

_____ Irapuato _____, Gto., a 22 de mayo _____ del 20 23 _____.

M. en I. HERIBERTO GUTIÉRREZ MARTIN
COORDINADOR DE ASUNTOS ESCOLARES
PRESENTE.-

Por medio de la presente, se otorga autorización para proceder a los trámites de impresión, empastado de tesis y titulación al alumno(a) **Bruno Ruiz Lozano** del **Programa de Ingeniería en Alimentos** y cuyo número de **NUA** es: **171354** del cual soy director. El título de la tesis es:

Control biológico del gusano cogollero el maíz *Spodoptera frugiperda* con baculovirus como agentes de inocuidad alimentaria para la producción de maíz

Hago constar que he revisado dicho trabajo y he tenido comunicación con los sinodales asignados para la revisión de la tesis, por lo que no hay impedimento alguno para fijar la fecha de examen de titulación.

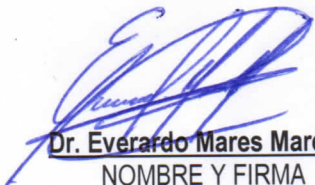
ATENTAMENTE



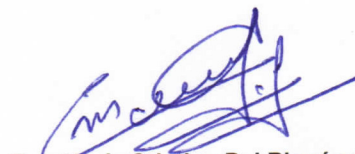
Dra. María Cristina Del Rincón Castro
NOMBRE Y FIRMA
DIRECTOR DE TESIS



Dr. César Ozuna López
NOMBRE Y FIRMA
PRESIDENTE



Dr. Everardo Mares Mares
NOMBRE Y FIRMA
SECRETARIO



Dra. María Cristina Del Rincón Castro
NOMBRE Y FIRMA
VOCAL



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

CAMPUS IRAPUATO – SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

TEMA DE TESIS

**“Control biológico del gusano cogollero del maíz
Spodoptera frugiperda con baculovirus como agentes
de inocuidad alimentaria para la producción de maíz”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS

PRESENTA
BRUNO RUIZ LOZANO

DIRECTORA DE TESIS
DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO

CODIRECTORA DE TESIS
LIC. NAHAIVI PAOLA RODRÍGUEZ CASTILLO

IRAPUATO, GUANAJUATO

2 DE MAYO, 2023

**EL PRESENTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN SE REALIZÓ BAJO
LA DIRECCIÓN DE LA DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN
CASTRO EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA
ALIMENTARIA Y VEGETAL DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA
VIDA, DEL CAMPUS IRAPUATO – SALAMANCA, DE LA
UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO**

ÍNDICE GENERAL

I.	ÍNDICE DE FIGURAS	7
II.	ÍNDICE DE TABLAS	10
III.	DEDICATORIAS	11
IV.	AGRADECIMIENTOS	12
V.	RESUMEN	13
VI.	ABSTRACT	14
VIII.	JUSTIFICACIÓN	16
IX.	ANTECEDENTES	17
1.	Maíz	17
1.1	Estructura de la planta	18
1.2	Etapas del desarrollo del maíz	18
1.3	Fuente de alimentación	20
1.4	Principales plagas del maíz	21
1.4.1	Araña roja (<i>Tetranychus urticae</i>)	21
1.4.2	Barrenador de tallo (<i>Diatraea saccharalis</i>)	22
1.4.3	Barrenador mayor del maíz (<i>Prostephanus truncatus</i>)	22
1.4.4	Chapulín (<i>Sphenarium purpurascens</i> ; <i>Melanoplus differentialis</i>)	23
1.4.5	Chicharrita (<i>Dalbulus maidis</i>)	23
1.4.6	Gallina ciega (<i>Phyllophaga</i> spp.; <i>Cyclocephala</i> spp.)	24
1.4.7	Gusano alfarillero (<i>Diabrotica</i> spp.)	24
1.4.8	Gusano de alambre (<i>Agriotes</i> spp.)	25
1.4.9	Gusano elotero (<i>Helicoverpea zea</i>)	25
1.4.10	Gusano soldado (<i>Pseudaletia unipuncta</i> ; <i>Spodoptera exigua</i>)	26

1.5 Gusano cogollero del maíz (<i>Spodoptera frugiperda</i>).....	26
2. Métodos de control de plagas	29
2.1 Bioinsecticidas	30
2.1.1 Biotecnología agrícola	31
3. Baculovirus	34
3.1 Cuerpos de oclusión	34
3.2 Ciclo de replicación de los Baculovirus	35
3.3 Clasificación y estructura NPVs	37
3.4 Implementación como agentes de control biológico de los Baculovirus	38
3.5 Especificidad y patología de los Baculovirus.....	38
3.6 Ecdisteroide UDP- Glucosiltransferasa	40
X. OBJETIVO	42
XI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
XII. HIPÓTESIS.....	42
XIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
1. Siembra de plantas de maíz.....	43
2. Mantenimiento la colonia de <i>S. frugiperda</i>	44
3. Infección de larvas de <i>S. frugiperda</i> con los virus SfNPV-Ar y SfNPV-An1	47
3.1 Cepas virales	47
3.2 Amplificación de cepas de los baculovirus SfNPV	47
4. Evaluación del comportamiento de los insectos infectados y no infectados de <i>S. frugiperda</i>	50
XIV. RESULTADOS.....	52
1. Mantenimiento de la colonia de <i>S. frugiperda</i>	52

2. Amplificación de cepas de baculovirus SfNPV-An1 & SfNPV-Ar	54
2.1 Conteo de cuerpos de oclusión SfNPV-An1 y SfNPV-Ar.....	55
3. Comportamiento de larvas de <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con las cepas SfNPV-An1 y SfNPV-Ar.....	56
3.1 Evaluación de <i>S. frugiperda</i> sin infectar	56
3.2 Evaluación de larvas de <i>S. frugiperda</i> infectadas con el baculovirus SfNPV-Ar	59
3.3 Evaluación de <i>S. frugiperda</i> infectadas con el baculovirus SfNPV-An1	65
4. Análisis gráfico – Evaluación de comportamiento.....	71
4.1 Evaluación de comportamiento de larvas sin infectar e infectadas con baculovirus en plántulas de maíz (120 h).....	71
4.1.1 Evaluación de la mortalidad de larvas de <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus.....	71
4.1.2 Evaluación del daño foliar de larvas de <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus.....	74
4.1.3 Evaluación de migración de larvas de <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus.....	76
4.2 Evaluación de comportamiento de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus en plántulas de maíz (240 h).	78
4.2.1 Evaluación de la mortalidad de larvas de <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus.....	78
4.2.2 Evaluación del daño foliar de larvas de <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus.....	81
4.2.3 Evaluación de migración de larvas de <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus.....	83

XV. ANDEVA “EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO (MORTALIDAD, DAÑO FOLIAR & MIGRACIÓN)”	86
XVI. DISCUSIÓN.....	89
XVII. CONCLUSIÓN.....	93
XVIII. REFERENCIAS	94
XIX. ANEXOS.....	102
19.1 ANDEVA.....	102
19.1.1 Evaluación de mortalidad de larvas sin infectar e infectadas en plantas de maíz (120 h)	102
19.1.2 Evaluación de mortalidad de larvas sin infectar e infectadas en plantas de maíz (240 h)	103
19.1.3 Evaluación de daño foliar en plantas de maíz por larvas sin infectar e infectadas (120 h).....	104
19.1.4 Evaluación de daño foliar en plantas de maíz por larvas sin infectar e infectadas (240 h).....	105
19.1.5 Evaluación de migración en plantas de maíz por larvas sin infectar e infectadas (120 h).....	106
19.1.6 Evaluación de migración en plantas de maíz por larvas sin infectar e infectadas (240 h).....	108

I. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura. 1. Etapas de desarrollo de la plántula de maíz (Intagri, 2022).....	20
Figura. 2. Ciclo de vida de gusano cogollero del maíz <i>S. frugiperda</i> (PROAIN, 2020)	28
Figura. 3. Etapas de crecimiento de gusano cogollero del maíz <i>S. frugiperda</i> (PROAIN, 2020).....	28
Figura. 4. Fenotipos de baculovirus (Quinter, 2015)	35
Figura. 5. Ciclo de infección de baculovirus (Quinter, 2015)	36
Figura. 6. Siembra de 100 granos de maíz en bandeja germinadora con suficiente sustrato brindado por Agrícola Ruiz & Lozano (Blaukorn N ⁺ , P ⁺ , K ⁺) y agua para su desarrollo	43
Figura. 7. Resiembra de granos de maíz en toda la bandeja germinadora.	44
Figura. 8. Recolección de larvas, pupas y resguardo en bolsa de papel estraza con alimento dentro de insectario para desarrollo de adultos. Enumeración: a) Resguardo de larvas <i>S. frugiperda</i> en vasos individuales con dieta, b) Recolección de pupas <i>S. frugiperda</i> en cajas petri, c) Resguardo de pupas <i>S. frugiperda</i> en bolsa de papel estraza con dieta, d) Eclosión de pupas <i>S. frugiperda</i> , e) Mariposas <i>S.</i> <i>frugiperda</i> en alimentación y reproducción	45
Figura. 9. Recolección de huevecillos y resguardo en caja Petri con alimento dentro de insectario para desarrollo de larvas. Enumeración: a) Huevecillos <i>S. frugiperda</i> ovopositados en la bolsa estraza, b) Recorte cuidadoso de huevecillos <i>S. frugiperda</i> para su resguardo, c) Resguardo de huevecillos <i>S. frugiperda</i> en cajas petri con dieta artificial, d) Observación microscópica 10x de huevecillos <i>S. frugiperda</i>	45
Figura. 10. Pesaje de ingredientes y elaboración de dieta para alimentación y mantenimiento de colonia <i>S. frugiperda</i> . Enumeración a) Medición de masa de germen de trigo, b) Medición de masa de frijol, c) Medición de masa de granos de	

maíz, d) Medición de masa de agar bacteriológico, e) Medición de masa de levadura, f) Medición de masa de ácido sórbico, g) Medición de masa de ácido ascórbico, h) Mezcla de ingredientes sólidos con ADE caliente para mejorar función del agar, levadura, formaldehído y antibiótico, i) Dispersión de dieta elaborada en vasos individuales y cajas Petri para su solidificación y conservación. 46

Figura. 11. Inoculación de dieta con extracto crudo SfNPV-Ar y SfNPV-An1. Enumeración: a) Homogenización de cepas virales SfNPV – Ar y SfNPV – An1, b) Toma de muestra de cepas virales e inoculación en dieta artificial, c) Situación de barras de separación para amplificación de cepas virales en 10 larvas *S. frugiperda* 48

Figura. 12. Amplificación de cepa SfNPV – Ar y SfNPV – An1. Enumeración: a) Incubación de larvas *S. frugiperda* en dieta artificial inoculada con SfNPV-Ar y SfNPV-An1, b) Revisión de larvas *S. frugiperda* infectadas después del transcurso de 5 días de incubación 48

Figura. 13. Amplificación y extracción de cuerpos de oclusión SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en larvas de *S. frugiperda* en 3° Instar. Enumeración: a) Recolección de larvas *S. frugiperda* incubadas con cepas virales SfNPV – Ar y SfNPV – An1, b) Molienda de larvas *S. frugiperda* incubadas para extraer disolución de cepas virales, c) Toma de muestra de disolución de cepas virales SfNPV – Ar y SfNPV – An1, d) Resguardo y etiquetado de cepas virales SfNPV – Ar y SfNPV – An1..... 49

Figura. 14. Conteo de cuerpos de oclusión en cámara de Neubauer. Enumeración: a) Toma de muestra de disolución cepa viral, b) Preparación de microscopio con muestra en portaobjetos, c) Observación y conteo de COs a 40x..... 49

Figura. 15. Preparación de plantas de maíz para inocularlas con larvas de *S. frugiperda* infectadas con baculovirus 51

Figura. 16. Inoculación de larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas y sin infectar con baculovirus en plantas de maíz 51

Figura. 17. Evaluación de comportamiento (mortalidad, daño foliar y migración) cada 24 horas	51
Figura. 18. Observación de conteo de cuerpos de oclusión en cámara de Neubauer	55
Figura. 19. Evaluación de mortalidad de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz.....	73
Figura. 20. Evaluación de daño foliar con larvas <i>S. frugiperda</i> infectadas y sin infectar con los baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz	75
Figura. 21. Evaluación de migración de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en plántulas de maíz.....	78
Figura. 22. Evaluación de mortalidad de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz.....	80
Figura. 23. Evaluación de daño foliar con larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz	83
Figura. 24. Evaluación de migración de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en plántulas de maíz.....	85

II. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla. 1. Ejemplos de entomopatógenos comercializados en México.....	31
Tabla 2. Mantenimiento del sistema de crianza de la colonia <i>S. frugiperda</i>	53
Tabla. 3. Conteo de los COs producidos en larvas de <i>S. frugiperda</i>	56
Tabla 4. Evaluación del comportamiento de larvas de <i>S. frugiperda</i> sin infectar en plantas de maíz.	57
Tabla 5. Evaluación del comportamiento de larvas de <i>S. frugiperda</i> infectadas con baculovirus SfNPV-Ar en plantas de maíz	60
Tabla 6. Evaluación del comportamiento de larvas de <i>S. frugiperda</i> infectadas con baculovirus SfNPV-An1 en plantas de maíz.....	65
Tabla 7. Evaluación de mortalidad de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz.....	72
Tabla 8. Evaluación de daño con larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz	74
Tabla 9. Evaluación de migración de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en plántulas de maíz.....	77
Tabla 10. Evaluación de mortalidad de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz.....	79
Tabla 11. Evaluación de daño foliar con larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz.....	82
Tabla 12. Evaluación de migración de larvas <i>S. frugiperda</i> sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en plántulas de maíz.....	84
Tabla. 13. Tabla representativa de análisis de varianza del comportamiento de larvas sin infectar e infectadas con baculovirus en plántulas de maíz	86

III. DEDICATORIAS

A Dios todopoderoso por darme la vida

A mis padres Leticia y Luis Edgar, y hermanos Edgar Rigoberto y Luis Daniel por brindarme todo su apoyo y aliento a seguir sonriendo ante cada proyecto de vida.

A la Dra. María Cristina del Rincón Castro por su apoyo incondicional como una gran tutora, profesora y doctorada para que en uno haya mejor aprendizaje y más visiones sobre formarme en mi vida profesional, laboral y científica.

A mis sinodales por su apoyo para evaluar mi proyecto por ser grandes doctorados y profesores con el gusto de resolver las dudas de uno y seguir con el entusiasmo de poder lograrlo.

A mis profesores, miembros, compañeros y amigos de la Universidad de Guanajuato – DICIVA por su gran amistad y ayuda a lo largo de mi formación académica universitaria tanto científica dándome mucho ánimo para salir adelante.

A aquellas personas y profesores que me hicieron observar el lado bueno de la vida y hacer de esta carrera una gran experiencia.

IV. AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato por el apoyo educativo para la ampliación de mis conocimientos científicos.

A la Dra. María Cristina del Rincón Castro por todo el apoyo brindado para mi formación educativa y profesional científica.

A mis compañeros de laboratorio de biotecnología alimentaria y vegetal, por brindarme una buena amistad, apoyo y paciencia en la elaboración de mi presente trabajo.

A mis papás y hermanos por todo su apoyo incondicional para mi formación profesional tanto en los recursos necesarios de la preparación de mi tesis.

A mis amigos abejas UG por darme todo su apoyo y ánimo para seguir saliendo adelante en mi ambiente científico.

V. RESUMEN

El maíz es el cultivo más importante en México y es el principal cereal base de alimentación de los mexicanos, desafortunadamente durante su producción en el sector primario, es afectado por una gran cantidad de enfermedades y plagas como el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*. En el transcurso de la historia, dentro del cultivo del maíz encontramos al gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*, una de las plagas primordiales del maíz. Sin embargo, en México casi no se utilizan en el manejo integrado de plagas (MIP) por falta de evidencias científicas sobre su efectividad, mecanismo de acción y viabilidad tecnológica y económica. Debido a lo anterior, en esta investigación, se estudió el comportamiento de *S. frugiperda* para evaluar la tasa de mortalidad, daño foliar y migración, cada 24 horas, por triplicado, en plantas de maíz sembradas en macetas inoculadas con larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con los baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar, determinando la actividad insecticida de ambas cepas virales a través del método de amplificación de cepas de baculovirus. Los resultados obtenidos mostraron aproximadamente un control de 85% de la plaga *S. frugiperda* en el transcurso de 1 semana (20% por casos de canibalismo, ahogamiento o escapes), con un daño foliar del 90%, debido a su hiperactividad en el lapso de 92–144 h bajo movimientos aleatorios de migración a lo alto de los cogollos (15 cm), en busca de más alimento disponible en el suelo, restos de planta, hasta casos de canibalismo. Los resultados estadísticos obtenidos muestran una diferencia significativa (5%) de la tasa de mortalidad por ambos tratamientos de baculovirus, siendo la cepa más virulenta SfNPV-An1, pero sin una diferencia significativa del daño foliar y migración de las larvas sin infectar e infectadas con el virus, en las plantas de maíz, por lo que si estas cepas se utilizaran como agente de control biológico en cultivos de maíz, podrían representar un buen método de control alternativo al control químico y esto podría asegurar la producción de maíz inocuo y con facilidad para consumo humano.

Palabras clave: *Spodoptera frugiperda*, gusano cogollero, baculovirus, maíz, control biológico, MIP

VI. ABSTRACT

The corn is the paramount crop in Mexico and it's the main staple food cereal for the Mexicans, unfortunately, during its production in the primary sector, it's affected by a large amount of diseases and plagues like the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. In the history course, inside of the corn cultivate we find the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*, one of the primordial corn plagues. However, this method is hardly used in the integrated plague management (IPM) for lack of scientific evidence on its effectiveness, mechanism of action and technological and economic feasibility. Due to previous, in this research, the *S. Frugiperda* behavior was studied to evaluate the mortality rate, leaf damage and migration, each 24 hours, by triplicated, in seeded corn plants in inoculated flowerpots uninfected and infected *S. frugiperda* larvae with SfNPV-An1 & SfNPV-Ar baculoviruses, determining the insecticidal activity of both viral strains by the amplification method of baculoviruses strains. The obtained results show us approximately a control of 85% about *S. frugiperda* plague in the course of one week (20% for cases of cannibalism, drowning or escapes) with 90% leaf damage, due to the hyperactivity of the infected larvae in the period of 92 – 144 h with random movements of migration to the tops of buds (15 cm) in search of more food available in the soil, plant remains, even case of cannibalism. The obtained statistical results show a significant difference of the mortality rate for both treatments of biocontrol agents, being the most virulent virus strain SfNPV-An1, but without a significant difference in leaf damage and migration of uninfected and infected larvae in corn plants, so if these virus strains were used like biological agent control in corn crops, it could represent a good alternative control method to chemical control and this could ensure the production of innocuous corn and easily for human consumption.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*, fall armyworm, baculovirus, corn, biological control, IMP

VII. INTRODUCCIÓN

El maíz, una de las principales plantas gramíneas en México, ha sido fuente de alimentación durante siglos en nuestra nación y en otras partes del mundo en la prehistoria. Esta plántula suministra los suficientes nutrientes para el mantenimiento desde nuestros ganados y nuestros servicios de vida, dado que gracias a sus granos se logran obtener varios productos derivados en la industria alimentaria (harinas, carnes, grasas, aceites, alcohol, edulcorantes, etc.) bajo buena calidad alimentaria (ASERCA, 2018; Gomez J. G., 2015). Para lograr un buen control de la producción de la misma planta y su espiga, desde la prehistoria ha habido varios métodos para lograr cultivar y cosechar a la planta dándonos una alimentación, entre ellos, mantenimiento por cultivos temporales o de riego bajo tratamientos de fertilización y control de plagas ya sean mediante un control químico, biológico y, o cultural (DGSV-CNRF, 2020; Hernández *et al.*, 2021). Afortunadamente, desde comienzos del S. XIX ha incrementado el interés por tener una mayor cultura sobre el control biológico de plagas del maíz con un buen manejo integrado de plagas (*S. frugiperda*), ya que en las últimas décadas de México y resto del mundo, se ha presenciado el mal uso del control químico dado a que no respetan las dosis de tratamiento requeridas, por lo cual implementan más para tener un mejor resultado en un lapso más corto, ocasionando daños severos en nuestro medio ambiente natural ocasionando consecuencias severas de resistencia de plagas y de salud (CESAVEG, 2022; Mandujano *et al.*, 2014; Quinter, 2015; Salvador R. 2021). Por ello, en este proyecto, bajo la aplicación de control biológico con Baculovirus (SfNPV-An1 & SfNPV-Ar) se analiza la viabilidad de este método para averiguar si es posible tener un buen control de *S. frugiperda*, conocer la actividad insecticida de ambas cepas virales y minimizar daños foliares en plántulas de maíz ocasionadas por *S. frugiperda*.

VIII. JUSTIFICACIÓN

El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* es uno de los principales causantes de pérdidas económicas (USD 40×10^6) y terrenales (aprox. 480,000 ha) en la producción de maíz a nivel nacional. En México existe la presencia de esta plaga, y específicamente hace algunos años se presentó un gran problema en el Bajío, el cual ocasionó cuantiosas pérdidas económicas y de salud en algunos sectores de la población (Rangel, *et al.*, 2014). Actualmente, el uso de métodos químicos es el medio principal para el control de esta plaga, desafortunadamente, estos han originado varios problemas desde la contaminación a los alimentos, desarrollo de la resistencia en los insectos, daño a la salud de agricultores hasta la contaminación al medio ambiente. Por lo tanto, varias investigaciones han explorado y desarrollado opciones biológicas potenciales como los baculovirus. Estos agentes han demostrado ser efectivos contra las plagas, no representan una amenaza para los cultivos y son inofensivos para todos los vertebrados, incluida la humanidad.

El Laboratorio de Biotecnología Alimentaria y Vegetal de la División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato cuenta con una colección de cepas de baculovirus aisladas de *S. frugiperda*, y dos de ellas, la cepa SfNPV-Ar y SfNPV-An1, ya han sido caracterizadas biológica y molecularmente, mostrando un buen potencial como bioinsecticidas. Sin embargo, no se ha estudiado hasta el momento, como se comportan una vez que han sido infectadas por baculovirus en cuanto a su hiperactividad, mortalidad y el daño foliar que provocan en plantas de maíz, lo cual es un indicativo de su comportamiento futuro a nivel de campo, y estos resultados permitirán poder seleccionar a aquella cepa que sea más efectiva para el control de esta plaga y así poder producir maíz libre de insecticidas químicos y seguro para emplearse en la alimentación humana.

