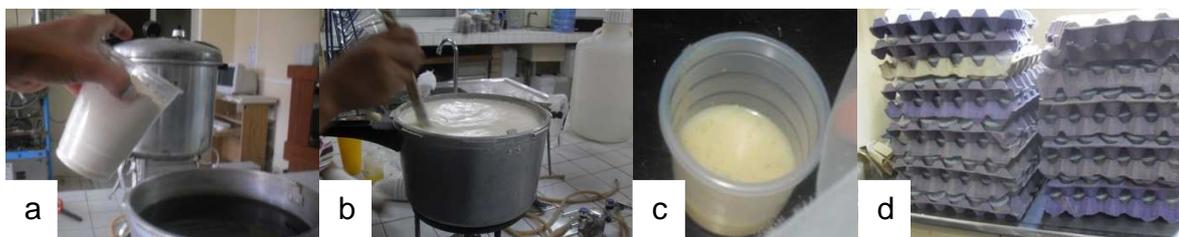


Figura 6. Preparación y envasado de dieta artificial. a) Mezcla de dieta con agua b) Cocido de dieta, c) Recipiente (copa de 1 onza) con dieta, d) Recipientes de dieta en soporte para su uso.

Mantenimiento de la colonia.

Los huevecillos producto de la copula entre adultos del insecto fueron colectados diariamente, estos se colocaron en vasitos de plástico con dieta artificial. Se obtuvo una muestra representativa para hacer conteo y tener una aproximación de la producción de larvas en la colonia. Los huevecillos tardaron en eclosionar de 3 a 5 días.

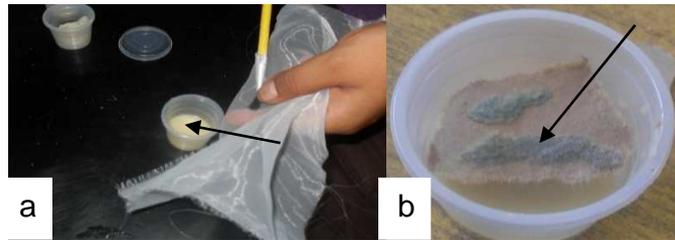


Figura 7. Huevecillos de *Spodoptera frugiperda* a) Colecta de huevecillos, b) Masa de huevecillos.

Cuando las larvas pasaron a segundo o tercer instar se separaron y se colocó una larva por vaso con dieta artificial. Las larvas pasaron por 6 ó 7 instar larvales siendo estos de 3 días aproximadamente cada uno.

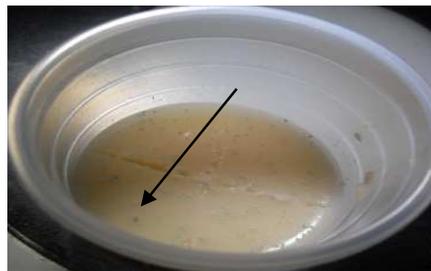


Figura 8. Dieta artificial infestada, para desarrollo de larvas de *Spodoptera frugiperda*

Las larvas al pasar al estadio de pupa fueron lavadas con agua clorada al 1% para desinfectar y evitar contaminación. Posteriormente en recipientes de plástico con capacidad de un litro, se colocaron 50 parejas de machos y hembras para observación, al emerger los adultos se colocaron en recipientes de 4 y 20 litros para la reproducción masiva. En los recipientes se colocaron vasos pequeños con algodón y agua azucarada al 10 % para alimentación de adultos. Dentro de los recipientes se colocó papel estraza para facilitar la ovoposición, colectando los de huevecillos. La cría se inició con tiempo de anticipación, con el objeto de contar diariamente con larvas para los bioensayos.

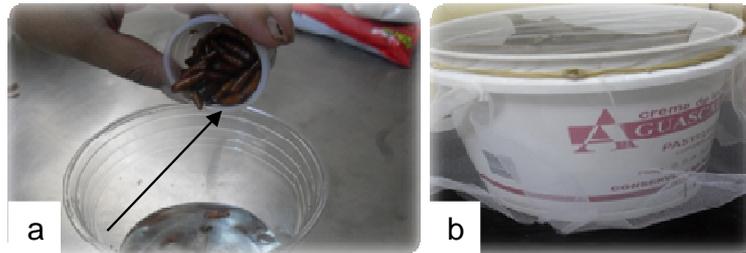


Figura 9. Larvas de *Spodoptera frugiperda*, a) Desinfección de larvas con agua clorada al 1%, b) Recipiente de 10 L con adultos de *Spodoptera frugiperda*

Siembra de maíz en maceta

En bolsas de polietileno de 5 kg fueron dobladas a la mitad y llenadas de suelo fértil para germinar semillas de maíz. Una vez sembradas se les realizó un riego cada tercer día, una vez emergidas, a los ocho días se les aplicó fertilización para obtener plantas vigorosas. Las plantas de maíz se utilizaron como dieta natural para realizar los bioensayos en laboratorio y determinar el porcentaje de mortalidad causada por los conidios de los entomopatógenos a evaluar.

