



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE LA CUENCA DEL PAPALOAPAN

**MORTALIDAD DE *Spodoptera frugiperda* (J.E.) SMITH
CON TRES CEPAS DE *Metarhizium anisopliae* (METCH.)
SOROKIN**

Tesis que presenta:

BRAVO MARTÍNEZ BLANCA

Como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERÍA EN AGRONOMÍA

Tuxtepec, Oaxaca.

Marzo de 2018



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE
LA CUENCA DEL PAPALOAPAN



COLEGIO DE POSTGRADUADOS,
CAMPUS VERACRUZ

**MORTALIDAD DE *Spodoptera frugiperda* (J.E.) SMITH CON
TRES CEPAS DE *Metarhizium anisopliae* (METCH.) SOROKIN**

BRAVO MARTÍNEZ BLANCA

No. de control:13810013

ASESOR INTERNO:
Ing. Vicente Villar Zarate

ASESOR EXTERNO:
Dr. Francisco Osorio Acosta

PERIODO DE REALIZACIÓN:
JULIO – NOVIEMBRE 2017

SAN BARTOLO, TUXTEPEC, OAX. MARZO 2018

El presente proyecto de tesis, de la C. Blanca Bravo Martínez, denominado MORTALIDAD DE *Spodoptera frugiperda* (J.E.) SMITH CON TRES CEPAS DE *Metarhizium anisopliae* (METCH.) SOROKIN, que se desarrolló en el Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, fue revisado y aprobado por el:

DIRECTOR INTERNO

Ing. Vicente Villar Zarate



FIRMA

DIRECTOR EXTERNO

Dr. Francisco Osorio Acosta



FIRMA

COLABORADOR

M. C. Alín Malpica Vázquez



FIRMA

MARZO DEL 2018



San Bartolo, Tuxtepec, Oaxaca a 22/02/2018
ASUNTO: Dictamen de tesis aprobada.

ING. ANTELMO PÉREZ LEAL
DEPARTAMENTO ACADÉMICO
P R E S E N T E.

El comité de revisión de tesis de la C. Blanca Bravo Martínez, asignado por la Academia de Agronomía del Instituto Tecnológico de la Cuenca del Papaloapan de San Bartolo, Tuxtepec, Oaxaca, integrado por los CC. Ing. Vicente Villar Zarate, Ing. Enrique Cavazos Arizpe y C.M.A.E. Mercedes Muraira Soto, habiéndose reunido a fin de evaluar el trabajo final de la tesis titulada "MORTALIDAD DE *Spodoptera frugiperda* (J.E.) SMITH CON TRES CEPAS DE *Metarhizium anisopliae* (METCH.) SOROKIN", que se presenta como requisito parcial para obtener el título de Ingeniería en Agronomía, de acuerdo con las normas de elaboración de Tesis de licenciatura y posgrado vigentes en el Instituto; dictaminó su AUTORIZACIÓN para ser presentado en el Examen Profesional correspondiente.

ATENTAMENTE


ING. VICENTE VILLAR ZARATE
PRESIDENTE


ING. ENRIQUE CAVAZOS ARIZPE
SECRETARIO


C.M.A.E. MERCEDES MURAIRA SOTO
VOCAL



El presente proyecto de tesis, del de la C. Blanca Bravo Martínez, denominado MORTALIDAD DE *Spodoptera frugiperda* (J.E.) SMITH CON TRES CEPAS DE *Metarhizium anisopliae* (METCH.) SOROKIN, que se desarrolló en el Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, fue revisado y aprobado para su impresión por el Honorable jurado integrado por:

PRESIDENTE

Ing. Vicente Villar Zarate



FIRMA

SECRETARIO

Ing. Enrique Cavazos Arizpe



FIRMA

VOCAL

C.M.A.E. Mercedes Muraira Soto



FIRMA

MARZO DEL 2018

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme la sabiduría y por tantas bendiciones en mi vida, gracias señor por estar siempre en mi camino y darme la fuerza para continuar en todo momento.

A todo el personal Instituto Tecnológico de la Cuenca del Papaloapan por formar parte de mi carrera profesional.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, por brindarme la oportunidad de realizar mi proyecto de investigación en sus instalaciones.

Al Dr. Francisco Osorio acosta por permitir la realización de este trabajo en su laboratorio bajo su asesoría. Gracias por abrirnos las puertas y por todos los comentarios positivos.

A Mc. Alin Malpica por brindarme su amistad, tiempo, apoyo y constante motivación para la realización de este trabajo.

Al ing. Vicente Villar Zarate por sus valiosas enseñanzas, consejos y su amistad, en la realización de este proyecto, permitiéndome culminar con gran éxito la presente.

A todos mis amigos sin excluir ninguno, por disfrutar los buenos y malos momentos conmigo.

DEDICATORIA

Con gran respeto y admiración dedico esta tesis a mis queridos padres:

Sr. Francisco Bravo Cruz

Sra. Isabel Martínez Monjaraz

Agradezco por ser unos padres excepcionales, que me dieron todos los valores humanos necesarios para la vida.

A mi hija

El único amor perfecto en este mundo es aquel de una madre por su hija. Con cariño y amor para mi princesa Seydi. Te amo.

A mi pareja

José el amor de mi vida, por haber compartido tantos momentos de triunfos y fracasos durante ya cinco años. Tu apoyo ha hecho posible que a pesar de las dificultades y tropiezos que se presentaron en ésta etapa sigamos adelante.

A mis hermanas

Por ser uno de los motivos para la realización de este trabajo, para ser un ejemplo a seguir. Las llevo en mi corazón.

CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA.....	vii
CONTENIDO	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. OBJETIVOS.....	4
1.1.1. Objetivo general.....	4
1.1.2. Objetivos específicos	4
1.2. HIPÓTESIS.....	5
2. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1. GENERALIDADES DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH)	6
2.1.1. Clasificación taxonómica de <i>S. frugiperda</i>	7
2.1.2. Origen y distribución geográfica de <i>S. frugiperda</i>	7
2.1.3. Ciclo de vida de <i>S. frugiperda</i>	8
2.2. DAÑOS QUE OCASIONA <i>S. frugiperda</i>	12
2.3. MÉTODOS DE CONTROL DE <i>S. frugiperda</i>	14
2.3.1. Control químico.....	14

2.3.2. Control biológico	15
2.4. GENERALIDADES DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS	17
2.5. GENERALIDADES DE <i>Metarhizium anisopliae</i>	19
2.5.1. Clasificación taxonómica de <i>M. anisopliae</i>	20
2.5.2. Importancia y distribución de <i>M. anisopliae</i>	21
2.5.3. Morfología de <i>M. anisopliae</i>	22
2.5.4. Mecanismos de acción de <i>M. anisopliae</i>	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO	25
3.2. MATERIAL BIOLÓGICO	26
3.2.1. Insecto testigo	26
3.2.2. <i>Metarhizium anisopliae</i>	27
3.3. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PATOGENICA	28
3.3.1. Preparación de las suspensiones fúngicas	28
3.3.2. Cuantificación de conidios.....	28
3.3.3. Evaluación de los tratamientos.....	29
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	30
3.4.1. Análisis estadísticos	31
4. RESULTADOS	352
4.1. MORTALIDAD DE <i>S. frugiperda</i> , CON TRES CEPAS Y TRES CONCENTRACIONES.	352
4.2. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA MORTALIDAD DE <i>S. frugiperda</i> CON TRES CEPAS A TRES DIFERENTES CONCENTRACIONES.	35
4.3. PRUEBAS DE COMPARACIÓN DE MEDIA (TUKEY)	36

4.3.1. Prueba de comparación de media (Tukey) para el factor cepa	36
4.3.2. Prueba de comparación de media (Tukey) para el factor concentración	37
4.3.3. Prueba de comparación de media (Tukey) para el factor Cepa por Concentración.....	38
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39
6. BIBLIOGRAFÍA.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ciclo de vida de <i>S. frugiperda</i>	8
Figura 2. Larva de <i>S. frugiperda</i>	10
Figura 3. Pupas de <i>S. frugiperda</i>	11
Figura 4. Adultos de <i>S. frugiperda</i>	12
Figura 5. Perforación en el tejido foliar por <i>S. frugiperda</i> en plantas de maíz.....	13
Figura 6. Proceso de infección de <i>M. anisopliae</i> en el cuerpo del insecto.....	24
Figura 7. Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz.....	25
Figura 8. Colecta de <i>S. frugiperda</i> , en campo.....	26
Figura 9. <i>M. anisopliae</i> cultivado en cajas Petri.....	27
Figura 10. Larvas de <i>S. frugiperda</i> con su dieta.....	29
Figura 11. Larvas de <i>S. frugiperda</i> con presencia de micelio en cámara húmeda.....	30
Figura 12. Mortalidad de <i>S. frugiperda</i> con la cepa Ma25 a diferentes concentraciones.....	32
Figura 13. Mortalidad de <i>S. frugiperda</i> con la cepa Ma28 a diferentes concentraciones.....	33
Figura 14. Mortalidad de <i>S. frugiperda</i> con la cepa MaC a diferentes concentraciones.....	34