IX. ANTECEDENTES

1. Maíz

A lo largo de la historia de las principales fuentes de alimentación de México, el maíz cumple con este papel gracias a que es un alimento de origen prehistórico. El maíz, *Zea mays*, cuyo nombre científico significa “lo que sustenta la vida” se denomina como una planta perteneciente a la familia de las gramíneas, siendo uno de los granos más antiguos y conocidos. Esta especie posee un amplio sistema radicular que le permite dar una buena producción al ser cosechada. Su origen se estableció en la época de 3000-6000 mil años A.C., dentro de las regiones de Latinoamérica difundiendo sus cultivos alrededor de todo el continente. En México se tienen evidencias de cultivos hace aprox. 6250 años, encontradas en la cueva de Guilá Naquitz, Oaxaca, e incluso hace unos 7,000 años de antigüedad, encontrada por arqueólogos en el valle de Tehuacán, Puebla. Durante su propagación por el continente americano adquirió nombres como *centli*, *choclo*, *jojoto*, *corn*, *milho* o *elote* y *maíz* con la llegada de los españoles a través de la adaptación fonética de *mahís* (ASERCA, 2018; PALENCIA, 2021). Actualmente, el cultivo de maíz cuenta con una producción superior a 27,5 millones de toneladas a un costo de inversión aprox. \$50,000 pesos por hectárea y un precio de garantía aprox. \$7,000 pesos ton. maíz (SAGARPA, 2022; SADER, 2021). México se encuentra como el séptimo país de producción de maíz a nivel mundial, mientras que el estado de Guanajuato ocupa el octavo lugar de producción a nivel nacional (Statista, 2022).

1.1 Estructura de la planta

Para el buen mantenimiento del cultivo del maíz y sus próximos usos, este cuenta con una reproducción por polinización cruzada; sus partes reproductoras se encuentran en lo que es el elote o mazorca (flor femenina) y en la espiguilla (flor masculina). Gracias a esta estructura, la planta logra producir aprox. 1000 granos con una masa media entre 190–300 g (42% peso seco planta), aunque también existe la variable de su peso por las distintas condiciones ambientales, de su método de cultivo hasta de las distintas prácticas genéticas (Troiani *et al.*, 2017). El desarrollo de la planta se puede dividir en dos fases fisiológicas, primera o fase vegetativa, y segunda o fase reproductiva. Principalmente se estudió lo que es la fase vegetativa por ver el comportamiento de plagas presentes en esta etapa. En esta fase se desarrollan los distintos tejidos hasta que aparecen las estructuras florales (León, 2015; Troiani *et al.*, 2017). Esta etapa vegetativa consta de dos ciclos, incluyendo la formación de hojas primarias, con una producción gradual de materia seca acabando con la diferenciación tisular de órganos. El segundo ciclo abarca el desarrollo de hojas tanto órganos de reproducción, conduciendo a la aparición de los estigmas. La planta sufre cambios morfológicos debido a efectos de la domesticación de la planta, factores ambientales, evolución del terreno y misma selección natural. Ejemplo, reacción y adaptación a la duración del día y de las temperaturas, zonas con diferentes latitud y altitud, brindando nuevas características como variabilidad numérica en anchura, altitud, tipos, cantidad y tiempo de hojas, planta, mazorca, hasta su mismo ciclo de maduración (Sánchez, 2014; Osorio, 2022; PIONEER, 2015)

1.2 Etapas del desarrollo del maíz

Éstas se dividen de acuerdo con su fase vegetativa y reproductiva (Figura. 1):

1) VE “Germinación & Surgimiento”: inicio de la fase vegetal y brote de coleóptilos; comienza a crecer la radícula cuando hay humedad adecuada (aprox. 30%). Etapa de inicio de control biológico de gusano cogollero (8 – 10 días planta nacida) (BAYER, 2022; DEKALB, 2022).

2) V1 – V9: surgimiento de las hojas, espiga y panoja. Inicio de fotosíntesis y final de la función de la semilla como alimentación primaria. Comienzo de infestación y monitoreo de demás plagas (BAYER, 2022; DEKALB, 2022).

3) V10 – V17: se han formado diez hojas, crece el tallo del maíz y la panoja. Conforme la planta se acerca a la polinización, la humedad de la tierra y su disponibilidad de nutrientes se vuelven cada vez más cruciales para la determinación del rendimiento (BAYER, 2022; DEKALB, 2022).

4) V18 – VT: polinización en el maíz dulce (se da entre los 45 - 125 días posteriores al surgimiento del maíz). La liberación de polen usualmente ocurre en la mañana o en la tarde. Posibilidad de fin de ciclo de infestación de *S. frugiperda* (BAYER, 2022; DEKALB, 2022).

5) R1 – R3: inicio de fase reproductiva; surgimiento de estigmas y granulación. El polen cae en los estigmas para potencialmente fertilizar los óvulos. Los granos cambian de color blanco – amarillo debido a acumulación de azúcares (CONACYT, 2022; Salcedo, 2014; Seminis, 2020; Toledo, 2019).

6) Crecimiento (R4 - R6): comienzo de grano pastoso y maduración del grano. La mazorca va color blanco a rojo oscuro. Finalmente, la madurez fisiológica, una capa de color negro o marrón se ha formado en la porción del grano que se une a la mazorca, lo que indica que la madurez fisiológica se ha alcanzado (CONACYT, 2022; Salcedo, 2014; Seminis, 2020; Toledo, 2019).

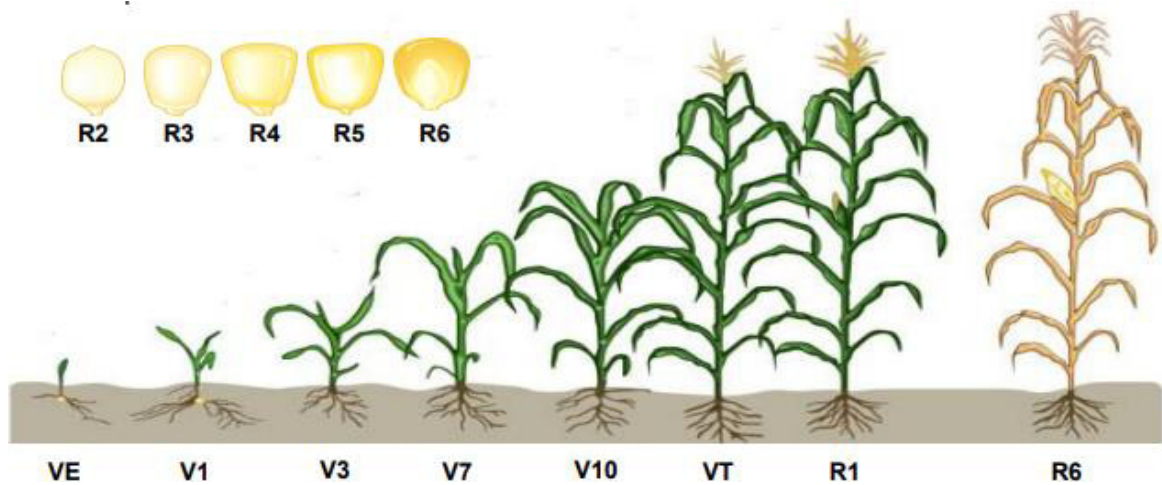


Figura. 1. Etapas de desarrollo de la plántula de maíz (Intagri, 2022)

1.3 Fuente de alimentación

El maíz ha sido un cultivo polivalente que nos aporta una amplia gama de nutrientes tanto a través de materia prima como de derivados básicos de la industria alimentaria. La industria cárnica y láctea se benefician de esto, utilizando subproductos del maíz para mejorar la vida útil y la conservación de sus propios productos. Además, el maíz se recolecta para su uso en la alimentación animal, incluida la recolección de granos, hojas secas, flores y residuos de forraje para alimentar a los rumiantes en los países en desarrollo (ASERCA, 2018; GOB, 2017). El maíz tiene diversos usos industriales como la producción de alimentos derivados de los granos, como son la sémola, harina y harina fina a través de la molienda en seco. Subproductos como el germen y la cubierta de la semilla se utilizan para la producción de aceite comestible con buena calidad alimentaria. Además, el 60% de la materia de maíz se utiliza como forraje en piensos compuestos para diversos animales, como aves, cerdos y rumiantes (GOB, 2017; Villanueva, 2018). El maíz dulce y el reventador son las principales variedades utilizadas en Latinoamérica utilizada para la alimentación; dentro de los más consumidos encontramos el normal inmaduro (consumo hervido o tostado), harinoso (endospermo blando), dentado

(endospermo calloso, núcleo central blando), cristalino (endospermo grueso, duro y vítreo) (Gomez J. G., 2015; Urango, 2018).

1.4 Principales plagas del maíz

Debido al gran papel de alimentación y desarrollo del maíz bajo condiciones climáticas temporales y, o templadas, han surgido varias plagas que han causado grandes pérdidas en el transcurso de su siembra alrededor del mundo, ocasionando daños de hasta 100% en pérdidas de plantas, por malos manejos, condiciones climáticas, y coevolución de estas mismas plagas. A continuación, se describirán las principales plagas que afectan al maíz (CESAVEG, 2022; PROAIN, 2021; SADER, 2021).

1.4.1 Araña roja (*Tetranychus urticae*)

Tetranychus urticae es un ácaro fitófago con una capacidad de adaptación y reproducción ágil (3 - 5 huevos por día) en cualquier planta u hortaliza, aunque con un ciclo de vida corto de 10 días. Presenta desde una coloración marrón hasta tonos rojizos por condiciones ambientales y alimenticias; se suele presentar en condiciones de climas cálidos, templados, ventosos y semisecos durante el transcurso de junio-agosto, favoreciendo su actividad en Latinoamérica y en el centro de México (Guanajuato, Querétaro, Michoacán, Puebla, Jalisco, etc.). Su desarrollo se da principalmente en el envés y extremos de las hojas produciendo tela para su vivencia y protección contra depredadores, plaguicidas, hasta condiciones templadas, alimentándose de microvellosidades, savia y clorofila evitando la floración y reproducción de la planta (Chaires *et al.*, 2021; Equihua *et al.*, 2013; Gijón, 2017; SADER, 2021).

1.4.2 Barrenador de tallo (*Diatraea saccharalis*)

Diatraea saccharalis es reportada como uno de los gusanos más distribuidos alrededor de los EUA hasta algunas zonas de la Argentina, así como en zona sur y centro de México bajo condiciones cálidas y templadas desde los meses de marzo, hasta temporada de cosecha en septiembre, caracterizado por una coloración amarillo-naranja, con un ciclo de reproducción de 20-45 días. Su actividad se refleja principalmente por daños en toda la estructura del maíz, induciendo el quebrado de la planta, espigas y mazorcas, ya que desde su primer instar, ataca a la raíz ocasionando que la planta no siga con su desarrollo fisiológico y reproductivo (Atencio V. R. *et al.* 2021; CESAVEG, 2022; Lezaun, 2020; Varón *et al.*, 2022)

1.4.3 Barrenador mayor del maíz (*Prostephanus truncatus*)

Prostephanus truncatus es un coleóptero barrenador que se encuentra desde EUA hasta regiones uruguayas y del Caribe, en Latinoamérica, y especialmente, zona centro de México bajo condiciones cálidas y templadas. Se caracteriza por una coloración blanquecina en las larvas y adultos, con tonalidades café oscuro a castaño. Se encuentra activo en el transcurso de mayo-agosto ocasionando daños de penetración en hojas secas y granos de la mazorca, alimentándose del endospermo y embrión, con una longevidad de 60 días, ocasionando pérdidas de floración principalmente (Admin, 2021; Alamilla *et al.*, 2013; Atencio V. R. *et al.* 2021; BAYER, 2022).

1.4.4 Chapulín (*Sphenarium purpurascens*; *Melanoplus differentialis*)

Sphenarium purpurascens y *Melanoplus differentialis* son ortópteros polífagos muy comunes alrededor de México, por ser originarios de Oaxaca y distribuidos desde la zona sur de México hasta los EUA, dónde existan condiciones climáticas cálidas y semiáridas. Entre sus principales tonalidades se encuentran diversas especies de color pálido, amarillo, verde en su pleno desarrollo, hasta tonalidades oscuras como café y negro en adultos. Se encuentra activo alrededor de los meses de marzo hasta diciembre, con un ciclo de vida de 2 meses, pero una continua oviposición de más de 300 huevecillos por día. Los principales daños que provocan a las plantas en el comienzo de su 5° instar, son cortar el periodo de producción debido a que se alimentan de los follajes y estigmas hasta la masticación del fruto (Alamilla *et al.*, 2013; CESAVEG, 2022; CESAVEP, 2022; PROAIN, 2021).

1.4.5 Chicharrita (*Dalbulus maidis*)

Dalbulus maidis es un hemíptero fitófago también conocido como cigarrita o saltahojas, esparcido desde el sur de EUA hasta Sudamérica, y en zonas norte y centro de México, donde existan condiciones climáticas tropicales y cálidas, aunque en temperaturas más bajas, su desarrollo es equilibrado. Se caracteriza por poseer colores verde-amarillos, con una longevidad de vida de aproximadamente 3 meses, bajo temperaturas un poco cálidas. Se encuentra más activo en los meses de marzo-agosto, en climas favorables a su reproducción, ovipositando 80 huevos por día. Entre los principales daños de las plantas se encuentran clorosis y marchitez del tallo y hojas del maíz por el ataque de la plaga desde la siembra hasta la fase VT del maíz (Casuso, 2017; Coronado *et al.*, 1981; Varón *et al.*, 2022).

1.4.6 Gallina ciega (*Phyllophaga* spp.; *Cyclocephala* spp.)

Phyllophaga spp. y *Cyclocephala* spp son coleópteros saprófagos muy comunes en las siembras del maíz, originarias en nuestra nación por ser un insecto con fácil adaptación a la variación de climas tropicales y templados; se encuentran esparcida en los estados de Guanajuato, Jalisco, Querétaro, Michoacán y Tamaulipas. Es caracterizada por una coloración pálida blanco-cremoso, mientras que los adultos desarrollan una tonalidad café rojizo. Se encuentra muy activa en el transcurso de primavera, verano e inicios de otoño con una longevidad de vida de 9 meses con una reproducción de 2 semanas con más de 90 huevecillos. Los principales daños presentes en las plantas de maíz son en las raíces, suelo y tallo (CESAVEG, 2022; Isama, 2019; SADER, 2021).

1.4.7 Gusano alfarillero (*Diabrotica* spp.)

Diabrotica spp es un coleóptero rizófago casualmente conocida como “Diabrotica” originaria en Mesoamérica, y actualmente esparcida en EUA, Latinoamérica y centro de Europa. Es característica por tener manchas desde tonalidades amarillo brillante, verde claro hasta ciertos puntos rojizos. Su fase activa se da en temporada cálida y templada con una longevidad de vida aprox. 7 meses con gran reproducción en las hojas del maíz colocando más de 500 huevos en el transcurso de 3 semanas. Los principales daños que causa en el maíz son su alimentación en base del sistema radicular (fases V0 - V5) ocasionando “cuello de ganso”, además de las misma hojas, estigmas y tallo originando marchitez e impidiendo la polinización para formación de granos (Alamilla *et al.*, 2013; SADER, 2021; INTAGRI, 2018)

1.4.8 Gusano de alambre (*Agriotes spp.*)

Agriotes spp es un coleóptero rizófago frecuente en el cultivo de maíz esparcido comúnmente desde EUA hasta Argentina y alrededor de todo México bajo condiciones climáticas de pradera. Se caracteriza por una tonalidad amarilla en su instar de larva, mientras que al crecer y ser adulto, toma coloración más oscura y gruesa. Se encuentra activo como plaga en temporada de verano mediante el ataque a la siembra del maíz (V1 - VT) por daños principales en semillas germinadas y raíces por mordeduras superficiales, ocasionando desecaciones, marchitamiento, blanqueamiento y ahijamientos. Consta con una longevidad de vida aproximadamente 8 años, con una reproducción de 100 huevos por hembra (Galego, 2019; DGSV-CNRF, 2020; SADER, 2021).

1.4.9 Gusano elotero (*Helicoverpea zea*)

Helicoverpea zea es un lepidóptero fitófago y granívoro que se presenta en etapa de polinización y madurez de granos alrededor de todo México, Sudamérica, hasta el sur de EUA, y casos más actuales en Eurasia y África bajo climas cálidos y templados permitiendo mucha de su migración. Se caracteriza por sus tonalidades verdes hasta cafés por su alimentación elotera, encontrándose principalmente en fase reproductiva del maíz (R1 - R4) atacando en la noche. Entre los principales daños ocasionados a las plantas encontramos su consumo de los estigmas y granos en desarrollo, ocasionando posteriormente enfermedades a la mazorca. Su longevidad de vida consta aprox. 3 meses con un ciclo de reproducción de 2 semanas con oviposición aprox. 3000 huevecillos (Alamilla *et al.*, 2013; INTAGRI, 2017; SADER, 2021; Varón *et al.*, 2022)

1.4.10 Gusano soldado (*Pseudaletia unipuncta*; *Spodoptera exigua*)

Pseudaletia unipuncta y *Spodoptera exigua* son lepidópteros polívoros y defoliadores originarios de Asia, esparcidos alrededor de América e incluso en el suroeste europeo, centro africano y oeste asiático; se encuentran bajo condiciones muy cálidas. Entre sus principales características encontramos tonalidades verdes, rojizas hasta marrones con alta actividad nocturna atacando a hojas primarias inferiores y superiores por su textura suave, ocasionando daños altos en la fase vegetativa de la planta dejando intactas las nervaduras centrales (V1 - VT). Su ciclo de vida consta aprox. 1 mes por no tener mucha adaptación a climas nocturnos, templados y fríos, lo cual da una oviposición aprox. 3000 huevecillos bajo condiciones favorables de su reproducción (Alamilla *et al.*, 2013; INFOAGRO, 2018; SADER, 2021; Smith, 2018).

1.5 Gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*)

Dentro de las principales plagas agrícolas del maíz, tenemos a un insecto lepidóptero polívoro, con hábitos nocturnos (Lepidoptera noctuidae), esparcido desde el sur de EUA hasta Sudamérica, con presencia en todo México, capaz de soportar climas tropicales y subtropicales hasta regiones secas, dándole resistencia a agentes químicos. El notorio gusano cogollero es muy conocido por devorar las partes superiores de las plantas. Esta plaga es particularmente dañina para las plántulas recién establecidas y las mazorcas en desarrollo que aún no han madurado. Se caracteriza por tener varias tonalidades en su ciclo de vida como verdes, blanquecinas, grisáceas y marrón. Es una plaga polívora de suma importancia en el cultivo del maíz, debido a que ataca la planta en todas sus etapas de desarrollo (V0 -R4; crecimiento, floración y fructificación), causando en algunas ocasiones la pérdida total de los cultivos hasta la muerte. Aunque su cosecha favorita es el maíz, también se sabe que esta plaga causa estragos en

aproximadamente otras 80 especies de plantas, incluido el arroz, el sorgo, el mijo, la caña de azúcar, el algodón, la soja, la alfalfa y algunas verduras. Una vez que las larvas emergen, comienzan a alimentarse de la epidermis foliar, espigas, estigmas y más tarde penetran al cogollo de la planta donde comen de manera voraz (DEKALB, 2022; DGSV-CNRF, 2020)

Por lo general, una sola larva desarrollada se encuentra en el cogollo debido a que en el tercer estadio tienen tendencias canibalísticas. Consta con una longevidad de vida aproximadamente 90 días. En el primer estadio larval tiene una duración promedio de 2.6 días, en el cual se alimenta de la epidermis superior de las hojas y del mesófilo dejando únicamente la epidermis inferior provocando ventanas irregulares en las hojas (DGSV-CNRF, 2020; PROAIN, 2020). A partir de los estadios intermedios la alimentación de las larvas en el cogollo se manifiesta con filas de perforaciones en las hojas, mientras que los últimos estadios pueden ocasionar una defoliación completa (Figura. 2 y 3). Esta especie es nativa del trópico, con amplia distribución geográfica en el continente americano. Su amplia población se debe a su migración volátil hasta 100 km por noche, además de que las hembras ovipositan aprox. 1000 huevos en su vida (100–200 cada oviposición), también por su poder de adaptación a diferentes condiciones climáticas. Además de que los lugares donde los huevos son depositados no son siempre en base a la alimentación, ya que también pueden ser hallados en diversos sitios como postes de luz, paredes, alambrados, entre otros. Se les encuentra en los cultivos colocados sobre las hojas, hasta preferentemente en la parte media de la planta. Si éstas no se controlan, los brotes de *S. frugiperda* pueden conducir a una pérdida significativa del 60% en el recuento de plántulas, pérdida de espacio foliar e incluso evitar la emisión de inflorescencias. Si no se controla la plaga oportunamente en épocas de sequía, existe la posibilidad de que en la etapa de floración esta plaga adquiera el hábito de gusano trozador y elotero por encontrarse consumiendo el grano de mazorcas tiernas, ocasionando la vía de entrada de hongos que causan pudriciones (Hernández *et al.*, 2021; Peña *et al.*, 2019; Romero *et al.*, 2018).

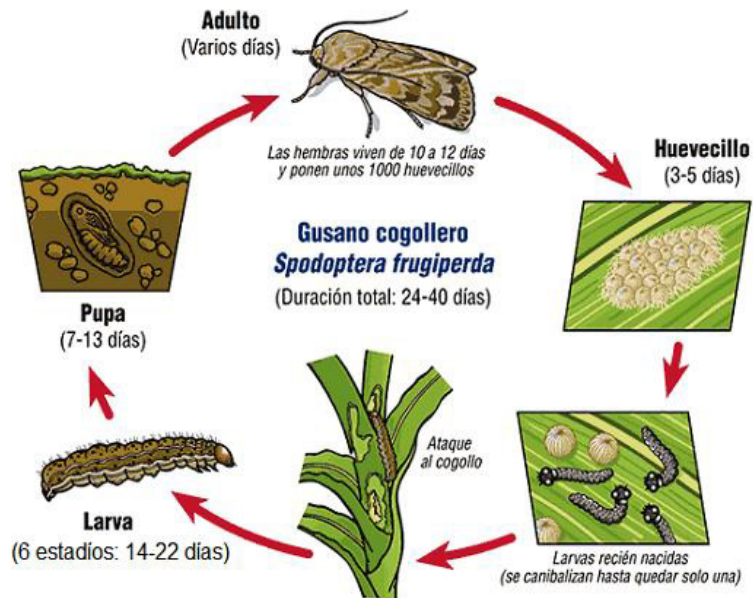


Figura. 2. Ciclo de vida de gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* (PROAIN, 2020)

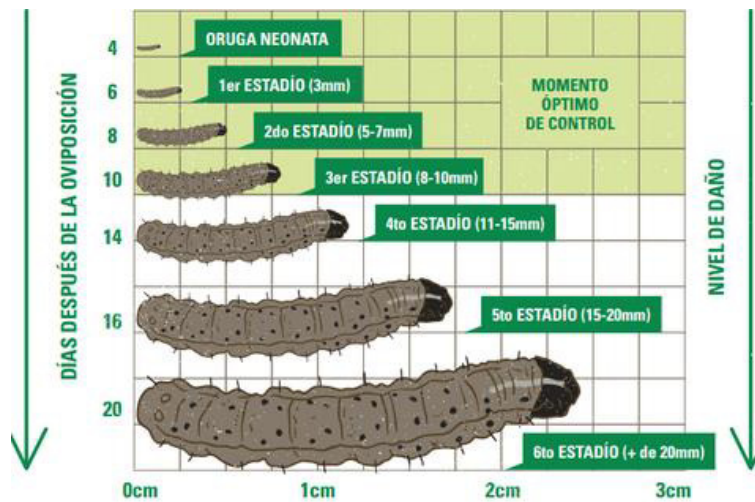


Figura. 3. Etapas de crecimiento de gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* (PROAIN, 2020)

2. Métodos de control de plagas

Dentro de las plagas se han encontrado miles de seres vivos clasificados según su origen, como son el caso de los insectos, las hierbas malas, hongos pluricelulares, aves, ratas, etc., hasta microorganismos o seres unicelulares como el caso de los virus, hongos y bacterias. Para ello, la humanidad a lo largo de los años ha manejado diversos auxilios que el mismo ambiente brinda, hasta el desarrollo de productos secundarios para el control de las plagas, evitando que se generen peores consecuencias, tales como enfermedades que puedan seguir deteriorando al cultivo (Mandujano *et al.*, 2014; Varón *et al.*, 2022).