Suspensión de conidias

Las concentraciones de conidios de las cepas de los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, y *N. rileyi*, utilizados para esta investigación fueron proporcionadas por los laboratorios de **Agrobiological Control S. A. de C. V.** (ABC). La reproducción se llevó a cabo en el mismo laboratorio ubicado en la Ciudad de Saltillo, Coahuila, México. El material proporcionado consistió en polvo fino concentrado de conidios de cada hongo. El extracto de crecimiento (potenciador) fue donado por la Facultad de Ciencias Químicas de la

UAC. Universidad Autónoma de Coahuila por el Dr. Cristóbal Aguilar del Departamento de Alimentos de la misma Universidad.

De cada concentrado se preparó una solución madre de 0.05 g de conidias por cada 50 mL de agua destilada, homogeneizándose la mezcla en un agitador vortex para lograr una mayor uniformidad. Las soluciones se mantuvieron en refrigeración y cada vez que se utilizaron se colocaban por cinco minutos en agitador.

De cada solución de conidios se realizó un conteo al microscopio compuesto en cámara de Neubauer, obteniendo para cada entomopatógeno las siguientes concentraciones; para *Nomuraea rileyi* 6.0×10^7 conidias/mL, *Beauveria bassiana* 4.25×10^7 conidias/mL y para *Metarhizium anisopliae* 2.8×10^7 conidias/mL.

Preparación de las suspensiones conidios

A partir de la solución madre se preparo una dilución 1:10. Para ello 10 ml de la solución stock fue diluida en 90 ml de agua destilada para obtener la solución 1:10. La solución fue agitada en vortex por cinco minutos para obtener, una mayor homogenización de la mezcla.

La mezcla de la suspensión más el potenciador se realizó incluyendo 5 mL del extracto (sobrenadante) del crecimiento de cada hongo entomopatógeno en la mezcla con los conidios, esto es en lugar de usar 90 mL de aguas destilada para la dilución se empleó 85 ml de agua destilada más 5 mL del extracto y los 10 mL del concentrado o dilución de conidios.

Establecimiento de bioensayos

La evaluación de la actividad de la dilución de los concentrados de conidios de los hongos entomopatógenos se realizó en la cámara bioclimática No. 10 del

Departamento de Parasitología de la “Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro”. La evaluación consistió en determinar la mortalidad causada por los hongos entomopatógenos, y con esto determinar si la suspensión de conidios tiene un efecto sobre el control de *S. frugiperda*. Los tratamientos (conidias de hongos entomopatógenos y mezclas con el potenciador) se muestran en el cuadro No 2.

Tratamientos empleados en el bioensayo

Para los bioensayos se usó dieta natural de cortes de hojas, tallos de maíz, los cuales fueron colocados en contenedores de plástico, transparente de 250 g, estos fueron asperjadas con las suspensiones de hongos antes mencionados, se esperó a que secaran y posterior a esto, se colocaron 5 larvas de 1^{er}, 2^{do} y 3^{er} estadio por separado. Las larvas en estadio fueron mantenidas en inanición por 4 horas. Se usaron cuatro repeticiones para cada tratamiento (diluciones) y se utilizó *B. thuringiensis* como comparativo con una concentración conocida que previamente presentaba actividad y un testigo absoluto que solo consistió en pura dieta. A cada contenedor se le colocó un algodón húmedo para proveer la humedad requerida y la tapa fue perforada para permitir la respiración y evitar el ahogamiento de las larvas. Los tratamientos fueron observados a los nueve días de haber hecho la aspersión, para medir el porcentaje de mortalidad, posteriormente se dejaron en observación para confirmar que realmente la mortalidad fuera causada por el hongo (larvas micosadas).

Cuadro 2. Concentraciones de conidios de hongo los entomopatógenos utilizadas para establecer bioensayos de actividad.

	*	Concentración	Dosis	Repeticiones
T1	Nr	6.0×10^7	0.05g/50mL	4
T2	Nr+P	6.0×10^7	0.05g/50mL	4
T3	Ma	2.8×10^7	0.05g/50mL	4
T4	Ma+P	2.8×10^7	0.05g/50mL	4
T5	Bb	4.25×10^7	0.05g/50mL	4
T6	Bb+P	4.25×10^7	0.05g/50mL	4
T7	Bt	-----	-----	4
T8	T	-----	-----	4

*Nr= *Nomuraea rileyi*, Nr+P= *Nomuraea rileyi* + potenciador
 Ma= *Metarhizium anisopliae*, Ma+P= *Metarhizium anisopliae*+ potenciador
 Bb= *Beauveria bassiana*, Bb+P= *Beauveria bassiana*+ potenciador
 Bt= *Bacillus thuringiensis*, T= testigo absoluto

Análisis de datos

Los datos obtenidos de porcentaje de mortalidad por tratamiento, en los diferentes estadios larvales fueron separados por una prueba de comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$), analizando mediante un diseño experimental de bloques al azar (SAS, 2001) y estratificando las medias de cada entomopatógeno y sus mezclas con el potenciador mediante la prueba de comparación de medias de Tukey a una probabilidad del 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró mantener libre de contaminación una colonia del gusano cogollero *S. frugiperda* en cultivo bajo dieta artificial axénicamente. Este cultivo permitió producir larvas de primeros estadios diariamente, lo cual facilitó la realización de los bioensayos de los entomopatógenos en estudio. Masas de huevecillos del insecto fueron desinfectados y recolectados diariamente, los cuales al cabo de tres días emergieron como larvas que pasaron por seis estadios para llegar a pupa entre 14 a 18 días y en emerger como adultos en 7 a 10 días. Este ciclo se repitió constantemente cada 35 días.