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Análisis de varianza para mortalidad de <i>S. frugiperda</i> con tres diferentes cepas de <i>M. anisopliae</i>	35
Cuadro 2. Pruebas de comparación de medias para el efecto de las cepas evaluadas a diferentes concentraciones, para el porcentaje de mortalidad de <i>S. frugiperda</i>	36
Cuadro 3. Comparación de promedios para el efecto de las concentraciones, para el porcentaje de mortalidad de <i>S. frugiperda</i>	37
Cuadro 4. Comparación de medias para la interacción cepa por concentración para el porcentaje de mortalidad de <i>S. frugiperda</i>	38

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar el porcentaje de mortalidad de *Spodoptera frugiperda* con las concentraciones: 1×10^8 , 1×10^9 y 1×10^{10} esporas.mL⁻¹ de tres cepas de *Metarhizium anisopliae*: Ma25, Ma28 y MaC. La evaluación fue realizada mediante bioensayos en condiciones de laboratorio, utilizando larvas de *S. frugiperda* recolectadas directamente en campo. El diseño experimental implementado fue una factorial con dos factores y 5 repeticiones para cada factor. El análisis estadístico consistió en realizar una anova para las diferentes fuentes de variación y sus respectivas pruebas de medias Tukey y DMS, para cada uno de los factores. Realizándose el análisis en el programa Statistical Analysis System versión 9.0. de acuerdo a los resultados obtenido la cepa MaC resultó ser la mejor una concentración de 1×10^{10} esporas.mL⁻¹, no existiendo significancia para el efecto de interacción concentraciones por cepa.

ABSTRACT

The objective of the present work was to determine the mortality percentage of *Spodoptera frugiperda* with the concentrations: 1×10^8 , 1×10^9 and 1×10^{10} spores.mL⁻¹ of three strains of *Metarhizium anisopliae*: Ma25, Ma28 and MaC. The bioassays were performed under laboratory conditions, using *S. frugiperda* larvae collected in the field. The experimental design implemented was a factorial with two factors and five repetitions each. The statistical analysis consisted of performing an anova for the different sources of variation and their respective Tukey and DMS means tests for each of the factors. The analysis was carried out in the Statistical Analyzes System version 9.0 program. According to the results obtained, the MaC strain was found to be the best at a concentration of 1×10^{10} spores.mL⁻¹, there was no significance for the effect of interaction concentrations per strain.

1. INTRODUCCIÓN

La producción de alimento suficiente para abastecer la demanda de la población actual, exige no solo una aplicación eficaz de las tecnologías agrícolas, sino la adquisición, uso efectivo y sustentable de nuevos conocimientos en aspectos de la agricultura para administrar de manera sustentable su sistema productivo.

En la producción de los alimentos, forrajes y fibras naturales indispensables para el hombre, los insectos destruyen gran parte de la producción (Flores, 2000). También, son vectores de organismos causantes de enfermedades en plantas, animales y el hombre. Por consiguiente, existen miles de especies de insectos plaga, difundidas en las regiones productivas de granos; su permanencia se limita al hábitat que les proporcionan comida y condiciones climáticas adecuadas para su reproducción.

Por consiguiente, el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidóptera: Noctuidae), insecto nativo del trópico y subtrópico americano es considerado una de las plagas insectiles omnívoras de mayor importancia económica. En regiones de Centro y Sur América, donde el principal huésped es el maíz (Pashley, 1998; Busato *et al.*, 2004).

Así mismo, en México, constituye una de las plagas agrícolas de suma importancia debido a que se encuentran en más de 80 especies de 23 familias de malezas, gramíneas, leguminosas (Polanía *et al.*, 2007). Por si fuera poco, la gran cantidad de huéspedes alternos hace que su dispersión sea amplia, asegurando su permanencia y abundancia en sus poblaciones (Pashley, 1988; Andrews, 1988).

En los últimos 30 años, el uso intensivo de insecticidas de amplio espectro contra este insecto ha impactado de manera negativa en el ambiente, por el alto riesgo de intoxicación y residuos en el alimento humano y animal. Además, de provocar resistencia en la mayoría a los compuestos convencionales registrados para su control (Negrete y Morales, 2005).

Conociendo la necesidad y los inconvenientes del uso del control químico, como única herramienta de control de *S. frugiperda*, además del costo elevado de insumos, surge la necesidad de buscar otras medidas de control, como el uso de agentes entomopatógenos, los cuales son alternativas viables tanto en el aspecto económico como el ecológico para el control de plagas importantes en cultivos básicos (Molina *et al.*, 1997).

En el caso del control microbiano de insectos plaga, se han usado virus, bacterias, protozoarios, hongos y nemátodos entomopatógenos. Además, han adquirido una especial relevancia como bioinsecticidas, principalmente en el control de plagas Lepidópteras (Granados y Federici,

1986). De manera que estos agentes de control se consideran como una opción eficiente para disminuir el impacto negativo, reducir y mantener la población por debajo de los niveles de daño económico, ya que actúan por contacto o ingestión. Así como sus múltiples mecanismos de acción que les confiere una alta capacidad para que el hospedero desarrolle resistencia. Es necesario recalcar que *S. frugiperda* es afectada por alrededor de 20 especies de entomopatógenos (Gardner y Fuxa, 1980).

Metarhizium anisopliae ataca más de 300 especies de diversos órdenes. Entre las plagas más afectadas se encuentra *S. frugiperda*, en diversos cultivos. Se ha utilizado exitosamente como agente de biocontrol, se ha desarrollado la tecnología de producción masiva y existen en el mercado productos formulados con conidios de este hongo. Pero existen pocos estudios a nivel laboratorio que han demostrado el potencial de *M. anisopliae* como agente de control de la especie *S. frugiperda*, por lo tanto, es necesaria la realización de nuevas investigaciones (Samson, 1981).

Por lo que se ha planteado como objetivo para la presente investigación, determinar la mortalidad de *Spodoptera frugiperda* con diferentes concentraciones de tres cepas de *Metarhizium anisopliae*. Resaltando que, con el uso eficiente de este hongo, podría ayudar a incrementar el nivel de ingresos, producción y calidad de los productos agrícolas en las familias rurales.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

Comparar la mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* con diferentes concentraciones de tres cepas de *Metarhizium anisopliae*.

1.1.2. Objetivos específicos

Determinar la concentración más adecuada de *M. anisopliae* para el control de larvas de *S. frugiperda*.

Evaluar la efectividad en el tiempo de las cepas Ma25, Ma28 y MaC de *Metarhizium anisopliae* sobre *Spodoptera frugiperda*.

1.2. HIPÓTESIS

Factor 1:

Ho. Todas las cepas de *Metarhizium anisopliae* generan la misma mortalidad sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.

Ha. Al menos una de las cepas de *Metarhizium anisopliae* genera mayor mortalidad sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.

Factor 2:

Ho: Todas las concentraciones de *Metarhizium anisopliae* causan la misma mortalidad sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.

Ha: Al menos una de las concentraciones de *Metarhizium anisopliae* causa mayor mortalidad sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.

Interacción:

Ho: No existe interacción (efecto) de las diferentes cepas de *Metarhizium anisopliae* por las concentraciones sobre la mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda*.

Ha: Existe interacción (efecto) de las diferentes cepas de *Metarhizium anisopliae* por las concentraciones sobre la mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. GENERALIDADES DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)

El gusano cogollero fue descrito por primera vez por J.E. Smith en el año 1852 y se han considerado algunas modificaciones posteriores a su clasificación. Sin embargo, desde 1958 es reconocido por su nombre científico como *Spodoptera frugiperda*, se ubicó dentro del género *Spodoptera*. Este insecto pertenece al orden Lepidóptera, con 3 500 especies en América del Norte. Presenta dimorfismo sexual, las características distintivas del macho son: expansión alar de 32 a 35 mm; longitud corporal de 20 a 30 mm; siendo las alas anteriores pardo-grisáceas con algunas pequeñas manchas violáceas con diferente tonalidad, tiene pequeñas manchas diagonales, una bifurcación poco visible que se extiende a través de la vena costal bajo la mancha reniforme; la línea subterminal parte del margen la cual tiene contrastes gris pardo y gris azulado; respecto a las alas posteriores, no presentan tintes ni venación coloreada, siendo más bien blanquecina; las hembras tienen una expansión alar que va de los 25 a 40 mm, faltándole la marca diagonal prominente en las anteriores que son poca agudas, grisáceas, no presentan contrastes; la mancha orbicular es poco visible; la línea postmedial doble y fácilmente vista (Ortiz, 2010).

2.1.1. Clasificación taxonómica de *S. frugiperda*

La clasificación taxonómica del gusano cogollero es la siguiente (Ángulo, 2000):

Reino: Animal.

Filo: Arthropoda.

Clase: Insecta.

Orden: Lepidoptera.

Familia: Noctuidae.

Género: *Spodoptera*.

Especie: *frugiperda*.

2.1.2. Origen y distribución geográfica de *S. frugiperda*

Actualmente el origen de este organismo no está aún bien definido, sin embargo, Walton y Luginbill, (1917); Luginbill, (1928) y Borbolla (1981), coinciden al afirmar que esta especie tiene su origen en los trópicos del Continente Americano, especialmente en América del Sur, ya que no posee diapausa (Carpenter *et al.*, 1983; Carpenter y Young, 1991). Es una especie de distribución tropical, aunque se le encuentra también en zonas templadas (Abbas *et al.*, 1989). Por lo que es una especie endémica del Continente Americano, incluyendo las Antillas y el Caribe. Mientras que en México se encuentra ampliamente distribuida en todas las zonas

agrícolas. De igual manera que en los estados con altitudes superiores a los 2000 msnm como: Guanajuato, Hidalgo, estado de México, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz (Andrews, 1988). Aparentemente, las condiciones climáticas están relacionadas con las fluctuaciones poblacionales de este insecto además de su dispersión (Pashley, 1986).