Existen tres métodos principales de control de plagas de insectos, siendo el más utilizado de ellos el control químico, el cual consta de un tratamiento por medio de fuentes naturales o sintéticas de sustancias plaguicidas, para poder mejorar y controlar el crecimiento y producción de plantas y acabar o inhibir, el desarrollo de la plaga, se considera la fuente primordial de manejo de plagas de insectos, aunque desafortunadamente con graves consecuencias de resistencia en los insectos, daños en la salud humana, y problemas de contaminación ambiental (CESAVEG, 2022; Mandujano *et al.*, 2014).

Otro método de control de insectos plaga, lo representa el control biológico, el cual se basa en el uso de microorganismos tales como los virus, bacterias, hongos, e incluso organismos presentes en el ambiente (parasitoides, entomófagos), los cuáles causan desde efectos detrimentales en los insectos, y algunos de ellos hasta su muerte. No obstante, este tipo de control es un sistema más lento que los agentes químicos y sus costos de producción pueden llegar a ser más elevados que los del control químico (CESAVEG, 2022; Zepeda, 2018)

El tercer método de control más utilizado para eliminar plagas de insectos, lo representa el control cultural, el cual consiste en aprovechar las herramientas necesarias previas a iniciar el sembrado, como son el cuidado de la tierra a usar, preparación de suelo, elaboración de surcos, eliminación de malezas hasta restos

de insectos ya eliminados, rotación de cultivos, uso de trampas, buen manejo de agua temporal y de riego, reúso de abono fértil de ganado bien criado y alimentado para buena nutrición de las plantas, entre muchas más maneras preventivas (CESAVEG, 2022; Mandujano *et al.*, 2014; Varón *et al.*, 2022; Zepeda, 2018).

2.1 Bioinsecticidas

El avance de la biotecnología ha traído consigo varios beneficios, siendo uno de ellos el potencial de mejorar la calidad y el rendimiento de los productos alimenticios. Los bioinsecticidas ayudan a la protección natural para los cultivos, mejoran la calidad y rendimiento de cosechas, disminuyen los niveles de residuos en los alimentos, y obviamente reducen considerablemente la cantidad de agroquímicos (Hernández, 2020; IAEA, 2022). Entre las ventajas de los bioinsecticidas, podemos encontrar que los insectos tratados desarrollan difícilmente resistencia a los bioinsecticidas, poseen una alta especificidad para atacar a una sola especie de insecto, son seguros e inocuos en el ambiente natural, pueden funcionar efectivamente a bajas concentración del microorganismo, algunos pueden tener un bajo costo de producción, son biodegradables, poseen una gran expansión del mercado ecológico porque generan más conciencia sobre la calidad e inocuidad de los alimentos producidos bajo su control, etc.; mientras que entre sus desventajas se encuentra la competencia contra insecticidas sintéticos, los cuáles producen resultados más inmediatos y eficaces, y suelen estar fuera del rango de costos bajos de los pesticidas orgánicos o ecológicos (Devine *et al.*, 2008; Hernández, 2020).

Para incrementar el uso de bioinsecticida en México, la investigación científica regular y el análisis económico son importantes, donde estas dos claves incluyan la mejora de la producción y la calidad de éstos, para garantizar su eficacia en el producto final. Diversos plaguicidas biorracionales están disponibles en el mercado, los cuales incluyen sustancias naturales que imitan las hormonas de los

insectos, así como derivados de fuentes naturales (Hernández *et al.*, 2020; Mendoza *et al.*, 2016). Numerosos estudios en México y demás países han revelado el papel de los parasitoides en la regulación de las poblaciones del infame gusano cogollero; sin embargo, es importante comprender la distribución y el significado de las diferentes especies nativas de parasitoides. Contra el cogollero, sí han encontrado especies de parasitoides de huevos, de huevo-larva, de los diferentes estados larvales y de larva-pupa; entre los géneros más frecuentemente se han detectado se encuentra *Trichogramma spp.* (Trichogrammatidae); *Ophion spp.*, *Pristomerus spinator* (F) y *Campoletis spp.* (Ichneumonidae); *Euplectrus spp.* (Eulophidae); *Chenolus spp.*, *Apanteles spp.*, y *Meteorus laphygmae* (Braconidae) y varias especies de moscas parasitas e las familias Sarcophagidae y Tachinidae (Equihua *et al.*, 2013). Estos métodos alternativos deben ser ecológicamente aceptables y que promuevan la biodiversidad, para eliminar finalmente la dependencia de los productores de maíz de las aplicaciones de plaguicidas químicos (Hernández *et al.*, 2020; Mendoza *et al.*, 2016).

2.1.1 Biotecnología agrícola

Mediante la biotecnología avanzando, está en marcha una nueva fase revolucionaria en la producción agrícola, debido a las innovaciones de ingeniería en técnicas de base genética, química e industrial. La biotecnología agrícola ahora está orientada a abordar los bajos rendimientos de los cultivos y las pérdidas económicas causadas por factores bióticos y abióticos para lograr una agricultura sostenible. Un fin biotecnológico es minimizar la dependencia de los productos químicos y, al mismo tiempo, mejorar o mantener la productividad del campo, disminuir los costos de los insumos y mitigar los problemas ambientales. (IAEA, 2022; Pacheco *et al.*, 2019).

La biotecnología abarca organismos entomopatógenos y entomófagos. Los entomopatógenos son microorganismos cuales se infiltran en los insectos y provocando baja reproducción hasta la muerte. Incluso cuando todavía están vivos, estos insectos transmiten el agente infeccioso, lo que conlleva a la infección de otros insectos en el área a través de la autodiseminación. Este fenómeno es notable con baculovirus y protozoos. En México, los organismos entomopatógenos más comúnmente comercializados se enumeran a continuación, mientras que, a nivel mundial, las bacterias (*B. thuringiensis*), los hongos (*Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*) y los virus (*Baculovirus*) dominan la industria. Varios factores, como el tipo de plaga, el tamaño del mercado y el tipo de plagas que se pueden controlar, pueden influir en la viabilidad económica, la aceptación y el uso de los bioinsecticidas.

A continuación, se enlistan los organismos entomopatógenos que más se comercializan en México en la actualidad (Tabla 1)

Tabla. 1. Ejemplos de entomopatógenos comercializados en México

Agente de biocontrol	Tipo	Nombre del producto	Sugerido para el control de:	Compañía productora
<i>Bacillus thuringiensis aizawai</i>	B	XenTarl	Palomilla dorso de diamante, gusano falso medidor, gusano soldado, gusano defoliador	Abbott -DuPont
<i>B. thuringiensis israelensis</i>	B	Skeetal, Vectobac	Dípteros	
<i>B. thuringiensis kurstaki</i>	B	Bactospeine DF	Palomilla dorso de diamante, gusano falso medidor, mariposilla blanca	
		Biobit HP	Gusano de yema del tabaco, gusano falsomedidor, gusano soldado, gusano defoliador	
		Dipel	Lepidópteros	

		Javelin, Thuricide	Lepidópteros	Ecogen
<i>B. t. tenebrionis morrisoni</i>	B	Novodor	Coleópteros	Thermo Trilogy
<i>B. thuringiensis tenebrionis</i>	B	Trident	Coleópteros	Ecogen
		Teknar	Dipteros	
<i>B. bassiana</i>	H	BotanGard	Plagas de invernadero	Mycotech
	H	Myocotrol	Plagas de cultivo	
	H	Bio-fung	Chapulín maíz	CESAVEG
HzNPV	V	Gemstar	<i>Helicoverpa zea</i>	Thermo Trilogy
<i>P. fumosoroseus</i>	H	Pea-Sin	Plagas de invernadero	
	H	PFR-97		Agrobionsa
	H	P. fumosoroseus	Mosquita blanca	CESAVEG
SfNPV	V	Spodex	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Thermo Trilogy

B: Bacterias; H: Hongos; V: Virus Fuente: Tamez *et al.*, 2001

El mayor mercado mundial lo ocupan productos elaborados a partir de bacterias (*B. thuringiensis*), virus (*Baculovirus*) y hongos (*Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*). Sin embargo, su viabilidad económica, aceptación y uso pueden verse influenciados por varios factores, como el tipo de plaga, el tamaño del mercado, el espectro de plagas que se pueden controlar y su impacto en los insectos benéficos. La compatibilidad con el equipo de aspersion existente y la metodología de aplicación también es esencial, ya que los agricultores rara vez compran equipo nuevo para productos de control biológico. Los agentes microbianos se pueden producir mediante fermentación líquida, semisólida o sólida. A pesar de su eficacia, los bioinsecticidas representan solo el 7,5 % del mercado mundial total, lo que representa un mísero 1,3 % en el mercado total de biopesticidas (Nava *et al.*, 2016). Durante las próximas décadas, se proyecta que el desarrollo de los productos químicos rondará el 2%, mientras que el crecimiento de los bioinsecticidas aumentará entre el 10% - 15%. El microorganismo de mayor

éxito en el mercado mundial es *Bacillus thuringiensis* (Bt), un bioinsecticida de amplia aplicación, estimado en 100,000 hectáreas de maíz tratadas con este producto. Para proteger el 5% de la superficie cultivada de maíz irrigado, se necesitan aproximadamente 100 toneladas métricas de producto Bt. En México, es probable que los bioinsecticidas Bt representen del 4 al 10% del uso total de insecticidas (IAEA, 2022; Nava *et al.*, 2016).

3. Baculovirus

Los bioinsecticidas ofrecen una variedad de soluciones para controlar las plagas agrícolas. Una de estas opciones es el uso de virus entomopatógenos, particularmente los pertenecientes a la familia Baculoviridae. Estos virus son patógenos para los invertebrados y se utilizan ampliamente en todo el mundo para el control de plagas. Además, pueden servir como vectores de expresión para proteínas y terapia génica. Científicamente, los baculovirus son diversos virus ocluidos con ADN de doble cadena, que varían en tamaño de 80 a 180 KB. Son exclusivos de los invertebrados, en particular de los insectos, y su genoma está encerrado dentro de una matriz proteica denominada cuerpo de oclusión (COs), que se empaqueta en viriones en forma de bastón. El CO exhibe una notable especificidad de huésped y posee una potente actividad biológica contra una gran variedad de especies de insectos (Gómez *et al.*, 2013; Salvador R. 2021).

3.1 Cuerpos de oclusión

Los cuerpos de oclusión (COs) son estructuras cristalinas constituidas principalmente por poliedrina, donde se encuentran los virus ocluidos. Éstos poseen una envoltura, cuya función se relaciona con sellar la superficie de los poliedros y aumentar su estabilidad (Gómez *et al.*, 2013). La envoltura está constituida por

carbohidratos y una proteína fosforilada PE (Ac131). Según la morfología de los COs, éstos se dividen en dos fenotipos: los Granulovirus (GV) y Nucleopoliedrovirus (NPV), donde los NPVs se dividen a su vez morfológicamente en NPV simples (SNPV) y NPV múltiples (MNPV) (Figura. 4). El fenotipo MNPV puede acelerar la capacidad del virus para establecer la infección, donde las nucleocápsides podrían entrar directamente en el núcleo y empezar la replicación. (Gómez *et al.*, 2013; Quinter, 2015).

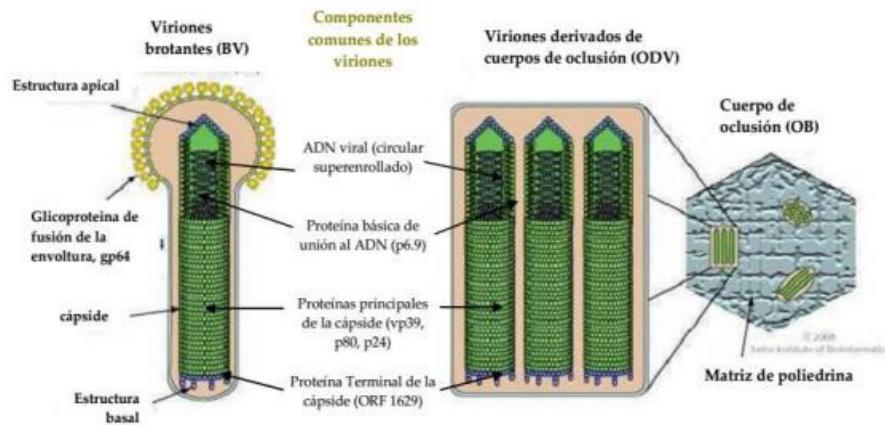


Figura. 4. Fenotipos de baculovirus (Quinter, 2015)

3.2 Ciclo de replicación de los Baculovirus

Este ciclo inicia cuando las larvas consumen a los NPVs de la superficie de la planta o del suelo, y el ambiente alcalino de su intestino medio (con un rango de pH de 8 a 11) disuelve tanto la poliedrina como los viriones. Luego, para que éstos logren ingresar a las células, primero deben cruzar la membrana peritrófica del intestino y fusionarse con las microvellosidades de las células epiteliales del intestino medio. Después de esto, los receptores específicos de la célula huésped se fusionan con las membranas virales, lo que permite la entrada de la nucleocápside desnuda que inicia la primera ronda de replicación del ADN en el núcleo. Esto inicia la transcripción de genes virales, produciendo cambios en las

funciones fisiológicas del insecto que promueven un mejor desarrollo de la infección dentro del huésped. Las nucleocápsidas recién formadas salen de la célula y sufren una transformación donde una envoltura envuelve viriones brotados (BVs), que transportan las proteínas necesarias para penetrar en nuevas células. (Gómez *et al.*, 2013; Quinter, 2015; Salvador R. 2021). Estos viriones atraviesan la hemolinfa, diseminando la infección a tejidos y órganos susceptibles como hemocitos, cuerpo graso y tráquea, entre otros, iniciando una infección secundaria. La replicación y la transcripción virales ocurren en el núcleo de estas células y se ensamblan las nuevas nucleocápsidas. En un transcurso de 2 a 5 días, se muestra una hipertrofia del núcleo ocasionando lisis celular; las larvas dejan de comer, cambian el color tegumentario, y pocos días previos a su muerte, las larvas se desplazan a la parte aérea de las plantas donde mueren colgadas de sus propatas. Finalmente, el integumento se degrada y se liberan millones de nuevos COs para dar origen a un nuevo ciclo de infección (Figura. 5). La radiación UV afecta directamente la viabilidad y aplicación del virus y las aplicaciones del virus alterando el ciclo de infección (Gómez *et al.*, 2013; Quinter, 2015; Murillo R. *et al.* 2006)

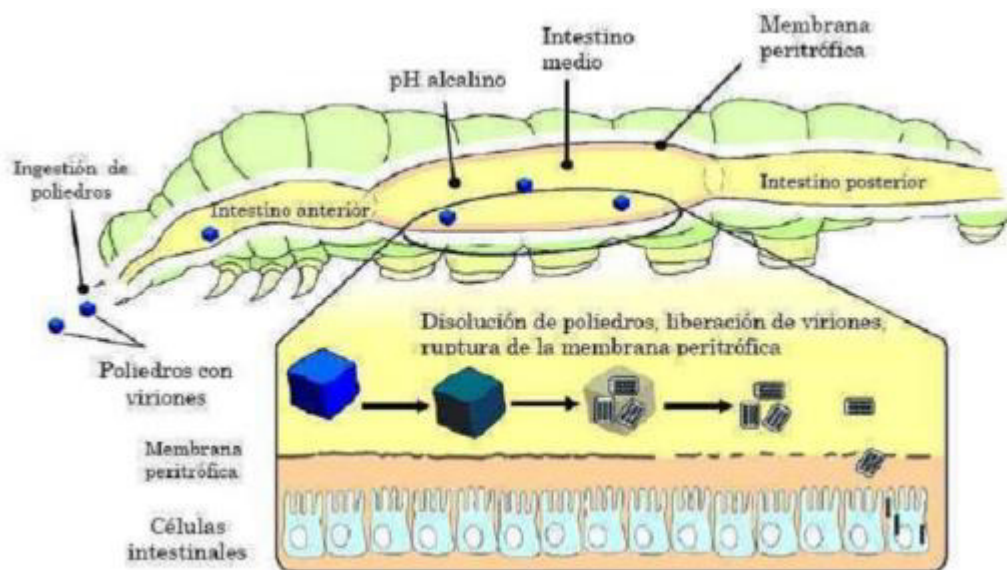


Figura. 5. Ciclo de infección de baculovirus (Quinter, 2015)

3.3 Clasificación y estructura NPVs

Los viriones se clasifican en viriones derivados de cuerpos de oclusión (ODV) y viriones brotados (VB). La matriz semicristalina (poliedrina) es la encargada de incorporar las ODV que a su vez provocan la transmisión horizontal de la enfermedad en individuos susceptibles. Como resultado, se inicia la infección primaria en las células epiteliales del mesenteron. Por otro lado, VBs son los encargados de la infección secundaria en células y tejidos. (Gómez *et al.*, 2013; Quinter, 2015). Los baculovirus se clasifican en cuatro géneros en función de su especificidad hacia los insectos huéspedes:

- *Alphabaculovirus*: comprende a los NPVs específicos de lepidópteros. Producen tanto viriones gemados (VB) como viriones ocluidos (ODV), presentando NPV simples (SNPV) y múltiples (MNPV) por virión.
- *Betabaculovirus*: comprende a los granulovirus (GVs) específicos en infección de lepidópteros. En su ciclo replicativo producen VB y ODV.
- *Gammabaculovirus*: comprende NPVs aislados de himenópteros. El fenotipo de virus gemado (VB) puede estar ausente.
- *Deltabaculovirus*: comprende a NPVs específicos de *Culex nigripalpus* (CuniNPV) y otros baculovirus específicos de dípteros.

3.4 Implementación como agentes de control biológico de los Baculovirus

Los baculovirus son ampliamente utilizados en el manejo biológico de plagas de lepidópteros. En Norteamérica y Latinoamérica se han aislado varias cepas para uso biotecnológico contra *S. frugiperda* del maíz, demostrando eficacia con un buen potencial de control biológico, pero en México no se utilizan en ninguna proporción. En Latinoamérica, se han evaluado cepas de SfNPV aisladas en varias regiones tales como Argentina, Perú, Brasil, Colombia, Nicaragua, etc., en las cuales se han evaluado la efectividad a nivel de laboratorio y de campo, mostrándonos resultados variados debido a que *S. frugiperda* muestra gran susceptibilidad a los diferentes aislamientos nativos de Latinoamérica (Rangel *et al.*, 2014).

Desafortunadamente, México cuenta con muy pocas experimentaciones en laboratorios para el control biológico de *S. frugiperda*. Ciertas cepas internacionales que ya se han utilizado en México han demostrado niveles de control, entre un 40 y un 80 % del control poblacional del gusano cogollero (Rangel *et al.*, 2014). No obstante, el control de este insecto en México sigue siendo mayoritariamente con el comercio de agroquímicos por su fácil compra-venta, producción, ocasionando que la plaga siga con resistencia ante ellos. Las zonas centro y sur de México más afectadas por la presencia del gusano cogollero desde 2018 a la actualidad son Guanajuato, Querétaro, Aguascalientes, Edo. México, Michoacán, Chiapas, entre otros estados (SENASICA, 2021).

3.5 Especificidad y patología de los Baculovirus

Estudios recientes han demostrado que cada especie de baculovirus tiene distintas interacciones con su huésped, lo que afecta su susceptibilidad e influencia en el entorno circundante (Gómez *et al.*, 2013; Rangel *et al.*, 2014). Gracias a estos estudios sobre la organización y secuencias del genoma de baculovirus han ayudado en la clasificación de nuevas especies virales. Estos virus han

coevolucionado con sus insectos huéspedes y tienen 37 genes conservados en todas las especies cuyos genomas han sido secuenciados. Estos genes están implicados en la replicación, la transcripción, el ensamblaje del virión y la infectividad oral, y pertenecen a varias categorías funcionales, evidenciando que estos virus han coevolucionado con sus insectos hospederos (Murillo R. et al., 2006; Peña et al., 2019).

Los VPN muestran una mala conservación en términos de organización del genoma, pero generalmente los baculovirus exhiben típicamente un grado significativo de variabilidad genotípica, descubierto dentro de cepas recolectadas de especies huésped idénticas en diferentes sitios geográficos. Tales como son el VPN de *Autographa californica* (Lepidoptera: Noctuidae; AcNPV) y el VPN del gusano cogollero del maíz aislado en Nicaragua con más de 10 genotipos aislados. La diversidad genética de los baculovirus se atribuye principalmente a su alta variabilidad. Para comprender mejor el proceso de infección, es crucial identificar los genes específicos responsables de la función del huésped e investigar cómo las respuestas del sistema inmunitario afectan su eficacia.