En los bioensayos de actividad entomopatógena realizados por microaspersión de conidios de los entomopatógenos se observó claramente síntomas en larvas utilizadas como disminución de alimentación, baja movilidad y al final una infección tipo micosis característica de los hongos Hyphomycetes. Estos datos se utilizaron como criterio para evaluar el porcentaje de mortalidad.

La evaluación de la actividad de los conidios de los hongos entomopatógenos en estudio *N. rileyi*, *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *B. thuringiensis* en larvas de primer estadio del gusano cogollero se muestran en el cuadro 3. Al mismo tiempo se realizaron evaluaciones de las mezclas sinérgicas de *N. rileyi* más el extracto de crecimiento de estos entomopatógenos.

Fue notorio encontrar actividad bioinsecticida en *N. rileyi* solo y en mezcla con el extracto de crecimiento (potenciador) y Bt en rangos que oscilaron del 72% hasta 8%. Los bioensayos con *M. anisopliae* de manera individual y en mezcla con el extracto de crecimiento (potenciador) carecieron de actividad infectiva en larvas de primer estadio del gusano cogollero.

Cuadro 3. Mortalidad larvas de primer estadio de *Spodoptera frugiperda* por entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extractos (potenciador) de crecimiento.

% DE MORTALIDAD POR REPETICION								
TRATAMIENTOS	#/REPETICION	R1	R2	R3	R4	R5	*MEDIA	GRUPO
Nr	5	80	100	40	60	80	72.000	A
Nr+P	5	40	40	80	80	60	60.000	A
Ma	5	0	0	0	0	0	0.000	B
Ma+P	5	0	0	0	0	0	0.000	B
Bb	5	0	0	0	0	0	0.000	B
Bb+P	5	0	0	0	0	0	0.000	B
Bt	5	20	0	20	0	0	8.000	A
T	5	0	0	0	0	0	0.000	B

DMS= 17.50000 C.V=65.15288 *valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey (P≤0.05)

Resultados muy similares de actividad en la evaluación de los entomopatógenos, y su mezcla con el extracto de crecimiento (potenciador) ocurrieron con larvas del segundo estadio de *S. frugiperda*, es decir los entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana*, de manera individual y en mezcla con el extracto de crecimiento (potenciador) no mostraron infectividad en el insecto mientras que los conidios de *N. rileyi* y su mezcla con el potenciador fueron igualmente efectivos y en menor media la bacteria entomopatógena *B. thuringiensis* (Cuadro 4), que aumento su % de mortalidad en larvas de 2^{do} estadio, incluso en este bioensayo el coeficiente de variación fue mucho menor que en primer estadio (65%), con lo que a menor variación mayor certidumbre en la experimentación, sin embargo la mortalidad es muy baja para este insecto.

Cuadro 4. Mortalidad de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extractos de crecimientos (potenciador) para el control de larvas de segundo estadio *Spodoptera frugiperda* en dieta natural.

% DE MORATALIDAD POR REPETICION						
TRATAMIENTOS	#/REPETICION	R1	R2	R3	*MEDIA	GRUPO
Nr	3	60	70	80	70.000	A
Nr+P	3	70	65	64	66.333	A
Ma	3	0	0	0	0.000	C
Ma+P	3	0	0	0	0.000	C
Bb	3	0	0	0	0.000	C
Bb+P	3	0	0	0	0.000	C
Bt	3	10	15	24	16.8333	B
T	3	0	0	0	0.000	C

DMS= 19.083233, C.V= 23.481443 *valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey (P≤0.05)

El comportamiento de los entomopatógenos en larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* mostró que hubo menor efectividad en el insecto, ya que los porcentajes de mortalidad fueron inferiores en comparación con el primer y segundo estadio, como se puede observar en el cuadro 5, el caso de *N. rileyi* de forma individual y en mezcla con el extracto el cual presenta actividad (49%) sin embargo se encuentra en menor porcentaje.

También se observó que los *B. bassiana*, *M. anisopliae*, solos y en mezcla con el potenciador no desarrollaron actividad alguna, mientras que *N. rileyi* y *N. rileyi* con el extracto de crecimiento fueron efectivos en menor medida en *S. frugiperda* (cuadro 5), en comparación con primer y segundo estadio.

Cuadro 5. Mortalidad de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento (potenciador) para el control de larvas de tercer estadio *Spodoptera frugiperda* en dieta natural.

% DEMORTALIDAD POR REPETICION						
TRATAMIENTOS	#/REPETICION	R1	R2	R3	*MEDIA	GRUPO
Nr+P	3	45	50	52	49.000	A
Nr	3	20	25	20	21.667	B
Ma	3	0	0	0	0.000	C
Ma+P	3	0	0	0	0.000	C
Bb	3	0	0	0	0.000	C
Bb+P	3	0	0	0	0.000	C
Bt	3	0	0	0	0.000	C
T	3	0	0	0	0.000	C

DMS= 8.3333, C.V=18.48672 *valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey (P≤0.05)