2.1.3. Ciclo de vida de *S. frugiperda*

Éste se completa aproximadamente en 30 días en verano, 60 días en primavera y 90 días durante el invierno (All, 1988), (Figura 1).

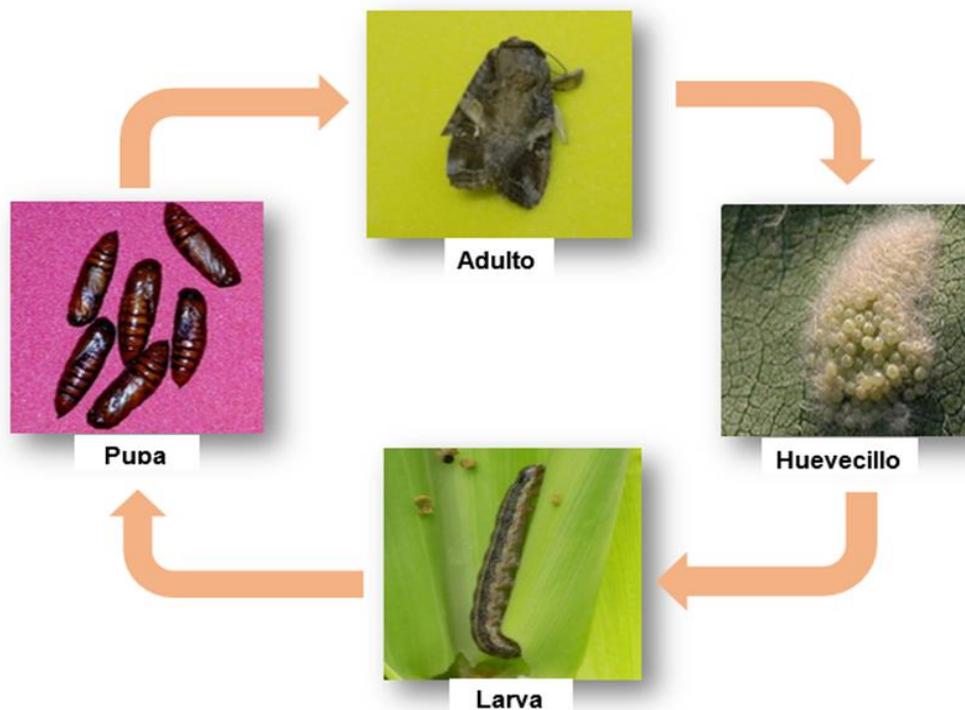


Figura 1. Ciclo de vida de *S. frugiperda*.

Huevo. Los huevecillos son de forma globosa, con estrías radiales, de color rosa pálido que se torna gris a medida que se aproxima la eclosión. Los cuales eclosionan entre los tres a cinco días, las hembras depositan los huevos continuamente durante las primeras horas de la noche en el haz y envés de las hojas, durante su vida son capaces de producir hasta 3600 huevecillos (Borbolla, 1981; Silvain, 1987). Éstos son puestos en varios grupos o masas de 100 a 300 en las hojas inferiores cubiertas por segregaciones del aparato bucal y escamas de su cuerpo, que sirven como protección contra enemigos naturales y factores ambientales adversos.

Larva. Esta etapa incluye entre seis a ocho instares dependiendo de la temperatura ambiental. En cuanto al tiempo, puede durar de 14 a 21 días. Durante el desarrollo se diferencian los estadios por el ancho y longitud de la cabeza, coloración del cuerpo y la longitud (Villa y Catalán, 2004). En el primer instar, las larvas miden de dos hasta tres milímetros, la cabeza es de color negro; el segundo mide de cuatro a diez milímetros y la cabeza es marrón claro; por si fuera poco, las larvas pueden alcanzar hasta 35 milímetros (Figura 2) en el último estadio. De acuerdo con su alimentación su color puede variar, pero generalmente 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 (Borbolla, 1981). En lo que respecta a la frente de la cabeza se distingue una "Y" blanca invertida de color blanco. Además, llegan a presentar unas manchas negras en la parte lateral y el cuerpo toma un aspecto rugoso. Por otra parte, los pináculos setíferos del octavo segmento abdominal se alinean como cuatro puntos negros que forman un cuadrado, en vista dorsal (López, 2008).



Figura 2. Larva de *S. frugiperda*.

Pupa. Generalmente se desarrolla en el suelo, el hábito de este lepidóptero es enterrarse cuando ocurre este cambio. En referencia al color de la pupa es rojo y café (Figura 3); llegando a medir hasta los 18 mm de longitud, la temperatura es un factor determinante en el desarrollo de la misma debido a que no soporta climas muy fríos, se desarrolla en un rango de temperatura que fluctúa entre los 28°C y 30°C (Vivas, 2003). Esta fase se desarrolla en el suelo y el insecto está en reposo hasta (8 a 10) días en que emerge el adulto o mariposa; de esa forma, se reanuda su ciclo (Negrete y Morales, 2005).



Figura 3. Pupas de *S. frugiperda*.

Adulto. Es una palomilla de hábitos nocturnos, que posee gran capacidad de dispersión y viaja kilómetros. A su vez en la pre-oviposición puede migrar varios kilómetros. Es más, en zonas tropicales tiene de cuatro a seis generaciones/año. Mientras que en zonas templadas hasta dos generaciones/año. Pues bien, prefieren los climas templados con un alto porcentaje de humedad relativa en el ambiente. Así mismo los machos pueden diferenciarse de las hembras (dimorfismo sexual) por caracteres físicos (Figura 4). Tienen un promedio de vida de 10 días para ambos sexos de la especie (Soto, 2008). Este insecto puede sobrevivir todo el año en áreas tropicales, aunque su densidad mayor fluctúa con la presencia de lluvias (Ortega, 1987).



Figura 4. Adultos de *S. frugiperda*.

2.2. DAÑOS QUE OCASIONA *S. frugiperda*

En la estimación del daño que causan las larvas dependen del cultivo, variedades, densidad de plantas, fase de desarrollo, condición y permanencia en el campo (Flores, 2000). Asimismo, la parte de la planta afectada por la plaga determina a veces la magnitud e importancia del daño. A su vez las larvas se alimentan del cogollo o verticilo de las plantas; haciendo raspaduras sobre las partes tiernas de las hojas, que posteriormente aparecen como pequeñas áreas translúcidas en hileras

(Figura 5). En esta fase es característico observar los excrementos de la larva en forma de aserrín (Ortiz, 2010).

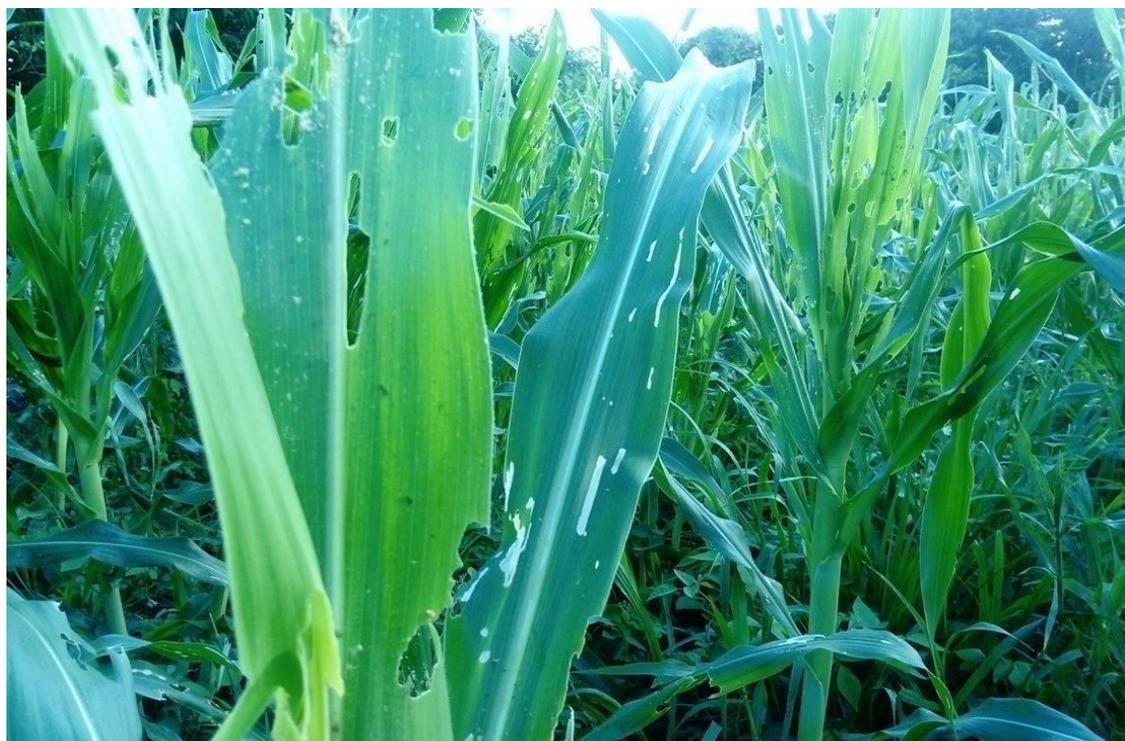


Figura 1. Perforación en el tejido foliar por *S. frugiperda* en las plantas de maíz.