Esta investigación se complica por la alta tasa de recombinación del genoma observada en estos organismos. Para mejorar el progreso de la investigación de replicación viral de baculovirus, es necesaria la experimentación futura con tratamientos basados en NPV en el campo para la evaluación y el avance, con el fin de evaluar cada agente implicado en la infección y evolucionar en el campo con un nuevo manejo de plagas, dejando en claro que exista la evolución o mutación debido a la relación de agentes químicos y plagas tratadas, y coevolución biológica de la relación-NPV-plantas-insecto. (Gómez et al., 2013; Murillo R. et al., 2006; Peña et al., 2019)

3.6 Ecdisteroide UDP- Glucosiltransferasa

Gracias al sistema de infección, según estudios previos de Rohrmann, 2019, las larvas infectadas con baculovirus presentan un comportamiento de migración hacia las zonas más altas de su hábitat (hojas), oscurecimiento enzimático de tonalidad, disminución de tamaño, enrollamiento de músculos, etc., hasta llegar a colgarse de la zona más alta de la hoja y morir. Esto se debe principalmente a una enzima viral presente en los baculovirus, mejor conocida como *ecdisteroide UDP-glucosiltransferasa* (EGT). La función de la EGT viral es bloquear la muda y la formación de pupas en las larvas infectadas al catalizar la transferencia de glucosa de la UDP-glucosa a los ecdisteroides, inactivando las hormonas de muda (20-hidroxiecdisona, 20E) (Chong-Bi, 2008; Rohrmann, 2019). La muda puede causar estrés fisiológico severo en los insectos infectados y muchos no sobreviven a esta transición. La evidencia sugiere que la EGT viral previene este estrés al bloquear la muda, prolongando la etapa de alimentación de las larvas infectadas, lo que permite que el virus se replique durante un período de tiempo más largo en larvas más grandes. Una característica notable de la infección por NPV es que, en algunos casos, los insectos pueden crecer y continuar alimentándose hasta que mueren. Parecen sanos, pero cuando se examinan están muy infectados con altas concentraciones de cuerpos de oclusión en sus células y hemolinfa (Chong-Bi, 2008; Rohrmann, 2019).

Investigaciones anteriores informaron que la EGT viral contribuye a desencadenar el comportamiento de escalada en algunos virus y especies huésped, lo que implica que existe un mecanismo central desconocido de alteración del comportamiento del huésped inducida por baculovirus. Debido a que las larvas hospederas de lepidópteros infectadas con baculovirus a menudo mueren en el follaje superior de la planta, se les ha diagnosticado un caso de "Wipfelkrankheit", es decir, enfermedad de la copa de los árboles durante más de 100 años (Chong-

Bi, 2008; Rohrmann, 2019). Esta enfermedad se compone de 2 tipos de manipulación: actividad locomotora mejorada (ELA) y comportamiento trepador (CB). ELA es una hiperactividad de la locomoción, en la que las larvas infectadas por virus se mueven vigorosamente en el área horizontal; CB es un movimiento de larvas infectadas hacia posiciones elevadas y presumiblemente relacionado con fototaxis positiva o gravitaxis negativa (Kokusho *et al.*, 2021; Rohrmann, 2019). La EGT podría ser un factor indirecto de alteración del comportamiento, debido a que prolonga el tiempo hasta la muerte en algunas combinaciones de virus-huésped y esta extensión es crucial para desencadenar COs antes de la muerte en la combinación múltiple de NPVs. Por lo tanto, se ha considerado que el mecanismo de alteración del comportamiento podría haber evolucionado en los baculovirus utilizando estos 2 genes y adaptando su función a cada una de las especies huésped y sus estilos de vida. (Niz *et al.*, 2020; Rohrmann, 2019).

X. OBJETIVO

Evaluar el comportamiento del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* infectado con baculovirus SfNPV, y su efecto en la tasa de migración, hiperactividad, mortalidad y daño foliar en plantas de maíz para su uso en el control biológico.

XI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Reproducir *in vitro* a una colonia de *S. frugiperda* bajo condiciones de insectario durante todo su ciclo de vida
2. Obtener inóculos *in vivo* en larvas de *S. frugiperda* de los baculovirus SfNPV–Ar y SfNPV–An1.
3. Evaluar el comportamiento de larvas de *S. frugiperda* infectadas y sin infectar con baculovirus SfNPV en plantas de maíz, para medir mortalidad, porcentaje de daño foliar, e hiperactividad.

XII. HIPÓTESIS

Las larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas con baculovirus son más hiperactivas que las no infectadas y contribuyen a una mejor dispersión del virus en plantas de maíz logrando una mejor disponibilidad para infectar a esta plaga e incrementando sus niveles de control.

XIII. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Siembra de plantas de maíz

Se utilizaron bandejas de germinación para dar seguimiento al sembradío de semillas de maíz Eagle hybrid seeds 215 W adquiridas en el negocio comercial "Agrícola Ruiz Lozano" y se germinaron mediante cuidados de agua, sistema de riego, buen mantenimiento de la tierra, libre de agentes químicos (insecticidas, herbicidas, etc.) y la ausencia de plagas hasta trasplantar plántulas en macetas (Figura. 6). Las plántulas se incubaron a temperatura ambiente en las bandejas de germinación, aproximadamente 1 mes hasta alcanzar la fase vegetativa V3 (10 cm) y después fueron trasplantadas a macetas amplias hasta alcanzar la fase vegetativa V5 (30 cm) para su uso experimental (Figura. 7). La siembra de plantas de maíz se llevó a cabo en la División de Ciencias de la Vida (Carr. Irapuato-Silao km 9. Col Ex Hacienda el Copal) durante los meses del 2022.



Figura. 6. Siembra de 100 granos de maíz en bandeja germinadora con suficiente sustrato brindado por Agrícola Ruiz & Lozano (Blaukorn N⁺, P⁺, K⁺) y agua para su desarrollo



Figura. 7. Resiembra de granos de maíz en toda la bandeja germinadora.

2. Mantenimiento la colonia de *S. frugiperda*

El mantenimiento de la colonia se realizó en condiciones de insectario en una cámara de cría (Lumistell^{MR}) a $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $60 \pm 10\%$ y un fotoperiodo de 16:8 horas (luz: oscuridad). Los adultos se mantuvieron dentro de una bolsa de papel estraza y se alimentaron con una solución de agua destilada con jarabe de maíz al 10% (Figura. 8). Los huevos se recolectaron cada tercer día y se colocaron en una caja Petri con dieta (Figura. 9). La dieta artificial de *S. frugiperda* contiene: 1000 ml de agua destilada estéril (ADE), 12.5 g de agar bacteriológico, 120 g maíz, 50 g de levadura (Farmacia Paris), 5 g de germen de trigo, 25 g de espiga de maíz, frijol soya 62.5 g, 2.5 g de ácido sórbico, 5 g de ácido ascórbico, formaldehído al 37% 3.125 ml y 0.75 mg antibiótico (Amoxicilina AMSA) (Figura. 10). Las larvas se individualizaron en vasos con dietas individuales al llegar al tercer estadio y se mantuvieron ahí hasta pupar.

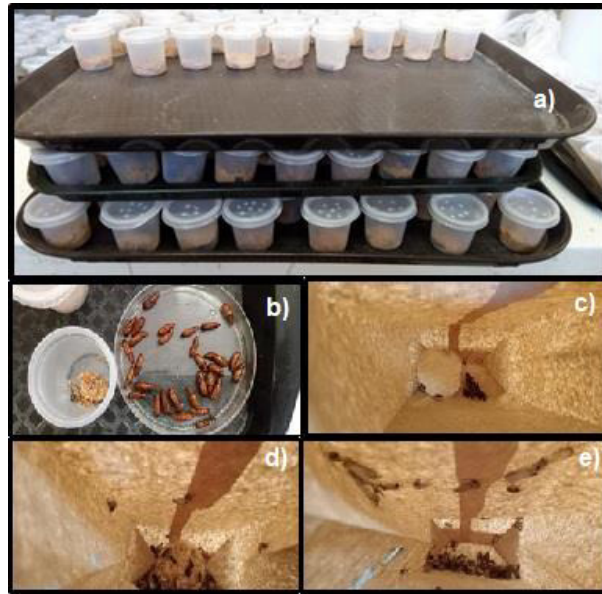


Figura. 8. Recolección de larvas, pupas y resguardo en bolsa de papel estraza con alimento dentro de insectario para desarrollo de adultos. Enumeración: a) Resguardo de larvas *S. frugiperda* en vasos individuales con dieta, b) Recolección de pupas *S. frugiperda* en cajas petri, c) Resguardo de pupas *S. frugiperda* en bolsa de papel estraza con dieta, d) Eclosión de pupas *S. frugiperda*, e) Mariposas *S. frugiperda* en alimentación y reproducción.

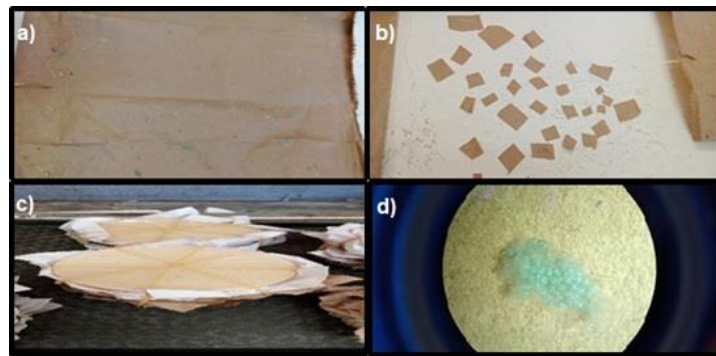


Figura. 9. Recolección de huevecillos y resguardo en caja Petri con alimento dentro de insectario para desarrollo de larvas. Enumeración: a) Huevecillos *S. frugiperda* ovopositados en la bolsa estraza, b) Recorte cuidadoso de huevecillos *S. frugiperda* para su resguardo, c) Resguardo de huevecillos *S. frugiperda* en cajas petri con dieta artificial, d) Observación microscópica 10x de huevecillos *S. frugiperda*.



Figura. 10. Pesaje de ingredientes y elaboración de dieta para alimentación y mantenimiento de colonia *S. frugiperda*. Enumeración a) Medición de masa de germen de trigo, b) Medición de masa de frijol, c) Medición de masa de granos de maíz, d) Medición de masa de agar bacteriológico, e) Medición de masa de levadura, f) Medición de masa de ácido sórbico, g) Medición de masa de ácido ascórbico, h) Mezcla de ingredientes sólidos con ADE caliente para mejorar función del agar, levadura, formaldehído y antibiótico, i) Dispersión de dieta elaborada en vasos individuales y cajas Petri para su solidificación y conservación.

3. Infección de larvas de *S. frugiperda* con los virus SfNPV-Ar y SfNPV-An1

3.1 Cepas virales

Se utilizaron las cepas de baculovirus denominada SfNPV-Ar (aislada en Argentina) brindadas por el Dr. Trevor Williams del INECOL, en Xalapa, Veracruz y la SfNPV-An1 (aislada en Coahuila, México) donada por el Dr. Gabriel Gallegos de la UAAN, en Saltillo, Coahuila. Durante el estudio las cepas se mantuvieron bajo condiciones de refrigeración a 4°C y -20°C hasta el momento de su uso.

3.2 Amplificación de cepas de los baculovirus SfNPV

En cajas de Petri con dieta artificial se inoculó 250 µl de extracto crudo de SfNPV, a una concentración de 1×10^6 cuerpos de oclusión COs/ml, y se colocaron de 8 a 10 larvas de *S. frugiperda* en 2 - 3° Instar (Figura. 11 y 12). Después de 5 días de incubación a temperatura ambiente se recuperaron las larvas muertas y se procesaron en un mortero de porcelana estéril con 1.5 ml de agua destilada estéril (ADE) y dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0.5%. El homogenizado se filtró en una tela malla de organza y se transfirió a un tubo de policarbonato para centrifugar a 15000 rpm y 4°C durante 15 min. La pastilla resultante se resuspendió en ADE y se repitió el proceso dos veces. Para realizar el conteo de COs se realizó una dilución 1:100 y se colocaron 5 µl en una cámara de Neubauer (Figura. 13 y 14).



Figura. 11. Inoculación de dieta con extracto crudo SfNPV-Ar y SfNPV-An1. Enumeración: a) Homogenización de cepas virales SfNPV – Ar y SfNPV – An1, b) Toma de muestra de cepas virales e inoculación en dieta artificial, c) Situación de barras de separación para amplificación de cepas virales en 10 larvas *S. frugiperda*



Figura. 12. Amplificación de cepa SfNPV – Ar y SfNPV – An1. Enumeración: a) Incubación de larvas *S. frugiperda* en dieta artificial inoculada con SfNPV-Ar y SfNPV-An1, b) Revisión de larvas *S. frugiperda* infectadas después del transcurso de 5 días de incubación

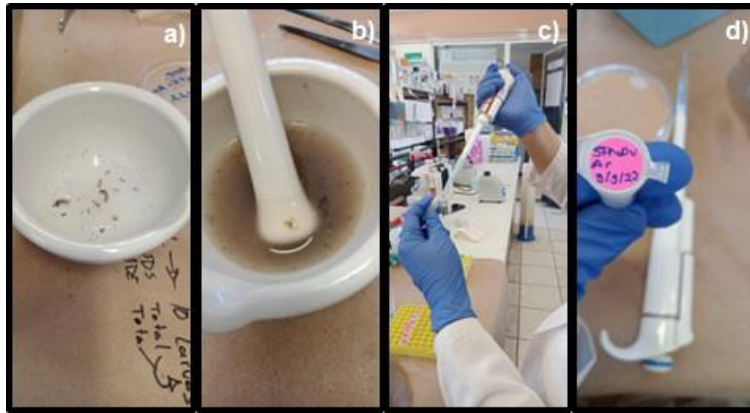


Figura. 13. Amplificación y extracción de cuerpos de oclusión SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en larvas de *S. frugiperda* en 3° Instar. Enumeración: a) Recolección de larvas *S. frugiperda* incubadas con cepas virales SfNPV – Ar y SfNPV – An1, b) Molienda de larvas *S. frugiperda* incubadas para extraer disolución de cepas virales, c) Toma de muestra de disolución de cepas virales SfNPV – Ar y SfNPV – An1, d) Resguardo y etiquetado de cepas virales SfNPV – Ar y SfNPV – An1

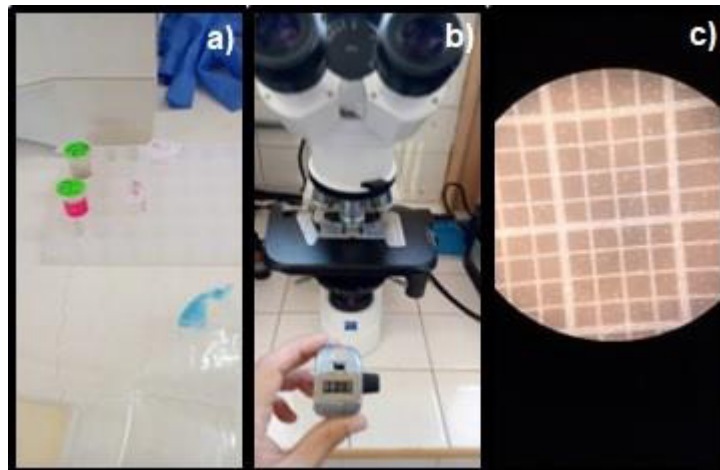


Figura. 14. Conteo de cuerpos de oclusión en cámara de Neubauer. Enumeración: a) Toma de muestra de disolución cepa viral, b) Preparación de microscopio con muestra en portaobjetos, c) Observación y conteo de COs a 40x.

Bajo la siguiente formula se calculó el total de COs/ml y cuerpos de oclusión totales de la disolución (COs/100 ml), presentes después de la amplificación del baculovirus:

$$Total\ de\ \frac{COs}{ml} = \left[\left(\frac{no.de\ COs}{5} \right) * \alpha \right] * Fd \rightarrow \left[\left(\frac{no.de\ COs}{5} \right) * 2.5x10^5 \right] * Fd$$

- No. COs – Numero de cuerpos de oclusión
- Fd – Factor de disolución
- α - $2.5x10^5$

4. Evaluación del comportamiento de los insectos infectados y no infectados de *S. frugiperda*

Se realizaron dos ensayos, uno durante un lapso de 120 h y otro durante 240 h. En ambos se compararon las larvas de *S. frugiperda* no infectadas e infectadas con baculovirus, para evaluar su tasa de mortalidad, daño foliar e hiperactividad antes de morir (Figura. 15). Para los ensayos, se utilizaron larvas del tercer estadio de *S. frugiperda*, las cuales se infectaron con baculovirus SfNPV-An1 & SfNPV-Ar, utilizando la técnica de alimentación por dieta infectada. Para todos los virus, se utilizó una concentración de $1x10^6$ CO/ml. Para ambos ensayos se infectaron de 30 a 40 larvas; 10 larvas por cada cepa viral. (Figura. 16). Las larvas infectadas de *S. frugiperda* en 3° Instar se colocaron individualmente en plantas de maíz (10 larvas por c/ maceta) y se evaluó su actividad cada 24 h para analizar tasa de mortalidad, distancias de migración, hiperactividad, alimentación, daño foliar, etc. (Figura. 17)



Figura. 15. Preparación de plantas de maíz para inocularlas con larvas de *S. frugiperda* infectadas con baculovirus



Figura. 16. Inoculación de larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas y sin infectar con baculovirus en plantas de maíz



Figura. 17. Evaluación de comportamiento (mortalidad, daño foliar y migración) cada 24 horas

XIV. RESULTADOS



1. Mantenimiento de la colonia de *S. frugiperda*

En la Tabla 2, se muestra el sistema de crianza que tuvo la colonia de *S. frugiperda*. Dentro de los resultados obtenidos se muestran gran cantidad de huevecillos (600 huevecillos cada semana) bajo un buen mantenimiento y cuidado al momento de su recolección; pasando una semana se llegaron a encontrar aproximadamente 500 larvas neonatas con buena alimentación bajo su dieta artificial logrando un buen desarrollo a 2° Instar. Continuando su ciclo, al empezar a crecer y seguir desarrollándose a 6° Instar fueron resguardadas cuidadosamente en vasos con dieta individual para un mejor manejo de su desarrollo y prevención de canibalismo entre sí mismas, logrando obtener aproximadamente 500 larvas a punto de pupar bajo buenos signos vitales o comportamientos de esconderse debajo de su dieta sólida.

Tras el transcurso de 3 semanas se realizaba una revisión sobre su estado vital y proceso de pupar, donde se encontraban buenos resultados obteniendo aproximadamente 450 pupas (10% larvas sin poder pupar), logrando pasarlas a una bolsa estraza inocua para su futuro desarrollo y alimentación. Siguiendo su última fase de vida, pasado 1 mes se lograban obtener 400 mariposas (10% pupas sin poder emerger) bajo un buen desarrollo y reproducción gracias a su alimentación adecuada, bolsas de estraza higiénicas hasta casos de mejora mediante un cruce de mariposas de diferentes bolsas de estraza logrando obtener de nuevo buena cantidad de huevecillos.

Tabla 2. Mantenimiento del sistema de crianza de la colonia *S. frugiperda*

CICLO	LAPSO DE RECOLECCIÓN	EVIDENCIA
HUEVOS	Cada semana aproximadamente 600 huevecillos	
NEONATAS	Cada semana aproximadamente 500 larvas	
1 - 2° ESTADÍO		
3 - 6° ESTADÍO	Cada 2 semanas aproximadamente 500 larvas	

<p>PUPAS</p>	<p>Cada 2 – 3 semanas aproximadamente 450 pupas</p>	
<p>ADULTOS</p>	<p>Cada 3 - 4 semanas aproximadamente 400 mariposas</p>	

2. Amplificación de cepas de baculovirus SfNPV-An1 & SfNPV-Ar

A continuación, se muestran los resultados finales después de amplificar los baculovirus SfNPV–An1 y SfNPV–Ar en larvas de *S. frugiperda* en 3° Instar, representado por el número de cuerpos de oclusión obtenidos mediante la amplificación. Este experimento mostró resultados donde se pudo observar un buen sistema de infección a las larvas bajo la dieta infectada, logrando la amplificación de los COs en las larvas ocasionando cambios en su comportamiento hasta su posible muerte (aprox. 1 semana), resguardando una disolución 1:100 de COs obtenidos tras una molienda de las larvas infectadas.

2.1 Conteo de cuerpos de oclusión SfNPV-An1 y SfNPV-Ar

Bajo un análisis del conteo total de COs, se obtuvo un total de 1.19×10^9 COs/ml para la cepa SfNPV-An1 y 1.5×10^8 COs/ml para la cepa SfNPV-Ar, después de que las larvas fueron infectadas e incubadas por un periodo de 3 – 4 días, mediante una selección de aquellas larvas muertas, haciendo una disolución 1:100 de los COs bajo una molienda con 10 larvas muestra y poder observar la dilución bajo el microscopio, contando los COs/ml presentes en los 5 cuadrantes centrales de la cámara de Neubauer (Superiores derecha e izquierda, central, inferiores derecha e izquierdo) (Figura. 18)

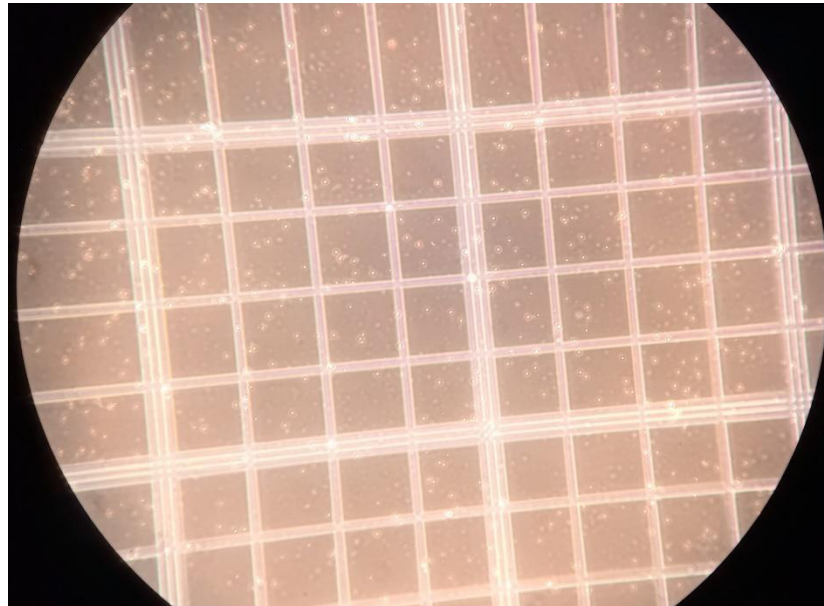


Figura. 18. Observación de conteo de cuerpos de oclusión en cámara de Neubauer

Analizando los resultados obtenidos de cuerpos de oclusión tras la amplificación, las larvas tuvieron una infección efectiva como se puede observar en los resultados de conteo de COs, ya que en la cepa SfNPV-An1 se obtuvieron

1.19x10⁸ COs/ml, con un total de 11.95x10¹⁰ COs en los 100 ml de producto final y en la cepa SfNPV-Ar se obtuvieron 1.5x10⁸ COs/ml , con un total de 1.5x10¹⁰ COs en los 100 ml de producto final (Tabla 3)

Tabla. 3. Conteo de los COs producidos en larvas de *S. frugiperda*

CEPA VIRAL	TOTAL COs CUADRANTES	COs/ml	COs/100 ml
SfNPV-An1	239	11.95x10 ⁸	11.95x10 ¹⁰
SfNPV-Ar	30	1.5x10 ⁸	1.5x10 ¹⁰

CO's: cuerpos de oclusión

3. Comportamiento de larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con las cepas SfNPV-An1 y SfNPV-Ar


Los análisis del comportamiento de las larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con las diferentes cepas de baculovirus SfNPV, se evaluaron cada 24 horas en el lapso de 24-120 h. Se realizó la evaluación por triplicado en 3 macetas que contenían plantas de maíz de 15 cm de altura (3 repeticiones, 30 larvas totales por tratamiento), a las cuales se les colocaron 10 larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con las cepas virales SfNPV-An1 y SfNPV-Ar. Se pudo observar a estos tiempos post - infección los siguientes comportamientos (mortalidad, alimentación y migración):




3.1 Evaluación de *S. frugiperda* sin infectar


En la tabla 4 se describe a diferentes tiempos post-infección que van desde las 24 hasta las 120 horas post-infección (h.p.i) el comportamiento de las larvas de *S. frugiperda* sin infectar con el baculovirus. Analizando los resultados obtenidos del

comportamiento de larvas sin infectar (Tabla 4), se observa que en el transcurso de las 120 h, los primeros 3 días la mortalidad de estas larvas fue del 30% con un daño foliar del 50% con una actividad de migración hasta los 10 cm, pero aun así a los 5 días, las larvas sin infectar tuvieron una mortalidad del 60%, ocasionado por su mismo canibalismo o casos de escapes de las larvas, con un daño foliar del 90% debido a su alimentación normal de las larvas con una migración promedio de 15 cm.