Los bioensayos de actividad muestran que el hongo *N. rileyi* fue el entomopatógeno, de los tres evaluados que mostró mayor actividad bioinsecticida, en condiciones ambientales de alta humedad y temperatura de 22°C, apreciándose visiblemente el desarrollo micelial del hongos sobre el cuerpo de las larvas en los tres primeros estadios de *S. frugiperda*, con lo cual se determinó que efectivamente el causante de la muerte fue el entomopatógeno. En primer y segundo estadio, este hongo, desarrollo un porcentaje de mortalidad muy similar de 72 y 70% respectivamente. Por otra parte con el mismo hongo en mezcla con el potenciador y en los mismos estadios larvales, no se observó incremento del porcentaje de mortalidad, estimándose mortalidades semejantes (60 y 66.3%), a las obtenidas con el extracto. El potenciador en mezcla con *N. rileyi* aplicados en larvas de tercer estadio larval, se registró mortalidades mayores (49%), a los registrados con larvas del mismo estadio tratadas solo con *N. rileyi* (21.67%). Aparentemente el potenciador

actúa en estadios avanzados y carece de efecto en primeros estadios, posiblemente debido a que el potenciador contiene enzimas que le permiten al hongo entomopatógeno desarrollarse más fácilmente sobre los estadios más avanzados, sin embargo estadísticamente no existe diferencia de actividad en la mortalidad promedio sobre el insecto comparando el hongo con la mezcla.

Cuadro 6. La mortalidad de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento (potenciador) para el control de larvas de los tres primeros estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* en dieta natural a base de plantas de maíz.

Tratamientos	Concentración (conidias/ml)	Dosis (gr/ml)	No. de larvas	% de mortalidad larval		
				Primero	Segundo	Tercero
Nr	6.0×10^7	0.05/50	20	72.00 a	70.00 a	21.67 a
Nr+P	6.0×10^7	0.05/50	20	60.00 a	66.33 a	49.00 b
Ma	2.8×10^7	0.05/50	20	0.00 b	0.00 b	0.00 c
Ma+P	2.8×10^7	0.05/50	20	0.00 b	0.00 b	0.00 c
Bb	4.25×10^7	0.05/50	20	0.00 b	0.00 b	0.00 c
Bb+P	4.25×10^7	0.05/50	20	0.00 b	0.00 b	0.00 c
Bt	-----	-----	20	8.00 b	16.33 b	0.00 c
T	s/a	s/a	20	0.00 b	0.00 b	0.00 c

*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey ($P \leq 0.05$)



Figura 10. Larvas de *S. frugiperda* tratadas con entomopatógenos, a) control, b) larvas micosadas con el hongo *N. rileyi*, y c) recolección de larvas micosadas por *N. rileyi*.

Los datos de mortalidad estimados para *N. rileyi* en esta investigación fueron menores a los reportados por Bosa *et al.*, (2004), quienes estimaron mortalidades de este hongo por arriba del 95% con una concentración de 1×10^7 siendo la misma empleada por nosotros. La infectividad y patogénesis de *N. rileyi* es influenciado por condiciones ambientales, principalmente la humedad, la cual es el principal requerimiento para la germinación de las conidias sobre su hospedero (Ignoffo y García 1985), tal y como se vio producida en este experimento.

Gouli *et al.*, (2008) y Khen-Hoe *et al.*, (2009), consideran a *M. anisopliae* y a *B. bassiana* como un buen agente de biocontrol, sin embargo en este estudio su actividad sobre larvas de *S. frugiperda* fue nula, posiblemente por la temperatura del experimentación dado que *N. rileyi* actúa muy bien a temperaturas de 20 °C mientras que *B. bassiana* y *M. anisopliae* lo hacen a temperaturas entre los 25-30°C. Al respecto Shah y Pell (2003) y Shah *et al.* (2005) refieren que la variación entre la patogenicidad y virulencia entre diferentes especies, los aislados y situaciones, dependerá de la dispersión de la conidia. Por otra parte Boucias y Pendland (1991) y Fargues (1984) hacen referencia a la gran variedad de cutículas del organismo blanco que representan la barrera inicial para el patógeno y la adhesión del propágulo infectivo del hongo es necesaria para establecer una micosis. Además de una alta humedad relativa que incide sobre el desarrollo y actividad de los hongos entomopatógenos (Ignoffo, 1992).

Otra consideración podría deberse a que la cepa de *N. rileyi* empleada fue recuperada de este mismo insecto del cultivo del maíz en los meses de agosto septiembre en Buenavista, Saltillo, Coahuila cuando lo temperatura promedio es de 21°C- 24.4 °C, la cual explicaría la eficiencia del entomopatógeno y la nula actividad de *M. anisopliae* y *B. bassiana* que fueron recuperadas de otros insectos.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación podemos concluir lo siguiente:

El hongo *Nomuraea rileyi* fue el entomopatógeno más eficiente en el control de larvas de 1^{er}, 2^{do} y 3^{er} estadio con mortalidad en rangos de un 21.67 al 72% con mayor proporción en primero y segundo estadio a concentración de conidios de 6.0×10^6 .

N. rileyi en mezcla con el extracto de crecimiento (potenciador) proporciono mejor resultado de mortalidad en el tercer estadio del gusano cogollero (49%), mientras que el efecto del extracto de crecimiento fue nulo para incrementar la actividad sobre este insecto en larvas de primero y segundo estadio.