Diversos autores han tratado de determinar el efecto de la defoliación, en los rendimientos del cultivo, llegando a conclusiones diversas (Clavijo, 1984). Por su parte, Hernández (1989) menciona que las pérdidas del área foliar afecta de manera indirecta en la disminución del rendimiento por hectárea.

2.3. MÉTODOS DE CONTROL DE *S. frugiperda*

Al inicio del siglo XX, había cinco enfoques del control de plagas de uso común: 1) control biológico, 2) control mecánico y físico, 3) control cultural, 4) control químico, y 5) uso de variedades resistentes (Flint y Van den Bosch, 1981). Para controlar las plagas, casi siempre en conjunto con los insecticidas, se usaban diversas prácticas agrícolas, tales como la rotación de cultivos, la elección de la fecha de siembra, la destrucción de las malezas y las plantas espontáneas unido a una correcta fertilización. Además de la labranza oportuna para exponer los insectos en el suelo a la acción del clima, la destrucción de los residuos de los cultivos para privar de alimento a los insectos, además de la siembra de cultivos-trampa.

2.3.1. Control químico

Desde la antigüedad se ha usado una gran variedad de insecticidas, sin embargo, actualmente se están usando insecticidas con un amplio espectro de acción contra insectos en los cultivos que actúan por contacto, inhalación e ingestión.

Zeta-cipermetrina es un Piretroide sintético, con actividad insecticida de amplio espectro, eficaz tanto por contacto como por ingestión, consistente en la mezcla de cuatro estereoisómeros del cipermetrin presentado en forma de emulsión acuosa; sugieren iniciar las aplicaciones cuando se

detecten las primeras larvas de 1^{er} y 2^o instar. Dirigir las aplicaciones al cogollo y hojas de la planta, el volumen de aplicación es 220 a 280 mL/ha.

LátigoTM-L (Lambda Cihalotrina + Clorpirifos etil): Es un insecticida organofosforado/ piretroide que actúa por contacto, ingestión e inhalación. Su formulación contiene pocos solventes, lo que mejora su selectividad y produce menor olor en la mezcla de tanque. La aplicación debe ser al follaje y al cogollo de las plantas. El volumen de aplicación recomendado es de 350 mL/ha.

PalgusTM (Spinetoram): Actúa por ingestión, contacto y translaminar sobre los receptores nicotínicos de la acetilcolina, excitando el sistema nervioso por alteraciones en la función nicotínica y los canales iónicos del GABA. El volumen de aplicación recomendado es de 75 a 100 mL/ha.

Todos estos químicos deben aplicarse hacia el punto de crecimiento de la planta cuando las larvas no rebasen el tercer instar de desarrollo (Cortez, 2002).

2.3.2. Control biológico

La especie *S. frugiperda* es susceptible a insectos parásitos (Ashley, 1979); a depredadores como arañas, aves, reptiles y anfibios, entre otros.

Respecto a los entomopatógenos al menos 20 especies, dentro de los cuales están los hongos, bacterias, virus, protozoarios y nematodos (Gardner y Fuxa, 1980; Gardner *et al.*, 1984).

Dentro de las bacterias se ha usado *Bacillus thuringiensis*, especialmente la cepa LBT-24 como un medio efectivo. La dosis recomendada es $2,5 \times 10^9$ esporas.mL⁻¹. 1 a 5 Lt/ha y se presenta una efectividad de 70 a 80% obteniendo un aumento de producción con el 15%. Por otro lado, cerca del 90% de bioplaguicidas actuales están representados por *Bacillus thuringiensis*, debido a su forma relativamente fácil de obtener su rápida acción.

El virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN Sf). Con dosis de 4 y 8 x10¹¹ cuerpos de inclusión poliédrica/ha del VPN Sf y un testigo, se demostró que los tratamientos efectuados con las dos dosis no mostraron diferencias significativas entre ellas y sí con respecto al testigo sin aplicación. La efectividad alcanzada fue de 75 y 55 % para las dosis antes señaladas, respectivamente.

Con el hongo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson con una cepa seleccionada *N. rileyi* con tres aplicaciones con intervalo de 7 días a dosis de 1 y 5 kg/ha, que equivale a concentraciones de 3×10^9 y $1,5 \times 10^8$ esp/g, los resultados mostraron una efectividad superior al 90 % en todos los casos.

El hongo *Paecilomyces fumoso-roseus* (Wise). se aplicó semanalmente hongo *P. fumosus-roseus* a dosis de 3,5 kg/ha, alcanzando efectividades superiores al 78%. Este entomopatógeno logró reducir el número de larvas/planta, fundamentalmente a dosis de 5 kg/ha equivalente a 5×10^7 esp/g, aunque en este caso la diferencia observada con respecto a otras dosificaciones fue poca.

2.4. GENERALIDADES DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Los hongos entomopatógenos son un grupo de organismos que son patógenos obligados o facultativos de los insectos. Constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plaga, principalmente en los chupadores o succionadores ya que éstos no pueden ingerir patógenos que infectan a través del tracto digestivo. Además, son considerados como los patógenos más promisorios contra insectos, ya que pueden infectarlos directamente por contacto de esporas sobre la cutícula, además poseen múltiples mecanismos de acción que les confieren una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia (Hayek y Leger, 1994). Asimismo, actúan por la vía tegumentaria y su virulencia frente a insectos, en realidad frente a artrópodos, les convierte en un importante factor de regulación natural de sus poblaciones (Quesada-Moraga *et al.*, 2007). Éstos se caracterizan por ser eucariontes, sin clorofila y pueden ser unicelulares o pluricelulares; son filamentosos y sus paredes contienen quitina y/o celulosa; su reproducción es sexual o asexual (con o sin conidias); las conidias se originan a partir de los

conidióforos y se diseminan por el viento, el agua y otros agentes (Kuno *et al.*, 1982).

Su crecimiento y desarrollo está limitado principalmente por las condiciones ambientales externas, en particular por la humedad, la radiación solar y la temperatura, que determinan la adecuada esporulación y germinación de las conidias (Tanada y Kaya, 1993).

Estos organismos infectan individuos de diversos órdenes: Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera y Orthoptera; principalmente es un parásito de coleópteros en la naturaleza (Galán, 2012).

En algunos órdenes de insectos los estados inmaduros (ninfas o larvas) son más a menudo infectados que los maduros o estado adulto, en otros puede suceder lo contrario. Referente a la especificidad del hospedero varía considerablemente, algunos hongos infectan un amplio rango de hospederos y otros están restringidos a unos pocos o a una sola especie de insectos.

Se conocen más de 100 géneros y 700 especies, entre los más importantes destacan *Beauveria*, *Metarhizium*, *Entomophthora*, *Aschersonia*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Isaria* (=Paecilomyces) y *Lecanicillium*, siendo éstos los de

mayor importancia en el control biológico, por la susceptibilidad en los insectos plaga, eficiencia y facilidad para multiplicarse (Allendes, 2007).

2.5. GENERALIDADES DE *Metarhizium anisopliae*

Respecto a *Metarhizium anisopliae*, se considera un agente de alto potencial en el control biológico de plagas agrícolas. Referente al rango hospedero, es amplio incluyendo arácnidos y cinco órdenes de insectos (Boucias y Pendland, 1998), que comprenden más de 200 especies. Así mismo éstos tienen cierta especificidad por ciertos órdenes de insectos (Ferron, 1981). Es uno de los hongos entomopatógenos más comunes con una distribución mundial, que no infecta animales de sangre caliente y tampoco existen reportes de sensibilidad humana al mismo (Kaaya y Munyinyi, 1995). Este hongo se encuentra en la naturaleza, en rastrojos de cultivos, estiércol, suelo y plantas, etc., logra buen desarrollo en lugares frescos, húmedos y con poco sol (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2001).

Respecto a su taxonomía se basa principalmente en la morfología de los conidios y las células conidiógenas. Algunos autores combinan estas características con pruebas bioquímicas y moleculares (Riba *et al.*, 1986), y/o patogenicidad en el hospedero, actividad en el frío y color de la esporulación (Yip *et al.*, 1992; Rath *et al.*, 1995).

2.5.1. Clasificación taxonómica de *M. anisopliae*

De acuerdo a la clasificación realizada por Ainsworth (1973) los hongos son separados en dos divisiones: Myxomycota, aquellos que forman plasmodios, y Eumycota, aquellos que no forman plasmodios y son frecuentemente miceliados.