Tabla 4. Evaluación del comportamiento de larvas de *S. frugiperda* sin infectar en plantas de maíz.

TIEMPO (H)	COMPORTAMIENTO	EVIDENCIA DEL COMPORTAMIENTO
24	Presencia de 2 larvas alimentándose a 10 cm en un cogollo; 3 larvas más alimentándose en el cogollo a 5 cm; 2 larvas migrando a cogollo y mordiendo el tallo a 1 cm de distintas plantas; resto de las larvas posiblemente enterradas o escondidas mucho más adentro de los cogollos; plantas parcialmente dañadas por alambres y mordeduras en cogollos y transcurso de las hojas de gusano cogollero hasta posible caso de trips.	

<p>48</p>	<p>Presencia de 2 larvas alimentándose a 15 cm en mismo cogollo; 2 larvas más dispersas e inactivas en el suelo; 2 larvas más alimentándose de las hojas a 5 cm; 1 larva más migrando a 1 cm del tallo; resto de las larvas posiblemente enterradas y, o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas por alambres y mordeduras en cogollos y transcurso de las hojas de gusano cogollero hasta posible caso de trips.</p>	
<p>72</p>	<p>Presencia de 2 larvas alimentándose a 12 cm en cogollo; 3 larvas más dispersas e inactivas en el suelo; 2 larvas más alimentándose de las hojas a 10 cm; resto de las larvas posiblemente enterradas y, o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas por alambres y mordeduras en cogollos y transcurso de las hojas.</p>	
<p>96</p>	<p>Presencia de 2 larvas alimentándose a 10 cm en cogollo; 3 larvas más dispersas e inactivas en el suelo; resto de las larvas posiblemente enterradas y, o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas por alambres y mordeduras en cogollos y transcurso de las hojas.</p>	

<p style="text-align: center;">120</p>	<p>Presencia de 2 larvas alimentándose a 15 cm en cogollo; 4 larvas más dispersas e inactivas en el suelo; resto de las larvas posiblemente enterradas y, o escondidas en cogollos; plantas casi totalmente dañadas por mordeduras en cogollos, tallos y transcurso de las hojas.</p>	
---	---	---

3. 2 Evaluación de larvas de *S. frugiperda* infectadas con el baculovirus SfNPV-Ar

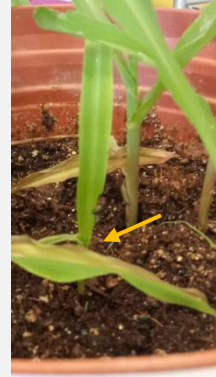
En la tabla 5 se describe a diferentes tiempos post-infección que van desde las 24 hasta las 120 h.p.i el comportamiento de las larvas de *S. frugiperda* infectadas con el baculovirus SfNPV-Ar. Analizando los resultados obtenidos del comportamiento de larvas infectadas SfNPV-Ar (Tabla 5), se observó que en el transcurso de las 120 h, los primeros 3 días la mortalidad de estas larvas fue del 60% con un daño foliar del 40%, con una actividad de migración hasta los 10 cm, pero aun así a los 5 días las larvas infectadas presentaron una mortalidad del 80% bajo síntomas de palidez, reposo en tierra, hasta larvas colgadas, las cuales ocasionaron un daño foliar del 90% debido a su hiperactividad, canibalismo y alimentación mayor de las larvas, con una migración promedio de 15 cm y con un continuo movimiento de enterrarse en los suelos, esconderse en los cogollos, hasta casos de larvas escapándose por partes finas de la malla de alambre.

Tabla 5. Evaluación del comportamiento de larvas de *S. frugiperda* infectadas con baculovirus SfNPV-Ar en plantas de maíz

TIEMPO POST – INFECCIÓN (H)	COMPORTAMIENTO	EVIDENCIA DEL COMPORTAMIENTO
24	<p>Rep. 1: una larva presente reposando en suelo; otras 3 larvas alimentándose en cogollo a 6 cm; resto de las larvas posiblemente enterradas o escondidas mucho más adentro de los cogollos; plantas parcialmente dañadas por mordeduras en cogollos tanto daño de alambre de malla.</p>	
	<p>Rep. 2: presencia de 2 larvas migrando a 10 cm plantas alimentándose del cogollo; 1 larva reposando en suelo; otras 2 larvas alimentándose en cogollo a 4 cm; además de 3 larvas más alimentándose de hojas a 8 cm; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas y cogollos, tanto daño en hojas por alambre de mallas.</p>	
	<p>Rep. 3: presencia de una larva colgando a 4 cm; 2 larvas más migrando entre los 10 cm planta; otras 2 larvas en cogollos a 10 cm alimentándose y excretando residuos dentro del cogollo; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de hojas y cogollos.</p>	

48

Rep. 1: presencia de 2 larvas alimentándose en cogollo a 10 cm; otras 2 larvas escondidas en cogollo a 5 cm; además de 2 larvas migrando a 1 cm en tallos; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas y mordeduras en cogollos, tanto daño por alambre de malla.



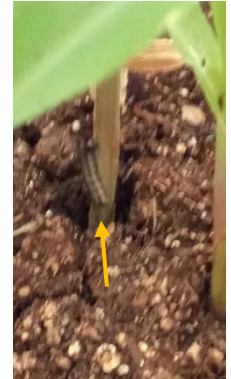
Rep. 2: presencia de 4 larvas migrando en tallos de 2 plantas a 2 cm; 3 larvas alimentándose de cogollo a 15 cm; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas y mordeduras en cogollos.



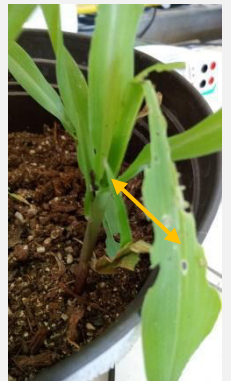
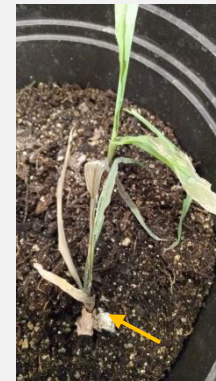
Rep. 3: presencia de 2 larvas escondidas en cogollo a 3 cm; otras 3 larvas reposando y tratando de enterrarse en suelo; además 3 larvas alimentándose en cogollo a 6 cm; resto de larvas posiblemente escondidas en cogollos y, o enterradas; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas y mordeduras en cogollos, tanto daño por alambre de malla.



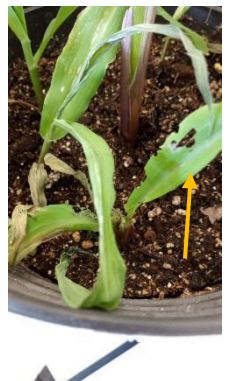
Rep. 1: presencia de 2 larvas alimentándose en tallo a 1 cm; además de 2 larvas migrando a 10 cm en cogollos; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y mordeduras en cogollos.



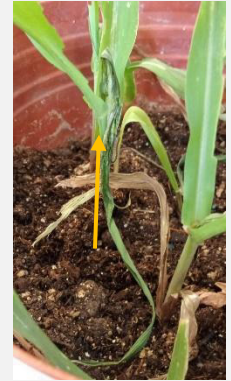
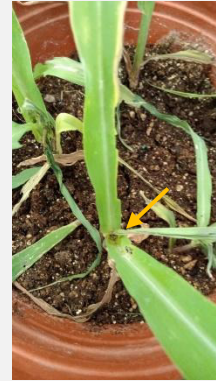
Rep. 2: presencia de 4 larvas alimentándose en cogollo y hojas a 15 cm; resto de larvas posiblemente escondidas en cogollos; plantas totalmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y mordeduras en cogollos



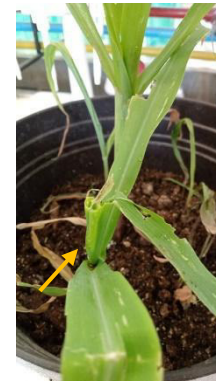
Rep. 3: presencia de 2 larvas en suelo y otras 2 alimentándose de hojas a 5 cm; además de 2 larvas en cogollos a 10 cm; resto de larvas posiblemente escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas y mordeduras en cogollos.



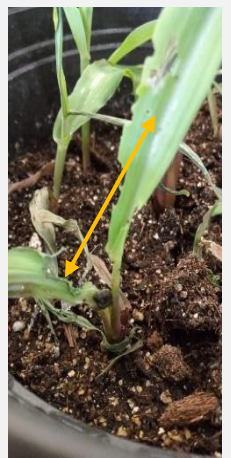
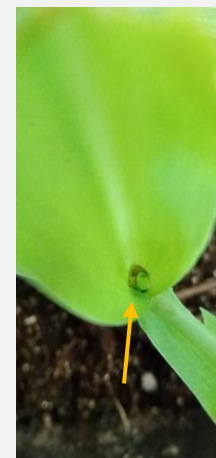
Rep. 1: presencia de 2 larvas migrando en tallo a 5 cm; otras 2 larvas alimentándose en cogollo a 10 cm; resto de las larvas posiblemente enterradas o escondidas mucho más adentro de los cogollos; plantas totalmente dañadas por mordeduras en cogollos, hojas y tallos.



Rep. 2: presencia de 4 larvas reposando y escondidas en el suelo; otra larva alimentándose de cogollo a 8 cm; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y cogollos.

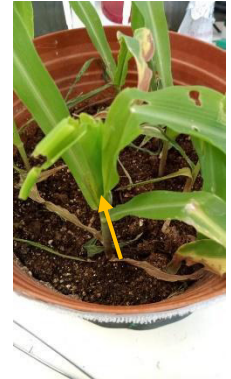


Rep. 3: presencia de una larva alimentándose en cogollo a 10 cm; otra larva muerta colgando a 5 cm hoja de planta; otras 2 larvas en cogollos a 15 cm alimentándose y excretando residuos dentro del cogollo; además de 1 larva migrando en tallo a 5 cm; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas y mordeduras en cogollos.

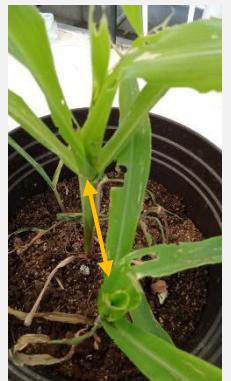


120

Rep. 1: presencia de 2 larvas alimentándose en cogollo a 10 cm; una larva muerta en el suelo; resto de las larvas posiblemente enterradas o escondidas mucho más adentro de los cogollos; plantas totalmente dañadas por mordeduras en cogollos, hojas y tallos. Larvas con coloración pálida o negra.



Rep. 2: presencia de 2 larvas alimentándose de cogollo a 15 cm; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas casi totalmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y cogollos. Larvas con coloración pálida o negra.



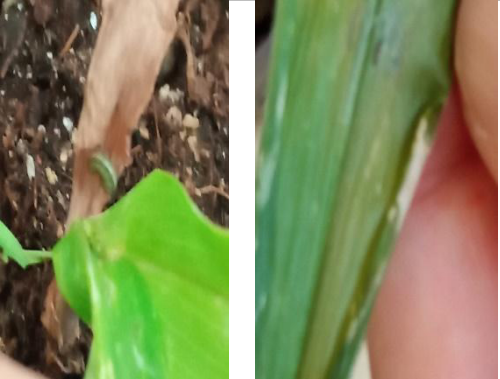
Rep. 3: presencia de una larva alimentándose en hoja tierna a 8 cm; otras 2 larvas en cogollos a 3 cm y 15 cm alimentándose; además de 1 larva reposando en suelo; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas y mordeduras en cogollos.



3.3 Evaluación de *S. frugiperda* infectadas con el baculovirus SfNPV-An1

En la tabla 6 se describe a diferentes tiempos posinfección que van desde las 24 hasta las 120 h.p.i el comportamiento de las larvas de *S. frugiperda* infectadas con el baculovirus SfNPV-An1. Analizando los resultados obtenidos del comportamiento de larvas de *S. frugiperda* infectadas con el baculovirus SfNPV-An1 (Tabla 6), se observó que en el transcurso de las 120 h, en los primeros 3 días, la mortalidad de estas larvas fue del 50%, provocando un daño foliar del 50%, con una actividad de migración hasta los 10 cm, pero aun así, a los 5 días, las larvas infectadas tuvieron una mortalidad del 85% bajo síntomas de palidez, tonalidad negra, reposo en suelo, canibalismo, ocasionando un daño foliar del 85% debido a su hiperactividad y alimentación mayor de las larvas con una migración promedio de 15 cm con un continuo movimiento de enterrarse en los suelos, esconderse en los cogollos hasta casos de larvas escapándose por partes finas de la malla de alambre.

Tabla 6. Evaluación del comportamiento de larvas de *S. frugiperda* infectadas con baculovirus SfNPV-An1 en plantas de maíz.

TIEMPO POST-INFECTACIÓN (H)	COMPORTAMIENTO	EVIDENCIAS DEL COMPORTAMIENTO
24	<p>Rep. 1: presencia de 2 larvas en cogollo a 15 cm; 2 larvas más presentes en cogollos a 3 cm; además de 3 larvas migrando a 1 cm en tallo y cogollos; resto de larvas posiblemente enterradas; daño parcialmente en parte superior de hojas y mordeduras en cogollos, tanto daño por alambres de mallas.</p>	

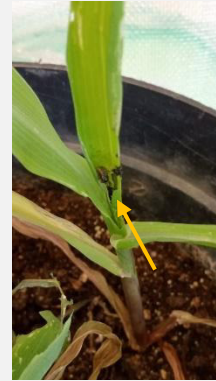
	<p>Rep. 2: presencia de 1 larva casi muerta migrando a 7 cm; 2 larvas alimentándose en cogollos a 7 cm; migración de 2 larvas a 3 cm; resto de larvas posiblemente enterradas y escondidas en cogollos; plantas dañadas parcialmente en partes superiores de hojas y mordeduras en cogollos, tanto daño por alambre de mallas.</p>	
	<p>Rep. 3: presencia de 6 larvas migrando y alimentándose a 6 y 10 cm en cogollos; resto de larvas posiblemente escondidas en cogollos; ciertos cogollos con residuos de popo; plantas dañadas parcialmente en partes superiores de hojas por mordeduras tanto daño por alambre de mallas.</p>	
<p>48</p>	<p>Rep. 1: presencia de 2 larvas reposando en suelo; 2 larvas más alimentándose a 1 cm de tallos; además de 3 larvas más en cogollos y hojas a 10 cm; actividad tranquila; plantas dañadas parcialmente en partes superiores de hojas y mordeduras en cogollos.</p>	

	<p>Rep. 2: presencia de 2 larvas migrando a 1 cm de tallo; 1 larva reposando en suelo; actividad tranquila; además de 2 larvas alimentándose en cogollos; resto de larvas posiblemente escondidas en cogollos; plantas dañadas casi totalmente en partes superiores de hojas y mordeduras en cogollos.</p>	
	<p>Rep. 3: presencia de 4 larvas migrando a 7 y 10 cm en cogollo; 3 larvas alimentándose en cogollos a 5 cm; actividad tranquila; resto de larvas posiblemente enterradas; plantas poco dañadas parcialmente por mordeduras en cogollos tanto daño de alambre de malla.</p>	
<p>72</p>	<p>Rep. 1: presencia de 3 larvas alimentándose en cogollo y hojas a 10 cm; además de 2 larvas migrando a 1 cm en tallos; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y mordeduras en cogollos, tanto daño por alambre de malla.</p>	

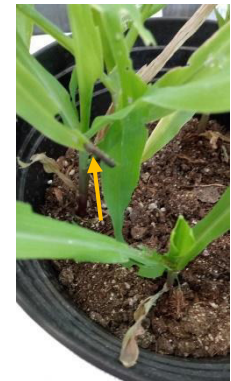
	<p>Rep. 2: presencia de 4 larvas alimentándose en tallo y hojas a 2 cm; además de 2 larvas en cogollo a 15 cm; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y mordeduras en cogollos</p>	
	<p>Rep. 3: presencia de 3 larvas alimentándose en cogollo a 10 cm; además de 2 larvas en cogollo a 15 cm; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; presencia de una larva muerta; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y mordeduras en cogollos</p>	
<p>96</p>	<p>Rep. 1: presencia de 2 larvas alimentándose en cogollo a 10 cm; otras 2 larvas en cogollo a 5 cm; además de 1 larva a 1 cm en tallo; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas casi totalmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y mordeduras en cogollos</p>	

	<p>Rep. 2: presencia de 2 larvas alimentándose en cogollo a 10 cm; otras 2 larvas en cogollo a 5 cm; además de 1 larva reposando en suelo; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas casi totalmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y mordeduras en cogollos</p>	
	<p>Rep. 3: presencia de 1 larva muerta; otras 2 larvas alimentándose en cogollo a 8 cm; además de 1 larva a 10 cm escondida en cogollo; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas casi totalmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y mordeduras en cogollos</p>	
<p>120</p>	<p>Rep. 1: presencia de 2 larvas migrando en hojas tiernas a 5 cm; otras 2 larvas alimentándose en cogollo y tallo a 7 cm; resto de las larvas posiblemente enterradas o escondidas mucho más adentro de los cogollos; plantas totalmente dañadas por mordeduras en cogollos, hojas y tallos. Larvas con coloración negra.</p>	

Rep. 2: presencia de 2 larvas alimentándose en tallos y hojas tiernas a 5 cm y 15 cm; además de 1 larva migrando en tallo; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas casi totalmente dañadas en partes superiores de las hojas, tallos y cogollos. Larvas con coloración negra



Rep. 3: presencia de 2 larvas alimentándose en cogollo a 8 cm; otras 2 larvas en hojas tiernas a 15 cm alimentándose y excretando residuos dentro del cogollo; resto de larvas posiblemente enterradas o escondidas en cogollos; plantas parcialmente dañadas en partes superiores de las hojas y mordeduras en cogollos.



4. Análisis gráfico – Evaluación de comportamiento

Analizando los resultados previos del comportamiento de las de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con las cepas virales SfNPV-An1 y SfNPV-Ar larvas (Tablas 4, 5 y 6), se hizo un análisis gráfico estadístico para estudiar y verificar el comportamiento de las larvas, su tasa de mortalidad, el daño que ocasionan a las plántulas de maíz y su actividad mediante su migración en las plántulas. Los resultados previos mostraron una tasa de mortalidad de larvas sin infectar de aproximadamente 30% debido al canibalismo; mientras que una mayor tasa de mortalidad de larvas infectadas aproximadamente 85% debido a la infección por baculovirus. En cuanto al daño foliar se obtuvo mismo daño (90%) por larvas sin infectar e infectadas con una variación de tiempo para su alimentación; tanto en evaluación de su hiperactividad migratoria se obtuvo casi mismas distancias (aprox. 15 cm) con variabilidad de tiempo en busca de más alimento en los cogollos. Hubo presencia de sintomatologías (palidez, hemolisis, diarrea) hasta casos de que las larvas infectadas se colgaran con sus propatas por el caso de su infección “copa de los árboles”

4.1 Evaluación de comportamiento de larvas sin infectar e infectadas con baculovirus en plántulas de maíz (120 h)

4.1.1 Evaluación de la mortalidad de larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus

A las 24 horas post-infección (h.p.i.) se pudo observar que las larvas testigo (sin infectar) seguían vivas el 100% de la población inicial, mientras que las larvas infectadas con las cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, presentaron un porcentaje de mortalidad de del 10% y 20% respectivamente (Tabla 7). Conforme se incrementó el tiempo h.p.i. se pudo observar que la mortalidad en las larvas en

la población testigo, se mantuvo en un 0% a las 48 h, y se incrementó en un 30, 40, y 60% a las 72, 96 y 120 h.p.i, respectivamente. Mientras que las larvas infectadas con la cepas del baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, presentaron porcentajes de mortalidad similares fluctuando del 30 al 80% de mortalidad a las 48, 96 y 120 h.p.i. Era de esperarse que las larvas infectadas con las cepas de baculovirus tuviesen mayores niveles de mortalidad que la población testigo, sin embargo, la mortalidad en la mismas fue demasiado elevada a partir de las 96 h.p.i. (40%) lo cual no era lo esperado en larvas sin infectar, cabe destacar que las larvas muertas en las macetas que contenían a las larvas infectadas, se observan colgadas de las propatas o degradadas sobre las hojas, mientras que las larvas en la población testigo, no se encontraban físicamente visibles, por lo cual se atribuyen estos elevados niveles de mortalidad en la población testigo, al escape de las larvas de las macetas donde se encontraban.