La ventaja que se observó al mezclar el extracto de crecimiento del entomopatógeno con conidios del hongo *Nomuraea rileyi* es que mantiene la mortalidad en estadios más avanzados de *Spodoptera frugiperda*.

Las cepas de los entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* no presentaron mortalidad en ninguno de los tres estadios de *Spodoptera frugiperda* solo ni en mezcla.

LITERATURA CITADA

- Alexopolus, C. J. y Mims C. W. 1979. *Intruductory mycology*. 3a Ed. John Wiley y Sons. New York.
- Andrews, K. L. 1988. Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomol.* 71(4):630-53.
- Andrews, K. L. y J. R. Quezada. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: Estado actual y futuro. Departamento de protección vegetal, Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. pp. 663.
- Asaff A, Cerda-García-Rojas C, Viniegra-González G, de la Torre M 2006 Carbon distribution and redirection of metabolism in *P. fumosoroseus* during solid-state and liquid fermentations. *Process Biochem.* 41: 1303-1310.
- Asaff T. A. Reyes V. Y. López L. V. E. De la Torre M. M. 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva (México)* 21: 291-295.
- Barnes S. E. Moore D. 1997. The effect of fatty, organic or phenolic acids on the germination of conidia of *Metarhizium flavoviride*. *Mycol. Res.* 101: 662-666.
- Barranco F. E. Alatorre R. R. Gutiérrez R. M. Viniegra G. G. Saucedo C. G. 2002 Criteria for the selection of strains of entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* for solid state cultivation. *Enz. Microb. Technol.* 30: 910-915.
- Bidochka M, Khachatourians G. 1991 The implication of metabolic acids produced by *Beauveria bassiana* in pathogenesis of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *J. Invert. Pathol.* 58: 106-117.

- Billich A. Zocher R. 1988 Constitutive expression of enniatin synthetase during fermentative growth of *Fusarium scirpi*. Appl. Env. Microbiol. 54: 2504-2510.
- Blahutiak A. 1970. Influencia de la temperatura en el desarrollo de *Laphygma frugiperda* S. and A. serie Poeyana. Inst. de Biología. A.C.C. No.77.
- Borror D. J., D. M. De Long y C. A. Tripehorm. 1989. An introduction to the Study of the insects. Sanders College .Pub. Filadelfia. 826 p.
- Bosa O. C. F., Chavez, D., Torres, L. París, A., Villamizar L. y Cotes A. M. 2004. Evaluation of native isolates of *Nomuraea rileyi* for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Colomb. Entomol. 30 (1): 93-97.
- Boucias, D. y Pendland, J. 1991. Attachment of mycopathogens to cuticle. In: G. T. Cole and H. C. Hoch (Eds.). The fungal spore and disease initiation in plants and animals. New York: Plenum Press, pp. 101-108
- Bruner, S. C; J. R. Deschappelles. 1965. La palomilla del maíz o gusano de la yerba y medios de combate. Estación Experimental Agronómica. Santiago de las Vegas. Habana.
- Capinera, J. L. 1999. Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). EENY-098, University of Florida IFAS Extension, Pp. 6.
- Carruthers IR, Hural K 1990 Fungi as natural occurring entomopathogens. En Baker RR, Dunn PE (Eds.) New Directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pests and Diseases. Liss. Nueva York, EEUU. pp. 115-138.
- CESAVEG, 2008. Campaña "Manejo Fitosanitario del Maíz". [En línea] citado en marzo de 2010. <http://www.cesaveg.org.mx/html/rizofagas.htm>

- Charnley AK 1997 Entomopathogenic Fungi and their role in pest control. En Wicklow D, Soderstrom M (Eds.) The Mycota IV. Environmental and Microbial Relationships. Springer. Heidelberg, Alemania. pp. 185-201.
- Christopher, R. D., R. Paliwal. L., y R. Cantrell. P. 1996. Maize in the Third World. Editorial Westviem Press a Division of Harper Collins Publisher. Colorado. U.S.A pp. 17-18
- Cifuentes, J. A. 1967. Oviposición del cogollero y daño de las larvas en plántulas de maíz y sorgo en invernadero. Agricultura Técnica de México. pp 2-7.
- Claydon N Grove J. 1982 Insecticidal secondary metabolic products from the entomogenous *Verticillium lecanii*. J. Invert. Pathol. 40: 413-418.
- Cowdey, C. C. 1923. The principal agricultural pest of Jamaica. Entomol. Bull. No.3 :18-20.
- Deshpande MV 1999 Mycopesticide production by fermentation: potential and challenges. Crit. Rev. Microbiol. 25: 229-243.
- DGSV. 1999. Uso de *Beauveria bassiana* como insecticida microbial. Dirección General de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico y Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha Técnica. CB-03.
- Engels, J. M. M., A. W. Ebert, I. aormann, and M. C. de Vicente. 2006. Centres of crop diversity and/or origin, genetically modified crops and implications for plant genetic resources conservation. Gen. Res. Crop Evol. 53:1675-1688.
- Fargues, J. 1984. Adhesion of the fungal spore to the insect cuticle in relation to pathogenicity. In: D. W. Roberts and J. R. Aist (Eds.). Infection processes of fungi. Pp. 90-110. New York: Rockefeller Foundation.
- Fargues, J., T. Duriez y R. Popeye. 1974. Analyze serologique de deuz champignoz entomopathogens *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill et *Beuaveria tenella* (Delacr). Siem. C.R. Academic Science. pp. 278-290.

