



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS Y FORESTALES

Interacciones multitróficas
maíz-micorriza-insecto-baculovirus

TESIS

Que presenta:

Griselda García Gómez

Como requisito para obtener el grado de:

**Maestra en Producción Agropecuaria con Opción Terminal en el área
Agrícola**

DIRECTOR: DRA. ANA MABEL MARTINEZ CASTILLO

CO-DIRECTOR: DR. JOHN LARSEN

Morelia, Michoacán. Julio 2019

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales por haberme dado la oportunidad de realizar este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme otorgado el apoyo económico de la beca para poder realizar este proyecto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad por haberme prestado sus instalaciones para poder realizar este proyecto.

A mi directora, la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo, por la oportunidad que me dio de trabajar en este proyecto, la confianza que me dio, Por el trabajo dedicado a este proyecto, su tiempo, comprensión, paciencia, conocimiento y consejos tanto a nivel profesional como personal para poder realizar este proyecto.

A mi co-director Dr. John Larsen, por la oportunidad que me dio de poder trabajar con él, por su entusiasmo, consejos y paciencia conmigo, por su calidez humana y por sus sabias palabras que siempre compartió conmigo.

A mis sinodales:

Dr. José Isaac Figueroa de la Rosa, por enseñarme el mundo de los insectos, y por compartir conmigo todo ese conocimiento en la rama de la taxonomía.

Dr. Luis López Pérez, por toda esa paciencia y el tiempo que dedico al enseñarme estadística y fisiología vegetal, además de todas las aportaciones que hicieron posible la realización de esta tesis.

Al M.C.B. Raúl Omar Real Santillán, Por todo el tiempo que dedicaste a que se realizara este proyecto. También por ayudarme con los análisis estadísticos y por apoyarme con todo este proyecto en general, Por ayudarme en toda la logística del experimento, por estar al pendiente de que no me faltara nada, sobre todo por ser un gran maestro en mi vida.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Entomología Agrícola. Este proyecto no hubiera sido posible del apoyo de todos ustedes.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Agroecología: Paola, Danta, David, Andrea, Tsiri, Rebeca, Semiramis y Hexon, por todo su apoyo y compañerismo a lo largo del estudio.

A mis padres Sr. Efraín y Sra. Margarita.

A mis hermanos: Liliana, Claudia, Julio Cesar, Alejandra, Luis Ángel, Mónica Jazmín y Gerardo Alonso que, aunque a veces no estamos de acuerdo en muchas cosas, son parte de mi vida.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este logro a mi familia, especialmente padres al Sr. Efraín García Duran y la Sra. Margarita Gómez Hernández, quienes han estado conmigo apoyándome en mi formación y por impulsarme a seguir adelante cuando las cosas se ponían difíciles, fueron un pilar fundamental para no desistir.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
INDICE	iii
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE CUADROS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
CAPITULO I	1
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 El maíz	3
2.2 El gusano cogollero, <i>S. frugiperda</i>	3
2.2.1 Biología y hábitos	3
2.2.1.1 Huevecillo.....	4
2.2.1.2 Larva.	4
2.2.1.3 Pupa.	4
2.2.1.4. Adulto.	4
2.2.2 Daños causados por el gusano cogollero	5
2.2.3 Métodos de control contra <i>S. frugiperda</i>	6
2.2.3.1 Químico.	6
2.2.3.2 Cultural	6
2.2.3.3 Biológico.	6
2.3 Los baculovirus.....	7
2.3.1 Estructura y composición de los Baculovirus	7
2.3.2 Ciclo de infección del baculovirus.....	8

2.4 Los baculovirus y su interacción con el huésped y las plantas hospedadoras	9
2.5 Las micorrizas.....	10
2.5.1 Los HMA.....	11
HIPÓTESIS	13
OBJETIVOS DE LA TESIS.....	13
3. REFERENCIAS	14
CAPITULO II	23
EFFECTO DE LOS HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOBRE LA INTERACCIÓN PLANTA-INSECTO: INFLUENCIA DE LA NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS	23
RESUMEN	23
1. INTRODUCCIÓN.....	24
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
2.1 Diseño experimental	25
2.2 Materiales biológicos	25
2.3 Establecimiento de los experimentos.....	26
2.4 Efecto de los HMA sobre el desarrollo de las plantas de maíz, la herbivoría causada por <i>S. frugiperda</i> y la condición del insecto	28
2.5 Determinación del nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal	28
2.6 Tinción de las raíces y lectura de colonización de raíces con HMA	29
2.7 Análisis estadísticos.....	30

3. RESULTADOS	30
3.1 Efecto de los HMA sobre el desarrollo de las plantas de maíz, la herbivoría causada por larvas de <i>S. frugiperda</i> y la condición del insecto	30
3.2. Determinación de nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal.....	34
3.3. Porcentaje de micorrización	34
4. DISCUSIÓN	37
LITERATURA CITADA	41
CAPITULO III	48
EFFECTO DE LAS ASOCIACIONES MICORRÍZICAS Y LA NUTRICIÓN VEGETAL SOBRE LA INTERACCIÓN MAÍZ-INSECTO-BACULOVIRUS	48
RESUMEN	48
1. INTRODUCCIÓN	49
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	51
2.1. Ubicación del estudio y diseño experimental	51
2.2 Material biológico	51
2.3. Bioensayos para determinar las concentraciones letales del SfMNPV	52
2.4. Bioensayos para determinar el efecto de las micorrizas y la nutrición de las plantas sobre la interacción maíz-insecto-virus	53
2.5. Tinción de las raíces y lectura de colonización de raíces con HMA	54
2.6. Análisis estadísticos	55
3. RESULTADOS	55

3.1 Bioensayos para determinar la susceptibilidad de las larvas de segundo estadio de <i>S. frugiperda</i> al SfMNPV	55
3.2 Efecto de las micorrizas y la nutrición de las plantas sobre la interacción maíz-insecto-virus.....	56
3.3 Porcentaje de colonización de los HMA	60
4. DISCUSIÓN	60
5. LITERATURA CITADA	64
CAPITULO IV	74
6. DISCUSION GENERAL	74
LITERATURA CITADA	76
7. CONCLUSIONES GENERALES.....	78
8. PERSPECTIVAS.....	79

INDICE DE FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1. Ciclo de vida de <i>S. frugiperda</i> (imagen tomada de Huerta-Valdovinos, 2015)	5
Figura 2. Esquematación del ciclo de infección de un nucleopoliedrovirus (modificado de Motoko <i>et al.</i> , 2014).	9

CAPÍTULO II

Figura 1. Peso de raíz (A), peso aéreo (B) y biomasa (C), altura (D), longitud del tallo (F) y largo de hoja (G) ($\pm$ EE) de plantas de maíz tratadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y dos niveles de nitrógeno (50 y 100%). Barras encabezadas con la misma letra no son significativamente diferentes (ver estadísticos en el cuadro 2).	33
Figura 2. . Categoría de daño ($\pm$ EE) provocada por larvas de <i>S. frugiperda</i> (A) y peso de larvas del mismo insecto ($\pm$ EE) (B) establecidas sobre plantas de maíz tratadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y dos niveles de nitrógeno (50 y 100%). Barras encabezadas con la misma letra no son significativamente diferentes (ver estadísticos en el cuadro 2).	34
Figura 3. Contenido de nitrógeno foliar en relación a la concentración aplicada ($\pm$ EE) (A), contenido de nitrógeno foliar en relación a las plantas tratadas con HMA ($\pm$ EE) (B) y contenido de fósforo foliar en relación a las plantas tratadas HMA ($\pm$ EE) (C). Barras encabezadas con la misma letra no son significativamente diferentes (ver estadísticos en el cuadro 2).	35
Figura 4. Presencia de los HMA (esporas, micelio y vesículas) en plantas de maíz fertilizadas con nitrógeno (40X).	36

CAPÍTULO III

Figura 1. Porcentaje de mortalidad acumulada por SfMNPV-MER en larvas de segundo estadio. Las concentraciones se estimaron en OBs/ml.	56
Figura 2. Porcentaje de mortalidad larvaria ($\pm$ EE) de <i>S. frugiperda</i> después de alimentarse con hojas de maíz de plantas tratadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y dos niveles de nitrógeno (50 y 100%); influencia del	

nitrógeno (A) y de la concentración letal (B). Barras encabezadas con la misma letra no son significativamente diferentes (ver estadísticos en el cuadro 2).	58
Figura 3. Peso larval de larvas alimentadas con hoja al 50 y 100% de nitrógeno y de la concentración letal	59

INDICE DE CUADROS

CAPÍTULO II

Cuadro 1 Solución Mineral.....	27
Cuadro 2. Probabilidades resultantes de los análisis ANOVA con los factores hongos micorrizicos arbusculares (HMA) (suelo estéril y HMA, Nitrógeno (50 y 100) e secto (con y sin insecto)	32

CAPÍTULO III

Cuadro 1. Análisis de regresión a las 168 h en larvas de segundo estadio de <i>S. frugiperda</i> muertas por la exposición a los aislados de SfMNPV-MER.....	56
Cuadro. 2 Análisis ANOVA (metodologías 1 y 2) con los factores hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (suelo estéril y HMA), nitrógeno (50 y 100%) y concentración letal (CL) (0, 25 y 50).	57
Cuadro 3. Desarrollo de <i>S. frugiperda</i> después que las larvas de segundo estadio se inocularon con el virus.	59

RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y los baculovirus pueden mejorar la calidad de los cultivos agrícolas y controlar eficazmente algunos insectos plaga, respectivamente. El nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV) ha sido aislado de poblaciones naturales del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith; Lepidoptera: Noctuidae) y, debido a las características infectivas y de alta especificidad, este patógeno tiene un alto potencial para ser utilizado como un bioinsecticida. En el presente estudio se determinó, bajo la influencia de dos niveles de fertilización de nitrógeno, el efecto de un consorcio nativo de HMA sobre el desarrollo de las plantas de maíz (*Zea mays* L.), la herbivoría por *S. frugiperda* y la condición del insecto (ganancia de peso). Para ello, se diseñó un experimento multifactorial con tres factores y dos o tres niveles para cada uno: i) condición del suelo (suelo estéril y suelo con HMA), ii) fertilización con nitrógeno (50 y 100% del requerimiento de la planta) y iii) insecto (presencia y ausencia de *S. frugiperda*). Los tratamientos se mantuvieron bajo condiciones de invernadero. Las plantas tratadas con los HMA tuvieron una menor biomasa comparado con las no tratadas. El nivel de daño foliar y el peso del insecto dependieron del nivel del nitrógeno aplicado. Por otro lado, se evaluó el efecto de los HMA y la nutrición vegetal sobre la interacción maíz-insecto-SfMNPV. En este caso, se incluyeron los mismos dos primeros factores descritos en el experimento anterior. Además, la mortalidad larvaria por virus se incluyó como un tercer factor con tres niveles: ausencia del SfMNPV, concentración letal 25 ($CL_{25} = 4,065.8$ OBs [cuerpos de inclusión por sus siglas en inglés]/ml) y concentración letal 50 ($CL_{50} = 2,6575$ OBs/ml). El cultivo de las plantas de maíz y la aplicación del virus se realizaron en condiciones de invernadero y laboratorio, respectivamente. Las larvas que se alimentaron con plantas de maíz tratadas con los HMA + 100% de nitrógeno presentaron una mortalidad por virus significativamente menor comparado con las que se alimentaron con las plantas tratadas con los HMA + 50% y las no tratadas con HMA. En conclusión, el presente estudio demostró que la interacción maíz-HMA puede depender de la calidad nutricional de las plantas. Además, la presencia de los HMA y una alta tasa de nitrógeno en las plantas de maíz pueden causar una menor susceptibilidad de *S. frugiperda* hacia su baculovirus. Debido a que este estudio es pionero en la interacción planta-HMA-baculovirus, se sugiere continuar con estudios que evalúen esta interacción en condiciones de campo.

Palabras clave: Simbiosis, maíz, gusano cogollero, micorrizas, efectos letales.

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and baculoviruses can improve the quality of agricultural crops and effectively control some insect pests, respectively. The multiple nucleopolyhedrovirus of *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV) has been isolated from natural populations of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith; Lepidoptera: Noctuidae) and, due to the infective characteristics and high specificity, this pathogen has a high potential to be used as a bioinsecticide. In the present study, the effect of a native consortium of AMF on the development of maize plants (*Zea mays* L.), the herbivory by *S. frugiperda*, and the insect condition (weight gain) was determined, under the influence of two levels of nitrogen fertilization. For this, a multifactorial experiment was designed with three factors and two or three levels for each: i) soil condition (sterile soil and soil with AMF), ii) fertilization with nitrogen (50 and 100% from plant requirement), and iii) insect (presence and absence of *S. frugiperda*). The treatments were maintained under greenhouse conditions. Plants treated with AMF had a lower biomass compared to untreated plants. The level of foliar damage and the weight of the insect depended on nitrogen level. On the other hand, the effect of AMF and plant nutrition on the maize-insect-SfMNPV interaction was evaluated. In this case, the same first two factors that were described in the previous experiment were included. In addition, larval mortality from the viruses was included as a third factor with three levels: SfMNPV absence, lethal concentration 25 ($LC_{25} = 4,065.8$ OBs [occlusion bodies]/ml), and lethal concentration 50 ($LC_{50} = 2,6575$ OBs/ml). The crop of maize plants and the application of the virus were carried out in greenhouse and laboratory conditions, respectively. The larvae that fed on crop plants treated with AMF + 100% nitrogen showed significantly lower virus mortality than plants treated with the AMF + 50% and those not treated with AMF. In conclusion, the present study demonstrated that the maize-AMF interaction can depend of the nutritional quality of the plants. In addition, the presence of AMF and a high nitrogen level in maize plants can cause a lower susceptibility of *S. frugiperda* to its baculovirus. Because this study is a pioneer in the plant-AMF-baculoviruses interaction, more studies should be conducted to evaluate this interaction under field conditions.

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz, *Zea mays* L. (Gramineae), es uno de los granos con mayor demanda a nivel mundial (León *et al.*, 2012). En México es el cultivo más importante, ya que es utilizado en la dieta tanto humana como animal, además de utilizarse en la agroindustria. El 50% de la producción nacional de este grano se obtiene principalmente de ocho estados que incluyen: Sinaloa, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Chiapas, Guanajuato, Chihuahua y Veracruz (Salinas *et al.*, 2010; Vargas-Aguirre, 2016).

Diversos insectos de plagas y enfermedades atacan el maíz afectando sustancialmente su desarrollo y rendimiento (De León, 2008). Entre estas plagas destaca el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), el cual puede alimentarse de la planta desde las primeras etapas de desarrollo hasta la etapa de producción (Pacheco, 1993; Murúa *et al.*, 2006; Nexticapan *et al.*, 2009).

El uso de insecticidas químicos ha sido la forma más utilizada para el control del gusano cogollero (Bahena *et al.*, 2010). Sin embargo, el mal empleo de esos insecticidas ha ocasionado diversos problemas, tales como: la intoxicación de los productores, el desarrollo de resistencia y el daño al medio ambiente (Pérez, 2000; León *et al.*, 2012). Debido a lo anterior, se ha incrementado la necesidad de estudiar alternativas que permitan establecer métodos de control de plagas, que sean seguras para los agricultores y compatibles con la conservación del medio ambiente. Dentro de estas alternativas se pueden mencionar al uso de entomopatógenos como agentes potenciales de control biológico (Del Rincón *et al.*, 2006).

Los baculovirus son virus ocluidos que poseen ADN de doble cadena y que afectan a invertebrados, especialmente a insectos (Miller, 1997; Caballero *et al.*, 2001). Actualmente, estos patógenos son ampliamente usados a nivel mundial como bioinsecticidas, ya que son altamente patogénicos y tienen un rango limitado de hospederos para el control de diferentes plagas de importancia agrícola (Vanarsdall *et al.*, 2007). El nucleopoliedrovirus múltiple de *S. frugiperda* (SfMNPV) ha sido explorado para el control de su huésped homólogo (Escribano *et al.*, 1999; García-Banderas, 2016). Williams *et al.* (1999) y Armenta *et al.* (2003) señalaron, que la

aplicación del SfMNPV en etapas tempranas del cultivo del maíz, puede ocasionar niveles significativos de mortalidad en las larvas sin afectar a las poblaciones de enemigos naturales.