Tabla 7. Evaluación de mortalidad de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz

TIEMPO POST- INFECCIÓN (H)	NUMERO DE LARVAS (U)		
	TESTIGO	SfNPV- An1	SfNPV-Ar
24.00	10.00	8.0	9.0
48.00	10.00	7.0	7.0
72.00	7.00	5.0	4.0
96.00	6.00	4.0	4.0
120.00	4.00	3.0	2.00

H: Horas, U: Unidades de larvas vivas

En la Figura 19 se graficó el número de larvas de *S. frugiperda* vivas en plantas de maíz, infectadas con las dos cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, así como en larvas sin infectar (testigo). En el eje de las X se presenta el tiempo h.p.i. en horas y en el eje de las Y, el número de larvas vivas, lo cual reflejaba el porcentaje de mortalidad de estas. En los 3 tratamientos, las larvas sin infectar e infectadas con las cepas de ambos virus, se observó una pendiente negativa, lo cual significa que a medida que trascurría el tiempo h.p.i. el porcentaje de mortalidad se incrementaba. Esto fue más notorio en las larvas infectadas con ambas cepas de virus, ya que se observaron niveles de mortalidad de hasta el 70 y 80% a las 120 h.p.i. para las cepas SfNPV-AN1 y SfNPV-Ar, respectivamente, con un buen coeficiente de correlación del 0.9973 (Figura. 19), lo cual evidenció que los baculovirus si causan la muerte de los insectos infectados.

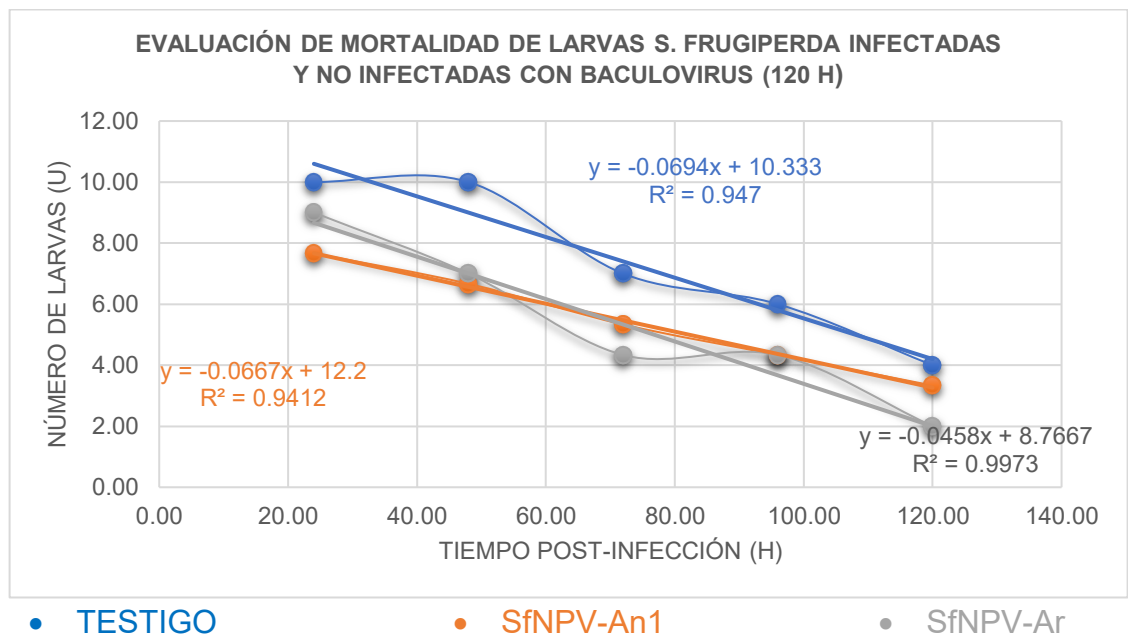


Figura. 19. Evaluación de mortalidad de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz

4.1.2 Evaluación del daño foliar de larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus

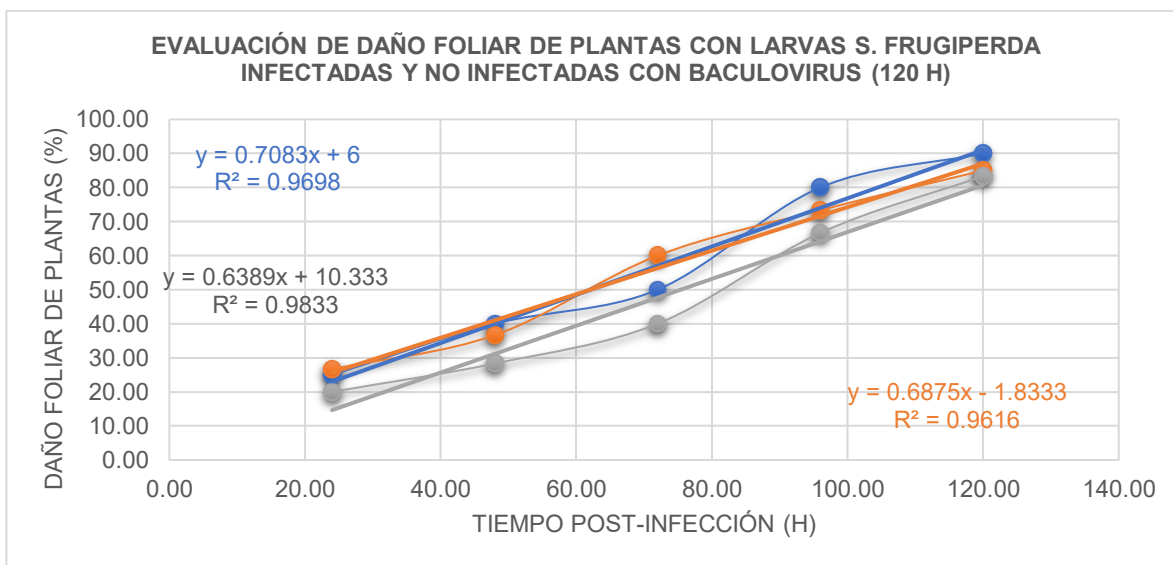
A las 24 horas p.i. se pudo observar que las larvas testigo (sin infectar) causaron un 25% de daño foliar en plantas de maíz, mientras que las larvas infectadas con las cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, presentaron un daño del 20% y 26.67% respectivamente (Tabla 8). Conforme se incrementó el tiempo h.p.i. se pudo observar que el daño causado a las larvas por las cepas de baculovirus, se vió reflejado en un menor daño foliar en las plantas del maíz, ya que el testigo presentó niveles de daño del 40, 50, 80 y 90% a las 48, 72, 96 y 120 horas p.i., mientras que la cepas del baculovirus SfNPV-Ar, fue la que causó una mayor protección del daño foliar a las plantas de maíz, ya que se observaron niveles del 28, 40, 66 y 83% a las mismos tiempos p.i. que el testigo. Para la cepa SfNPV-An1, se observaron algunas inconsistencias, ya que las larvas infectadas con este virus, presentaron niveles de daño foliar mayores al testigo a las 24 y 72 h.p.i, sin embargo, a las 48, 96 y 120 h.p.i. si protegieron a las plantas de maíz, causando un menor daño foliar, con niveles del 36.67, 73.33 y 85% en estos tiempos p.i.

Tabla 8. Evaluación de daño con larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz

TIEMPO POST- INFECCIÓN (H)	DAÑO FOLIAR DE PLANTAS (%)		
	TESTIGO	SfNPV- An1	SfNPV-Ar
24.00	25.00	26.67	20.00
48.00	40.00	36.67	28.33
72.00	50.00	60.00	40.00
96.00	80.00	73.33	66.67
120.00	90.00	85.00	83.33

H: Horas, %: Porcentaje de daño foliar

En la Figura 20 se graficó el daño foliar ocasionado por las diferentes larvas de *S. frugiperda*, en plantas de maíz, infectadas con las dos cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, así como el causado por larvas sin infectar (testigo). En el eje de las X se presenta el tiempo p.i. en horas y en el eje de las Y, el daño foliar causado en las plantas de maíz. En los 3 tratamientos, las larvas sin infectar e infectadas con las cepas de ambos virus, se observó una pendiente positiva, lo cual significa que a medida que transcurría el tiempo p.i. el daño foliar se incrementaba a niveles del 20% a las 24 h.p.i. y alcanzando niveles del 90% a las 120 h.p.i. con los 3 tratamientos. Sin embargo, como era de esperarse, se observó un mayor daño foliar ocasionado por las larvas sin infectar, lo cual fue un indicativo de que las larvas infectadas con ambos virus causaron una disminución en el daño ocasionado a la planta, con un buen coeficiente de correlación del 0.9616 y 0.9833 (Figura. 20), lo cual evidenció que los baculovirus si protegen del daño causado a las plantas de maíz por su insecto plaga.



- TESTIGO
- SfNPV-An1
- SfNPV-Ar

Figura. 20. Evaluación de daño foliar con larvas *S. frugiperda* infectadas y sin infectar con los baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz

4.1.3 Evaluación de migración de larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus

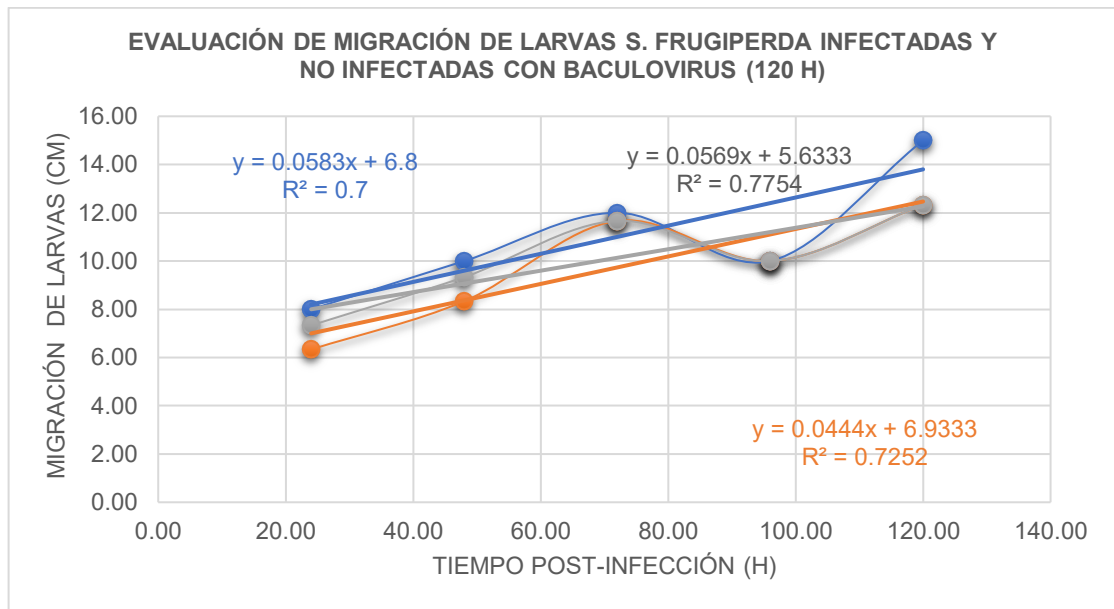
A las 24 horas post-infección (h.p.i.) se pudo observar que las larvas testigo (sin infectar) presentaron una mayor actividad reflejada en niveles de migración mayores al compararse con las larvas infectadas con baculovirus, ya que estas se desplazaron 8 cm (distancia promedio de 3 repeticiones), mientras que las larvas infectadas con las cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, presentaron un desplazamiento de 7.33 y 6.33 cm, respectivamente (Tabla 9). Conforme se incrementó el tiempo en h.p.i. se pudo observar que las distancias de migración de las larvas infectadas con las cepas de baculovirus y el testigo, ya no presentaron diferencias significativas en este parámetro, ya que a las 48, 72, 96 y 120 horas post-infección (h.p.i.) se observaron distancias de migración en el testigo 10,12, 10, y 15 cm, mientras que para las larvas infectadas con la cepa del baculovirus SfNPV-Ar, se observaron distancias de migración de 9.33, 11.67, 10 y 12.33 cm, a los mismos tiempos p.i. que el testigo. Para la cepa SfNPV-An1, se observaron a las 48, 72, 96 y 120 h.p.i. distancias de migración de 8.33, 11.67, 10, y 12.33, las cuales resultaron ser promedios de 3 repeticiones, pero con valores prácticamente idénticos a los de la cepa SfNPV-Ar y levemente diferentes las distancias de migración del testigo. La evaluación el parámetro de migración es muy importante ya que refleja el estado de salud de las larvas infectadas y la posibilidad de dispersión del virus en la naturaleza. Por su parte, las larvas infectadas con los baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar, presentaron menores migraciones en las primeras 48 h.p.i. y en las 120 h.p.i, al compararse con el testigo, tal vez este efecto fue causado por un aletargamiento por estar infectadas con virus, pero no ejemplifica una mayor hiperactividad que se esperaba por esta misma causa.

Tabla 9. Evaluación de migración de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en plántulas de maíz

TIEMPO POST- INFECCIÓN (H)	MIGRACIÓN DE LARVAS (CM)		
	TESTIGO	SfNPV- An1	SfNPV-Ar
24.00	8.00	6.33	7.33
48.00	10.00	8.33	9.33
72.00	12.00	11.67	11.67
96.00	10.00	10.00	10.00
120.00	15.00	12.33	12.33

H: Horas, CM: Distancias de migración en centímetros

En la Figura 21 se muestra la interpretación gráfica de la actividad de migración de las larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus, donde el eje X representa el tiempo post - infección y el eje Y la migración de larvas sobre las plantas de maíz, se puede observar lo comentado en la Tabla 8, haciendo hincapié que el nivel de correlación no fue bueno, ya que se obtuvo una R^2 de 0.7, esto significa que conforme pasaba el tiempo p.i. no se observó una mayor distancia de migración en las larvas infectadas con ambos baculovirus, y estos fueron muy similares a los valores de migración obtenidos en las larvas sin infectar.



- TESTIGO
- SfNPV-An1
- SfNPV-Ar

Figura. 21. Evaluación de migración de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en plántulas de maíz

4.2 Evaluación de comportamiento de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus en plántulas de maíz (240 h).

4.2.1 Evaluación de la mortalidad de larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus

A las 24 - 48 horas post-infección (h.p.i.) se pudo observar que las larvas testigo (sin infectar) seguían vivas el 100% de la población inicial, mientras que las larvas infectadas con las cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, ambas presentaron un porcentaje de mortalidad del 30% respectivamente (Tabla 10). Conforme se incrementó el tiempo h.p.i. se pudo observar que la mortalidad en las

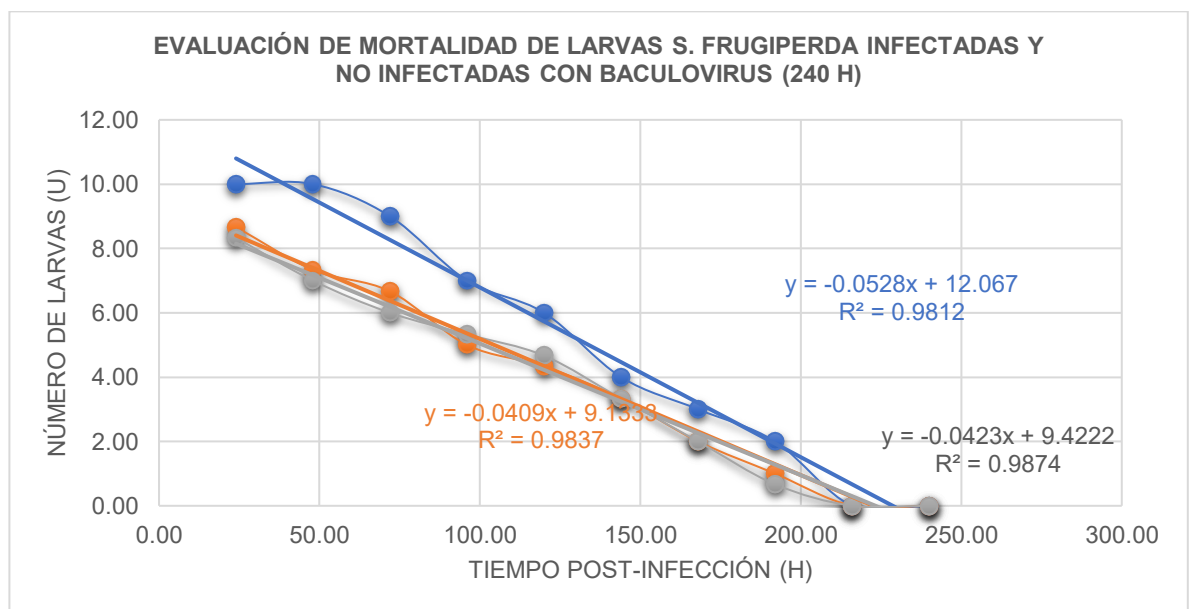
larvas en la población testigo, se mantuvo en un 0% a las 48 h, y se incrementó en un 10, 40, y 80% a las 72, 120 y 192 h.p.i, respectivamente. Mientras que las larvas infectadas con la cepas del baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, presentaron porcentajes de mortalidad similares fluctuando del 30 al 100% de mortalidad en el lapso de las 72 a 196 h.p.i. Afirmativamente, se obtiene que las larvas infectadas con las cepas de baculovirus tienen mayores niveles de mortalidad que la población testigo, sin embargo, la mortalidad en la mismas fue demasiado elevada a partir de las 144 h.p.i. (60%) lo cual no era lo esperado en larvas sin infectar; cabe destacar que las larvas muertas en las macetas que contenían a las larvas infectadas, se observan colgadas de las propatas o degradadas sobre las hojas, mientras que las larvas en la población testigo, no se encontraban físicamente visibles, por lo cual se atribuyen estos elevados niveles de mortalidad en la población testigo, al escape de las larvas de las macetas donde se encontraban (Tabla 10).

Tabla 10. Evaluación de mortalidad de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz

TIEMPO POST- INFECCIÓN (H)	NUMERO DE LARVAS (U)		
	TESTIGO	SfNPV- An1	SfNPV-Ar
24.00	10.00	9.00	8.00
48.00	10.00	7.00	7.00
72.00	9.00	7.00	6.00
96.00	7.00	5.00	5.00
120.00	6.00	4.00	5.00
144.00	4.00	3.00	3.00
168.00	3.00	2.00	2.00
192.00	2.00	1.00	1.00
216.00	0.00	0.00	0.00
240.00	0.00	0.00	0.00

H: Horas, U: Unidades de larvas vivas

En la Figura 22 se graficó el número de larvas de *S. frugiperda* vivas en plantas de maíz, infectadas con las dos cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, así como en larvas sin infectar (testigo). En el eje de las X se presenta el tiempo h.p.i. en horas y en el eje de las Y, el número de larvas vivas, lo cual reflejaba el porcentaje de mortalidad de estas. En los 3 tratamientos, las larvas sin infectar e infectadas con las cepas de ambos virus, se observó una pendiente negativa, lo cual significa que a medida que transcurría el tiempo h.p.i. el porcentaje de mortalidad se incrementaba. Esto fue más notorio en las larvas infectadas con ambas cepas de virus, ya que se observaron niveles de mortalidad de hasta el 100% a las 216 h.p.i. para las cepas SfNPV-AN1 y SfNPV-Ar, respectivamente, con un buen coeficiente de correlación del 0.9874 y 0.9837 (Figura 22), lo cual evidenció que los baculovirus si causan la muerte de los insectos infectados.



- TESTIGO
- SfNPV-An1
- SfNPV-Ar

Figura. 22. Evaluación de mortalidad de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz

4.2.2 Evaluación del daño foliar de larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus

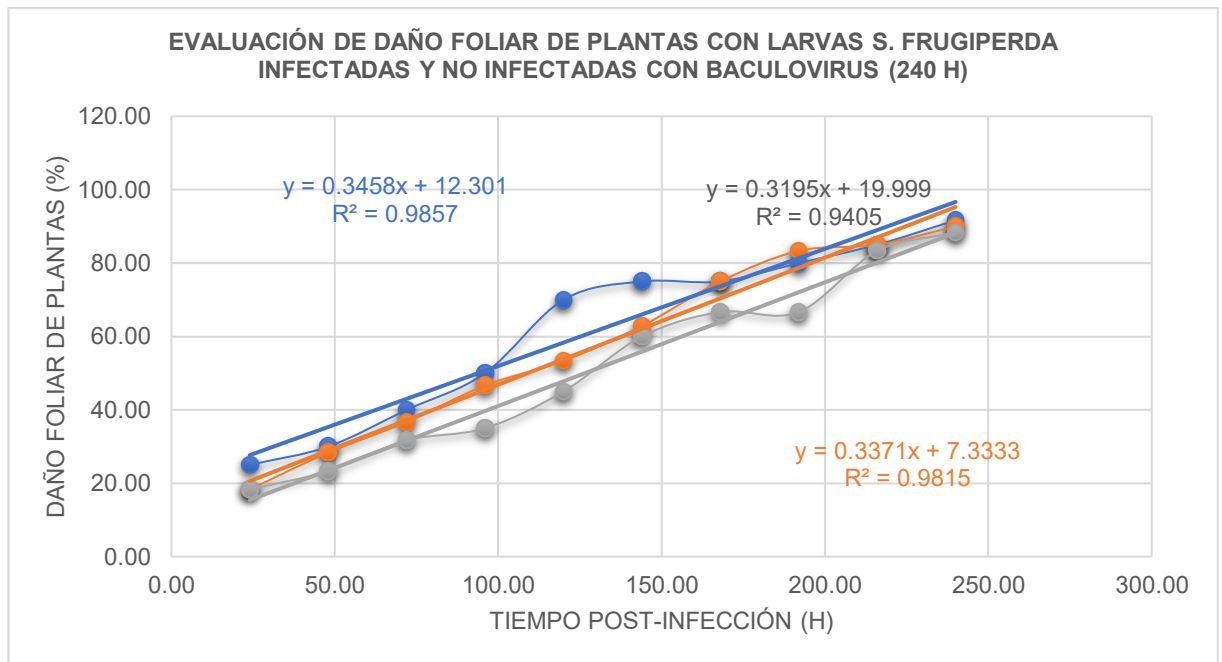
A las 24 - 48 horas p.i. se pudo observar que las larvas testigo (sin infectar) causaron un 30% de daño foliar en plantas de maíz, mientras que las larvas infectadas con las cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, ambas presentaron un daño del 23.33 y 28.33% respectivamente (Tabla 11). Conforme se incrementó el tiempo h.p.i. se pudo observar que el daño causado a las larvas por las cepas de baculovirus, se vió reflejado en un menor daño foliar en las plantas del maíz, ya que el testigo presentó niveles de daño del 40, 75, 80 y 90% a las 72, 168, 192 y 240 h.p.i., mientras que la cepas del baculovirus SfNPV-Ar, fue la que causó una mayor protección del daño foliar a las plantas de maíz, ya que se observaron niveles del 31.67, 66.67, 66.67 y 88.33% a las mismos tiempos p.i. que el testigo. Para la cepa SfNPV-An1, se observaron algunas inconsistencias, ya que las larvas infectadas con este virus, presentaron niveles de daño foliar mayores al testigo a las 168, 192 y 240 h.p.i., con niveles del 83.33, 90.00 y 91.67% en estas h.p.i. (Tabla 11).