- Gillespie A. T. Claydon N (1989) The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. *Pesticide Sci.* 27: 203-215.
- Gouli S., Gouli V., Skinner M., Parker B., Marcelino, J. y Shternshis M. 2008. Mortality of western flowers thrips, *Frankliniella occidentalis*, under influence of single and mixed fungal inoculations. *J. Agr. Techn.* 4 (2): 37-47.
- Hajek A. E. 1997 Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. *Adv. Microb. Ecol.* 15: 193-249.
- Hajek, A.E; Leger, R.J.St. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology.* 39:293-322.
- Harold F. M. 1999 In pursuit of the whole hypha. *Fungal Genet. Biol.* 27: 128-133.
- Harold FM (1999) In pursuit of the whole hypha. *Fungal Genet. Biol.* 27: 128-133.
- Hegedus D. Khachatourians G. 1995 The impact of biotechnology on hyphomycetous fungal insect biocontrol agents. *Biotechnol. Adv.* 13: 455-490.
- Hernández X., E. 1985. *Biología agrícola: los conocimientos biológicos y su aplicación a la agricultura.* México: Consejo Nacional para la Enseñanza de la Biología, CECSA. pp. 26-37
- Hruska, A. J., y C. Gladstone. 1987. El costo del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* en el maíz. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias. Managua, Nicaragua, pp 30-35
- Ibarra J. E. y J. E. López. 2000. Bacterias entomopatógenas. En: Badii, M. H., E. Flores y L. J. Galan, (Eds.). *Fundamentos y perspectivas del control biológico.* Universidad Autónoma de Nuevo León. Pp. 281-295.
- Ignoffo, C. M. 1981. The fungus *Nomuraea rileyi*. En: *Microbial control of pests and plant Diseases, 1970-1980.* Burges, H. D. (Ed.), Academic Press, London, New York, Pp. 523-538.

- Ignoffo, C. M. 1992. Environmental factors affecting persistence of entomopathogens. *Florida entomol.* 75: 516-525.
- Ignoffo, C.M. and García, C. 1985. Hosts spectrum and relative virulence of an Ecuadoran and Mississippian biotype of *Nomuraea rileyi*. *Journal of Invertebrate Pathol*, 45: 346-352
- Iriarte, J. y P. Caballero. 2001. Biología y Ecología de *Bacillus thuringiensis*. En: Caballero, P. Ferre J. (Eds). *Bioinsecticidas: Fundamentos y aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el Control Integrado de Plagas*. PHYTOMA-España, Navarra, España. pp. 15-44.
- James P, Kershaw M, Reynolds S, Charnley A 1993 Inhibition of desert locust (*Schistocerca gregaria*) malpighian tubule fluid secretion by Destruxinas, Cyclic peptide toxins from the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J. Insect Physiol.* 39: 797-804
- Jassic, J. y Reinés, M. 1974. Estudio experimental de la influencia de la temperatura en la palomilla del maíz. *Ciencias (Sec.4)*. 44:1-19.
- Jeffs L. B. Xavier I. J, Matai R. E. Khachatourians G. G. 1997 Relationships between fungal spore morphologies and surface properties for entomopathogenic members of the genera *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Tolyocladium*, and *Verticillium*. *Can. J. Microbiol.* 45: 936-948.
- Jegorov A, Sedmera P, Matha V, Simek P, Zahradnickova H, Landa Z, Eyal J. 1994 Beauverolides L. and La from *Beauveria tenella* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *Phytochemistry* 37: 1301-1303.
- Jugenheimer, R. W. 1988. Maíz, variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Limusa.México. 841p.
- Kershaw M. J, Talbot N. J. 1998 Hydrophobins and repellents: proteins with fundamental roles in fungal morphogenesis. *Fungal Genet. Biol.* 23: 18-33, 83.

- Khachatourians G. G. 1991 Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. En Arora D. K, Ajello L, Mukerji K. G. (Eds.) Handbook of Applied Mycology Vol. 2: Humans, animals and insects. Dakker. Nueva York, EEUU. pp. 613-661.
- Khachatourians G. G. 1996 Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. En Howard DH, Miller JD (Eds.) The Mycota VI. Human and animal relationship. Springer. Berlin, Alemania. pp 331-364.
- Kheng-Hoe P., Bong, C. F. J., Jugah K. y Rajan, A. 2009. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Isolates and their Effects on subterranean termite *Coptotermes curvignathus* (Isoptera: Rhinotermitidae). Amer. J. Agr. Biol. Sci. 4 (4): 289-297.
- Kilgore, W. W. y R. Duott.L. 1967. Pest control biological, physical, and selected chemical methods. Ed. Academic Press. New York, San Francisco, London, U.S.A.297 p.
- Kumul, D., E. 1983. Búsqueda de plantas silvestres del estado. de Veracruz con propiedades tóxicas contra gusano cogollero en maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) y mosquito casero *Culex quinquefasciatus* Say. Tesis profesional, Parasitología Agrícola, UACH. Chapingo, México. 76 p.
- Lecuona, R. E. ed. 1996. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Argentina. Talleres gráficos Mariano. 338 p.
- León, M. y J. L. Pulido. 1991. Importancia del control natural del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith. Memorias. Seminario *Spodoptera frugiperda* (El Gusano Cogollero) en sorgo, maíz y en otros cultivos. Revista Colombiana de Entomología. Pp. 78-82.
- Lexama, R. 1993. Patogenicidad en laboratorio de hongos (Hyphomycetes) y del nematodo entomopatogeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera :Noctuidae). Tesis de grado para Dr. en ciencias. Univ. de Colima .Tecomán:159 pp.