La amplia perspectiva de los baculovirus como agentes de control biológico se basa en su alta capacidad infectiva y en su especificidad (Moscardi, 1999; Szeweczyk, 2006; Williams, 2018). Sin embargo, la interacción de estos patógenos con los insectos puede ser modulada por las características morfológicas y fisiológicas de la planta huésped (Cory y Hoover, 2006), fenómeno que se ha observado en larvas de *S. frugiperda* cuya susceptibilidad al SfMNPV puede ser distinta al alimentarse de varias especies de gramíneas como maíz, sorgo, *Sorghum bicolor* L., soya, *Glycine max* L., y algunos pastos (Fuxa *et al.*, 2007). Unas de las principales características de las plantas, que pueden alterar la susceptibilidad de los insectos a la infección por baculovirus, incluyen composición química, pH y calidad alimenticia (Fuxa, 2004; Cory y Hoover, 2006).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos simbióticos que proporcionan una mayor ventaja fisiológica a las plantas (Hernández y Chailloux, 2004; Ferraris *et al.*, 2006; Celebi *et al.*, 2010). En el ámbito agrícola, éstos tienen un gran potencial, debido a que transfieren minerales inmóviles del suelo y ayudan a que las plantas incrementen el área de exploración del suelo, mejoren la absorción y transporte de nutrientes como: fósforo, nitrógeno, cobre, zinc y agua del suelo (Ferraris *et al.*, 2006; Barrer, 2009). Además, los HMA constituyen una asociación cuyo beneficio va más allá de los aspectos nutricionales, puesto que además generan beneficios ambientales, tales como: el mejorar las condiciones físico-químicas del suelo y la protección fitosanitaria de los cultivos (Finlay, 2008; Zorer *et al.*, 2010).

La presente investigación está enfocada en explorar el efecto de las asociaciones micorrízicas sobre la interacción maíz-insecto-nucleopoliedrovirus (SfMNPV), con un enfoque en la herbivoría, nutrición y niveles de infección provocada por el patógeno. Además, la visión de este estudio es práctica, puesto que una planta con mejores características es más productiva; así mismo, el uso de alternativas para el control de plagas es importante tanto para la sanidad del cultivo como para el medio ambiente y la salud humana y animal.

2. ANTECEDENTES

2.1 El maíz

El maíz es el segundo cultivo más importante a nivel mundial después del trigo, *Triticum* spp. (Paliwal, 2001). El centro de origen del maíz es Mesoamérica; sin embargo, por su gran productividad y adaptabilidad, éste se extendió rápidamente y hoy se desarrolla a nivel mundial (Miramontes, 2012). Este grano se cultiva en más de 140 millones de ha (FAO, 2010). En el ciclo comercial 2016-2017 alcanzó una producción de 1,025.6 millones de toneladas a nivel mundial (FIRA, 2016). Actualmente, el 75.5 % del consumo total mundial se concentra en ocho países: Estados Unidos, China, Europa, Brasil, México, India, Japón y Egipto (SAGARPA, 2013).

En México, se producen diversas variedades del maíz, aunque la más importante es el maíz blanco, puesto que es la base de una gran cantidad de productos de consumo humano y pecuario, además de su uso industrial (Aragón *et al.*, 2006). Durante el año agrícola 2015, la producción de maíz en México creció a una tasa anual de 6.1 % para totalizar en 24.69 millones de ton (FIRA, 2016).

Uno de los factores que pueden reducir sustancialmente la producción del maíz, es el ataque por diversas plagas, entre las que destacan: trips, *Frankliniella* sp. (Thysanoptera: Thripidae); gusano soldado, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae); gusano trozador, *Agrotis* sp.; la gallina ciega, *Phyllophaga* sp. (Coleoptera: Melolonthidae); el gusano elotero, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae); el barrenador del tallo, *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Pyralidae); el gusano alfilerillo, *Diabrotica virgifera zea* (Krysan y Smith) (Coleoptera: Chrysomelidae) y finalmente *S. frugiperda* que se considera una de las más importantes (García *et al.*, 2012).

2.2 El gusano cogollero, *S. frugiperda*

2.2.1 Biología y hábitos

Spodoptera frugiperda es una especie nativa del trópico americano, con una amplia distribución geográfica que va desde el norte de Argentina y Chile hasta el sur de los Estados Unidos (Cave, 2012), llegando al borde con Canadá (Nagoshi *et al.*, 2012). aunque hay reportes que llegó a África en el 2016 (Goergen, 2016). Las larvas de esta especie se alimentan de hojas y brotes tiernos, aunque especialmente prefiere las hojas centrales que se desarrollan en el periodo vegetativo y conforman el cogollo; de ahí su nombre. Presenta un amplio rango de plantas hospederas, entre las que destacan el maíz,

sorgo, *Sorghum Bicolor* L. (Poaceae), algodón *Gossypium barbadense* L. 1753 (Malvaceae), soya *Glycine max* L. (Fabaceae), papa *Solanum tuberosum* L. 1753 (Solanaceae), tomate *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae) y varias especies de pastos (Pacheco, 1993). El ciclo de vida del gusano cogollero oscila entre 19 y 48 días, dependiendo de la temperatura de las distintas fases (Murúa, 2006) (Figura. 1). Su ciclo es de aproximadamente 30 días en verano, 60 en primavera y 90 durante el invierno (SAGARPA, 2005). Las fases del ciclo de vida (Figura. 1), se describen a continuación:

2.2.1.1 Huevecillo. Son de forma semiesférica, con estrías radiales de color rosado que se torna gris a medida que se aproxima la eclosión y miden aproximadamente 0.5 mm de diámetro (Pacheco, 1993). Las hembras depositan sus huevos durante las primeras horas de la noche, tanto en el haz como el envés de las hojas, éstos son puestos en grupos o masas cubiertas por segregación del aparato bucal y escamas de su cuerpo, que sirven como protección contra algunos enemigos naturales o factores ambientales adversos. En las masas de huevecillos se pueden encontrar entre 100 a 200 individuos (Negrete y Morales, 2003). La etapa de huevo dura de tres a cinco días (Montes, 1999).

2.2.1.2 Larva. Las larvas al eclosionar, se alimentan del corión (cubierta protectora del huevecillo), pasan normalmente por seis estadios o mudas (Guzmán *et al.*, 2016). Tienen como característica, que el octavo segmento abdominal presenta los cuatro pináculos dorsales formando un cuadrilátero, la cabeza es reticulada mide de 2.6 a 2.8 mm de ancho y se observa una mancha amarillenta en forma de “Y” invertida (Sarmiento-Ruiz, 2018). La fase de larva dura de entre 26 a 32 días dependiendo de la temperatura (Montes, 1999).

2.2.1.3 Pupa. Las pupas son de tipo obtectas (los apéndices están unidos al cuerpo), miden 15 mm de largo y 5 mm en su parte más ancha, el tegumento es liso y el color por lo general es castaño oscuro. Los espiráculos, se ubican en el ápice de una proyección del tegumento que se recurva hacia el extremo posterior, se encuentran desde el segundo al séptimo segmento abdominal, el octavo es apenas visible, esta fase se desarrolla entre ocho y 10 días (Negrete y Morales, 2003).

2.2.1.4. Adulto. El adulto es de hábitos nocturnos y posee una gran capacidad para viajar, que incluso, puede llegar a ser de varios kilómetros, prefieren climas templados

con un alto porcentaje de humedad relativa en el ambiente. Los machos pueden diferenciarse de las hembras (dimorfismo sexual) por notables caracteres físicos: las hembras son de color gris oscuro y presentan un color más homogéneo, tienen alas posteriores de color blancuzco, mientras que los machos tienen figuras irregulares llamativas en las alas traseras que son blancas. Dependiendo de las condiciones del ambiente, el adulto vive de cinco a 10 días (Montes, 1999; Negrete y Morales, 2003; Guzmán *et al.*, 2016).

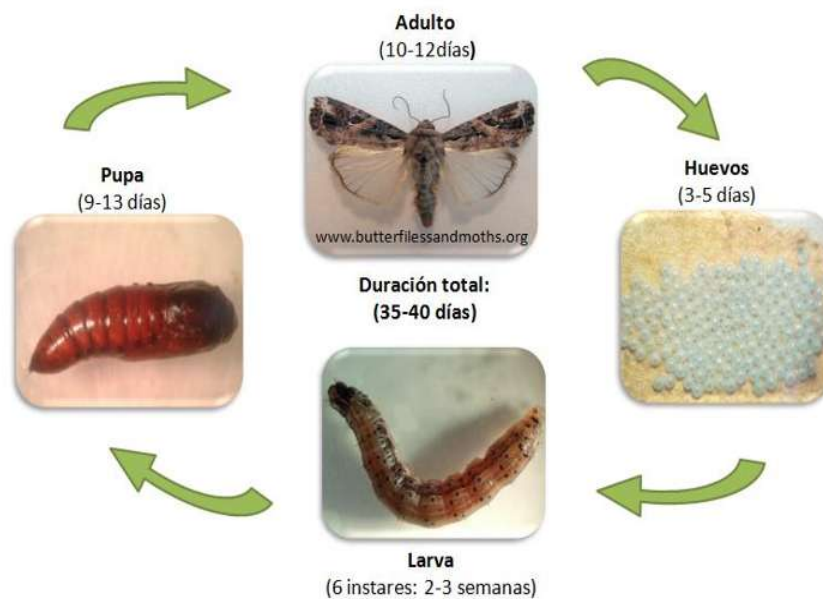


Figura 1. Ciclo de vida de *S. frugiperda* (imagen tomada de Huerta-Valdovinos, 2015).

2.2.2 Daños causados por el gusano cogollero

Las larvas que son activas tanto de día como de noche, se pueden comportar como trozadoras de la planta en etapas tempranas, lo cual ha provocado que el agricultor tenga que resembrar el cultivo de maíz y con ello incrementar los costos de producción (Willink *et al.*, 1993). En el año 2013, se reportaron al menos 18 entidades federativas afectadas por el gusano cogollero. Por ejemplo, en la región del Bajío, donde se registró un total de 846,450 ha dañadas con incidencias de ataque que oscilan del 13 al 60%. En diversas entidades de México, se han registrado pérdidas de producción causadas por este insecto que van de un 13 a 60%, y en ocasiones totales del cultivo, especialmente cuando este se encuentra en la etapa fenológica de floración (F. Tamayo, comunicación personal).

2.2.3 Métodos de control contra *S. frugiperda*

2.2.3.1 Químico. En México, el control de *S. frugiperda* se realiza mediante la aplicación de distintos insecticidas químicos, los cuáles requieren desde una hasta seis aplicaciones durante todo el ciclo (Bahena *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha observado que su control es difícil de lograr de forma eficiente mediante el uso de agroquímicos.

Esto se debe, a que las larvas a partir de tercer estadio se introducen al cogollo, donde se refugian y de esta forma se reduce la exposición al insecticida (Morillo y Notz, 2001). Aunado a ello, el uso de insecticidas químicos provoca graves problemas de contaminación al medio ambiente y a la salud de las personas y animales, resistencia de las plagas y la eliminación de enemigos naturales, entre otros (Pérez *et al.*, 2000; León *et al.*, 2012).

El uso generalizado de insecticidas en los cultivos elimina insectos que son benéficos para las plantas, lo que propicia que otras especies nocivas al cultivo se incrementen. Por ejemplo, numerosas investigaciones, tanto en México como en otros países han demostrado la presencia de parasitoides que regulan en forma natural las poblaciones del gusano cogollero, cuando ataca al cultivo de maíz (Bahena *et al.*, 2012).

2.2.3.2 Cultural. El control cultural consiste en la utilización de las prácticas agrícolas ordinarias, o algunas modificaciones de ellas, con el propósito de contribuir a prevenir los ataques de los insectos, hacer el ambiente menos favorable para su desarrollo, destruirlos, o disminuir sus daños (Cisneros, 1995; Rios-Velasco *et al.*, 2011). En este método de control, se incluyen labores de preparación de tierras; métodos de siembra; selección de variedades; ejecución de cultivos y aporques; manejo del agua y de los fertilizantes; oportunidades de cosecha; el manejo de genotipos resistentes y tolerantes y labores de preparación de la tierra en general (Cisneros, 1995).

2.2.3.3 Biológico. El uso de enemigos naturales, como alternativa al control químico, se define como: la manipulación deliberada por el hombre para reducir las poblaciones de insectos plaga a un umbral que no produzca daños económicamente importantes (Badii, 2000). El gusano cogollero es susceptible a más de 16 especies de patógenos, entre los más importantes se encuentran los hongos como *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Entomophthora aulicae* (Reich.), protozoarios; *Nosema laphygmae* Weiser, nematodos; *Hexameris* sp., bacterias como *Bacillus thuringiensis* (Berliner) y diversos virus (Garden y Fuxa, 1980).

2.3 Los baculovirus

La familia Baculoviridae incluye virus ocluidos que poseen ADN de doble cadena y que afectan invertebrados especialmente insectos (Caballero *et al.*, 2001). Se les conoce con este nombre, debido a la forma de bastón o báculo de sus viriones. De los virus patógenos de insectos, esta familia es la más numerosa (Caballero *et al.*, 2001). El material del genoma oscila entre 85 y 166 kb (Blissard y Roman, 1990). Después de un cambio en su clasificación en el año 2006, la familia baculoviridae constó de cuatro géneros: *Alphabaculovirus* (nucleopoliedrovirus específicos para lepidópteros), *Betabaculovirus* (granulovirus específicos para lepidópteros), *Gammabaculovirus* (nucleopoliedrovirus específicos para himenópteros fitófagos) y *Deltabaculovirus* (nucleopoliedrovirus específicos para dípteros) (Jehle *et al.*, 2006).

2.3.1 Estructura y composición de los Baculovirus

La nucleocápsida. Su función consiste en transportar la información genética del virus de una forma compactada a la célula huésped. Esta estructura consiste en una vaina o cápsida cilíndrica, tapada en ambos extremos (base y tapa). La estructura de la cápsida consiste en una serie de anillos apilados perpendicularmente (Federici, 1986).

Los viriones. Estos son los principales elementos infecciosos de los baculovirus y cuya función es la dispersión de la infección a todos los órganos y tejidos dentro del huésped (Caballero *et al.*, 2001). El virión se forma cuando la nucleocápsida adquiere una envuelta o membrana que tiene una estructura trilaminar típica, compuesta por una capa de lípidos entre dos capas de proteínas (Federici, 1986). Existen dos tipos de viriones, con funciones diferentes: los viriones brotantes (BVs) y los viriones derivados de cuerpos de oclusión (ODVs), ambas abreviaciones por sus siglas en inglés. Los BVs inician las infecciones secundarias y dispersan la infección a través de la hemolinfa por todo el hospedero, mientras que los ODVs son los elementos infecciosos responsables de la transmisión horizontal entre los individuos susceptibles de la población (Blissard y Rohrman, 1990).

Morfológicamente los ODVs se dividen en dos tipos: los que presentan una nucleocápsida por virión, a los cuales se les denomina denominados viriones simples y los que presentan un número variable de nucleocápsidas que se les denomina viriones múltiples (Granados y Williams, 1986). Por otro lado, los BV presentan una sola nucleocápsida y todos son morfológicamente iguales, éstos se originan a partir de

nucleocápsidas que una vez sintetizadas se mueven y abandonan las células del huésped. Además, son los responsables de diseminar la infección entre los órganos y los tejidos de la cavidad hemocélica del insecto (Blissard y Rohrmann, 1990).

Cuerpos de inclusión (OBs). En los OBs, se incluyen uno o varios viriones dependiendo del tipo de virus, lo que les permite preservar su capacidad infecciosa fuera del huésped, los OBs son insolubles en agua y resistentes a la putrefacción y desintegración por agentes químicos (Benz, 2001) y también a tratamientos físicos como la congelación, desecación o liofilización (Jacques, 1985).