Los hongos entomopatógenos se encuentran en la división Eumycota dentro de cinco subdivisiones: Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina, y Deuteromycotina. Las clases de mayor importancia desde el punto de vista del control de plagas agrícolas son Zygomycetes e Hyphomycetes, porque abarca la mayoría de las especies conocidas como patógenas de insectos (Ignoffo *et al.*, 1996). Por otro lado, la especie de *M. anisopliae* se compone de dos variedades (Driver *et al.*, 2000), que son *M. anisopliae var. acridum* (previamente designados como *M. flavoviride*) y *M. anisopliae var. anisopliae* (Metschnikoff), siendo esta última la más conocida. El género *Metarhizium* pertenece a la clase: Hyphomycetes, Orden: Moniliales y fue descrito por primera vez en 1879 por Metschnikoff, quien lo aisló del escarabajo *Anisoplia austriaca* y lo denominó *Entomophthora anisopliae*. Finalmente fue renombrado por Sorokin en 1883 como *M. anisopliae* (Steinhaus, 1949).

Tanada y kaya (1993) presentan la siguiente clasificación taxonómica:

División: Eumycotina.

Subdivisión: Eumycota.

Clase: Deuteromycetes.

Subclase: Hyphomycetes.

Orden: Moniliales.

Familia: Moniliaceae.

Género: *Metarhizium*.

Especie: *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorokin.

2.5.2. Importancia y distribución de *M. anisopliae*

Fue conocido inicialmente como muscardina verde y es uno de los hongos más estudiados en programas de manejo de plagas, ya que presenta gran potencial como entomopatógeno (Steinhaus, 1949). Entre las plagas afectadas por este hongo se encuentran algunos lepidópteros y chinches, plagas de diversos cultivos. Debido a las características de la especie y/o de la cepa, ámbito de hospedantes, patogenicidad, virulencia y condiciones ambientales, existen cepas específicas utilizadas para el control de diferentes plagas.

El potencial de *M. anisopliae* para control de insectos plaga fue sugerido por Metschnikoff en 1879 y Krassiltschik en 1988, quienes lo utilizaron como control microbiano para combatir la plaga del trigo *Anisoplia austriaca* y larvas del curculionido *Cleonus punctiventris*, en remolacha azucarera. A partir de entonces, hay una variedad de razas de *M. anisopliae* reportadas, sobre las que se han realizado estudios para determinar su efecto en diversas especies de insectos (McCoy *et al.*, 1988). Su distribución geográfica es muy amplia. Aunque ha sido mayormente aislado de insectos del mediterráneo o tropicales debido a los requerimientos térmicos relativamente altos de este hongo (Lord, 2005). El hongo *M. anisopliae* es considerado cosmopolita pues diferentes razas se reportan en distintos lugares del mundo; esto último, debido a su efectividad sobre diferentes hospederos y su alta capacidad de adaptación en diferentes condiciones ambientales (Samson, 1981).

2.5.3. Morfología de *M. anisopliae*

Se caracteriza por formar conidióforos simples o agregados, posee conidias alargadas, ovoides o cilíndricas dispuestas en cadenas, originales de conidióforos en forma de botella. Pueden ser unicelulares, cilíndricas y truncadas, formadas en cadenas muy largas, hialinas a verde oliváceo que miden 3.5 a 9 μ de longitud x 1.5 a 3.5 μ de diámetro.

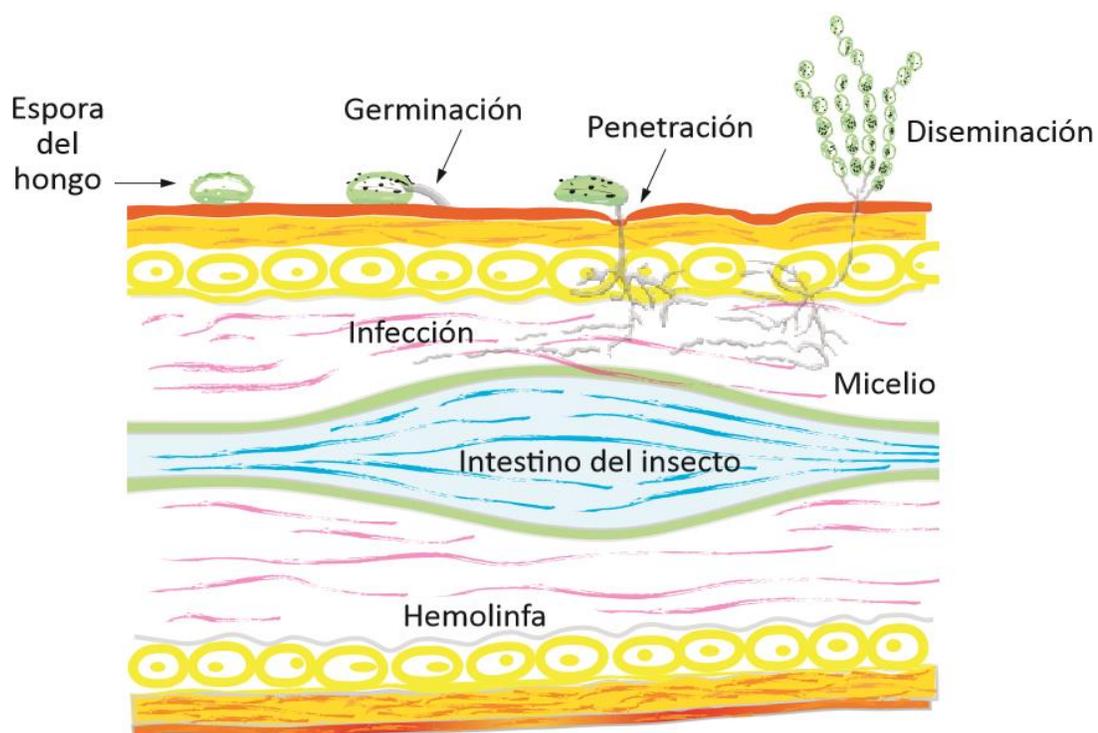
Las colonias generalmente están pegadas al medio, completamente redondas, cuando son jóvenes, son blancas, pero al madurar toman un

color oliváceo, amarillento, verdoso o marrón oscuro dependiendo del proceso de aislamiento. El envés marrón, a veces verdoso cetrino (Samson, 1981). Por lo general son verde olivo, por lo que la enfermedad de los insectos se denomina “muscardina verde” (Tulloch, 1976). Mientras que el micelio de este hongo es septado donde nace el conidióforo y es ramificado irregularmente con dos a tres ramas en cada septa; de 4 a 14 μ de longitud x 1.5 a 2.5 μ de diámetro. Agrupados sobre un extremo globoso; sus fiálides cilíndricas en forma de clava, adelgazados en el ápice; miden 6 a 13 μ de longitud y 2 a 4 μ de diámetro (Galán, 2012). Así mismo sus conidios se disponen en cadenas compactas paralelas que se forman en cada conidióforo; son cilíndricas unicelulares y de dimensiones variables, generándose por empuje, siendo el más joven el de la base.

2.5.4. Mecanismos de acción de *M. anisopliae*

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 se da la penetración al interior del cuerpo del insecto (Figura 6). 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. Por su parte 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 esta fase, 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 (Hayek y Leger, 1994).



Fuente:

http://www.cenicana.org/pdf/serie_divulgativa/sd_12/sd_12.pdf

Figura 6. Proceso de infección de *M. anisopliae* en el cuerpo de un insecto

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología del Colegio de Postgraduados Campus Veracruz. Ubicado en el municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, sus coordenadas son $18^{\circ} 51'$ - $19^{\circ} 12'$ de latitud norte y $96^{\circ} 16'$ - $27'$ de longitud oeste, con una altitud que va de los 20 a los 100 msnm, y una temperatura promedio de 25.2° C.

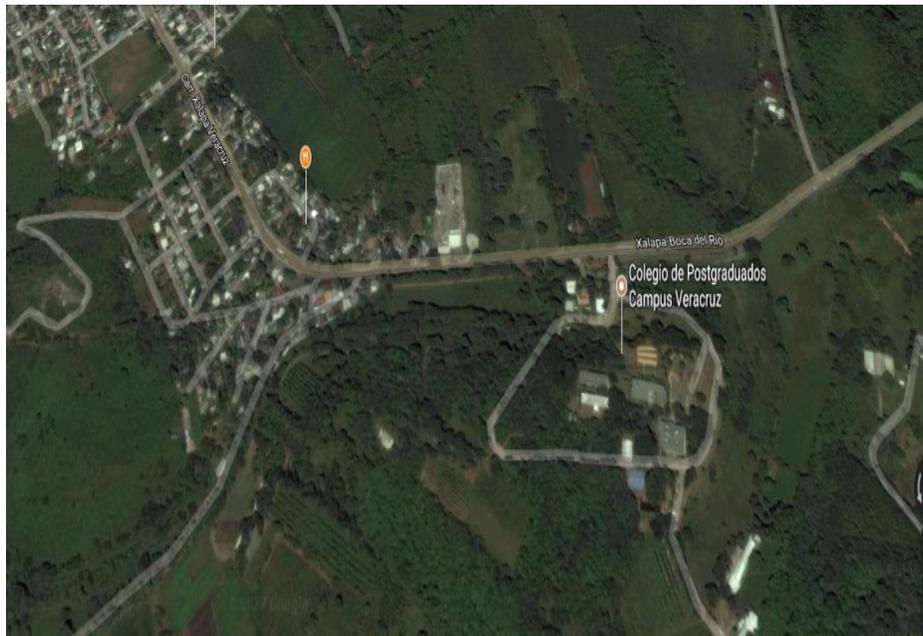


Figura 7. Colegio de Postgraduados, Campus, Veracruz.