- Logrieco A, Moretti A, Castella G, KostECKi M, Golinsky P, Ritieni A, Chelhowski J
1998 Beauvericin production by *Fusarium* Species. *Appl. Env. Microbiol.*
64: 3084-3088.
- Luginbill, P. 1928. The fall armyworm. *USDA.Tech.Bull.*34: 92p.
- Martínez, M. R. y López. J. 2009. Hymenópteros parasitoides y depredadores en
cultivos de maíz-frijol en valles centrales de Oaxaca, México. *Memorias.*
Sociedad Mexicana de Entomología. 437 p.
- Maurer P, Couteaudier Y, Girard P. A, Bridge P. D, Riba G. 1997 Genetic diversity of
Beauveria bassiana and relatedness to host insect range. *Mycol. Res.* 101:
159-164.
- McCoy, C. W., Samson R. A. and Boucias D. G. 1988. Entomoptogenous fungi. En:
C. M. Ignoffo. *CRC Handbook of Natural Pesticides. Part V Microbial
insecticides an entomopatogenous, protozoa and fungi.* (Ed.) CRC, Press.
Inc. Boca Raton, Florida. Pp. 151-236.
- McGregor, R. y O. Gutierréz. 1983. *Guia de insectos nocivos para la agricultura en
México.* Ed. Alhambra, México, D.F. Pp. 166.
- Metcalf, C.R. y Flint. 1965. *Insectos destructivos e insectos útiles.* Primera Edición
Española.
- Milner JR 2000 Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia.
Biocontrol News Inf. 20: 47-50.
- Molina-Ochoa, J., J. E. Carpenter, E. A. Heinrichs y J. E. Foster. 2003. Parasitoids
and parasites of *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) in the
Americas and Caribbean basin: an inventory. *Florida Entomologist.* 86, (3).
254.
- Monzón A 2001 Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en
Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas.* (CATIE, Costa Rica) 63: 95-103.

- Monzón A 2001 Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas. (CATIE, Costa Rica) 63: 95-103.
- Murua, M. G., E Virla, G. 2004. Presencia Invernal de *Spodopera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera; noctuidae) en el Área Maicera de la Provincia de Tucumán, Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía. 105: 46-52
- Nadal, A. y T. Wise. 2004. Los costos ambientales de la liberación agrícola: El comercio de maíz entre México y Estados Unidos en el marco del NAFTA. En: H. Blanco, L. Toledo de Algueira y K.P. Gallagher (eds.). Globalización y medio ambiente lecciones desde las Américas. Heinrich Böll Foundation North América. pp. 1-44
- Nagoshi. R. N. y Meagher R. L. 2008. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. Florida Entomologist. 41: 546-554.
- Ortega Paczka, R. 2003. La diversidad del maíz en México. In Esteva, G., y C. Marielle (Coordinadores). Sin Maíz no hay País. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, D. F. pp. 123-154.
- Ortega Paczka, R. 2003. La diversidad del maíz en México. In Esteva, G., y C. Marielle (Coordinadores). Sin Maíz no hay País. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, D. F. pp. 123-154.
- Pashey D. P. 1988. Current status of armyworm host strains. Florida Entomol. 71(3):227-34.
- Pérez E., Felicia Piedra, María de los A. Zayas, J. Gómez-Souza, E. Blanco, Orietta Fernández, Alina Díaz, J. L. Ayala, J. Rojas, A. Pérez, Miriam Sánchez, Tamara Mateo, J. Ovéis y C. Hernández. 1994. Manejo Integrado de la palomilla del maíz (*S. frugiperda*, J. E. Smith). IX Forum Nacional de Ciencia y Técnica. La Habana. Cuba: 28 pp.

- Popov, P y Reinés, M.A.1975. Estudio de los daños ocasionados por el gusano *S. frugiperda* (Smith y Abbott) sobre el maíz (*Zea mays*).Ciencias, Serie II San. Veg. Universidad de la Habana. Cuba.
- Raulston, J.N;S.D.Pair;A.N.S.Parks;J.Luera;F.A.Pedraza;J. Pérez M;R. Rodríguez; H.Carrillo; R. Archundia and F.Herrera.1986.Fall armyworm distributions and population dynamics in the Texas-Mexico. Gulf Coast Area. Florida Entomol. 69:455-68.
- Reyes C., P. 1990. El maíz y su cultivo. AGT-EDITOR S.A. México, D.F.
- Riquelme M, Reynaga PCG, Gires G, Bartnicki GS 1998 What Determines Growth Direction in Fungal Hyphae. Fungal Genet. Biol. 24: 101-109.
- Roberts, L.M., U.C. Grant, R. Ramírez E., W.H.Hatheway, and D.L. Smith, in collaboration with P.C.Mangelsdorf. 1957. Races of maize in Colombia.National Academy of Sciences-National Research Council Publication 510.Washington, D. C. pp. 1-153.
- Rodríguez, Del B. L. A. y H. C. Arredondo, B. 2007. Teoría y aplicación del control biológico. 1ra ed. Editorial. Sociedad Mexicana de Control Biológico, A. C. Pp. 12, 62, 128, 146, 151.Piedra, F.1974. Effect of different forage diets on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lep:Noctuidae). Cuban. J.Agric.Sci.(English Ed.).8:99-103.
- Rodríguez, Del B. L. A. y H. C. Arredondo, B. 2007. Teoría y aplicación del control biológico. 1ra ed. Editorial. Sociedad Mexicana de Control Biológico, A. C. Pp. 12, 62, 128, 146, 151.
- Rodríguez, M. R. y C. de León. 2008. El cultivo del maíz. Temas selectos. 1^{era} Ed. Editorial Colegio de Postgraduados, Mundi-Prensa México, Pp. 29-45.
- Rosas, A. S. L. 2002. Hongos entomopatógenos. Memorias, I Curso Internacional de Patología de Insectos. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. Cap. 5. 49 p.