2.3.2 Ciclo de infección del baculovirus

El ciclo de infección inicia cuando el insecto se alimenta de una planta previamente contaminada, y adquiere los cuerpos de inclusión (Figura 2). Una vez ingeridos y, debido a que el insecto huésped presenta un alto pH alcalino en los jugos intestinales, se disuelven los cuerpos de inclusión (Caballero *et al.*, 2001). Una vez liberados los viriones, estos deben atravesar la membrana peritrófica del mesenterón (intestino medio) (Wang y Granados, 2000; Haas-Stapleton *et al.*, 2005). Posteriormente, se unen por fusión a la membrana citoplasmática de las microvellosidades de las células del intestino medio. Una vez que la fusión se produjo, las nucleocápsidas entran por la membrana de la célula dirigiéndose al núcleo (Volkman, 2007). Ahí, dejan la nucleocápsida y liberan ADN a través de los poros nucleares. El núcleo aumenta de tamaño, los nucléolos se dirigen a la periferia nuclear y disminuye su tamaño, se activa la replicación del ADN y se genera una nueva progenie viral produciendo alteraciones fisiológicas en el insecto, provocando un mejor desarrollo de la infección (Caballero *et al.*, 2001). Una vez producida la primera progenie, da inicio la dispersión del virus a las células y tejidos como hemocitos, cuerpo graso, tráquea, entre otros (Caballero *et al.*, 2001; Passarelli, 2011). En el núcleo de estas células se lleva a cabo la replicación y transcripción viral ensamblándose nuevas nucleocápsidas. En una fase más avanzada del proceso infeccioso se acumulan OBs en la célula y finalmente tras la lisis celular se liberan al ambiente (Miller, 1997).

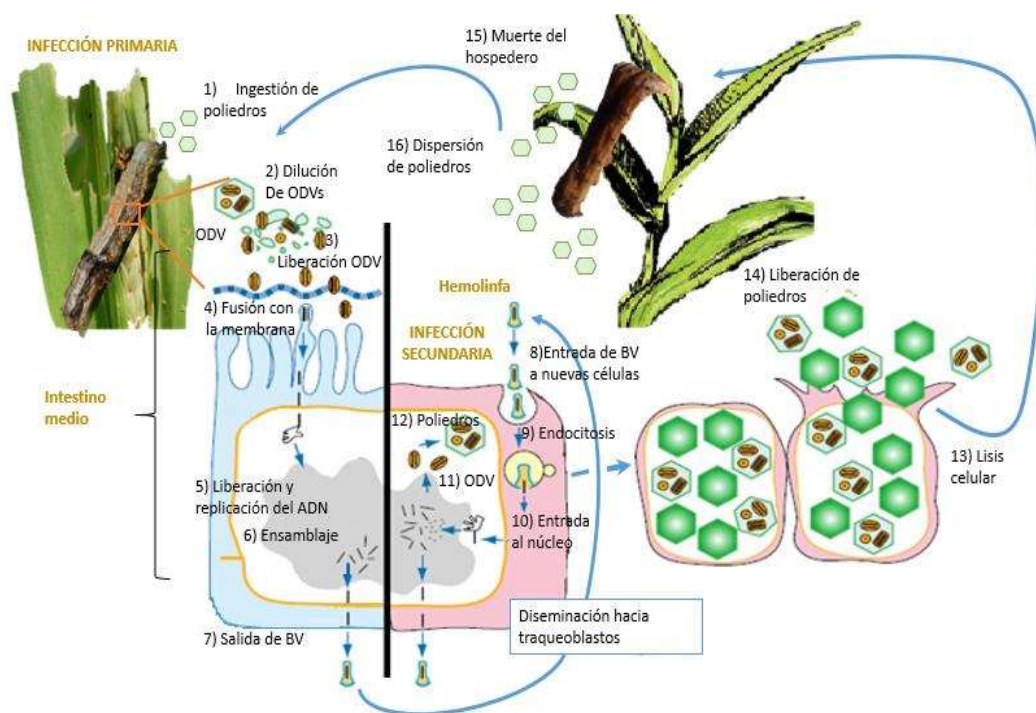


Figura 2. Esquemización del ciclo de infección de un nucleopoliedrovirus (modificado de Motoko *et al.*, 2014).

2.4 Los baculovirus y su interacción con el huésped y las plantas hospederas

Una gran parte de los estudios sobre la ecología de los BVs se han enfocado en entender la interacción hospedero-patógeno. Sin embargo, este conocimiento sólo representa una parte de una compleja interacción, que se da entre las especies con sus insectos huéspedes, las plantas y el medio ambiente (Cory *et al.*, 1997). Las plantas son ambientes muy complejos para la supervivencia de los BVs y los entomopatógenos en general. La importancia de las plantas se manifiesta especialmente, en función de su morfología, de la composición química y de su calidad nutricional. Sobre éstos últimos, la composición química de la planta tiene influencia no sólo en la actividad del virus si no también la fisiología del insecto huésped (Cory y Hoover, 2006). Estudios de laboratorio han demostrado que distintas sales y taninos pueden reducir la infectividad del virus. Similarmente, los exudados de las plantas incrementan el pH foliar con un consecuente efecto sobre el virus (Keating *et al.*, 1988; Hunter y Schultz, 1993).

Por otro lado, estudios con un NPV sobre *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae) mostraron que la infección fue negativamente relacionada con los niveles de defoliación, sugiriendo una elevada concentración de taninos puede incrementar la

resistencia del insecto hacia el propio virus (Cory y Hoover, 2006). Otros compuestos que se relacionan con lo anterior incluyen: proteínas, ácido clorogénico, y enzimas tales como peroxidasas y fenoloxidasas (Dias-Vasconcelos, 2001). Un aspecto que ha sido muy poco estudiado es la relación entre la calidad nutricional de las plantas y los niveles de infección, en donde se podría esperar que una alta calidad nutricional, pudiera incrementar los niveles de ingestión de las hojas tratadas con virus o presentes de forma natural.

2.5 Las micorrizas

El término micorriza proviene del griego *mykes-riza* (hongo-raíz), incluye a microorganismos que se forman de la interacción entre un hongo y una planta (Smith y Read, 1997). En 1885, el patólogo alemán Albert Bernard Frank propuso el término micorriza para describir un fenómeno común que observó en las raíces de ciertos árboles de los bosques templados de Norteamérica. Anteriormente, estas asociaciones entre hongos del suelo y las raíces de los árboles fueron las únicas que se reconocían como micorrizas, pero trabajos posteriores mostraron que existía una gran diversidad de asociaciones de este tipo, no sólo en plantas leñosas, sino en la mayoría de los vegetales. En las simbiosis mutualistas de este tipo, los hongos se benefician con los nutrientes sintetizados por la planta y a su vez acarrean minerales del suelo para cederlos a la raíz (Aguilera-Gómez *et al.*, 2007).

Las micorrizas pueden ser de tres tipos: ectomicorriza, endomicorriza y ectoendomicorriza. Las primeras se caracterizan porque desarrollan una espesa capa de micelio sobre la zona cortical de las raíces absorbentes de la planta, las hifas del hongo no penetran en el interior de las células de la raíz, sino que se ubican sobre y entre las separaciones de éstas. Se pueden observar a simple vista.

Las endomicorrizas se caracterizan por colonizar intracelularmente el córtex radical o sea que no hay manto externo que pueda verse a simple vista. Las ectendomicorrizas presentan características intermedias entre las Ectomicorrizas y las Endomicorrizas, ya que presentan un manto externo como las ectomicorrizas, pero también penetran en el interior de las células, como las endomicorrizas y no existen vesículas ni arbuscúlos (Read, 1999).

Las endomicorrizas se caracterizan por colonizar intracelularmente el córtex radical o sea que no hay manto externo que pueda verse a simple vista. Las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz, pero luego penetran en el interior de

éstas, formando vesículas alimenticias y arbusculos. Por ello, este grupo se las conoce también como hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

2.5.1 Los HMA

Los HMA son importantes para la agricultura, por su potencial como promotores de crecimiento vegetal. Éstos son microorganismos del suelo que forman simbiosis con el 80% de las plantas terrestres, formando arbusculos, vesículas (en algunas especies) e hifas, dentro de las células corticales de las plantas que colonizan (Smith y Read, 1997; Barrer, 2009). Registros fósiles indican que esta asociación tiene aproximadamente 400 millones de años y actúa como una extensión de la raíz de la planta, en la exploración y toma de nutrientes minerales (fósforo y nitrógeno, entre otros) y aguas procedentes del suelo. A cambio, la planta le retribuye al hongo carbohidratos derivados de la fotosíntesis en forma de exudados (Barrer, 2009).

Las micorrizas constituyen una asociación multifuncional simbiótica generalmente mutualista, cuyo beneficio va más allá de los aspectos nutricionales, puesto que además generan beneficios ambientales, tales como el mejorar las condiciones fisicoquímicas del suelo. Algunos estudios han demostrado los efectos benéficos de esta asociación simbiótica entre las micorrizas arbusculares y las plantas, por ejemplo, la defensa de los suelos contra la degradación y la protección fitosanitaria de los cultivos (Zorer *et al.*, 2010). Específicamente, los HMA pueden transferir minerales inmóviles del suelo y ayudar a que las plantas incrementen la exploración y aumenten la absorción y transporte de nutrientes (Ferraris *et al.*, 2006; Barrer, 2009).

2.5.1.1 Ciclo de vida de los HMA

El ciclo de vida puede dividirse en dos etapas. La primera etapa es simbiótica y se inicia con la formación de propágulos (esporas, hifas o raíces con HMA) cuando las condiciones son favorables, las esporas germinan y establecen contacto con la raíz, desarrollando una estructura llamada apresorio, iniciando una nueva simbiosis, que es una acumulación de hifas en la epidermis de las raíces que permite el paso de las hifas al córtex, sin provocar la muerte de las células. El establecimiento de propágulos puede ser afectado por factores ambientales. La segunda fase se lleva a cabo dentro de las raíces, en las cuales se desarrollan sus estructuras (hifas, arbusculos y vesículas). En esta fase es donde se establece el intercambio de minerales del hongo a la planta y los

fotosintatos de la planta al hongo, además se desarrollan las hifas en la rizosfera. Al final del ciclo se forman nuevamente propágulos y esporas de resistencia (Requena *et al.*, 2007)

Los HMA pueden ayudar a la absorción de nutrientes especialmente fósforo que es nutriente limitante. Sin embargo, este nutriente es aplicado frecuentemente (Herrera *et al.*, 2016). Sieverding (1991), Alarcón *et al.* (1993) y Smith y Read (1997) mencionaron que en algunas plantas de consistencia herbácea, la aplicación de fósforo reduce la colonización micorrízica y el beneficio de los HMA. A sí mismo, la asociación con hongos micorrízicos, al mejorar el estatus nutricional de las plantas, podría facilitar la respuesta de defensa de las plantas contra los herbívoros (Bennett *et al.*, 2006). Es importante resaltar que utilizar una fertilización alta en nitrógeno, puede afectar negativamente al desarrollo de los HMA (Sieverding, 1991). Por otro lado, los efectos del nitrógeno no son constantes y pueden variar de un lugar a otro (Espinosa-Cuéllar, 2015).

HIPÓTESIS

Las asociaciones micorrízicas y la nutrición de las plantas afectan positivamente la herbivoría y la efectividad de un nucleopoliedrovirus en plantas de maíz.

OBJETIVOS DE LA TESIS

General

Evaluar el efecto de los hongos micorrízicos con dos niveles de fertilización de nitrógeno en plantas de maíz sobre la herbivoría de *S. frugiperda* y la adquisición de la infección por su nucleopoliedrovirus.

Específicos

- Evaluar el efecto de los HMA sobre el crecimiento de plantas de maíz fertilizadas con dos niveles de nitrógeno (objetivo integrado en el Capítulo II).
- Evaluar la herbivoría de *S. frugiperda* sobre plantas de maíz micorrizadas y fertilizadas con dos niveles de nitrógeno (objetivo integrado en el Capítulo II).
- Evaluar el grado de infección del nucleopoliedrovirus sobre larvas de *S. frugiperda* alimentadas con plantas de maíz micorrizadas y fertilizadas con dos niveles de nitrógeno (objetivo integrado en el Capítulo III).

3. REFERENCIAS

- Aguilera-Gómez, L. I., Olalde, P. V., Arriaga, M. R., y Contreras, A. R. (2007). Micorrizas arbusculares. *CIENCIA ergo sum* 14 (3).
- Alarcón, A., M.C. González-Chávez, R. Ferrera-Cerrato y Villegas-Monter, A. (1993). Influencia de tres hongos micorrízicos vesículo-arbusculares en fresa (*Fragaria x annanassa* Duch.) cv. Fern y su interacción con fertilización fosfórica. pp. 62-76. En: J. Pérez-Moreno y R. Ferrera-Cerrato (eds.). Avances de investigación, Área de Microbiología de Suelos. PROEDAF-Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México.
- Aragón-Cuevas, F. S., Taba, C. J., Hernández, J. C., Figueroa, A. V., Serrano y Castro, G. F. (2006). Catálogo de maíces criollos de Oaxaca. INIFAP-SAGARPA: Libro Técnico Núm. 6. Oaxaca, Oaxaca 344 p.
- Armenta, R., Martínez, A. M., Chapman, J. W., Magallanes, R., Goulson, D., Caballero, P. y Penagos, D. I. (2003). Impact of a nucleopolyhedrovirus bioinsecticide and selected synthetic insecticides on the abundance of insect natural enemies on maize in southern Mexico. *Journal of Economic Entomology* 96 (3): 649-661.
- Badii, M. H., Tejada, L. O., Flore, A. E., López, C. E., Ruiz, C. E., y Quiroz, H. (2000). Historia, fundamentos e importancia del control biológico. En: Badii M. H., A. E. Flores y W. L. Galán (eds.) Fundamentos y perspectivas del control biológico. Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León 462 pp.
- Bahena, J. F., De Lange, E., Farnier K., Cortez, M. E., Sánchez, M. R., García P. F., Miranda, S. M., Degen T., Gaudillat B., y Aguilar, R. R. (2010). Parasitismo en gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el centro de México. En: XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Uruapan, Michoacán. México 204-209 pp.
- Bahena, J. F., y Velázquez, G. J. (2012). Manejo agroecológico en plagas de maíz para una agricultura de conservación en el valle Morelia-Queréndaro, Michoacán. Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria. Folleto Técnico No 27. Uruapan, Michoacán.

- Barrer, S. E. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 7:1
- Bennett, A.E., Alers-Garcia, y Bever, J. D. (2006). Three-way interactions among mutualistic mycorrhizal fungi plants, and plant enemies: hypotheses and synthesis. *American Naturalist* 167: 141-152.
- Benz, B. F. (2001). Archaeological evidence of teosinte domestication from Guilá Naquitz. *Proceedings of the National Academy of Science* 98: 2104-2106.
- Blissard, G. W., y Rohrmann, G. F. (1990). Baculovirus diversity and molecular biology. *Annual Review of Entomology* 35: 286-605.
- Caballero, P., López-Ferber, M., y Williams, T. (2001). Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Editorial Phytoma. España. Universidad Pública de Navarra 517 p.
- Cave, R. D. (2012). *Telenomus remus* Nixon: un parasitoide en el control biológico del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Ceiba Magazine* 40 (2): 215-227.
- Celebi, S. Z., Demir, S., Celebi, R., Durak, E. D., y Yilmaz, I. H. (2010). The effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) applications on the silage maize (*Zea mays* L.) yield in different irrigation regimes. *European Journal of Soil Biology* 46 (5): 302-305.
- Cisneros, F. (1995). Control de plagas agrícolas. Lima. Perú. <https://hortintl.cals.ncsu.edu/sites/default/files/articles/control-cultural-de-plagas.pdf> (sitio consultado 2 de junio del 2019)
- Cory, J. S., Hails, R. S., y Sait, S. M. (1997). Baculovirus ecology. En: *The Baculoviruses* (L. K. Miller, ed.), Plenum Press, New York 301-339 pp.
- Cory, J. S., y Hoover, K. (2006). Plant-mediated effects in insect–pathogen interactions. *Trends in ecology evolution* 21 (5): 278-286.
- De León, C. (2008). Enfermedades importantes. En: *El cultivo del maíz. Temas selectos* (Rodríguez M.R., De León C., eds). Colegio de Postgraduados-Mundi-Prensa, México DF. 47-62 pp.