3.2. MATERIAL BIOLÓGICO

3.2.1. Insecto testigo

Las larvas de *Spodoptera frugiperda*, fueron colectadas directamente de campo en cultivos de maíz, en la comunidad de La Bandera de Juárez del municipio de Paso de Ovejas, Veracruz. Para su alimentación, se recolectaron hojas de maíz, las cuales fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% y lavadas tres veces con agua destilada estéril. En vasos de plástico de 3.6 x 3.7 cm, se depositaron larvas de *S. frugiperda* de manera individual, además se realizaron orificios a la tapa para permitir el intercambio de aire.



Figura 8. Colecta de *S. frugiperda* en campo.

3.2.2. *Metarhizium anisopliae*

Para este estudio se utilizaron las cepas Ma25, Ma28, y MaC de *Metarhizium anisopliae* obtenida de insectos momificados del estado de Guanajuato. Las condiciones de almacenamiento fueron a 28 °C y la resiembra se realizó en el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), en cajas Petri y tubos inclinados de ensaye.



Figura 9. *M. anisopliae* cultivado en cajas Petri.

3.3. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PATOGENICA

3.3.1. Preparación de las suspensiones fúngicas

Pasadas las tres semanas de crecimiento, los conidios se obtuvieron mediante un raspado de la superficie del medio de cultivo, y se prepararon las soluciones con Tween 80 al 1% (para romper la característica de hidrofobicidad de las conidias). Para individualizar los conidios, la suspensión fue agitada en un agitador electromagnético.

3.3.2. Cuantificación de conidios

Para determinar las concentraciones se utilizó la formula reportada por Lipa y Slizynski (1973), $C=(Cc) (4 \times 10^6) (Fd)/80$ en donde:

C= Número de conidios/mL.

Cc=Número promedio de conidios.

A partir de esta suspensión se hicieron diluciones seriadas y la concentración se determinó mediante recuento microscópico de la suspensión, con la ayuda de la cámara de Neubauer (Vélez *et al.*, 1997). El conteo se realizó con la ayuda de un microscopio de luz con aumento de (40x). Se determinaron las concentraciones de 1×10^8 , 1×10^9 y 1×10^{10} , esporas.mL⁻¹.

3.3.3. Evaluación de los tratamientos

Para el desarrollo de las pruebas de patogenicidad en el laboratorio, se utilizó la metodología propuesta por González (1993) con algunas modificaciones, con el fin de determinar la variabilidad en la patogenicidad de los tres aislamientos de *M. anisopliae* en *Spodoptera frugiperda*. Las larvas previamente desinfestadas se sumergieron en la suspensión deseada durante un minuto y se incubaron por separado en frascos de plástico semitransparentes de 3.6 x 3.7 cm de capacidad, previamente desinfectado, con tapa y orificios. Se les suministró alimento diario a las larvas para verificar que la muerte de las mismas no fuera por inanición.



Figura 10. Larvas de *S. frugiperda* con su dieta.

Las larvas muertas se incubaron en cámara húmeda a 23 °C para corroborar que la muerte fue causada por el hongo.



Figura 11. Larvas de *S. frugiperda* con presencia de micelio en cámara húmeda.

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental implementado fue una factorial con dos factores y 5 repeticiones para cada factor; el modelo estadístico es el siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + \mathcal{A}_i + \mathcal{B}_j + \mathcal{AB}_{ij} + \mathcal{E}_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} = Valor de la variable respuesta correspondiente al nivel i del A al nivel j del factor B en la repetición k .

μ = Media general

\mathcal{A}_i = Efecto del nivel i de A

\mathcal{B}_j = Efecto del nivel j de B

\mathcal{AB}_{ij} = Interacción A*B

\mathcal{E}_{ijk} = Error experimental

$i = 1, 2, \dots, a$

$j = 1, 2, \dots, b$

$k = 1, 2, \dots, r$

Los tratamientos del factor 1 estuvieron formados por tres aislamientos de *M. anisopliae* (MaC, Ma28, Ma25,) y para el factor 2 las concentraciones: 1×10^8 , 1×10^9 y 1×10^{10} esporas.mL⁻¹. Para determinar cual tratamiento fue el mejor se realizaron pruebas de medias de Tukey para el factor 1: cepas y factor 2: concentraciones y para la interacción entre ambos factores.

3.4.1. Análisis estadísticos

El análisis estadístico se llevó a cabo en el programa Statistical Analysis System (SAS versión 9.0).

4. RESULTADOS

4.1. MORTALIDAD DE *S. frugiperda*, CON TRES CEPAS Y TRES CONCENTRACIONES.

En la cepa Ma25 se presentó un 28% de mortalidad a una concentración de 1×10^{10} esporas.mL⁻¹, registrado en un periodo de 5 días; en las concentraciones; 1×10^9 y 1×10^8 esporas.mL⁻¹ de la misma cepa, los porcentajes fueron 13 y 12% respectivamente (figura 12).

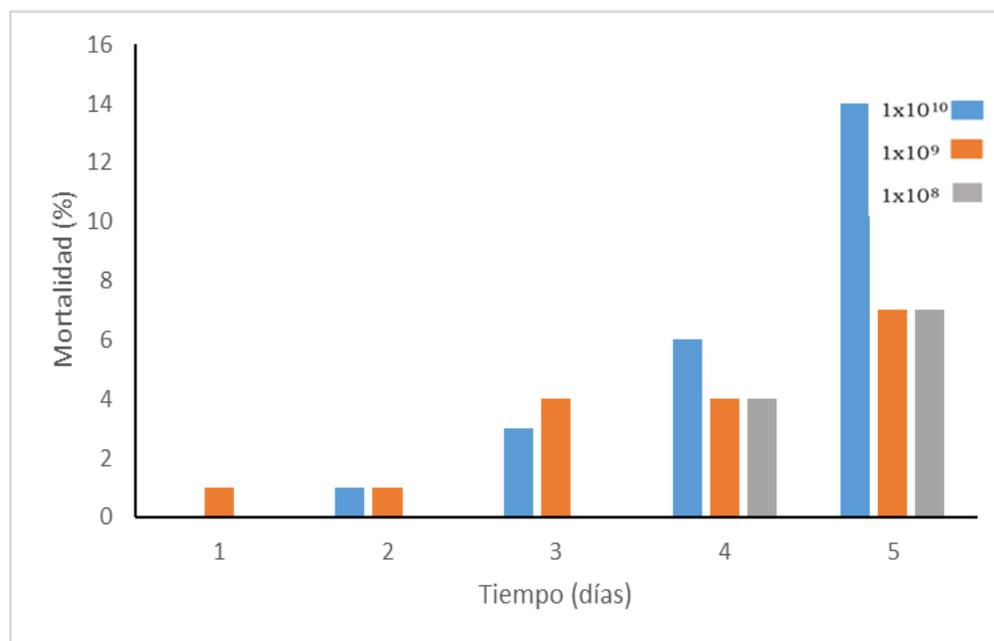


Figura 12. Mortalidad de *S. frugiperda* con la cepa Ma25 a diferentes concentraciones.

En la figura 13 se muestra la mortalidad que presento *S. frugiperda* con la cepa Ma28 a diferentes concentraciones, siendo el mayor porcentaje de mortalidad con la concentración 1×10^{10} esporas.mL⁻¹, con un 15%, seguido de la concentración 1×10^9 esporas.mL⁻¹, con un 11% y el menor porcentaje fue 8% para la concentración 1×10^8 esporas.mL⁻¹.

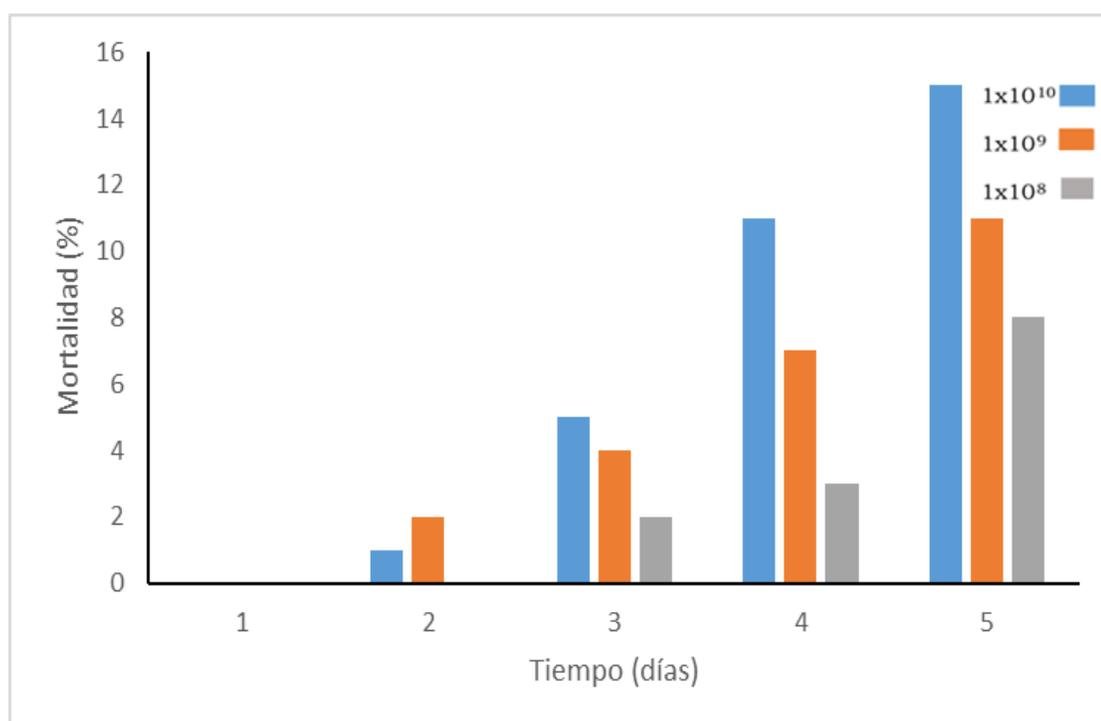


Figura 13. Mortalidad de *S. frugiperda* con la cepa Ma28 a diferentes concentraciones.