Tabla 11. Evaluación de daño foliar con larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz

TIEMPO POST- INFECCIÓN (H)	DAÑO FOLIAR DE PLANTAS (%)		
	TESTIGO	SfNPV- An1	SfNPV-Ar
24.00	25.00	18.33	18.33
48.00	30.00	28.33	23.33
72.00	40.00	36.67	31.67
96.00	50.00	46.67	35.00
120.00	70.00	53.33	45.00
144.00	75.00	62.85	60.00
168.00	75.00	75.00	66.67
192.00	80.00	83.33	66.67
216.00	85.00	85.00	83.33
240.00	91.67	90.00	88.33

H: Horas, %: Porcentaje de daño foliar

En la Figura 23 se graficó el daño foliar ocasionado por las diferentes larvas de *S. frugiperda*, en plantas de maíz, infectadas con las dos cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, así como el causado por larvas sin infectar (testigo). En el eje de las X se presenta el tiempo p.i. en horas y en el eje de las Y, el daño foliar causado en las plantas de maíz. En los 3 tratamientos, las larvas sin infectar e infectadas con las cepas de ambos virus, se observó una pendiente positiva, lo cual significa que a medida que transcurría el tiempo p.i. el daño foliar se incrementaba a niveles del 30% a las 48 h.p.i. y alcanzando niveles del 90% a las 240 h.p.i. con los 3 tratamientos. Sin embargo, como era de esperarse, se observó un mayor daño foliar ocasionado por las larvas sin infectar, lo cual fue un indicativo de que las larvas infectadas con ambos virus causaron una disminución en el daño ocasionado a la planta, con un buen coeficiente de correlación del 0.9857 (Figura 23), lo cual evidenció que los baculovirus si protegen del daño causado a las plantas de maíz por su insecto plaga.



- TESTIGO
- SfNPV-An1
- SfNPV-Ar

Figura. 23. Evaluación de daño foliar con larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1 en plántulas de maíz

4.2.3 Evaluación de migración de larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus

A las 24 - 48 h.p.i. se pudo observar que las larvas testigo (sin infectar) presentaron una mayor actividad reflejada en niveles de migración mayores al compararse con las larvas infectadas con baculovirus, ya que estas se desplazaron 15 cm (distancia promedio de 3 repeticiones), mientras que las larvas infectadas con las cepas de baculovirus SfNPV-Ar y SfNPV-An1, ambas presentaron un desplazamiento de 9 cm, respectivamente (Tabla 12). Conforme se incrementó el tiempo en h.p.i. se pudo observar que las distancias de migración de las larvas infectadas con las cepas de baculovirus y el testigo, ya no presentaron diferencias significativas en este parámetro, ya que a las 72, 120, 168 y 216 h.p.i. se observaron

distancias de migración en el testigo 12, 15, 2, y 0 cm, mientras que para las larvas infectadas con la cepa del baculovirus SfNPV-Ar, se observaron distancias de migración de 10, 11, 3 y 0 cm, a los mismos tiempos p.i. que el testigo. Para la cepa SfNPV-An1, se observaron a las 72, 120, 168 y 216 h.p.i. distancias de migración de 13.33, 8.33, 2.67, y 0 cm, las cuales resultaron ser promedios de 3 repeticiones, pero con valores prácticamente idénticos a los de la cepa SfNPV-Ar y levemente diferentes las distancias de migración del testigo. La evaluación el parámetro de migración es muy importante ya que refleja el estado de salud de las larvas infectadas y la posibilidad de dispersión del virus en la naturaleza. Por su parte, las larvas infectadas con los baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar, presentaron menores migraciones en las primeras 48 h.p.i. y en las 120 h.p.i, al compararse con el testigo, tal vez este efecto fue causado por un aletargamiento por estar infectadas con virus, pero no ejemplifica una mayor hiperactividad que se esperaba por esta misma causa (Tabla 12).

Tabla 12. Evaluación de migración de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en plántulas de maíz

TIEMPO POST- INFECCIÓN (H)	MIGRACIÓN DE LARVAS (CM)		
	TESTIGO	SfNPV- An1	SfNPV-Ar
24.00	10.00	9.67	10.33
48.00	15.00	6.00	9.33
72.00	12.00	13.33	10.00
96.00	10.00	8.33	10.00
120.00	15.00	8.00	11.00
144.00	5.00	3.67	5.67
168.00	2.00	2.67	3.00
192.00	0.00	1.67	0.67
216.00	0.00	0.00	0.00
240.00	0.00	0.00	0.00

H: Horas, CM: Distancias de migración en centímetros

En la Figura 24 se muestra la interpretación gráfica de la actividad de migración de las larvas de *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus, donde el eje X representa el tiempo post - infección y el eje Y la migración de larvas sobre las plantas de maíz, se puede observar lo comentado en la Tabla 12, haciendo hincapié que el nivel de correlación no fue bueno, ya que se obtuvo una R de 0.7296 - 0.7348, esto significa que conforme pasaba el tiempo p.i. no se observó una mayor distancia de migración en las larvas infectadas con ambos baculovirus, y estos fueron muy similares a los valores de migración obtenidos en las larvas sin infectar.

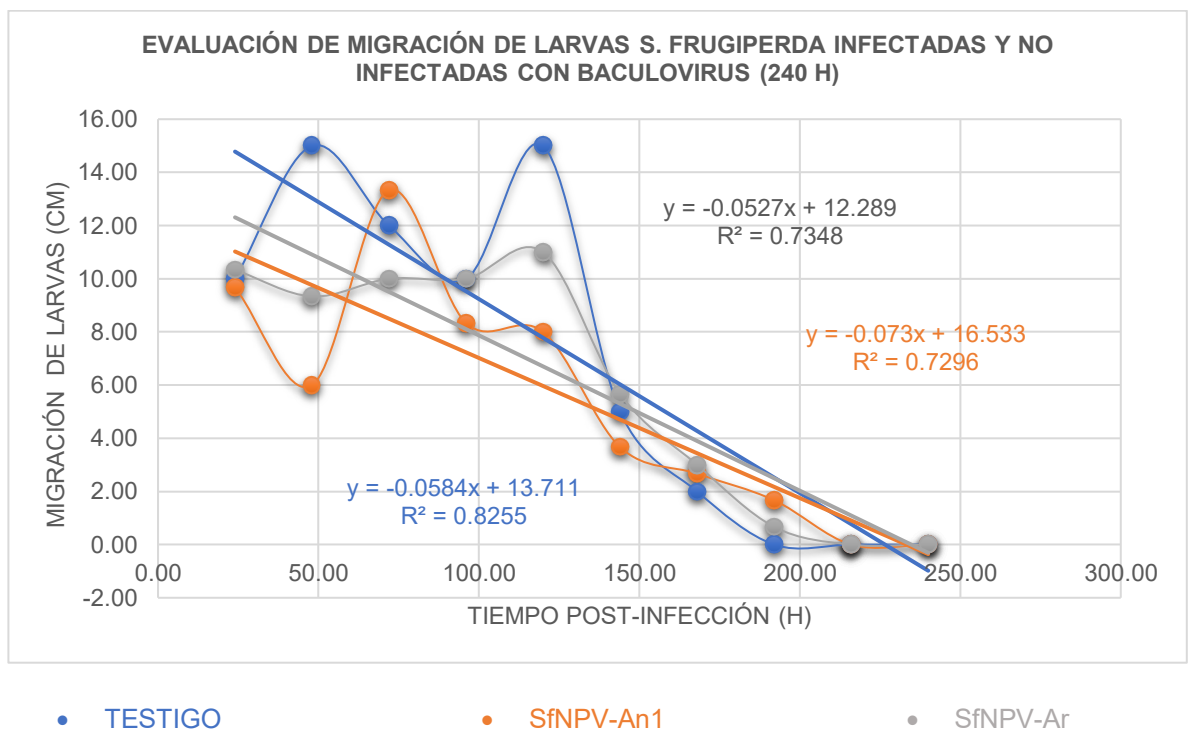


Figura. 24. Evaluación de migración de larvas *S. frugiperda* sin infectar e infectadas con baculovirus SfNPV-An1 y SfNPV-Ar en plántulas de maíz

XV. ANDEVA “EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO (MORTALIDAD, DAÑO FOLIAR & MIGRACIÓN)”

Tabla. 13. Tabla representativa de análisis de varianza del comportamiento de larvas sin infectar e infectadas con baculovirus en plántulas de maíz

MUESTRA	INTERPRETACIÓN
#1	TESTIGO
#2	SfNPV-An1
#3	SfNPV-Ar

ANDEVA - EVALUACIÓN DE COMPORTAMIENTO (120 H)			
MUESTRA	MORTALIDAD LARVAS (U)	DAÑO FOLIAR (%)	MIGRACIÓN DE LARVAS (CM)
#1	7.4 ± 2.41	58.0 ± 26.71	11.0 ± 2.45
#2	5.47 ± 1.76	57.0 ± 24.26	9.7 ± 3.21
#3	5.33 ± 2.55	47.3 ± 26.71	10.1 ± 2.64

ANDEVA - EVALUACIÓN DE COMPORTAMIENTO (240 H)			
MUESTRA	MORTALIDAD LARVAS (U)	DAÑO FOLIAR (%)	MIGRACIÓN DE LARVAS (CM)
#1	5.10 ± 5.47	62.00 ± 22.87	6.90 ± 5.99
#2	3.83 ± 3.01	59.33 ± 26.64	5.40 ± 4.99
#3	3.73 ± 3.91	57.77 ± 25.06	6.00 ± 5.31

Como se puede observar en la Tabla 13, todas las columnas tratan un análisis de prueba hedónica, donde se muestra diferencia de promedios y D.E. (unidades de larvas vivas), confirmando que la muestra más afectada es la #2, es decir, las larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas con SfNPV-An1 fueron las más afectadas en su comportamiento ocasionando más muerte (85%). En la prueba hedónica del daño foliar, donde se muestra algo de homogeneidad de promedios y D.E. (porcentaje de daño foliar en plantas de maíz), confirma que las plántulas más afectadas son aquellas que fueron atacadas por las larvas sin infectar, aunque analizando entre aquellas muestras infectadas, las larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas con SfNPV-An1 fueron las que más daño foliar (90%) provocaron a las plántulas en su comportamiento inicial hiperactivo dejando muestras finales de puro tallo. Mientras que en la prueba hedónica de la migración de larvas, se muestra cierta homogeneidad de promedios y D.E. (distancias de migración), confirmando que las plántulas más afectadas son aquellas que fueron atacadas por las larvas sin infectar, aunque analizando entre aquellas muestras infectadas, las larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas con SfNPV-Ar fueron las que más daño y suciedad tuvieron en el cogollo debido a su comportamiento inicial hiperactivo mostrando movimientos discontinuos de migración en el lapso de 92 – 120 h por su desesperación a tener mayor alimentación, alteración locomotora por efectos fototácticos o bajadas de los más alto de los cogollos por ya sentirse cansadas hasta con observaciones de síntomas de palidez, diarrea hasta hemolisis. También, podemos encontrar una breve descripción del ANDEVA de cada prueba (Anexo 1, 2 & 3)

❖ Debido que el valor-P < 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de mortalidad larvas entre un nivel de muestra y otro (larvas sin infectar, SfNPV-An1 y SfNPV-Ar), con un nivel del 95.0% de confianza. En otras palabras, el control biológico SfNPV – An1 causó más mortalidad de las larvas *S. frugiperda* en el lapso de 92 – 196 h bajo su propia función de agente

biocontrolador, mientras que las larvas sin infectar tienen menor tasa de mortalidad en el lapso de 144 – 192 h.

❖ Puesto que el valor- $P > 0.05$, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de daño foliar entre un nivel de muestra y otro (larvas testigo, SfNPV-An1 y SfNPV-Ar), con un nivel del 95.0% de confianza. En otras palabras, las larvas sin infectar y aquellas infectadas con las diferentes cepas de baculovirus causaron un daño foliar del 90% mediante diversos comportamientos hasta hiperactividades en el lapso de 24 – 192 h. Sin embargo, algunas diferencias entre las larvas sin infectar, es que éstas consumieron las plantas en todo el lapso de 24 - 192 h, mientras que las larvas infectadas con las diferentes cepas de baculovirus dieron ataques más evidentes en el lapso de 92 – 144 h por la hiperactividad ocasionada del agente biocontrolador causando mayor alimentación a las larvas para una futura sobrevivencia.

❖ Puesto que el valor- $P > 0.05$, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de migración de larvas entre un nivel de muestra y otro (larvas testigo, SfNPV-An1 y SfNPV-Ar), con un nivel del 95.0% de confianza. En otras palabras, las larvas sin infectar tuvieron una migración continua mediante diversos comportamientos naturales (15 cm) y aquellas infectadas mostraron hiperactividades causadas por el agente biocontrolador haciendo que estas principalmente migraran aleatoriamente a zonas altas de las plantas (15 cm) por alteraciones locomotoras de fototaxia positiva en estos lepidópteros nocturnos. Sin embargo, las larvas sin infectar en el lapso de 96 – 192 h migraron a zonas altas de los cogollos y hojas, mientras que las larvas infectadas presentaron movimientos aleatorios de migración para su alimentación de hojas y cogollos con texturas más suaves; al igual que en el lapso de 192 – 240 h las larvas infectadas mostraron su decadencia por mortalidad ocasionando que estas bajaran al suelo a poder sobrevivir alimentándose de restos, posibilidades de intentar pupar

en suelo a causa de bloque de muda por EGT hasta casos de encontrar larvas muertas sujetas con sus propatas en hojas primarias y cogollos.

XVI. DISCUSIÓN

En la siembra del maíz, se pudo observar que después de germinar e iniciar su formación de hojas verdaderas se presentó un elevado nivel de putrefacción y secado de las plántulas, debido a los altos niveles de intensidad solar y humedad, por lo cual se cambió la metodología mediante algunas mejoras y opiniones de Ruiz *et al.*, 2022 y Sánchez, 2018. Las plantas se regaron cada 3 día, donde el volumen de agua utilizado dependía del grado de sequía que éstas presentaron; las plantas se expusieron al sol directo diario de 9 - 11 am y resolana de 12 - 3 pm (evitar exposición a horas calientes) identificando si la tierra aún tenía humedad; se corroboró que las plantas no tuvieran presencia de otros insectos (moscas, gusanos, orugas, gallina ciega, etc.); las plantas se sometieron a un tratamiento con fertilizante *blaukorn 12-8-17* (N+, P+, K+) para que tuvieran una mejor nutrición y desarrollo. En contraste a otros artículos científicos de Flores, 2013, Izquierdo, 2012 y S.A., 1962 tanto observaciones y comentarios propios en parcelas de maíz de agricultores guanajuatenses Ruiz M. L. E., *Irapuato, Eagle 215 W*; Miguel Apolinar, *Cuchicuato, Antilope Asgrow*; Araujo Carlos, *La Caja, Eagle 215 W*; Leon Humberto, *El Nido, Antilope Asgrow*; Ramirez Roberto, *Arandas, Salamandra Asgrow*; Sanchez Clemente, *San Cristobal, Dekalb 4018*, se muestran resultados positivos y semejantes a como se desarrollaron las plántulas de maíz hasta la fase vegetativa necesaria (aprox. V5 – V7) para la evaluación de comportamiento de *S. frugiperda*, mostrando buena germinación de hojas a lo largo de todo su trayecto hasta baja presencia de otras plagas. Desafortunadamente, observaciones semejantes y negativas es que, al terminar la fase vegetativa de la plántula de maíz, comenzaron ataques de plagas comunes (trips principalmente, pulgón y chapulín posteriormente) causando pérdida previa de las plántulas o en el momento de ser

ocupadas para la evaluación del comportamiento de *S. frugiperda* ocasionando daños como hojas secas, tallo y raíces mordidas.

A principios del establecimiento del cuidado de la colonia, se tuvo la presencia de índices de 20% mortalidad de larvas y pupas no viables de *S. frugiperda*. Según recomendaciones de Alamilla *et al.*, 2013, Murúa *et al.*, 2013 y Ruiz *et al.*, 2022, la colonia se tuvo que someter a un mejor manejo de higiene y almacenamiento de la colonia de *S. frugiperda*; limpieza de manos y materiales a utilizar previo a tratar la colonia; asegurar medida de masa de cada ingrediente individualmente, tanto mezcla desde ingredientes menos finos a más finos (maíz, germen de trigo, frijol soya, levadura, agar bacteriológico, ácido sórbico, ácido ascórbico, formaldehído, antibiótico, agua destilada estéril) para mejor elaboración de dieta (licuado de granos de maíz, adición de agua e ingredientes poco a poco, no tener presencia de burbujas de aire al vaciar dieta en vasos y cajas Petri, cambio de dietas limpiando pinzas con solución alcalina y agua destilada, etc.); sobrevivencia de larvas (95%) en vasos con el alimento suficiente; hasta la sugerencia de sustitución de agentes gelificantes de la dieta para mejorar consistencia y conservación, mediante una preparación de carragenina calentando y disolviendo poco a poco hasta obtener buena cristalinidad.

Debido a que las primeras experimentaciones mostraron 30% sobrevivencia de larvas *S. frugiperda* infectadas SfNPV-An1 y SfNPV-Ar después de transcurso de 120 h, logrando dañar el 50% de las plántulas de acuerdo a una migración media de 10 cm diaria por su hiperactividad inicial, se sometieron a un mejor manejo de infección de dieta y amplificación mediante higiene y seguridad en zona de elaboración y mejora de equipo de protección para evitar escape de larvas infectadas de plantas maíz en macetas. Desafortunadamente, debido a la misma hiperactividad causada por la infección con baculovirus en las larvas *S. frugiperda*, se presentaron casos de que larvas sin infectar e infectadas lograron el mismo daño

foliar (85% – 90%) a las plántulas de maíz en diferentes lapsos de tiempo habiendo muestra de solo dejar presencia del tallo y cogollo mordido.

De acuerdo a los resultados de COs presentes en larvas infectadas después de su transcurso de 120 h en evaluación de comportamiento en plántulas de maíz, los resultados obtenidos fueron buenos debido a ser cantidades mayores a la dosis media tratada (1×10^6 COs/ml), lo cual indica buena transmisión del virus para infección de la larva y ocasionar una muerte segura en poco tiempo (lapso 5 - 7 días). Analizando las mejoras de estos resultados a 120 - 240 h mediante el ANDEVA, comparándolos con otros datos científicos de Arias Rivera, G. E. et. al. 2017. y Martínez A.B. *et al.*, 2012, se muestra una diferencia significativa entre la tasa de mortalidad evaluada en plántulas sembradas en macetas y parcelas, donde la variable significativa es el ambiente - tiempo – espacio. La mortalidad de *S. frugiperda* con el uso de los agentes biocontrolador inoculados en las larvas (SfNPV-Ar), muestra un porcentaje de mortalidad significativo a las 48 h en macetas de maíz, obteniendo una mortalidad del 80% hasta el transcurso de 1 semana bajo sintomatología de hiperactividad, fototaxia positiva, diarrea, palidez hasta hemolisis, hasta 20% casos de canibalismo; mientras que en experimentos realizados en campos agrícolas con cepas virales internacionales y dosis letales medias para esparsión del virus en la parcela del maíz (SfMNPV-Ar, SfMNPV-NIC, SfMNPV-Fx), tras el transcurso de 1 semana se logra 56% mortalidad, lo cual revela un dato significativo de que el agente biocontrolador es efectivo bajo un buen proceso de aplicación del bioinsecticida (liquido, polvo y granular) donde poco a poco el virus se esparce alrededor de la parcela otorgando más tiempo de desarrollo vegetativo de las plantas bajo cierto daño foliar (20%) debido a que hay más espacio para el desarrollo de la fase vegetativa (V3 – V10) y nutrición de las plantas por el ambiente, por lo cual, en ambos resultados se sugiere tener un mejor MIP.

En el presente trabajo se pudo observar que *S. frugiperda* es un insecto altamente hiperactivo y de difícil control en el ambiente, más aún, su comportamiento es complicado de evaluar, debido a su alta tasa de resistencia natural, aún hacia los productos biológicos tales como los baculovirus. Otro de los factores que inciden fuertemente en su evaluación a nivel de invernadero y campo, es su marcado nivel de canibalismo a la hora de interaccionar entre las poblaciones de los mismos insectos. Sin embargo, en este trabajo se pudo evaluar de manera parcial, que la hiperactividad de un insecto al estar infectado con baculovirus, propicia sus movimientos más acelerados, reflejados por los altos porcentajes de desaparición de las larvas infectadas con las cepas de virus, en las macetas que contenían plantas de maíz, aún y que estas se protegieron con una malla de mosquitero. Evidentemente, el hecho de que una larva de *S. frugiperda* no se pueda localizar en las macetas, y no se haya encontrado muerta dentro de la misma, indica que esta se dispersó en el ambiente. Este mecanismo de desarrollo de hiperactividad, ha sido reportado recientemente en otras especies de insectos, tales como el gusano de la seda *Bombyx mori* (Hikida *et al*, 2021). Al igual que en nuestro trabajo, estos autores reportaron que los baculovirus inducen una actividad locomotora incrementada en los insectos hospederos que infectan, fenómeno que incide directamente en una alta dispersión del virus. Por otro lado, Van Houte y colaboradores, 2014, Kokusho *et al.*, 2021; Rohrmann, 2019, también reportaron que larvas de *Spodoptera exigua* sufren la enfermedad ‘tree-top’ o “subir a los árboles” cuando estas son infectadas por baculovirus. Esta respuesta fototáctica positiva, también fue observada en nuestras larvas de *S. frugiperda* infectadas con las dos cepas de baculovirus utilizadas en este trabajo.

XVII. CONCLUSIÓN

El control biológico del gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* en México y en el mundo, es una prioridad importante, debido a que afecta al cultivo más emblemático de origen mexicano, el maíz. Los esfuerzos realizados por todos los países de Latinoamérica (incluido México), Asia y África, se han enfocado al uso de alternativas de control, distintas al control químico, debido a todos los fenómenos de resistencia que estos han causado en los propios insectos, aunados a los problemas de salud pública por el uso indiscriminado de estos productos. El control biológico de esta plaga mediante el uso de baculovirus, representa una alternativa importante y viable, debido a que estos virus no contaminan ni al ambiente ni al hombre, aunado a su alta especificidad contra la plaga problema que se desea controlar. *S. frugiperda* ha resultado ser una plaga de difícil control y la optimización de nuevos bioinsecticidas inocuos (como los baculovirus) que permitan establecer un control a nivel de campo en cultivos de maíz, permitirá obtener alternativas saludables y efectivas que den la producción de este grano. En este trabajo se pudo demostrar que la manipulación del comportamiento del insecto huésped infectado con baculovirus, indujo una respuesta fototáctica en el mismo, así como altos niveles de hiperactividad, los cuales podrían garantizarán en el futuro, la propia dispersión de los baculovirus en los cultivos de maíz, y de esta manera poder coadyuvar a que el virus esté disponible para nuevas poblaciones de insectos en el campo para reducir al mínimo la aplicación de insecticidas químicos y garantizar la producción inocua y segura de maíz.