- Del Rincón, Castro, M. C., Méndez-Lozano, J., Ibarra, J. E. (2006). Caracterización de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* con actividad insecticida hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Folia Entomologica Mexicana*. 45: 157-164
- Dias-Vasconcelos, S. D. (2001). Ecología de los baculovirus. En: Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Caballero P., López-Ferber, M., y Williams, T. (eds.), Phytoma S.A., Valencia, España. 143-201 pp.
- Escribano, A., Williams, T., Goulson, D., Cave, R. D., Chapman, J. W., y Caballero, P. (1999). Selection of a nucleopolyhedrovirus for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): structural, genetic, and biological comparison of four isolates from the Americas. *Journal of Economic Entomology* 92 (5): 1079-1085.
- Espinosa-Cuéllar, A. E., Martínez, L. R., Espinosa, R. R., y Cuéllar, E. E. (2015). Efecto del Nitrógeno y hongos micorrízicos arbusculares en dos clones comerciales de boniato sobre un suelo Pardo mullido carbonatado. *Centro Agrícola* 42(2): 39-46.
- Federici, B. A. (1986). Ultrastructure of baculoviruses. En: Granados R. R., y Federici B. A. (eds.) The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology. Academic Press, San Diego 61-88 pp.
- Ferraris, G. N., y Couretot, L. A. (2006). Evaluación de la inoculación con micorrizas en maíz bajo diferentes ambientes de fertilidad. Área de desarrollo Rural. INTA EEA. Pergamino: Proyecto Regional Agrícola, Cerban 35 pp.
- Fideicomiso Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA). (2016). Panorama Agroalimentario Maíz 2016. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. 40 pp.
- Finlay, R. D. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extra-radical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59: 1115-1126.

- Fuxa, J. R. (2004). Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. *Agriculture Ecosystems and Environment* 103: 27-43.
- Fuxa, J. R., Richter, A. R., y Milks, M. L. (2007). Threshold distances and depths of nucleopolyhedrovirus in soil for transport to cotton plants by wind and rain. *Journal of Invertebrate Pathology* 95: 60-70.
- García, G. C., González, M. M. B., Cortez, M. E. (2012). Uso de enemigos naturales y biorracionales para el control de plagas de maíz. *Ra Ximhai* 8(3): 57-70.
http://www.canna.es/interacciones_entre_nutrientes
- García-Banderas, D. (2016). Actividad biológica de tres nucleopoliedrovirus sobre distintas poblaciones mexicanas del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Maestría. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México 69 pp.
- Garden, W. A., y Fuxa, J. R. (1980). Pathogens for suppression of the fall armyworm. *Florida Entomology* 63: 439-447.
- Goergen, G., Kumar, P. L., Sankung, S. B., Togola, A., y Tamò, M. (2016). First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. *PloS one* 11 (10).
- Granados, R. R., y Williams, K. A., Williams. (1986). *In vivo* infection and replication of baculoviruses. En: Granados, R. R. y B. A. Federici (eds.) *The Biology of Baculoviruses*. CRC Press. Boca Raton, Florida. 89-196 pp.
- Guzmán, P., Rodríguez, C. J., y Valencia, C. S. J. (2016). Identificación de caracteres diagnósticos del ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).
- Haas-Stapleton, E., Washburn, J., Volkman, L. (2005) *Spodoptera frugiperda* resistance to oral infection by *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus linked to aberrant occlusion-derived virus binding in the midgut. *Journal of General Virology* 86: 1349-1355

- Hernández, M. I., y Chailloux, M. (2004). Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral de tomate. *Cultivos Tropicales* 25 (2): 5-12.
- Herrera, E. M. C., Toro, M., y Lopez, D. (2016). Efecto de micorrizas nativas y fósforo en los rendimientos del maíz en Guárico, Venezuela. *Temas Agrarios* 21-31.
- Huerta-Valdovinos, Fabiola. (2016). Reproducción y desarrollo de poblaciones de campo del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), colectadas en cultivos de maíz. Facultad de Biología de la UMSNH.
- Hunter, M. D., Schultz, J. C. (1993). Induced plant defenses breached? Phytochemical induction protects an herbivore from disease. *Oecologia* 94: 195– 203.
- Jacques, R. P. (1985). Stability of insect viruses in the environment. En: Maramorosch K., y Sherman K. E. (eds.) *Viral insecticides for biological control*. Academic Press. Nueva York. 285-360 pp.
- Jehle, J. A., Blissard, G. W., Bonning, B. C., Cory, J. S., Herniou, E. A., Rohrmann, G. F., Theilmann, D. A., Thiem, S. M., y Vlak, J. M. (2006). On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. *Archives of Virology* 151: 1257-1266.
- Keating, S. T., McCarthy, W. J., y Yendol, W. G. (1988). Gypsy moth (*Lymantria dispar*) larval susceptibility to a baculovirus affected by selected nutrients, hydrogen ions (pH), and plant allelochemicals in artificial diets. *Journal of Invertebrate Pathology* 54 (2): 165-174.
- León, G. I., Rodríguez, L. E., Ortega, A. L. D., y Solís, A. J. F. (2012). Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a insecticidas asociada a césped en Quintana Roo, México. *Agrociencia* 46 (3): 1-9.
- Miller L. (1997). *The Viruses: The Baculoviruses*. New York: Plenum Press. 433 p.
- Miramontes, C. U. (2012). Situación actual y perspectivas del maíz en México 1996-2012. Sistema de información agroalimentaria y pesquera.
- Montes, M. J. A., Espinosa, P. N., Garrido, R. E., y Gutiérrez, M. F. A. (1999). Reproducción del Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) del maíz (*Zea*

- mayz L.) bajo condiciones de laboratorio. In IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. XIII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. II Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica. Veracruz, México. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
- Morillo, F., y Notz, A. (2001). Resistencia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacihalotrina y metomil. *Entomotropica*, 16 (2): 87.
- Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 44: 257-289.
- Motoko, I., Rina, H., Michihiro, K. (2014). Baculoviruses: diversity, evolution and manipulation of insects. *Entomological Science* 18: 1-20.
- Murúa, M. G., Molina-Ochoa, J., y Coviella, C. (2006). Population dynamics of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoids in Northwestern Argentina. *Florida Entomologist* 89: 175-182.
- Nagoshi, R. N., Meagher, R. L., Hay-Roe, M. (2012) Inferring the annual migration patterns of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the United States from mitochondrial haplotypes. *Ecology and Evolution* 2:1458–1467. doi: 10.1002/ece3.268
- Negrete, B. F., y Morales, A. J. (2003) El gusano cogollero del Maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith). Corporación Colombiana de investigación agropecuaria. Cartilla Ilustrada 3 pp.
- Nexticapan, G. A., Magdub, M. A., Vergara, Y. S., Martin, M. R., y Larqué, S. A. (2009). Fluctuación poblacional y daños causados por gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) en maíz cultivado en el sistema de producción continúa afectado por el huracán Isidoro. *Universidad y Ciencia* 25 (3): 273-277.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2010). El Maíz en los Trópicos: Mejoramiento y Producción. <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s00.htm#toc>. (consultada el 10 de julio de 2017).

- Pacheco, C. J. J. (1993). Monitoring insecticide resistance in *Spodoptera frugiperda* populations from the Yaqui Valley, Son. México. *Resistant Pest Management Newsletter* 5: 3-4.
- Paliwal, R. L. (2001) Introducción al maíz y su importancia. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación No. 28 Roma Italia 1-3 pp.
- Passarelli, A. L. (2011). Barriers to success: How baculoviruses establish efficient systemic infections *Virology* 411: 383-392.
- Pérez, M. E. (2000). Control biológico de *Spodoptera frugiperda* Smith en maíz departamento de manejo de plagas INISAV Ministerio de Agricultura. Habana Cuba.
- Read, D. J. (1999). Mycorrhiza the state of the art. En: Mycorrhiza Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology (A. Varma B. Hock eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 3-6 pp.
- Requena, N., Serrato, E., Ocon A., Breuninger M. (2007). Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phytochemistry* 68 (1):33-40.
- Rios-Velasco, C., Gallegos-Morales, G., Del Rincón-Castro, M. C., Cerna-Chávez, E., Sánchez-Peña, S. R., y Siller, M. C. (2011). Insecticidal activity of native isolates of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus from soil samples in Mexico. *The Florida Entomologist*, 94 (3): 716-718.
- Sarmiento-Ruiz, S. del Pilar, T. E. (2018). Parasitismo de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) en posturas de *Spodoptera frugiperda* y *Spodoptera eridania* (Lepidoptera), en condiciones de laboratorio. Tesis de licenciatura en biología. Universidad nacional pedro Ruiz gallo facultad de ciencias biológicas departamento académico de biología. Lambayeque, Perú 72pp
- Salinas, M. Y., Soria, R. J., y Espinosa, T. E. (2010). Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el Estado de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). México Folleto Técnico no. 42.

- Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural (SAGARPA) (2005). Evaluación y validación de la efectividad biológica de 14 insecticidas en maíz contra el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en valle de Santiago, gto. Programa de sanidad vegetal Guanajuato 3 pp.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA). (2013). Selección y manejo de maíces criollos. <https://www.eleconomista.com.mx/opinion/Situacion-actual-del-mercado-del-maiz-I-20161128-0007.html> (Accesada el 25 de junio de 2019).
- Sieverding, E., Friedrichsen, J. M. M., y Suden, W. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. *Sonderpublikation der Deutsche Gesellschaft fuer Technische Zusammenarbeit (Germany)* 224p.
- Smith, S. E., y Read, D. J. (1997). Mycorrhizal symbiosis 2nd ed. London Academy press 1-605 pp.
- Szewczyk, B., Hoyos-Carvajal, L., Paluszek, M., Skrzecz, I., y De Souza, M. L. (2006). Baculoviruses—re-emerging biopesticides. *Biotechnology advances* 24(2): 143-160.
- Vanarsdall, A. L., Mikhailov, V. S., y Rohrmann, G. F. (2007). Characterization of a baculovirus lacking the DBP (DNA-binding protein) gene. *Virology* 364 (2): 475-485.
- Vargas-Aguirre, T. C. y López-Bermúdez (2016). Efecto de tres aplicaciones de boro en dos híbridos maíz (*Zea mays* L.) Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro. Guayaquil Ecuador.
- Volkman, L. (2007). Baculovirus infectivity and the actin cytoskeleton. *Current Drug Targets* 8: 1075-1083
- Wang, P., Granados, R. (2000). Calcofluor disrupts the midgut defense system in insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30: 135-143
- Williams, T., Goulson, D., Caballero, P., Cisneros, J., Martinez, A. M., Chapman, J. W., y Cave, R. D. (1999). Evaluation of a baculovirus bioinsecticide for small-scale maize growers in Latin America. *Biological Control* 14 (2): 67-75.

- Williams (2018). Viruses. In: A. Hajek E., Shapiro Ian David I.ed *Ecology of Invertebrate Diseases*, Cornell University,Ithaca New yor us: Ann E. hakek, .213-285pp
- Willink, E., Osores, V. M., y Costilla, M. A. (1993). Daños, pérdidas y niveles de daño económico por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 70: 49-52.
- Zorer, C. Z., Demir, S. R., Demirer, D. E., y Hakki, I. (2010). the effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) applications on the silage maize (*Zea mays* L.) yield in different Celebi irrigation regimes. *European Journal of Soil Biology* 46:302-305.

CAPITULO II

EFFECTO DE LOS HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOBRE LA INTERACCIÓN PLANTA-INSECTO: INFLUENCIA DE LA NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS

RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos del suelo que conviven simbióticamente con la mayoría de las plantas terrestres. Esta asociación actúa como un complemento de la raíz de la planta en la toma de nutrientes, aumento de la tolerancia a condiciones de estrés abiótico y aumento en la productividad de estas. Además, la asociación de las plantas con los HMA, al mejorar el estatus nutricional de sus hospederos, podría facilitar el despliegue de respuestas de defensa contra los insectos herbívoros. En el presente estudio, se evaluó el impacto de un consorcio de HMA nativos sobre la herbivoría causada por el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), en plantas de maíz. Así mismo, se evaluó la interacción entre la nutrición de las plantas micorrizadas, con el desarrollo de estas, la herbivoría y la condición del insecto. El gusano cogollero, fue seleccionado como modelo de estudio, debido a su importancia como herbívoro en los cultivos de maíz. Se diseñó un experimento multifactorial al azar con tres factores y dos niveles para cada factor en el cual se incluyeron: 1) Condición del suelo (suelo estéril y suelo con HMA), 2) Fertilización con nitrógeno (50 y 100% del requerimiento de la planta) y 3) Insecto (presencia y ausencia de *S. frugiperda*). Las plantas tratadas con HMA presentaron una menor biomasa comparadas con las no tratadas. En relación al nivel de daño foliar, las plantas de maíz que se trataron HMA + 50% de nitrógeno tuvieron significativamente menor daño comparado con el testigo. En contraste, las plantas que se trataron con el doble del nitrógeno tuvieron un mayor daño comparado con el testigo. Por lo anterior, se concluye que el menor desarrollo de las plantas de maíz asociadas con los HMA, puede relacionarse con procesos propios de la simbiosis o con las características de las especies de HMA y su distinta interacción con las plantas. Además, el nivel de daño foliar por *S. frugiperda* tuvo una mayor relación con la nutrición de las plantas que con la presencia de los HMA. Finalmente, el presente

estudio demuestra que la interacción maíz-micorriza puede ser mediada tanto por la propia presencia de los hongos como por la calidad nutricional de las plantas.

Palabras clave: Simbiosis, maíz, gusano cogollero, micorrizas.

1. INTRODUCCIÓN

Los HMA son microorganismos del suelo que forman simbiosis con más del 90% de las plantas superiores (Pérez *et al.*, 2016; Bertolini *et al.*, 2018). Estos microorganismos forman arbuscúlos, vesículas e hifas dentro de las células corticales de las plantas que colonizan (Smith y Read, 1997; Barrer, 2009). Las vesículas, están presentes en la corteza de la raíz y se consideran reservorios de nutrientes para el hongo (Walker *et al.*, 1992; Aguilera-Gómez *et al.*, 2007; Bazaldua, 2011). En la agricultura, el uso de HMA tiene un gran potencial biotecnológico debido a que incrementan la productividad y la calidad en producciones más sostenibles (Barrer, 2009). Algunas de las funciones más importantes de los HMA incluyen: i) Promoción del crecimiento de las plantas mediante el incremento de la incorporación de nutrientes (fósforo y nitrógeno, entre otros), ii) Mejoramiento de las relaciones hídricas (Allen *et al.*, 2003, 2007) y, a cambio, la planta le proporciona al hongo carbohidratos derivados de la fotosíntesis (Barrer, 2009), iii) Transferencia de minerales inmóviles y ayudan a que las plantas incrementen la exploración del suelo (Ferraris *et al.*, 2006; Barrer, 2009), y iv) Resistencia a condiciones ambientales adversas, tales como el ataque de microorganismos fitopatógenos y organismos herbívoros (Finlay, 2008; Zorer *et al.*, 2010) y, a cambio, la planta le proporciona al hongo hidratos de carbono derivados de la fotosíntesis (Barrer, 2009).