En la figura 14 se presenta la mortalidad en *S. frugiperda*, bajo la cepa MaC a tres concentraciones evaluadas, en la cual la concentración 1×10^{10} se obtuvo mayor índice de mortalidad con un 28%, seguida de la concentración 1×10^9 con un 13% de mortalidad y la concentración 1×10^8 presento tan solo un 12% de mortalidad.

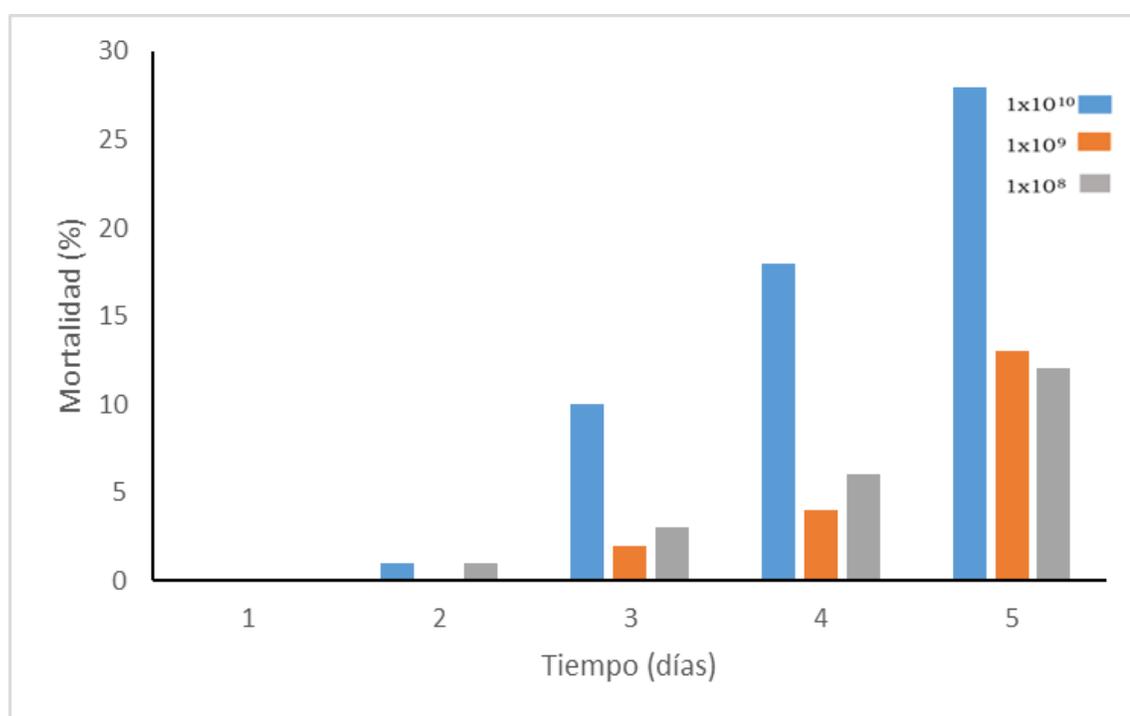


Figura 14. Mortalidad de *S. frugiperda* con la cepa MaC a diferentes concentraciones.

En general, la concentración 1×10^{10} presentó mayor índice de mortalidad de *S. frugiperda* en las diferentes cepas.

4.2. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA MORTALIDAD DE *S. frugiperda* CON TRES CEPAS A TRES DIFERENTES CONCENTRACIONES.

Con una significancia del 0.05 se muestra en el cuadro 1 las fuentes de variación del análisis de varianza para los factores evaluados (cepa y concentración), para la fuente de variación Cepa mostró ser significativo para las cepas evaluadas, por lo cual al menos una de las cepas de *Metarhizium anisopliae* tiene mejor efecto sobre la larva de *Spodoptera frugiperda*; así mismo para la fuente de variación de “concentración” mostró ser significativo, esto conlleva a decir que no todas las concentraciones de *M. anisopliae* tienen el mismo efecto sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*; a lo que respecta la interacción “Cepa” por “concentración” mostro ser no significativo, es decir, no existe interacción (efecto) de las diferentes concentraciones con las cepas de *Metarhizium anisopliae*.

Cuadro 1. Análisis de varianza para mortalidad de *S. frugiperda* con tres diferentes cepas de *M. anisopliae* a tres diferentes concentraciones.

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft	SIG
Cepa	2	23.33	11.66	5.15	3.32	*
Concentración	2	32.93	16.46	7.26	3.32	*
Cepa X Concentración	4	9.33	2.33	1.03	2.69	NS
Error	36	81.60	2.26			
Total	44	147.20				
CV	59.42					
DMS	1.34					
Media	2.53					

FV= Fuente de variación; GL= grado de libertad, Sc=suma de cuadrado; Fc=F calculada; Ft= F tabulada; SIG= significancia; CV= Coeficiente de variación; DMS= Diferencia mínima significativa.

4.3. PRUEBAS DE COMPARACIÓN DE MEDIA (TUKEY)

4.3.1. Prueba de comparación de media (Tukey) para el factor cepa

En el cuadro 2 se muestra las pruebas de comparación de medias (tukey) para las cepas evaluadas, indicando que la mejor cepa para el control de *Spodoptera frugiperda* es la cepa MaC con un promedio de 3.53, seguida de la Cepa Ma25 con un promedio de 2.20.

Cuadro 2. Comparación de medias para el efecto de las cepas evaluadas a diferentes concentraciones para la mortalidad de *S. frugiperda*.

Prueba de Tukey		
Nombre de la cepa	Promedio \bar{X}	Tukey agrupamiento
MaC	3.53	A
Ma28	1.86	BA
Ma25	2.20	B

4.3.2. Prueba de comparación de media (Tukey) para el factor concentración

En el cuadro 3 se muestra la prueba de comparación de medias (Tukey) para las tres diferentes concentraciones a las tres diferentes cepas; mostrando que la mejor concentración para el control de *S. frugiperda* es la concentración 1×10^{10} con un promedio de 3.73.

Cuadro 3. Comparación de medias para el efecto de las concentraciones para el porcentaje de mortalidad de *S. frugiperda*.

Prueba de Tukey		
Concentración	Promedio \bar{X}	Tukey agrupamiento
1×10^{10}	3.73	A
1×10^9	2.06	B
1×10^8	1.80	B

4.3.3. Prueba de comparación de media (Tukey) para el factor Cepa por Concentración

De acuerdo a la prueba de comparación de medias (Tukey), en el cuadro 4 se muestra que la mejor concentración fue 1×10^{10} con la cepa MaC presentando un promedio de 5.60. Es así que para realizar un control de *S. frugiperda* se puede usar la cepa MaC a una concentración de 1×10^{10} .

Cuadro 4. Prueba de comparación de medias para la interacción cepa por concentración para el porcentaje de mortalidad de *S. frugiperda*.

Prueba de Tukey		
cepa por concentración	promedio \bar{X}	agrupamiento de Tukey
MaC* 1×10^{10}	5.60	A
Ma25* 1×10^{10}	2.80	BA
Ma28* 1×10^{10}	2.80	BA
MaC* 1×10^9	2.60	BA
MaC* 1×10^8	2.40	B
Ma28* 1×10^9	2.20	B
Ma28* 1×10^8	1.60	B
Ma25* 1×10^9	1.40	B
Ma25* 1×10^8	1.40	B

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo con los análisis estadísticos se concluye que:

- La cepa de *Metarhizium anisopliae* MaC ocasionó la mayor mortalidad y evidenció en el menor tiempo su esporulación en larvas de *S. frugiperda*.
- La concentración de 1×10^{10} esporas.mL⁻¹ presentó la mejor mortalidad contra *Spodoptera frugiperda*, lo cual garantiza el control del insecto en estudio.
- Las cepas MaC presentó mayor índice de mortalidad para el control de *Spodoptera frugiperda*, a una concentración de 1×10^{10} esporas.mL⁻¹.
-

De acuerdo a lo anterior se recomienda:

Probar diferentes cepas nativas de *M. anisopliae* en *Spodoptera frugiperda* en diferentes estadios y procedencias.

Que la cepa Mac de *M. Anisopliae* podría aplicarse en campo para el control de las poblaciones de *Spodoptera frugiperda* antes que éstas ocasionen daño económico.