- Rosas, S. G. 1994. Sensibilidad y rapidez de mortalidad de *Oebalus mexicana* (Sailer) en cuatro estados biológicos, con 11 aislamientos de *Beauveria bassiana* (Bals). Vuill. (Hyphomycetes: Moniliales). Tesis de Licenciatura. Universidad de Guanajuato. Pp. 3-13.
- Ruiz HJ (1991) Biosynthesis of beta-glucans in fungi. *Antonie Van Leeuwenhoek* 60: 72-81.
- Samson, R. A. 1988. Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. Academic Press. Pp. 194-222.
- Sandino D., V.M. 2003. Manejo integrado de la salivita de la caña de azúcar. Nicaragua. FUNICA/UNA/CATIE, 26p.
- Shah, P. A. y Pell, J. K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl. Microbiol Biotechnol* 61:413-423.
- SIAP. 2011. "Maíz: números esenciales de un cultivo fundamental" [en línea]. 03 de Octubre de 2011[15 de Enero del 2012]. Disponible en la Web: <http://www.siap.gob.mx/index>
- Smith, W.G. 1919. List of the insects and mites pests of sugarcane in Porto Rico. *Journal Dep. Agric. Porto Rico*. 3(4):135-50.
- St. Leger RJ, Roberts DW (1997) Engineering improved mycoinsecticides. *Trends Biotechnol.* 15: 83-87.
- Strongman D, Strunz G, Giguere P, Yu CM, Calhoun L (1987) Enniatins from *Fusarium avenaceum* isolated from balsam fir foliage and their toxicity to spruce budworm larvae, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Chem. Ecol.* 14: 753-764.
- Tanada, Y. y Kaya K. H. 1993. Insect pathology. Academic Press. San Diego, Ca. 666 p.
- UNAM. 2007. Nuevo Atlas de México. Instituto de Geografía. 2da. Ed. México, D.F.

- USDA-NRCS, 2009. Departamento of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. [en línea]. Citado en octubre 2009. <http://plants.usda.gov/java/classificationsevlet?source=ZEMA>
- Van Dine, D.L. 1913. The insects affecting sugarcane in Porto Rico. *Journ. Econ. Entomol.* 6 (2):251-57.
- Vavilov, N.I. 1931. A problem concerning the origin of agriculture in the light of recent research. International Congress of the History of Science and Technology, London, pp. 95-106.
- Vicentini, S; Magalhaes, B.P. 1996. Infection of the grasshopper, *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn by the entomopathogenic fungus, *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* 25(2):309-314.
- Villamizar, L., F. Martínez y A. Cotes. 2008. Evaluación de fotoestabilidad de microcápsulas de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).) En: XXXV Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, 2008, Cali. p. 69.
- Wessels JGH (1999) Fungi in their own right. *Fungal Genet. Biol.* 27: 134-145.
- Wright S, Carruthers R, Bradley C, Jaronsky S, Lacey L, Wood P, Galaini WS (1998) Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biol. Control* 17: 203-217.

APENDICES

Cuadro 1. Análisis de varianza de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento para el control de larvas de primer estadio *S. frugiperda* en dieta natural.

FUENTE	DF	SUMA DE CUADRADO	CUADRADO DE LA MEDIA	F- VALOR	Pr>F
MODELO	7	31990.00000	4570.00000	35.15	<.0001
ERROR	32	4160.00000	130.00000		
TOTAL	39	36150.00000			

Cuadro 2. Análisis de varianza de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento para el control de larvas de segundo estadio *Spodoptera frugiperda* en dieta natural.

FUENTE	DF	SUMA DE CUADRADO	CUADRADO DE LA MEDIA	F- VALOR	Pr>F
MODELO	7	19960.50000	2851.50000	141.98	<.0001
ERROR	16	321.33333	20.08333		
TOTAL	23	20281.83333			

Cuadro 3. Análisis de varianza de entomopatógenos y mezclas sinérgicas con extracto de crecimiento para el control de larvas de tercer estadio *Spodoptera frugiperda* en dieta natural.

FUENTE	DF	SUMA DE CUADRADO	CUADRADO DE LA MEDIA	F- VALOR	Pr>F
MODELO	7	6738.66667	962.66667	361.00	<.0001
ERROR	16	42.66667	2.66667		
TOTAL	23	6781.33333			