En relación a los herbívoros, se conoce que la asociación de las plantas con los HMA, al mejorar el estatus nutricional de las mismas, podría facilitar el despliegue de respuestas de defensa contra estos organismos (Bennett *et al.*, 2006; Bennett, 2007; Hoffmann, 2011), lo que a su vez podría disminuir el nivel de herbivoría (Aguilar-Chama *et al.*, 2016). Además, la asociación simbiótica puede incrementar los recursos de las plantas para tener una mayor capacidad para reponer el tejido vegetal dañado (Herms y Mattson, 1992; Strauss y Agrawal, 1999; Parra-Tabla *et al.*, 2004). Al respecto, Garrido *et al.* (2010) señalaron, que la asociación de plantas con HMA se ha considerado un factor que aumenta la tolerancia de las plantas a la herbivoría; sin embargo, esto puede depender de la densidad de la colonización. Además, el éxito de la

colonización de los HMA en las plantas puede depender de varios factores, entre ellos, el contenido de humedad, la salinidad del suelo y la adquisición de nutrientes (Aguilera-Gómez *et al.*, 2007; López-Carmona *et al.*, 2019).

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de un consorcio de HMA nativos sobre el desarrollo de plantas de maíz, *Zea mays* L. (Poaceae), y la herbivoría causada por el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), la plaga más importante del maíz en el continente americano (Blanco *et al.*, 2010). Así mismo, se evaluó la interacción entre la nutrición de las plantas micorrizadas, la herbivoría y la condición del insecto.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Diseño experimental

Se realizó un diseño multifactorial (3x2) con tres factores y dos niveles para cada factor en el cual se incluyeron: 1) Condición del suelo (suelo estéril y suelo con HMA) 2) Fertilización con nitrógeno (50 y 100% del requerimiento de la planta) y 3) El insecto (presencia y ausencia de *S. frugiperda*). En total se obtuvieron ocho tratamientos con seis repeticiones, dando un total de 48 unidades experimentales (2x2x2x3). Con dos bloques. Este experimento se realizó en dos etapas, en cada una se incluyeron tres repeticiones por cada factor, pero con dos semanas de diferencia. Todo el experimento se realizó en un invernadero.

2.2 Materiales biológicos

Cría del insecto. Se usaron larvas de *S. frugiperda* de segundo estadio (~ 8 h después de la ecdisis) provenientes de una colonia establecida en el laboratorio de Interacciones Bióticas en Hábitats Alterados del Instituto de Investigación de Ecosistemas y Sustentabilidad de Universidad Nacional Autónoma de México (IIES-UNAM), Campus Morelia. Los adultos se alimentaron con una solución con miel de abeja a 15%.

S. frugiperda. Las larvas se alimentaron con una dieta semisintética modificada de la propuesta por Poitout y Bues (1974) y publicadas por Isidro-Irene *et al.* (2019), la cual se elaboró con base en harina de soya, germen de trigo, levadura de cerveza, agar, vitaminas, antibiótico y conservadores (ácido benzoico, nipagin y ácido acético). Las condiciones ambientales de cría fueron de 25 ± 2 °C, 60 ± 5 % de HR y 12:12 (L: O).

Maíz. Se utilizó un híbrido variedad PUMA proveniente de la empresa ASGROW[®], esta semilla es de uso amplio en el país, especialmente en los valles altos. (Martínez, 1999)

HMA. El suelo que se utilizó para el experimento se obtuvo de parcelas de maíz establecidas en el Centro Regional Universitario Centro Occidente (CRUCO) coordenadas Latitud 19°41'13.614" Longitud 101°14'16.8144, en este suelo se ha confirmado la presencia de HMA nativos pertenecientes a los géneros *Acauloespora*, *Megaespora*, *Gigaespora* e *Intraespora* (López- Carmona, 2013). Cabe señalar que, para obtener las muestras del suelo, se realizaron excavaciones de ~ 10 cm de profundidad entre los surcos del cultivo eliminando las malezas. Posteriormente, el suelo se colocó en costales de polipropileno para ser transportado al IIES-UNAM.

2.3 Establecimiento de los experimentos

Los experimentos se realizaron en el IIES-UNAM. El suelo colectado en campo con presencia de HMA se dividió en dos partes, una parte se esterilizó y la otra se conservó para utilizarla en los tratamientos que contenían micorrizas. La esterilización se realizó en un esterilizador eléctrico (Pro-Grow[®] modelo SS-30) a una temperatura de 93°C durante 72 h, siendo 24 en el esterilizador, seguido de 24 de descanso y finalmente otras 24 en el esterilizador. Para la siembra del maíz, las semillas previamente germinadas se colocaron en una mezcla de 600 g de suelo estéril de los cuales 25% era suelo no estéril (con el fin de obtener el inóculo micorrízico) + 600 g de arena sílica de río. Otra parte se sembró en el mismo suelo, pero en suelo estéril (sin micorrizas). El suelo se colocó en una maceta de plástico de 1.5 L. Después de dos semanas de la siembra, a todas las plantas se les aplicó un filtrado de microorganismos provenientes de las mismas muestras de suelo no estéril. Estos microorganismos se extrajeron del suelo y se aplicaron con la finalidad de que todos los tratamientos los incluyeran. Para ello, 100 g de suelo se mezclaron en 1 L de agua estéril y, posteriormente, el suelo se filtró a través de varios tamices (1, 0.425, 0.25 y 0.035 mm) y finalmente, se filtró utilizando un papel filtro. A partir de este filtrado, se aplicaron 50 ml a cada una de las plantas, agitando cada vez que se tomara este volumen. Cabe señalar que, con este filtrado, se eliminaron las esporas de hongos para obtener solamente el filtrado con bacterias (López-Carmona, 2019).

El suelo se fertilizó con una solución mineral completa (Cuadro 1). La fórmula se aplicó al inicio del experimento con excepción del NH_4NO_3 , el cual se aplicó desde la

fase de plántula semanalmente hasta el fin del experimento. Cabe señalar que, las soluciones de nitrógeno (50 y 100%), fósforo, potasio y la mezcla de micronutrientes se prepararon por separado en vasos de precipitado. Toda la fertilización se aplicó sobre el suelo antes de la siembra, a excepción del nitrógeno que se aplicó cuando la plántula tenía las dos primeras hojas. Cabe señalar que, en el caso del fósforo, la tasa aplicada corresponde a la mitad de la requerida por planta, puesto que se conoce que las micorrizas son especialmente sensibles al compuesto, ya que los niveles bajos del nutriente promueven la simbiosis de los HMA, mientras que los niveles altos podrían inhibirla (Nouri *et al.*, 2014; Mustafa, 2016).

Cuadro 1. Solución mineral completa que se aplicó a las plantas de maíz.

Compuestos		Concentración (g/ml)	(mg)	Aplicación (ml) por maceta de 1200g
Sulfato de potasio	K_2SO_4	25	75	3
Cloruro de calcio	$CaCl_2$	25	75	3
Microelementos				3
Sulfato de cobre	$CuSO_4 \times 2H_2O$	0.7	2.1	--
Sulfato de zinc	$ZnSO_4 \times 7H_2O$	1.8	5.4	--
Sulfato de manganeso	$MnSO_4 \times H_2O$	3.5	10.5	--
Sulfato de cobalto	$CoSO_4 \times 7 H_2O$	0.13	0.39	--
Sulfato de magnesio	$MgSO_4 \times 7H_2O$	15	45	--
Molibdato de sodio	$Na_2MoO \times 2H_2O$	0.06	0.18	--
Nitrato de amonio	NH_4NO_3	28.57	86.2	3
Fosfato de potasio	KH_2PO_4	43.93	100	3

2.4 Efecto de los HMA sobre el desarrollo de las plantas de maíz, la herbivoría causada por *S. frugiperda* y la condición del insecto

Una vez que las plantas de maíz tuvieron siete semanas de edad (V10), se colocaron siete larvas de segundo estadio (L_2) de *S. frugiperda*, recién mudadas, por cada planta, sobre las plantas que correspondían a los tratamientos que incluyeron las larvas y se dejaron sobre las mismas alimentándose durante dos semanas. Para evitar su escape, cada planta se cubrió con una tela tergal-francés de un diámetro de poro de 0.2 mm. Posteriormente, la malla de tela se retiró, y de cada planta se recuperaron las larvas para registrar el estadio larvario y su peso.

Posteriormente, a la novena semana, las plantas se cortaron desde su base y se registró su altura, peso seco de la parte aérea y peso fresco de la raíz. Además, se realizó una estimación visual del nivel de daño de acuerdo a la escala de Dirzo y Domínguez (1995) [1 (0%), 2 (1-6%), 3 (6-12%), 4 (12-25%), 5 (25-50%) y 6 (50-100%)]. El tejido foliar se secó en un horno (Fisher-Scientific. Hampton, Nuevo Hampshire, Estados Unidos) durante 72 h a 80 °C y después cada muestra se pesó en una balanza analítica de la marca Ohaus®. Posteriormente, las raíces se almacenaron en un congelador a -20 °C para su consiguiente análisis.

2.5 Determinación del nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal

Las plantas previamente deshidratadas en el horno se trituraron en un molino manual de la marca Thomas Scientific (Swedesboro, Nueva Jersey, Estados Unidos) y se colocaron individualmente en bolsas de papel estraza. Éstas se colocaron nuevamente en el horno a 80 °C durante 24 h. Posteriormente, 2 g de cada muestra se pesaron para procesarlas mediante el método de Micro-Kjeldahl propuesto por Murphy y Riley (1962). Para ello, las muestras se colocaron en tubos de ensayos de 75 ml y, a cada una, se le colocaron 1.1 g de la siguiente mezcla digestora: 1.0 g de sulfato de cobre (CuSO_4) y 10 g de potasio monobásico (KH_2PO_4) en una proporción 1:10, dicha mezcla se trituró en un mortero de ágata hasta obtener una mezcla fina. Simultáneamente, se prepararon dos tubos que servían como blanco y que sólo contenían la muestra digestora sin materia orgánica. Después, se añadieron 3 ml de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30% a cada tubo por 10 min para llevar a cabo la acción de oxidación. Finalmente, se agregaron 7 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) con el fin de disociar los compuestos nitrogenados.

La concentración de nitrógeno y fósforo en las plantas se determinó con el método de (Murphy y Riley 1962). Posteriormente, las muestras de los tubos digestores se colocaron en un bloque digestor para elevar la temperatura gradualmente a 50°C cada 20 minutos hasta alcanzar 375°C. Se mantuvo esta temperatura durante tres horas, hasta que los sólidos adquirieran una coloración blanquecina y una fase líquida transparente. Las muestras se dejaron en reposo durante 24 horas. Después, el extracto se filtró en discos de papel Whatman de número 1 (0.125 mm) en viales de cristal. Se diluyeron 0.2 ml de la muestra en 9.8 ml de agua destilada para obtener una proporción 1:50. Para el caso del fósforo, se utilizaron 2 ml del extracto en 8 ml de agua destilada para obtener una proporción 1:5. Los extractos se homogenizaron con el agitador mecánico de la marca Eberbach, a 300 rpm durante 30 min.

Para cuantificar la cantidad de amonio presente en la muestra, se utilizó el método colorimétrico en un autoanalizador de la marca Bran Luebbe a una longitud de onda de 660 nm. Para la cuantificación de nitrógeno total se utilizó la siguiente solución: salicilato-nitroprusiato de sodio ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$) hipoclorito de sodio (NaClO), agua, solución de lavado con ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 4%. La cuantificación del fósforo se hizo de la misma manera que la de nitrógeno, con la diferencia de que se usó hipoclorito molibdato después de la reducción con el ácido ascórbico.

2.6 Tinción de las raíces y lectura de colonización de raíces con HMA

Para confirmar presencia de micorrizas en las raíces de las plantas, éstas se descongelaron y se procesaron de acuerdo con la técnica modificada de clareo y tinción propuesta por Phillips y Hayman (1970). Para ello, las raíces se lavaron hasta eliminar todos los residuos de suelo, posteriormente, con unas tijeras se cortaron en fragmentos de aproximadamente 1 cm y se homogenizaron fragmentos de cada raíz en una cubeta con agua. Después, se extrajeron 2 g de raíz y se colocaron en tubos Falcon® a los cuales se les adicionó KOH al 10 %, los tubos se taparon y se colocaron en baño María durante 15 minutos a 70 °C. Al terminar este tiempo, las raíces se enjuagaron con agua corriente. Posteriormente, se les adicionó agua oxigenada (H_2O_2) en lugar de ácido clorhídrico HCl, durante 30 min a temperatura ambiente.

Finalmente, las raíces se enjuagaron y después se les adicionó azul de tripano al 0.05% hasta cubrirlas. Después las raíces se colocaron en baño María durante 10 min a 70 °C. Se eliminó el exceso de colorante y las raíces se enjuagaron cuidadosamente para

colocarlas en tubos colonizadores de plástico con glicerina con el fin de almacenarlas en refrigeración a 4 °C para posteriormente realizar la cuantificación micorrízica.

Para el conteo de esporas en la raíz se realizó un conteo por el método de línea-intercepto (Giovannetti y Mosse, 1980), basado en la presencia y ausencia de estructuras micorrízicas, en las raíces, que interceptaron sobre las líneas de una cuadrícula dibujadas en una caja Petri (1 x 1 cm). La cuantificación se efectuó con un microscopio estereoscopio de la marca AmScope a 4X.

2.7 Análisis estadísticos

Para ambos experimentos se emplearon análisis tipo ANOVA de tres vías, para buscar diferencias significativas, se aplicó la prueba de Bartlett para la verificación de homogeneidad de varianza y la prueba de Tukey para encontrar diferencias entre medias. Todos los análisis se realizaron en el programa Statgraphic Centurion XV versión 2.06 (Statpoint®) y Sigma Plot 11.0 para hacer las gráficas.

3 RESULTADOS

3.1 Efecto de los HMA sobre el desarrollo de las plantas de maíz, la herbivoría causada por larvas de *S. frugiperda* y la condición del insecto

Se observó una respuesta significativa de los HMA en las variables peso seco de raíz, peso seco aéreo, biomasa, altura y longitud del tallo (Cuadro 2) ($P < 0.01$). En todos los parámetros, las plantas que se trataron con los HMA tuvieron un valor promedio significativamente menor comparado con las plantas no tratadas (Figuras 1 A-F). Además, se observó una respuesta significativa de los HMA en el nivel de daño ($P < 0.05$). Las plantas de maíz que se trataron HMA + 50% de nitrógeno tuvieron significativamente menor daño (1.2-veces) comparado con el testigo (Figura 2 A). En contraste, las plantas que se trataron con HMA + 100% de nitrógeno tuvieron un mayor daño (1.4 veces) comparado con el testigo.

En relación a la condición del insecto, se observó un peso significativamente mayor cuando se alimentaron con plantas tratadas HMA + 100% de nitrógeno que cuando se alimentaron con las plantas testigo ($P < 0.01$); sin embargo, no se observaron diferencias con respecto al tratamiento HMA + 50% de nitrógeno. Así mismo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos HMA + 50% de nitrógeno,

HMA + 100% de nitrógeno y el testigo 100% de nitrógeno (Figura 5B). Únicamente en las interacciones HMA + nitrógeno se observaron diferencias significativas en el peso de larvas ($F_{1,28} = 7.95$, $P < 0.001$) y la categoría de daño ($F_{1,92} = 4.33$, $P < 0.05$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Probabilidades resultantes de los análisis ANOVA con los factores hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (suelo estéril y HMA, nitrógeno (50 y 100) e insecto (con y sin insecto)).