6. BIBLIOGRAFÍA

Abbas Ali, R. G. Luttrell, H. N. Pitre, y F. M. Davis. (1989). Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Egg Masses cotton. Environ. Entomol. 18(5): 881-885pp.

Aponte, L. S. (1999). Evaluación de la actividad insecticida de aislamientos nativos de *Beauveria* spp y *Metarhizium* spp contra larvas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) de segundo instar. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C

Ainsworth M. (1973). The development of infant-mother attachment. In B. Caldwell & H. Ricciuti (Eds.), Review of child development research. Vol. 3. Chicago: University of Chicago Press.

All, J.N. (1988). Fall armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) infestations in no-tillage cropping systems. Florida Entomologist 71:268-272

Allendes GL. (2007). Evaluación de ocho cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsch) Sorokin para el control de *Aleurothrixus floccosus* Maskell. Pontifica Universidad Católica De Valparaíso. Facultad Agrónoma. Chile.

Andrews, K. L. (1988). Latin american research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera :Noctuidae). Florida Entomol. 71(4):630-53.

Ángulo, J.M. (2000). Manejo del gusano cogollero del maíz utilizando extractos de plantas. En línea. Disponible en <http://www.turipana.org>

Ashley, T. R. (1979). Classification and distribution of fall armyworm parasites. Fla. Entomol. 62: 114-123.

Borbolla, I. S. (1981). Estudio comparativo de insecticidas a diferentes dosis y número de aplicaciones para el control de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) en maíz de temporal. Agronomía en Sinaloa-UAS 1:21-30.

Boucias DR, Pendland JC. (1998). Entomopathogenic fungi; Fungi Imperfect. in: Boucias DR, Pendland JC, editors. Principles of Insect Pathology, 10:321-359. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.

Busato, G. R.; Gruztmacher, A. D.; De Oliveira, A. C.; Vieira, E. A.; Zimmer, P. A.; Kopp, M. M.; De Bandeira, J.; Magalães, T. (2004). Análise da estrutura e diversidade molecular de poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) asociadas as culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. Neotropical Entomology 33: 709-716

Carpenter, J. E. y J. R. Young. (1991). Interaction of inherited sterility and insecticide resistance in the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Entomol. 84: 25-27.

Clavijo, S. (1984). Efecto de la fertilización con nitrógeno y de diferentes niveles de infestación por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) sobre los rendimientos del maíz. Rev. Fac. Agron. (Macaray), XIII (81-4): 73-78.

Cortez, M. E. (2002). Evaluación de extractos vegetales para el control del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidóptera: Noctuidae) en maíz. Informe técnico. INIFAP.

Driver F, Milner RJ, Trueman JWH. (2000). A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a *phylogenetic analysis* of rDNA sequence data. Mycological Research 104: 134150.

Ferron P. (1981). Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: Burgess HD. (ed.) Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980, London, Academic Press. 24: 465-482.

Flint, M.L. & R. Van den Bosch. (1981). Introduction to integrated pest management. New York, NY, USA, Plenum Press. 240 pp.

Flores, R. (2000). “Efecto de la variedad de maíz sobre el desarrollo y susceptibilidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) A *Bacillus thuringiensis*”. Tesis de grado para M. en ciencias. Universidad de Colima:48pp

Galán, L. A. (2012). Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos de las diferentes zonas cítricas de México. Tesis de grado para Dr. en ciencias. Universidad Autónoma de Nuevo León:449pp.

Gardner, A. W. y J. R. Fuxa. (1980). Pathogens for the suppression of the fall armyworm. Fla. Entomol. 63: 439-447. 41

Gardner, A. W., N. Raymond, y D. S. Robert. (1984). The potential of microbial agents in managing populations of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Fla. Entomol. 67(3): 325-332.

Granados, R.R. and B.A. Federici. (1986). The biology of baculoviruses. Vol. I, Practical Application for Insect Control. CRC. Press, Boca Raton, Fl. 276. pp.

Hayek A, Leger R. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect host. In: Annual Review of Entomology United States (39). USA: Annual Reviews. pp: 293-322.

http://www.cenicana.org/pdf/serie_divulgativa/sd_12/sd_12.pdf

Ignoffo, M.R., M.V. Queiroz, D.M Silva, M.P. Gimenez, J.L. Azevedo y A.Schrank (1996). Double-stranded ma and isometric virus-like particles in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Mycological Research, 100(12):1468-1472

Kaaya, G.P. y Munyinyi (1995). Biocontrol potential of the entomogenous fungi *beaveria bassiana* y *metarhizium anisopliae* for Tse Tse flies

(*Glossina* spp) at developmental sites. *Journal of Invertebrate Pathology* 66:237-241

Kuno G, Mulett, J, De Hernández M. (1982). *Patología de insectos con énfasis en las enfermedades infecciosas y sus aplicaciones en el control biológico*. Universidad del Valle. Facultad de Biología. Cali: Univalle, pp: 212.

Lezama-Gutiérrez R, Hamm JJ, Molina-Ochoa J, López-Edwards M, PescadorRubio A, González-Ramírez M, Styer EL. (2001) Occurrence of entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) in the Mexican states of Michoacán, Colima, Jalisco and Tamaulipas. *Florida Entomologist*. (84) 1:23-30.

Lipa, J. J. y Slizynzki, K. (1973). Wskazówki metodyczne I. Terminologóa do wyznaczania srednej dawki smiertelnej (LD50) W Patologóa Owadow, I Tksykologia. *Prace Navkme Instytutu Ochrony Roslin Tom. XV, Seszyti*: 59-83.

López, J. T. (2008). "Selección artificial para el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) con el virus sjnpv y efectividad biologica en campo en combinación con un abrillantador óptico". Tesis de grado para Dr. en ciencias. Universidad de Guadalajara: 59pp.

Luginbill, P. (1928). The fall armyworm. USDA. Tech. Bull: 34. 92.

McCoy, W.;Samson, R.A. y Boucinas, D.G. (1988). Entomopathogenus fungi. En:

Negrete, F. y J. Morales. (2005). El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith). Cooperación técnica CORPOICA-Universidad del sinú. 26pp.

Ortega, C. A. (1987). Insectos nocivos del maíz: una guía para su identificación en el campo. México, D. F. CIMMYT.

Ortiz, F. (2010). Diccionario de especialidades agroquímicas. Thomson PLM del Ecuador S.A. Quito, Ecuador. p. 310.

Pashley, D. P. (1986). Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) a sibling species complex?. Ann. Entomol. Soc. Am., 79: 898-904.

Pashley D. P.(1988).Current status of armyworm host strains.Florida Entomol. 71(3):227-34.

Polanía, el al., (2007). El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas. ¡REVISTA Colombiana de Ciencias Hortícolas - Vol. 1 -No.! - pp. 103-113.

Quesada-Moraga, E., Carrasco-Díaz, J. A., Santiago-Álvarez, C., (2007). Insecticidal and antifeedant activities of proteins secreted by entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis* (Lep.,Noctuidae). Journal of Applied Entomology 130, 442-452.

Riba G, Bouvier-Fourcade I, Caudal A. (1986). Isozyme polymorphism in *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) entomogenous fungi. *Mycopathologia*, 96:161-169.

Samson, R. A. (1981). Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. En: Burges H. D. (ed) *Microbial control of pests and plant diseases*. Ed. Academic press, London. 93-105.

Silvain, J. F. (1987). *Spodoptera frugiperda*. SUAD-ORSTOM, Francia, 2 p

Soto, J. (2008). Caracterización molecular de aislamientos de *beauveria bassiana* y *metarhizium anisopliae* y evaluación su toxicidad sobre gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) Tesis de grado para M. en ciencias. Instituto Politécnico Nacional:69pp.

Steinhaus, E. A. (1949). *Principles of insect pathology*. Mc-Graw-Hill. Book Company, Inc. New York. 757 pp.

Tanada, Y.; Kaya, H. (1993). *Insect Pathology*. Academic Press. San Diego, California. (USA). 666p.

Tulloch, M. (1976). The genus *Metarhizium*. *Tran. Bol. Mycol.Soc.*66:407-411.

Vélez, P. E., Posada, F. J., Marín P., González, M. T., Osorio, E., Bustillo, A. E. (1997). Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Chinchiná, Cenicafe. Boletín Tecn/coNo. 17.

Vicentini, S; Magalhaes, B.P. (1996). Infection of the grasshopper, *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn by the entomopathogenic fungus, *Metarhizium flavoviride*

Villa, M., Catalán E.A. (2004). Determinación de estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) para la construcción de un modelo de predicción. Folia Entomológica Mexicana 43: 307-312

Vivas, L. (2003). Plagas agrícolas de Venezuela: Artrópodos y Vertebrados: Gusano ejército *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) 1797. Ed. Entomología Venezolana.

Walton W. R. y P. Luginbill. (1917). The fall armyworm, or grass worm, and its control. USDA Farmers Bull: 752: 3-12

Yip H, Rath A, Koen T. (1992). Characterization of *Metarhizium anisopliae* isolates from Tasmanian pasture soils and their pathogenicity on the redheaded cockchafer (Coleoptera: Scarabaeidae) *Adoryphorus couloni*. Mycological Research, 96:92-96.