XVIII. REFERENCIAS

Admin. 2021. Barrenador del maíz (*Prostephanus truncatus* Horn).
Agroproductores. 2022. <https://agroproductores.com/prostephanus-truncatus-horn/>

Alamilla G. M. P., Buenrostro R. J. F, Mandujano B. A., Paredes M. R. 2013. Guía para la producción de maíz, frijol, trigo y sorgo en Guanajuato. INIFAP. 2: 54-79.

Arias Rivera, G. E., Medina Navarro, B. E., & Del Rincón Castro, M. C. 2017. Evaluación en campo de dos cepas de baculovirus con actividad hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae). *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 3(2), 2220–2224

ASERCA. 2018. ¿Conoces el origen del maíz?. GOB. 2022

Atencio V. R., Regis G. F., Guerra A., Nikpay A., Collantes G. R. D. 2021. Manejo integrado de los barrenadores *Diatraea* spp., *Elasmopalpus lignosellus* y *Telchin licus* en caña de azúcar. RSE. 2: 37-58

BAYER. 2022. Barrenador mayor de los granos. Ingeniería agrícola BAYER. Irapuato, Guanajuato. Enero - Febrero

BAYER. 2022. Etapas de crecimiento y sumas térmicas del maíz dulce. BAYER. 2022

Casuso M. 2017. *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae): una plaga que va cobrando importancia en los maíces del sudoeste chaqueño. INTA. Argentina. 1: 5-11

CESAVEG. 2008. Campaña de Manejo Fitosanitario de Maíz. Comité Estatal de Sanidad Vegetal Guanajuato. Guanajuato, México. 20 p.

CESAVEG. 2022. Manual de plagas y enfermedades del maíz. CESAVEG. 1: 1-20. Irapuato, Guanajuato

- CESAVEP. 2022. Campaña contra plagas del suelo. SAGARPA. 1: 1-18
- Chaires G. M. P., Coronado B. J. M., Serrano D. A. K. 2021. Ácaros asociados al maíz en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 12(8), 1497–1510
- Chong-bi Li. 2008. Cloning and Sequence Analysis of egt Gene of Spodoptera exigua Multicapsid Nucleopolyhedrovirus. *China Biotechnology*, 28: 39-45
- CONACYT. 2022. Maíz. CIBIOGEM. 2022. <https://conacyt.mx/cibiogem/maiz>
- Coronado P. R., Marquez D. A. 1981. Introducción a la entomología. Cd. México, México. 1° Edición. LIMUSA. 6: 137 - 220
- DEKALB. 2022. Bajío, maíces y sorgos - Experiencia para tu campo. Ingeniería agrícola DEKALB. Irapuato, Guanajuato. Febrero – Marzo.
- Devine G. J., Eza D., Oigusuku E., Furlong M. J. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *RPMESSP*. 1: 74-100
- DGSV-CNRF. 2020. Gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria-Grupo Especialista Fitosanitario. Ficha Técnica. Tecámac, México 22
- DGSV-CNRF. 2020. Gusanos de alambre. *Agriotes* spp. (Coleoptera: Elateridae). SaderSenasica. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha técnica. Tecámac, Estado de México, 16 p.
- Equihua M. A., Estrada V. E. G., Acuña S. J. A., Chaires G. P. 2013. Entomología mexicana – Parasitoides del gusano cogollero *S. frugiperda* (Lepidoptera Noctuidae) en el occidente de México. *México*. 12: 260-265, 621 - 625. Sociedad Mexicana de Entomología

Flores Aguilar M. G. 2022. Cultivo del maíz y su futuro: una visión desde la perspectiva campesina en comunidades rurales. Ingeniería agrícola. Irapuato, Guanajuato. Junio – Julio. UIC

Gelven L. 2019. Gusano trozador. Ecured. 2022. https://www.ecured.cu/Gusano_trozador

Gijón M. I. 2017. Estrategias de manejo para el control de araña roja (*Tetranychus urticae*). UABC. 1: 17-40

GOB. 2017. El maíz, base de la dieta mexicana desde época prehispánica. GOB. 2022. <https://www.gob.mx/firco/articulos/el-maiz-base-de-la-dieta-mexicana-desde-epoca-prehispanica#:~:text=El%20ma%C3%ADz%20grano%2C%20base%20de,hace%20unos%2010%20000%20a%C3%B1os.>

Gomez J. G. 2015. Clasificación del maíz criollo y su uso industrial. TECNM. 1: 30-60

Gómez V. J., Villamizar L. 2013. Baculovirus: hospederos y especificidad. Revista Colombiana de Biotecnología. Scielo. 1: 5-10

Hernández L., Williams T. 2021. El gusano cogollero del maíz, una plaga que viaja por el mundo. INECOL. 2022. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/1194-el-gusano-cogollero-del-maiz-una-plaga-que-viaja-por-el-mundo>

Hernández T. F., Orozco S. F. 2020. NANOFORMULATIONS OF BOTANICAL INSECTICIDES FOR THE CONTROL OF AGRICULTURAL PESTS. Revista de la Facultad de Ciencias. UNC. 1: 10-13

Hikida H, Katsuma S. 2021. High-resolution analysis of baculovirus-induced host manipulation in the domestic silkworm, *Bombyx mori*. Parasitology. 148(1):105-109. doi: 10.1017/S0031182020001924.

IAEA. 2022. Control biológico - control de plagas de insectos. IAEA. 2022. <https://www.iaea.org/es/temas/control-biologico>

INFOAGRO. 2019. Situación actual del gusano soldado en México. INFOAGRO. 2022. <https://mexico.infoagro.com/situacion-actual-del-gusano-soldado-en-mexico/>

INTAGRI. 2016. La Fenología del Maíz y su Relación con la Incidencia de Plagas. Serie Fitosanidad. Núm. 55. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 3 p.

INTAGRI. 2017. Manejo Integrado del Gusano Elotero (*Helicoverpa zea*). Serie Fitosanidad. Núm. 82. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 3 p

INTAGRI. 2018. Manejo de la Diabrotica en el cultivo de maíz. Serie Fitosanidad. Núm. 103. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 3 p

Isama A. A. 2019. Identificación de las principales plagas del cultivo del maíz suave (*Zea mays* L.) en la parroquia de Eugenio Espejo, Otavalo, Imbabura. Universidad Técnica de Bahayo. 1: 3-9

Izquierdo B. R. A. 2012. Evaluación del cultivo de maíz (*zea mays*), como complemento a la alimentación de bovinos de leche en épocas de escasez de alimento. Universidad Politécnica Salesiana. 3: 22-28, 42-43

Kokusho, R., Katsuma, S. 2021. *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ptp and egt genes are dispensable for triggering enhanced locomotory activity and climbing behavior in *Bombyx mandarina* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 183, 107604.

León V. J. A. 2015. Políticas de mejora del cultivo intensivo de maíz en el Estado de Sinaloa. *Dinámica de Sistemas*. 1: 2-5

Lezaun J. 2020. Barrenador del tallo "*Diatraea saccharalis*". *CropLife*. 2022. <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/barrenador-del-tallo-diatraea-saccharalis>

Mandujano B. A., Paredes M. R., Rodríguez M. F., Buenrostro R. J. F., Zamora T. C. 2014. Guía para la producción de maíz, frijol, trigo y sorgo en Guanajuato. INIFAP. 1: 20-47, 2: 54-77

Martínez A. B., Pineda S., Figueroa J. I., Chavarrieta J. M., Williams T., 2012. Los baculovirus como bioinsecticidas: evaluación de un nucleopoliedrovirus para el combate de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en México y Honduras. UMSNH. Ciencia Nicolaita. 56:35-47.

Mendoza E. M., Rodríguez P. G., Guevara A. L. P., Andrio E. E., Rangel L. J. A., Rivera R. J. G., Cervantes O. F. 2016. Bio-insecticides to control storage pests and their relationship to the physiological seed quality. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 7: 1599-1611.

Murillo R., Muñoz D., Caballero P. 2006. El potencial de los baculovirus como agentes de control biológico de plagas. Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal. 179: 51-63.

Nava P. E., García G. C., Camacho B. J. R., Vázquez M. E. L. 2016. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. RaXimhai. 3: 17-29

Niz J. M., Salvador R. Ferrelli M. L., Sciocco D. A., Romanowski V., Berretta M. F. 2020. Genetic variants in Argentinean isolates of *Spodoptera frugiperda* Multiple Nucleopolyhedrovirus. Virus Genes. 3: 401-405

Osorio S. V. 2022. Producción de materia verde de maíz (*Zea mays L.*) en diferente densidad de siembra. UPFIM. 2: 15-32

Pacheco H. M. L., Reséndiz M. J. F., Arriola P. V. J. 2019. Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. Revista Mexicana de Ciencias Forestales. 10: 4-32

PALENCIA. 2021. ¿Dónde se originó el maíz?. ODP. 2022

Panorama. 2018. Guía del manejo del maíz. Panorama. 2022. https://panorama-agro.com/?page_id=466

Peña Galván M.L., Rangel N. J. C. A, Del Rincón C. M. C. 2019. Análisis 2-D de la infección primaria de SfNPV-Ar en larvas de *Spodoptera frugiperda* a las 24 horas. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1: 189-190

Porte L. A. 2019. Síntomas y tratamiento del gusano del alambre en maíz. *Campo Galego*. <https://www.campogalego.es/sintomas-y-tratamiento-del-gusano-del-alambre-en-maiz/>

PROAIN. 2020. Ciclo biológico de gusano cogollero. PROAIN. 2022. <https://proain.com/blogs/notas-tecnicas/ciclo-biologico-del-gusano-cogollero#:~:text=El%20per%C3%ADodo%20larval%20dura%20un,alcanzar%20el%20%C3%BAltimo%20estadio%20larval.&text=La%20pupa%20es%20de%20color,y%2018%20mm%20de%20longitud.>

PROAIN. 2021. Principales plagas en el cultivo de maíz en México. PROAIN. 2022. <https://proain.com/blogs/notas-tecnicas/principales-plagas-en-el-cultivo-de-maiz-en-mexico>

Quinter R. L. M. 2015. Uso de baculovirus como alternativa de control biológico de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo del maíz: una revisión conceptual y de avances en su aplicación. *ECAPMA*

Rangel N. J. C., Vázquez R. M. F., Del Rincon C., M. C. 2014. Caracterización biológica y molecular de cepas exóticas de *Baculovirus SfNPV*, con actividad bioinsecticida hacia una población mexicana del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae). *Interciencia*. 5: 320-326.

Rohrmann G. F. 2019. *Baculovirus Molecular Biology* 3rd edition. National Center for Biotechnology Information. 3: 90-300

S.A. 1962. Colección Agrícola Semillas Anuario de Agricultura. CIA & Monitor. 1:19-268, 2: 271-284, 460-484.

SADER. 2021. La identificación temprana, primera barrera contra plagas y enfermedades del maíz. GOB. 2022. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-identificacion-temprana-primera-barrera-contra-plagas-y-enfermedades-del-maiz>

Salcedo A. 2014. Etapas del crecimiento del maíz. Prezi. 2022. <https://prezi.com/oetwtjdjksr/etapas-de-crecimiento-del-maiz/>

Salvador R. 2021. Utilización regional de baculovirus en el control de plagas hortícolas RIA. INTA. 3: 354-360

Sánchez G. P. 2018. Guía práctica de manejo de cultivo de maíz de acuerdo a su fenología. DEKALB. 1: 1-20

Sánchez O. I. 2014. Maíz I (Zea mays). Reduca (Biología). Serie Botánica. 2: 151-171

Seminis. 2020. Etapas de crecimiento y sumas térmicas (GDU) del maíz dulce. BAYER. 2022. <https://www.vegetables.bayer.com/mx/es-mx/recursos/agronomic-spotlights/etapas-de-crecimiento-y-sumas-termicas-gdu-del-maiz-dulce.html>

SENASICA. 2021. Gusano cogollero Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). SADER. 1: 3-25

Smith J. E. 2018. Mythimna unipuncta (Haworth) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). UFL. 2022. <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/IN702>

Statista. 2022. Volumen de producción de maíz 2009 - 2021. Statista. 2022. <https://es.statista.com/estadisticas/646803/volumen-produccion-maiz-mexico/#:~:text=M%C3%A9xico%3A%20volumen%20de%20producci%C3%B3n%20de%20ma%C3%ADz%202009%2D2021&text=En%202021%2C%20el%20volumen%20de,lo%20reportado%20el%20a%C3%B1o%20anterior.>

Toledo Ruben E. 2019. Etapas de desarrollo de cereales. FCA

Troiani H., Prina A., Muiño W., Tamame M., Beinticinco L. 2017. Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía. UNLPam. 6: 175-235.

Urango M. L. 2018. Componentes del maíz en la nutrición humana. UDEA. Fondo Editorial Biogénesis. 9: 5-19.

Van Houte Stineke, Van Oers Monique M., Han Yue, Vlak Just M. and Ros Vera I. D. 2014. Baculovirus infection triggers a positive phototactic response in caterpillars to induce 'tree-top' disease. *Biol. Lett.* 10. <http://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0680>

Varón A. F., Rodríguez C. J., Villalobos S. J. C., Parody R. J. 2022. Manual de enfermedades y plagas del maíz. Dubai: Advanta Seed International 75 p. ISBN: 978-958-53980-1-6

Villanueva B. J. S. 2018. Optimización de la fertilización del maíz forrajero (*Zea mays*) en Marcos Castellanos, Michoacán. IPN. 2022. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/27221>

Zepeda J. I. 2018. Manejo sustentable de plagas agrícolas en México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 1: 99-108

XIX. ANEXOS

19.1 ANDEVA

19.1.1 Evaluación de mortalidad de larvas sin infectar e infectadas en plantas de maíz (120 h)

ANOVA Simple - COMPORTAMIENTO LARVAS por MUESTRA

Variable dependiente: COMPORTAMIENTO LARVAS
Factor: MUESTRA

Número de observaciones: 45
Número de niveles: 3

Resumen Estadístico para COMPORTAMIENTO LARVAS

MUESTRA	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo
1	15	7.4	2.41424	32.6249%	4.0	10.0
2	15	5.46667	1.76743	32.331%	3.0	9.0
3	15	5.33333	2.55417	47.8908%	2.0	9.0
Total	45	6.06667	2.41586	39.8218%	2.0	10.0

MUESTRA	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	6.0	-0.193365	-1.2238
2	6.0	0.241902	-0.362287
3	7.0	0.399718	-0.971703
Total	8.0	0.524915	-1.27065

Tabla ANOVA para COMPORTAMIENTO LARVAS por MUESTRA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	40.1333	2	20.0667	3.89	0.0282
Intra grupos	216.667	42	5.15873		
Total (Corr.)	256.8	44			

La razón-F, que en este caso es igual a 3.88985, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de COMPORTAMIENTO LARVAS entre un nivel de MUESTRA y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para COMPORTAMIENTO LARVAS por MUESTRA

Método: 95.0 porcentaje LSD

MUESTRA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	15	5.33333	X
2	15	5.46667	X
1	15	7.4	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	1.93333	1.67371

1 - 3	*	2.06667	1.67371
2 - 3		0.133333	1.67371

* indica una diferencia significativa.

En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

19.1.2 Evaluación de mortalidad de larvas sin infectar e infectadas en plantas de maíz (240 h)

ANOVA Simple - COMPORTAMIENTO LARVAS por MUESTRA

Variable dependiente: COMPORTAMIENTO LARVAS

Factor: MUESTRA

Número de observaciones: 90

Número de niveles: 3

Resumen Estadístico para MIGRACIÓN LARVAS

MUESTRA	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo
1	30	6.9	5.99051	86.819%	0	15.0
2	30	5.4	4.99379	92.4776%	0	15.0
3	30	6.0	5.31102	88.5169%	0	17.0
Total	90	6.1	5.42166	88.8796%	0	17.0

MUESTRA	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	15.0	0.167258	-1.8685
2	15.0	1.38927	-0.955183
3	17.0	1.08528	-0.922826
Total	17.0	1.46226	-2.37302

Tabla ANOVA para MIGRACIÓN LARVAS por MUESTRA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	34.2	2	17.1	0.58	0.5642
Intra grupos	2581.9	87	29.677		
Total (Corr.)	2616.1	89			

La razón-F, que en este caso es igual a 0.576204, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia

estadísticamente significativa entre la media de MIGRACIÓN LARVAS entre un nivel de MUESTRA y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para MIGRACIÓN LARVAS por MUESTRA

Método: 95.0 porcentaje LSD

MUESTRA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	30	5.4	X
3	30	6.0	X
1	30	6.9	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		1.5	2.79574
1 - 3		0.9	2.79574
2 - 3		-0.6	2.79574

* indica una diferencia significativa.

En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

19.1.3 Evaluación de daño foliar en plantas de maíz por larvas sin infectar e infectadas (120 h)

ANOVA Simple - DAÑO FOLIAR por MUESTRA

Variable dependiente: DAÑO FOLIAR

Factor: MUESTRA

Número de observaciones: 45

Número de niveles: 3

Resumen Estadístico para DAÑO FOLIAR

MUESTRA	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo
1	15	58.0	26.7128	46.0565%	25.0	95.0
2	15	57.0	24.2605	42.5623%	25.0	95.0
3	15	47.3333	26.7172	56.4448%	15.0	95.0
Total	45	54.1111	25.7896	47.6604%	15.0	95.0

MUESTRA	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	70.0	0.390091	-1.23779
2	70.0	0.0610544	-1.16266
3	80.0	1.03337	-0.836864
Total	80.0	0.745513	-1.90398

Tabla ANOVA para DAÑO FOLIAR por MUESTRA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
--------	-------------------	----	----------------	---------	---------

Entre grupos	1041.11	2	520.556	0.77	0.4673
Intra grupos	28223.3	42	671.984		
Total (Corr.)	29264.4	44			

La razón-F, que en este caso es igual a 0.774655, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de DAÑO FOLIAR entre un nivel de MUESTRA y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para DAÑO FOLIAR por MUESTRA

Método: 95.0 porcentaje LSD

MUESTRA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	15	47.3333	X
2	15	57.0	X
1	15	58.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		1.0	19.1024
1 - 3		10.6667	19.1024
2 - 3		9.66667	19.1024

* indica una diferencia significativa.

En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

19.1.4 Evaluación de daño foliar en plantas de maíz por larvas sin infectar e infectadas (240 h)

ANOVA Simple - DAÑO FOLIAR por MUESTRA

Variable dependiente: DAÑO FOLIAR

Factor: MUESTRA

Número de observaciones: 90

Número de niveles: 3

Resumen Estadístico para DAÑO FOLIAR

MUESTRA	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo
1	30	62.0	22.879	36.9016%	25.0	90.0
2	30	59.3333	26.6437	44.9051%	15.0	100.0
3	30	52.0	25.2778	48.6111%	15.0	95.0
Total	90	57.7778	25.063	43.3782%	15.0	100.0

MUESTRA	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	65.0	-1.05419	-1.53034

2	85.0	-0.205585	-1.49399
3	80.0	0.565602	-1.44789
Total	85.0	-0.354948	-2.68403

Tabla ANOVA para DAÑO FOLIAR por MUESTRA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1608.89	2	804.444	1.29	0.2808
Intra grupos	54296.7	87	624.1		
Total (Corr.)	55905.6	89			

La razón-F, que en este caso es igual a 1.28897, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de DAÑO FOLIAR entre un nivel de MUESTRA y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para DAÑO FOLIAR por MUESTRA

Método: 95.0 porcentaje LSD

MUESTRA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	30	52.0	X
2	30	59.3333	X
1	30	62.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		2.66667	12.8207
1 - 3		10.0	12.8207
2 - 3		7.33333	12.8207

* indica una diferencia significativa.

En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

19.1.5 Evaluación de migración en plantas de maíz por larvas sin infectar e infectadas (120 h)

ANOVA Simple – MIGRACIÓN LARVAS por MUESTRA

Variable dependiente: MIGRACIÓN LARVAS

Factor: MUESTRA

Número de observaciones: 45

Número de niveles: 3

Resumen Estadístico para MIGRACIÓN LARVAS

MUESTRA	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo
1	15	11.0	2.44949	22.2681%	8.0	15.0
2	15	9.73333	3.21751	33.0566%	4.0	15.0
3	15	10.1333	2.64215	26.0738%	6.0	15.0
Total	45	10.2889	2.77671	26.9874%	4.0	15.0

MUESTRA	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	7.0	0.957606	-0.518359
2	11.0	0.697289	-0.0825159
3	9.0	0.924617	-0.209986
Total	11.0	0.948968	-0.491119

Tabla ANOVA para MIGRACIÓN LARVAS por MUESTRA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	12.5778	2	6.28889	0.81	0.4523
Intra grupos	326.667	42	7.77778		
Total (Corr.)	339.244	44			

La razón-F, que en este caso es igual a 0.808571, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de MIGRACIÓN LARVAS entre un nivel de MUESTRA y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para MIGRACIÓN LARVAS por MUESTRA

Método: 95.0 porcentaje LSD

MUESTRA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	15	9.73333	X
3	15	10.1333	X
1	15	11.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		1.26667	2.05512
1 - 3		0.866667	2.05512
2 - 3		-0.4	2.05512

* indica una diferencia significativa

En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

19.1.6 Evaluación de migración en plantas de maíz por larvas sin infectar e infectadas (240 h)

ANOVA Simple - MIGRACIÓN LARVAS por MUESTRA

Variable dependiente: MIGRACIÓN LARVAS

Factor: MUESTRA

Número de observaciones: 90

Número de niveles: 3

Resumen Estadístico para MIGRACIÓN LARVAS

MUESTRA	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación	Mínimo	Máximo
1	30	6.9	5.99051	86.819%	0	15.0
2	30	5.4	4.99379	92.4776%	0	15.0
3	30	6.0	5.31102	88.5169%	0	17.0
Total	90	6.1	5.42166	88.8796%	0	17.0

MUESTRA	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	15.0	0.167258	-1.8685
2	15.0	1.38927	-0.955183
3	17.0	1.08528	-0.922826
Total	17.0	1.46226	-2.37302

La razón-F, que en este caso es igual a 0.576204, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de MIGRACIÓN LARVAS entre un nivel de MUESTRA y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para MIGRACIÓN LARVAS por MUESTRA

Método: 95.0 porcentaje LSD

MUESTRA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	30	5.4	X
3	30	6.0	X
1	30	6.9	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		1.5	2.79574
1 - 3		0.9	2.79574
2 - 3		-0.6	2.79574

* indica una diferencia significativa.

En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.