Variables	HMA	Nitrógeno	Insecto	HMAX Nitrógeno	HMA X Insecto	Nitrógeno X Insecto	HMA X Nitrógeno X Insecto
Peso Seco aéreo (g)	***	0.35	0.35	0.87	0.50	0.40	0.42
Peso seco de raíz (g)	**	0.78	0.91	0.69	0.09	0.93	0.27
Biomasa	***	0.30	0.67	0.99	0.43	0.64	0.89
Coeficiente (biomasa/peso aéreo)	0.23	0.78	0.31	0.92	0.66	0.13	0.11
Altura (cm)	***	0.20	0.20	0.13	0.95	0.77	0.33
clorofila	0.96	*	0.47	0.96	0.54	0.66	0.40
Peso de larvas (g)	0.07	0.38	—	**	—	—	—
Categoría de daño (rango)	0.69	*	—	*	—	—	—
Longitud de hoja (cm)	**	0.16	0.57	0.82	0.12	0.99	0.49
Ancho de tallo (cm)	***	0.34	0.34	0.22	0.63	0.14	0.14
Nitrógeno	***	***	0.38	0.39	0.11	0.38	0.12
Fósforo	***	0.85	0.76	0.06	0.27	0.37	0.06

* P <0.05, **p<0.01, ***p<0.001; ^aRango establecido por Dirzo y Domínguez (1997): 1 = (0%), 2= (1-6%), 3 = (6.1-12%), 4 = (12.1-25%)

5 = (25.1-50%), 6 = (50.1-100%).

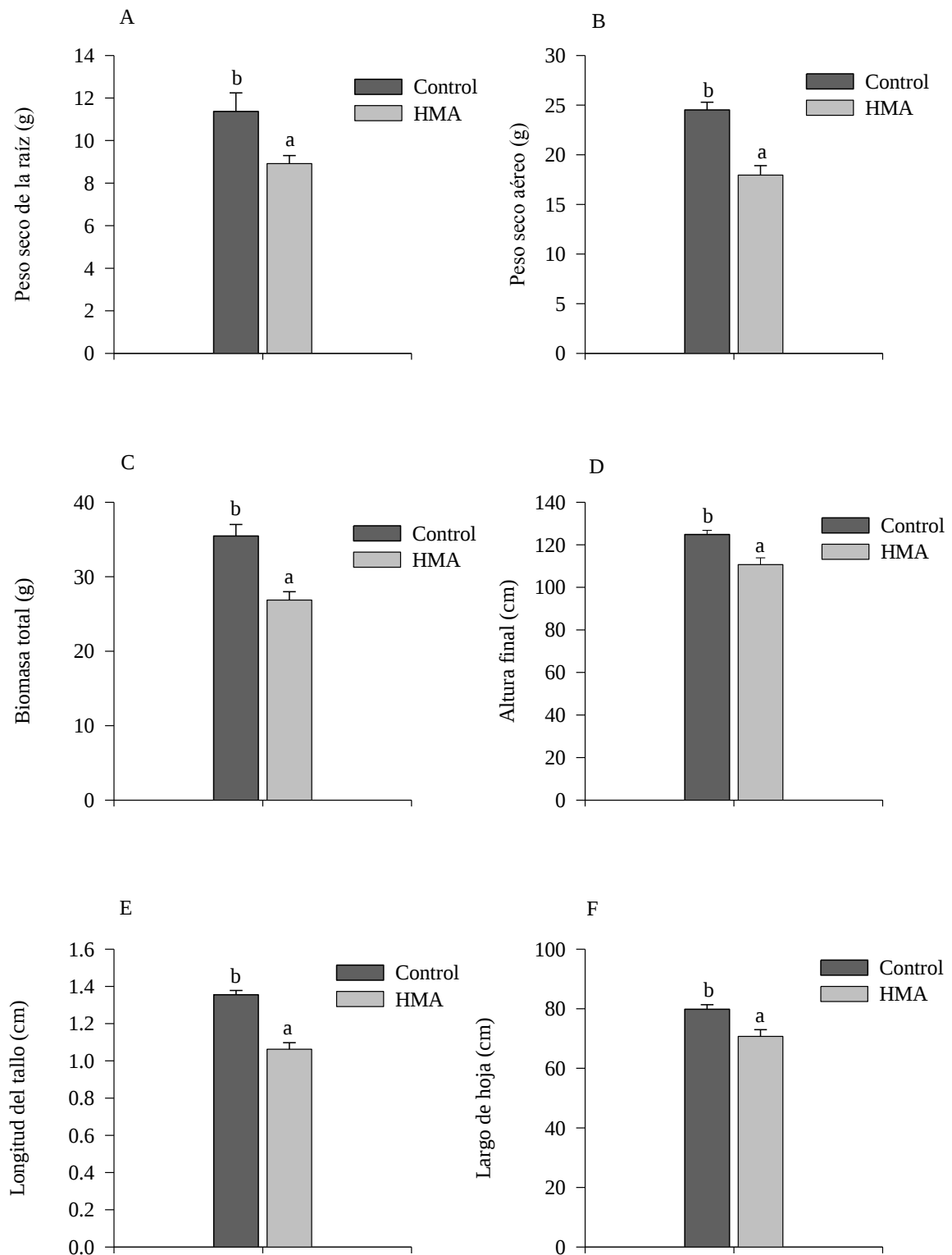


Figura 1. Peso de raíz (A), peso aéreo (B) y biomasa (C), altura (D), longitud del tallo (E) y largo de hoja (F) ($\pm$ EE) de plantas de maíz tratadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y dos niveles de nitrógeno (50 y 100%). Barras encabezadas con la misma letra no son significativamente diferentes (ver estadísticos en el cuadro 2).

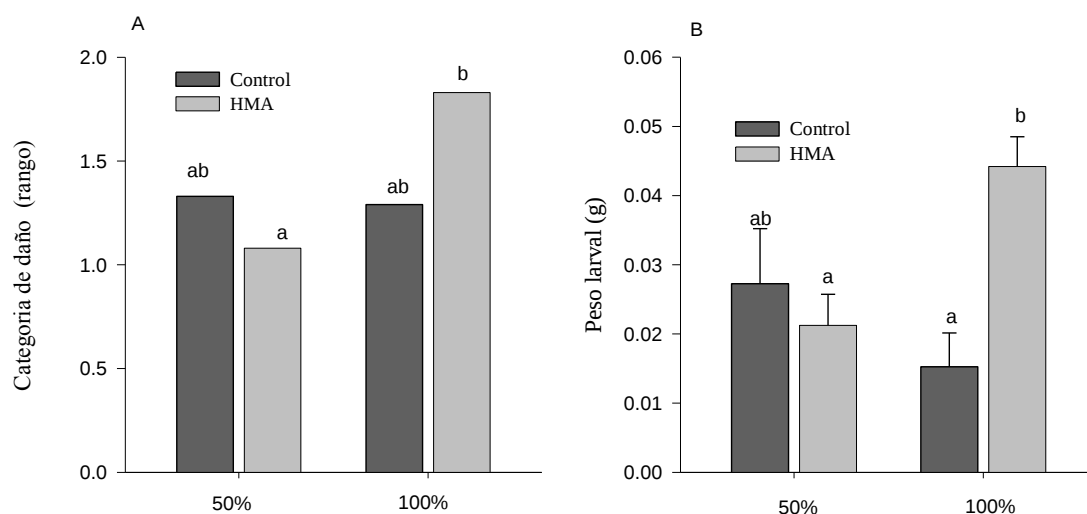


Figura 2. Categoría de daño ($\pm$ EE) provocada por larvas de *S. frugiperda* (A) y peso de larvas del mismo insecto ($\pm$ EE) (B) establecidas sobre plantas de maíz tratadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y dos niveles de nitrógeno (50 y 100%). Barras encabezadas con la misma letra no son significativamente diferentes (ver estadísticos en el cuadro 2).

3.2. Determinación de nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal

Las plantas que se trataron con 100% de nitrógeno presentaron mayor cantidad del compuesto en comparación con las plantas tratadas con 50% (Cuadro 2, Figura 3A). Las plantas que se trataron con HMA presentaron una mayor cantidad de nitrógeno y fósforo que las plantas que no fueron tratadas con HMA ($P < 0.001$) (Cuadro 2, Figura 3B-C).

3.3. Porcentaje de micorrización

Todas las plantas tratadas con los HMA presentaron colonización intra-radical (Figura 4); sin embargo, no se observó una diferencia significativa en los tratamientos que fueron fertilizados con 100 y 50% de nitrógeno ($p > 0.05$), obteniendo un porcentaje de micorrización de 33.4 y 30.4%, respectivamente. Ninguno de los testigos tuvo colonización por los hongos.

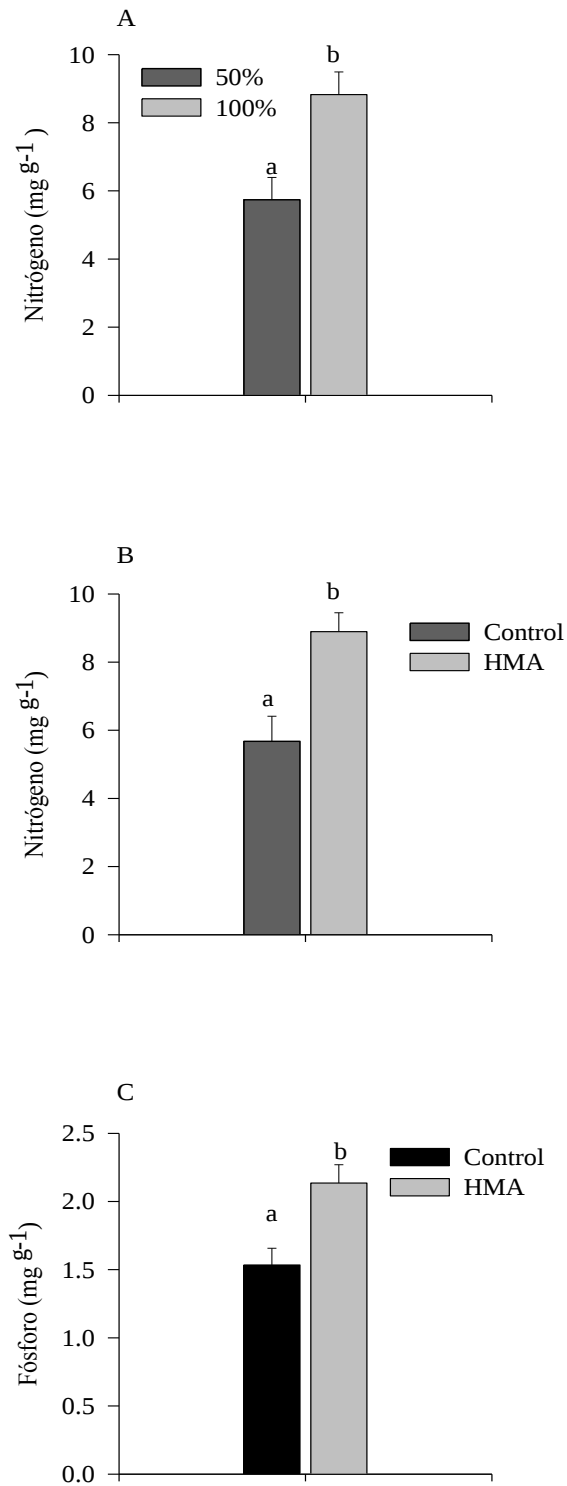


Figura 3. Contenido de nitrógeno foliar en relación a la concentración aplicada ($\pm$ EE) (A), contenido de nitrógeno foliar en relación a las plantas tratadas con HMA ($\pm$ EE) (B) y contenido de fósforo foliar en relación a las plantas tratadas HMA ($\pm$ EE) (C). Barras encabezadas con la misma letra no son significativamente diferentes (ver estadísticos en el cuadro 2).

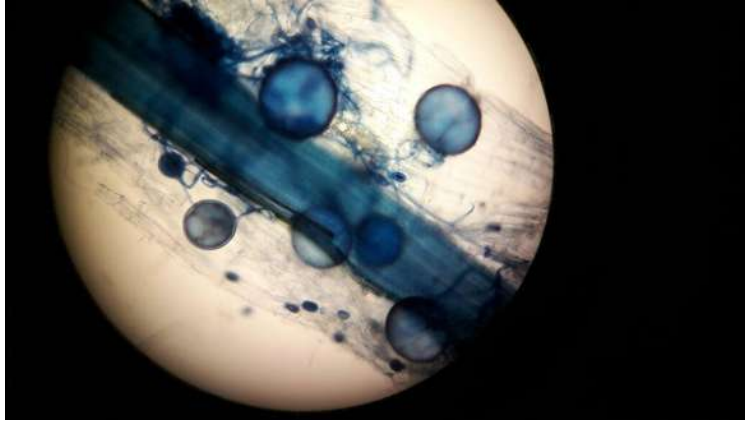


Figura 4. Presencia de los HMA (esporas, micelio y vesículas) en plantas de maíz fertilizadas con nitrógeno (40X).

4. DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de los HMA sobre el desarrollo de plantas de maíz y la herbivoría causada por el gusano cogollero. Además, se analizó la interacción entre la nutrición de las plantas micorrizadas con la herbivoría y la condición del insecto. Los resultados mostraron que, independientemente del nitrógeno aplicado, las plantas que estuvieron asociadas a los HMA presentaron un menor desarrollo en términos de su peso seco de raíz y aéreo, altura, longitud del tallo y biomasa total comparadas con las plantas no asociadas. Similarmente, Veiga *et al.* (2011) observaron que un consorcio de HMA *Glomus intraradices* (N.C. Schenck y G.S. Sm.) C. Walker y A. Schüßle, *Glomus claroideum* (Schenck y Smith emend. Walker y Vestberg) y *Glomus Mosseae* (T.H. Nicolson y Gerd.) C. Walker y A. Schüßler influyeron negativamente en el crecimiento (entre -22 y -23%) y la biomasa de algunos cultivos como el trigo, *Triticum aestivum* L., y trébol rojo, *Trifolium pratense* L., y el maíz, además de varias especies de malezas sembradas en condiciones de invernadero.

A diferencia de los estudios anteriores, incluyendo el presente, Wu *et al.* (2005) observaron que plantas de maíz tratadas con los hongos *G. mosseae* y *G. intraradices*, en combinación con un fertilizante orgánico (FO), tuvieron una mayor biomasa seca total (50-60 g) y altura (~100 cm) comparadas con las plantas tratadas con el FO (~2 g de biomasa; 70 cm de altura) y las plantas testigo (~1 g de biomasa; 40 cm de altura). Mora y Leblanc (2012), también observaron que las plantas de maíz presentaron mayor altura y biomasa total, cuando éstas se inocularon con *Glomus fasciculatum* (Thaxter sensu Gerd). Sin embargo, la biomasa de la raíz no difirió entre plantas tratadas y no tratadas con los hongos. Similarmente, Villacrés *et al.* (2014) observaron que los HMA incrementaron el número de hojas, el diámetro del tallo y la altura de plantas de maíz, lo cual se relacionó con el beneficio que ofrece el hongo con la fijación de nitrógeno, fósforo y otros minerales del suelo (Barrer, 2009). En otras asociaciones por ejemplo, Solís-Domínguez *et al.* (2011) observaron que las plantas de mezquite, *Prosopis juliflora* (Sw.) DC., sembradas en condiciones de invernadero, tuvieron una biomasa (brote + raíz) significativamente mayor (11-13 g/planta) cuando se trataron con los hongos *G. intraradices* y una mezcla de éste con *G. desertícola* comparado con el testigo (~7.5 g/planta).

Posiblemente, en nuestro estudio las plantas expuestas a los HMA invirtieron gran parte de su energía para realizar la simbiosis (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988), a diferencia de las plantas no expuestas que posiblemente utilizaron parte de ésta para su crecimiento (J. Larsen, comunicación personal). Por otro lado, el impacto negativo sobre las plantas de los hongos presentes en el suelo (Vatovec *et al.*, 2005; Jordan y Huerd., 2008), incluyendo los HMA (Rinaudo *et al.*, 2010; Salinas *et al.*, 2010; Veiga *et al.* 2011), también puede relacionarse con las características propias de las especies y la diversidad de sus comunidades, lo cual a su vez tiene un fuerte impacto sobre la interacción hongo-planta (Veiga *et al.* 2011).

En el presente estudio se observó que las plantas micorrizadas y tratadas con 50% de nitrógeno presentaron un menor nivel de daño por herbivoría en comparación con las plantas no micorrizadas. En contraste, las plantas con HMA y 100% de nitrógeno presentaron un mayor daño, comparado con su propio testigo. Aunado a ello, las larvas de *S. frugiperda* que se alimentaron con estas plantas, obtuvieron un mayor peso corporal. Posiblemente, lo anterior se relaciona con el nivel de nutrición de las plantas como se ha observado en otros estudios, por ejemplo, una planta con mayor nivel de nitrógeno o nutrientes en general puede ser más apetecible para los insectos. Al respecto, Castellanos *et al.* (2015) observaron que, un aumento de la concentración de nitrógeno (rango entre 10-16 mmol L⁻¹) aplicado en una solución nutritiva en plantas de maíz, incrementó el promedio de daño por *S. frugiperda*. Así mismo, Sampaio *et al.* (2007) observaron que una concentración alta de nitrógeno (60 kg/ha) en cultivos de maíz, provocó un incremento de los niveles de daño foliar por *S. frugiperda*, con algunas variaciones dependiendo de la etapa fenológica del cultivo. En contraste, Chen *et al.* (2008) observaron que aunque las larvas de *S. exigua* fueron capaces de detectar y preferir plantas de algodón con una mayor calidad nutricional, éstas tendieron a consumir una mayor cantidad de tejido foliar en plantas con una menor nutrición, lo cual se relacionó con una compensación para lograr acumular una mayor proporción de nutrientes.

Los niveles de daño foliar causado por *S. frugiperda* en el presente estudio fueron relativamente bajos (entre el 0-6% y 6-12% del daño total por planta). Estos resultados son similares a los observados por Penagos *et al.* (2011) y García-Banderas *et al.* (2016), quienes observaron un daño < 10% en plantas de maíz establecidas en campo. Sin embargo, estos valores son menores a los observados por Real-Santillán (2014) cuando determinó una categoría de daño por el gusano cogollero entre 25 y 50%

en plantas de maíz fertilizadas con NPK (29:44:25 g/L) y establecidas bajo condiciones de invernadero. Cabe señalar que en ninguno de estos estudios, se tuvo una interacción experimental entre plantas y micorrizas.

En general, la herbivoría causada por el gusano cogollero puede afectar significativamente la productividad de las plantas; sin embargo, el nivel de daño se ha relacionado con la etapa fenológica del cultivo (Hruska y Gould 1997). Además, se ha demostrado que la recuperación de las plantas ante el ataque por herbivoría (Herms y Mattson, 1992) y la generación de metabolitos para evadirlos (Camarena-Gutiérrez, 2009) puede ser mayor cuando éstas se encuentran en asociación con los HMA. Sin embargo, Aguilar-Chama *et al.* (2016) observaron que los niveles de herbivoría causados por varios insectos (e.g. crisomélidos, lepidópteros y homópteros) sobre *Datura stramonium* L. (Solanaceae) no se relacionaron significativamente con la intensidad de la colonización micorrízica.

Se conoce ampliamente que el nitrógeno y el fósforo son unos de los elementos más importantes para el desarrollo de las plantas (Valverde, 1991; Abdolzadeh et al 2009; Bobbink *et al.* 2010) y, que en conjunto, son esenciales en el proceso de la colonización simbiótica de los HMA (Aguilera-Gómez *et al.*, 1999; Alarcón y Ferrera Cerrato, 2003; Quiñones-Aguilar, 2012); sin embargo, esta colonización puede depender de la concentración de ambos compuestos (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2003; Mora y Leblank, 2012). Al respectó, Mustafa *et al.* (2016) observó que con una disminución de fósforo en las plantas de trigo, mejoró significativamente la colonización por *Funneliformis mosseae* (T.H. Nicolson y Gerd.) C. Walker y A. Schüßler. En el presente estudio, el porcentaje de colonización se mantuvo alrededor de 30%, pero no se observó una diferencia significativa en los tratamientos que fueron fertilizados con 50 y 100% de nitrógeno. Similarmente, Pérez-Luna *et al.* (2012) observaron que el porcentaje de colonización de un consorcio natural de HMA en el cultivo de maíz, no fue distinto en plantas sembradas con o sin la influencia de un abono verde (77 y 76%, respectivamente). Si bien, lo anterior puede indicar que la colonización de los HMA puede llevarse a cabo en suelos con poca aportación de nitrógeno; también se conoce que el nivel de colonización puede incrementarse a ciertas tasas del compuesto (Blanke *et al.* 2005) y/o declinar en altas concentraciones del mismo (Espinosa-Cuéllar *et al.*, 2015).

En general, los niveles de colonización del presente estudio son menores a los observados en otros estudios. Por ejemplo, Veiga *et al.*, (2011) observaron un alto

porcentaje de colonización radicular (75 y 80%) en plantas de maíz y trigo, respectivamente, y entre el 43 y 97% para siete especies de malezas en un experimento bajo condiciones de invernadero. En otros sistemas, Pedraza *et al.* (2001) señalaron, que cuando las plantas de *Gerbera jamesonii* L. (Asteraceae) se fertilizaron con 32 y 64 mg kg⁻¹ de NPK, el porcentaje de colonización de los HMA fue 72 y 63%, respectivamente. Blanke *et al.* (2005) observaron un nivel de colonización de 20 y 80% de un consorcio natural de HMA en raíces de *Artemisia vulgaris* L. (Asteraceae), cultivadas en distintos lotes experimentales. López-Carmona (2013) observó 40% de colonización de un consorcio nativo de HMA proveniente de CRUCO en plantas de maíz, mientras que la especie *Rhizophagus irregularis* logró un 80% de colonización. López-Carmona *et al.* (2019) observaron un porcentaje de micorrización entre 40 y 50% cuando plantas de maíz, establecidas en condiciones de invernadero, se fertilizaron con nitrógeno e inocularon con distintas comunidades de microorganismos de la rizósfera. En general, las diferencias en los porcentajes de colonización de los HMA entre los anteriores estudios y, el nuestro, pueden relacionarse con la diversidad de los hongos evaluados, las distintas condiciones del suelo, las distintas especies de plantas hospederas y las diferencias experimentales.

De acuerdo a lo esperado, en el presente estudio la mayor concentración del contenido de nitrógeno en las hojas de maíz se observó en las plantas que se trataron con la mayor tasa de este elemento (100%). Además, la simbiosis con los HMA incrementó la asimilación de ambos compuestos en las plantas de maíz. Así mismo, Wu *et al.*, (2005) observaron que la acumulación del nitrógeno en las plantas de maíz fue mayor en aquellas asociadas con los hongos *G. mosseae* G. (2.3%) y *G. intraradices* (Ri) Schenck y Smith (2.3% por planta), comparado con las plantas testigo (1.5% por planta). En el caso del fósforo, las plantas micorrizadas tuvieron un mayor nivel del compuesto (2.8 y 3.0 mg/g), pero no fue significativamente distinto al testigo (1.6 mg/g). En general, estos resultados son relevantes debido a que la asociación planta-HMA puede incrementar la asimilación de los nutrientes en las plantas (Blanke *et al.*, 2005), especialmente en ambientes en donde el desarrollo de las mismas es limitado debido a la baja fertilidad de los suelos (Hell y Hillebrand, 2001)

LITERATURA CITADA

- Abdolzadeh, A., Wang, X., Veneklaas, E. J., y Lambers, H. (2009). Effects of phosphorus supply on growth, phosphate concentration and cluster-root formation in three *Lupinus* species. *Annals of botany* 105(3): 365-374.
- Aguilar-Chama, A., Guevara, R., y Rocha, S. (2016). Herbivoría y micorrizas arbusculares en poblaciones naturales de *Datura stramonium* L. relación con la disponibilidad de nutrientes en el suelo. *Polibotánica* 41: 49-65.
- Aguilera-Gómez, L. I., Olalde, P. V., Arriaga, M. R., y Contreras, A. R. (2007). Micorrizas arbusculares. *CIENCIA ergo sum* 14:3.
- Aguilera-Gomez, L., Davies, F. J., Olalde-Portugal, V., Duray, S. A., y Phavaphutanon, L. (1999). Influence of phosphorus and endomycorrhiza (*Glomus intraradices*) on gas exchange and plant growth of chile ancho pepper (*Capsicum annuum* L. cv. San Luis). *Photosynthetica* 36 (3): 441-449.
- Alarcón, A., y Ferrera-Cerrato, R. (2003). Aplicación de fósforo e inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento y estado nutricional de *Citrus volkameriana* Tan Pasq. *Terra Latinoamericana* 21 (1) pp 91-99.
- Allen, M. F., (2007). Mycorrhizal fungi: Highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal* 6 291-297.
- Allen, M. F., Swenson W., Querejeta J. I., Egerton-Warburton L. M., y Treseder K. K. (2003). Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. *Annual Review of Phytopathology* 41 (1): 271-303.
- Barrer, S. E. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 7:1
- Bazaldúa-Trujillo, V., y Hernández-Zamudio, M. G. (2011). Evaluación de la diversidad de esporas micorrízicas arbusculares en suelos de cultivo de maíz (*Zea mays* L.) orgánico y convencional. Tesis de ingeniería. Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro 77 pp.

- Bennett, A. E., Alers-Garcia, J., y Bever, J. D. (2006). Three-way interactions among mutualistic mycorrhizal fungi, plants, and plant enemies: hypotheses and synthesis. *The American Naturalist* 167 (2): 141-152.
- Bennett, A. E., y Bever, J. D. (2007). Mycorrhizal species differentially alter plant growth and response to herbivory. *Ecology* 88 (1): 210-218.
- Bertolini, V., Montaña, N. M., Sánchez, E. C., Fregoso, L. V., Ruiz, J. G., y Vázquez, J. M. M. (2018). Abundancia y riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en cafetales de Soconusco, Chiapas, México. *Revista. Biología Tropical* 66 (1): 91-105.
- Blanco, C. A., Portilla, M., Jurat-Fuentes, J. L., Sánchez, J. F., Viteri, D., Vega-Aquino P., y Zhu Y. C. (2010). Susceptibility of isofamilies of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to Cry1Ac and Cry1Fa proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Southwestern entomologist* 35 (3):409-415.
- Blanke, V., Renker, C., Wagner, M., Füllner, K., Held, M., Kuhn, A. J., y Buscot, F. (2005). Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate- polluted field site. *New Phytologist* 166(3): 981-992.
- Bobbink, R., Hicks, K., Galloway, J., Spranger, T., Alkemade, R., Ashmore, M., y Emmett, B. (2010). Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. *Ecological applications* 20 (1): 30-59.
- Camarena-Gutiérrez, G. (2009). Señales en la interacción planta insecto. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente* 15 (1): 81-85.
- Castellanos, G. L., de Mello, P. R., Barbosa da Silva, J. G., Campos, S., Naudi, C., Fernández, O., y Alvarez, P. R. (2015). Daños por *Spodoptera frugiperda* Smith en maíz en función de nitrógeno, potasio y silicio. *Revista de Protección Vegetal* 30 (3): 176-184.
- Chen, Y., Ruberson, J. R., y Olson, D. M. (2008). Nitrogen fertilization rate affects feeding, larval performance, and oviposition preference of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, on cotton. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 126 (3):

- Dirzo, R. y Domínguez, C.A. (1995). Plant-herbivore interactions in Mesoamerican tropical dry forests. In: *Seasonally dry tropical Forests*. S.H. Bullock, E. Medina y H.A. Mooney (eds.). Cambridge University Press. 304-325 pp.
- Espinosa-Cuellar, A. E., Martínez, L. R., Espinosa, R. R., y Cuellar, E. E. (2015). Efecto del Nitrógeno y hongos micorrízicos arbusculares en dos clones comerciales de boniato sobre un suelo Pardo mullido carbonatado. *Centro Agrícola* 42 (2): 39-46.
- Ferraris, G. N., y Couretot, L. A. (2006). Evaluación de la inoculación con micorrizas en maíz bajo diferentes ambientes de fertilidad. Área de desarrollo Rural. INTA EEA. Pergamino: Proyecto Regional Agrícola, Cerban. 35 p.
- Finlay, R. D. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extra-radical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59: 1115-1126.
- García-Banderas, D. (2016). Actividad biológica de tres nucleopoliedrovirus sobre distintas poblaciones mexicanas del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Garrido, E., Bennett, A. E., Fornoni, J., y Strauss, S. Y. (2010). Variation in arbuscular mycorrhizal fungi colonization modifies the expression of tolerance to above- ground defoliation. *Journal of Ecology* 98 (1): 43-49.
- Giovannetti, M., y Moss, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist* 84 (3): 489-500.
- Hell, R., y Hillebrand, H. (2001). Plant concepts for mineral acquisition and allocation. *Current Opinion in Biotechnology* 12 (2): 161-168.
- Hermis, D. A., y Mattson, W. J. (1992). The dilemma of plants: to grow or defend. *The quarterly review of biology* 67 (3): 283-335.

- Hoffmann, D., Vierheilig, H., Peneder, S., y Schausberger, P. (2011). Mycorrhiza modulates aboveground tri-trophic interactions to the fitness benefit of its host plant. *Ecological Entomology* 36 (5): 574-581.
- Hruska, A. J., y Gould, F. (1997). Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): Impact of larval population level and temporal occurrence on maize yield in Nicaragua. *Journal of Economic Entomology* 90 (2): 611-622.
- Isidro-Irene, D. A., Pineda-Guillermo, S., Figueroa de la Rosa, J. I., Ramos-Ortiz, S., Palma-Castillo, J. y Martínez-Castillo, A. M. (2019). Efecto de dietas semisintéticas sobre el desarrollo y la capacidad reproductiva de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) en laboratorio. EA013-Em581-060319
- Jordan, N., y Huerd, S. (2008). Effects of soil fungi on weed communities in a corn-soybean rotation. *Renewable agriculture and food systems* 23 (2) 108-117.
- López-Carmona, D. A. (2013). Respuesta de micorrizas de maíz (*Zea mays*) a un gradiente de estrés hídrico y fertilización mineral. Tesis de maestría en ciencias biológicas. Centro de Investigación en Ecosistemas, UNAM. 77 pp.
- López-Carmona, D. A., Alarcón, A., Martínez-Romero, E., Peña-Cabriales, J. J., Larsen, J. (2019). Maize plant growth response to whole rhizosphere microbial communities in different mineral N and P fertilization scenarios. *Rhizosphere* 9:38-46.
- Mora, A. N., y Leblanc, H. (2012). Evaluación del uso de micorrizas arbusculares para disminuir la aplicación de fertilizantes fosforados en el cultivo del maíz. *Tierra Tropical* 8 (2): 245-25
- Murphy, J. y Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters *Analytica chimica acta* 27: 31-36.
- Mustafa, G., Randoux, B., Tisserant, B., Fontaine, J., Magnin-Robert, M., Sahraoui, A. L. H., y Reignault, P. H. (2016). Phosphorus supply, arbuscular mycorrhizal fungal species, and plant genotype impact on the protective efficacy of mycorrhizal inoculation against wheat powdery mildew. *Mycorrhiza* 26 (7): 685-697.

- Nouri, E., Breuillin-Sessoms, F., Feller, U., y Reinhardt, D. (2014). Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Petunia hybrida*. *PLoS One* 9(3).
- Parra-Tabla, V., Rico-Gray, V., y Carbajal, M. (2004). Effect of defoliation on leaf growth, sexual expression and reproductive success of *Cnidoscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Plant Ecology* 173 (2): 153-160.
- Pedraza, M., Jaen D., Gutiérrez, A., Colinas, T., y López C. (2001). Crecimiento y nutrición de microplantas de gerbera inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. *Agrociencia* 35(2).
- Penagos, D. I., Magallanes-Veiga, R., Valle, S., Jansa, J., Cisneros-Frossard, E., y Van der Heijden, M. G. (2011). Can arbuscular mycorrhizal fungi reduce the growth of agricultural weeds?. *PloS one*, 6(12).
- Pérez, C., Peroza-Coronado, V., y Pérez-Cordero, A. (2016). Colonización de hongos formadores de micorrizas arbusculares en raíces de pasto colosoana y angletón en cinco localidades del departamento de Sucre. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA* 8 (2): 214-218.
- Pérez-Luna, Y. D. C., Álvarez-Solís, J. D., Mendoza-Vega, J., Pat-Fernández, J. M., Gómez-Álvarez, R., y Cuevas, L. (2012). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana. Botánica* 69(1): 46-56.
- Phillips, J. M., y Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society* 55(1): 158-IN18
- Poitout, S., y Bues, R. (1974). Elevage de chenilles de vingt-huit espèces de lépidoptères Noctuidae. *Annales de Zoologie Ecologie Animale* 6: 341-411.
- Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Acosta, E., Rincón-Enríquez, G., y Ferrera-Cerrato, R. (2012). Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. *Terra Latinoamericana* 30 (2): 165-176.

- Real-Santillán, R. O. (2014). Efecto de la fertilización mineral y el estrés hídrico sobre la interacción planta-lepidóptero-baculovirus Tesis Maestría en ciencias biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rinaudo, V., Bàrberi, P., Giovannetti, M., y van der Heijden, M. G. (2010). Mycorrhizal fungi suppress aggressive agricultural weeds. *Plant and soil* 333(1-2): 7-20.
- Salinas, M. Y., Soria, R. J., y Espinosa, T. E. (2010). Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el Estado de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). México Folleto Técnico no. 42
- Sampaio, H. N., de F. C. Barros, M. D. F., de Oliveira, J. V., Lima F. D., Pedrosa, E. M. (2007). Efeito de doses de nitrogênio e potássio nas injúrias provocadas por *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) na cultura do milho. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 2: 3.
- Smith, S. E., y Gianinazzi-Pearson, V. (1988). Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* 39 (1): 221-244.
- Smith, S. E., y Read, D. J. (1997). Mycorrhizal symbiosis 2nd ed. London Academy press 1-605
- Solís-Domínguez, F. A., Valentín-Vargas, A., Chorover, J., y Maier, R. M. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant biomass and the rhizosphere microbial community structure of mesquite grown in acidic lead/zinc mine tailings. *Science of the Total Environment* 409(6): 1009-1016.
- Strauss, S. Y. y Agrawal, A. A. (1999). La ecología y evolución de la tolerancia de las plantas a la herbivoría. *Trends in Ecology and Evolution* 14 (5): 179-185.
- Valverde, F. (1991). Efecto del nitrógeno y potasio en el desarrollo y rendimiento de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) tipo mercado. (Tesis de Maestría). Colegio de Postgraduados, Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Centro de Edafología, Montecillo, México
- Vatovec, C., Jordan, N., y Huerd, S. (2005). Responsiveness of certain agronomic weed species to arbuscular mycorrhizal fungi. *Renewable Agriculture and Food Systems* 20 (3): 181-189.

- Veiga, R. S., Jansa, J., Frossard, E., y van der Heijden, M. G. (2011). Can arbuscular mycorrhizal fungi reduce the growth of agricultural weeds?. *PloS one*, 6(12).
- Villacrés, B., Medina, M., Cumbal, L., y Villaroel, A. (2014). Implementación de un banco de Hongos Micorrícicos Arbusculares, aislados de suelos del área de influencia de EP PETROCUADOR y su efecto en el desarrollo de plantas de Maíz (*Zea mays*) en condiciones de estrés por cadmio, en La Joya de los Sachas, Provin. In *Congreso de Ciencia y Tecnología* (9(1): 24-35.
- Walker, C. (1992). Systematics and taxonomy of the arbuscular endomycorrhizal fungi (Glomales)-a possible way forward. *Agronomie* 12 (10): 887-897.
- Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C., y Wong, M. H. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125 (1-2): 155-166.
- Zorer, C. Z., Demir, S. R., Demirer, D. E., y Hakki, I. (2010). the effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) applications on the silage maize (*Zea mayz* L.) yield in different Celebi irrigation regimes. *European Journal of Soil Biology* 46: 302-305.

CAPITULO III

EFFECTO DE LAS ASOCIACIONES MICORRÍZICAS Y LA NUTRICIÓN VEGETAL SOBRE LA INTERACCIÓN MAÍZ-INSECTO-BACULOVIRUS

RESUMEN

El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) es la principal plaga del maíz *Zea mays* L. (Poaceae), y para su control se utilizan insecticidas químicos. Una de las alternativas para reducir el uso de estos productos es el uso de los enemigos naturales. El nucleopoliedrovirus múltiple de *S. frugiperda* (SfMNPV) (Baculoviridae) ha sido aislado de poblaciones del gusano cogollero en diversos países y, por sus características infectivas y de especificidad, este patógeno es una promisoría alternativa para ser utilizado como bioinsecticida. Sin embargo, es conocido que la efectividad de los baculovirus como agentes de control puede depender de distintos factores, entre los que destaca las características fisiológicas de la planta huésped. La presente investigación tuvo el objetivo de explorar el efecto de las asociaciones micorrízicas y la nutrición vegetal sobre la interacción maíz-insecto-SfMNPV. Para esto, se realizó un diseño multifactorial con tres factores con dos o tres niveles para cada factor: 1) Tipo de suelo con dos niveles (suelo estéril y suelo HMA), 2) Fertilización con nitrógeno (50 y 100%) y 3) Concentración letal del nucleopoliedrovirus múltiple de *S. frugiperda* (SfMNPV) con tres niveles (Sin SfMNPV, CL₂₅ [4065.8 OBs/ml] y CL₅₀ [26575 OBs/ml]). El cultivo de las plantas de maíz se realizó en un invernadero cubierto y la aplicación del virus se realizó en condiciones de laboratorio. Las larvas que se alimentaron con plantas de maíz tratadas con 50% de nitrógeno, presentaron una mayor mortalidad que las que se alimentaron con 100% del compuesto. Así mismo, las larvas que se alimentaron continuamente con plantas de maíz, sin presencia de HMA, presentaron una mortalidad mayor en comparación con las larvas que se alimentaron con plantas de maíz con HMA. Bajo las condiciones del presente experimento, se concluye que la interacción de los HMA con altos niveles de nitrógeno puede afectar negativamente la capacidad insecticida del SfMNPV para controlar al gusano cogollero. Esta investigación es uno de los primeros estudios que relaciona el impacto de las micorrizas y la nutrición vegetal sobre la capacidad infectiva de un baculovirus; sin embargo, por la naturaleza de los resultados, es importante incluir la respuesta de los herbívoros en términos de la calidad del alimento y su estado fisiológico.

Palabras clave: gusano cogollero, nucleopoliedrovirus, fertilización, control biológico.

1. INTRODUCCIÓN

El maíz, *Zea mays* L. (Poaceae), es uno de los granos con mayor demanda a nivel mundial (León *et al.*, 2012). En México, la aportación de este cultivo es relevante ya que es utilizado en la dieta humana, como alimento forrajero y como insumo industrial. El 50% de la producción nacional de este grano se obtiene principalmente de ocho estados que incluyen: Sinaloa, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Chiapas, Guanajuato, Chihuahua y Veracruz (Salinas *et al.*, 2010; Vargas-Aguirre, 2016).

Uno de los principales problemas a los que se enfrentan los productores de este cultivo es la incidencia de diversos insectos plaga y enfermedades, los cuales pueden afectar su desarrollo y rendimiento (De León, 2008). Entre estas plagas destaca el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), el cual puede atacar a las plantas de maíz desde sus primeras etapas de desarrollo hasta la formación del fruto (Pacheco, 1993; Murúa *et al.*, 2006; Nexticapan *et al.*, 2009).

El uso de insecticidas químicos ha sido la forma más utilizada para el control del gusano cogollero (Bahena *et al.*, 2010). Sin embargo, el uso intensivo de estos compuestos ha originado varios problemas tales como el desarrollo de resistencia, daños al ambiente y pérdida de los insectos benéficos (Williams *et al.*, 1999). Esta situación ha incrementado la necesidad de estudiar alternativas ecológicamente aceptables para el control de insectos como parte de programas de manejo integrado de plagas (Del Rincón *et al.*, 2006; Caballero *et al.*, 2001).

La familia Baculoviridae agrupa virus de ADN de doble cadena que afectan a invertebrados, especialmente a insectos (Miller, 1997; Caballero *et al.*, 2001). Actualmente, estos patógenos son ampliamente usados a nivel mundial como bioinsecticidas, ya que son altamente patogénicos y tienen un rango limitado de hospederos para el control de diferentes plagas de importancia agrícola (Vanarsdall *et al.*, 2007; Valderrama y Villamizar, 2013; Williams, 2018).

El nucleopoliedrovirus múltiple de *S. frugiperda* (SfMNPV) ha sido aislado de poblaciones del gusano cogollero en diversos países: Estados Unidos de América, Nicaragua, Colombia, Argentina (Shapiro *et al.*, 1991; Berretta *et al.*, 1998; Escribano *et al.*, 1999; Barrera *et al.*, 2011) y México (Rios-Velasco *et al.*, 2011). Algunos de estos aislados han sido evaluados bajo condiciones de campo en el sureste de México

para el control de *S. frugiperda*, lo cual ha resultado en niveles importantes de mortalidad larvaria sin afectar a las poblaciones de enemigos naturales (Williams *et al.*, 1999; Armenta *et al.*, 2003).

Si bien, el uso de baculovirus tiene una gran expectativa para el control de plagas, la actividad de estos patógenos puede estar modulada, entre otros factores, por las características morfológicas y fisiológicas de la planta huésped (Cory y Hoover, 2006; Cory y Evans, 2007). Este fenómeno ha sido observado en larvas de *S. frugiperda* cuya susceptibilidad al SfMNPV puede ser distinta al alimentarse de varias especies de gramíneas (e. g., maíz, sorgo, soya y algunos pastos) (Fuxa *et al.*, 2007). Algunas características de las plantas que pueden alterar la susceptibilidad de los insectos a la infección por baculovirus, incluyen su composición química, pH y calidad alimenticia (Fuxa, 2004; Cory y Hoover, 2006).

Por otro lado, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), son microorganismos simbióticos que proporcionan una mayor ventaja fisiológica a las plantas (Hernández y Chailloux, 2004; Ferraris *et al.*, 2006; Celebi *et al.*, 2010). En el ámbito agrícola, éstos tienen un gran potencial debido a que transfieren minerales inmóviles del suelo y ayudan a que las plantas incrementen la exploración del suelo, aumenten la absorción y transporte de nutrientes como fósforo, nitrógeno, cobre y zinc, entre otros (Ferraris *et al.*, 2006; Barrer, 2009). Además, los HMA ofrecen múltiples beneficios, puesto que las plantas son más resistentes a condiciones ambientales adversas provocadas por la falta de agua y nutrimentos esenciales, ataque de microorganismos fitopatógenos y algunas plagas (Finlay, 2008).

En el Capítulo II de la tesis se observó que la tasa de consumo del gusano cogollero se incrementó significativamente cuando éste se alimentó sobre plantas de maíz micorrizadas y enriquecidas con altos niveles nitrógeno. En el presente estudio se planteó la hipótesis que este evento impacta positivamente sobre el grado de infección del SfMNPV debido a que se tiene una mayor posibilidad de consumir el inoculo viral por parte del insecto. Además, esta investigación está sustentada en que, para el control de plagas, bajo un esquema de control biológico, es necesario tener en cuenta más de dos niveles tróficos cuando es implementado un programa para controlar un insecto dañino (Price, 1980; Letorneau, 1988; Rojas y Malo, 2012).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación del estudio y diseño experimental

Los experimentos se realizaron en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIAF-UMSNH) y en el Instituto de Investigación de Ecosistemas y Sustentabilidad de la Universidad Nacional Autónoma de México (IIES-UNAM). Este experimento se realizó en dos fases; en la primera, las plantas se desarrollaron en condiciones de invernadero y, en la segunda, éstas se transportaron al laboratorio para ser sometidos a los distintos tratamientos. Para ello, se realizó un diseño multifactorial con tres factores y con dos o tres niveles para cada factor: 1) Tipo de suelo con dos niveles (suelo estéril y suelo con HMA), 2) Fertilización con nitrógeno (50 y 100%) y 3) Concentración letal del SfMNPV con tres niveles (Sin SfMNPV, CL₂₅ [4065.8 OBs/ml] y CL₅₀ [26575 OBs/ml]). En total se obtuvieron 12 tratamientos con cinco repeticiones, dando un total de 60 unidades experimentales (2x2x3x5).

2.2 Material biológico

Cría del insecto. Se usaron larvas de *S. frugiperda* de segundo estadio (~ 8 h después de la ecdisis) provenientes de una colonia establecida en el IIES-UNAM. Los adultos se alimentaron con una solución con miel de abeja a 15%. Las larvas se alimentaron con una dieta semi-sintética modificada de la propuesta por Poitout y Bues (1974). Las condiciones ambientales de cría fueron de 25 ± 2 °C, 60 ± 5 % de HR y 12:12 (L: O).

Maíz. Se utilizó un híbrido de la variedad PUMA proveniente de la empresa ASGROW[®], esta semilla es de uso amplio en el país. La producción de las plantas y las condiciones de su fertilización (50 y 100% de nitrógeno) se realizaron bajo la misma metodología descrita en el capítulo II.

HMA. El suelo que se utilizó para cultivar las plantas de maíz se obtuvo de cultivos de maíz establecidos en el Centro Regional Universitario Centro Occidente (CRUCO). En este suelo, se ha confirmado la presencia de HMA nativos pertenecientes a los géneros *Acauloespora*, *Megaespora*, *Gigaespora* e *Intraespora* (López-Carmona, 2013; Aguilar, 2017).

SfMNPV. El virus se obtuvo del laboratorio de Patología de Insectos del IIAF-UMSNH, el cual procede de muestras de suelo colectadas en Mérida, Yucatán

(Hernández-Camargo, 2019). Para la replicación se emplearon larvas de *S. frugiperda* de cuarto estadio criadas en el IIAF (8-12 h después de la ecdisis), éstas se colocaron individualmente en celdas cilíndricas (2 cm³) de cajas para cultivo de tejido de 24 celdas. Estas larvas se dejaron sin alimento cuatro horas antes de la inoculación. Cada celda contenía un trozo de dieta de aproximadamente 1 cm³ tratado uniformemente con 15 µl de una concentración de 1x10⁸ OBs/ml.

Después de tres días, las larvas se transfirieron individualmente a celdas limpias provistas con dieta libre del virus. Las larvas se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales descritas previamente y se observaron diariamente hasta la manifestación de los síntomas de la infección (pérdida de movilidad y cambio en la coloración de blanquecino o amarillento a café oscuro) (García-Banderas, 2016). Estas larvas se maceraron, suspendieron en agua destilada y purificaron por filtración con el uso de dos mallas finas de acero; una de 80 y otra 120 micra. La cuantificación de los OBs se realizó en una cámara de Neubauer Improved (Hawksley, Lancing, Reino Unido) a 40x con un microscopio con contraste de fases Olympus BX41 (fase 2). La suspensión de cada uno de los aislados del SfMNPV se almacenó a -20 ° C hasta su posterior uso.

2.3. Bioensayos para determinar las concentraciones letales del SfMNPV

Previo al experimento, se realizaron bioensayos para determinar las dos concentraciones letales anteriormente señaladas (CL₂₅ ó CL₅₀) para larvas de segundo estadio de *S. frugiperda*. Para ello, se utilizó la técnica de contaminación de hoja descrita por Evans y Shapiro (1994) con algunas modificaciones. Las hojas de maíz se obtuvieron de plantas cultivadas en invernadero y se utilizaron cuando tuvieron seis semanas de edad. Se utilizaron cinco concentraciones del SfMNPV (1 x 10³, 1 x 10⁴, 1 x 10⁵, 1 x 10⁶ y 1 x 10⁷ OBs/ml), mismas que se prepararon en 15 ml de una solución de sodio duodecil sulfato (SDS) al 0.01% en frascos de vidrio ámbar de 35 ml de capacidad. Un lote de 12 piezas de hojas de maíz (rectángulos de 20 mm² X 15 mm²) se sumergió en cada concentración durante 10 min. Los rectángulos se colocaron sobre mallas de plástico para su secado durante 30 min. Posteriormente, éstos se colocaron individualmente en cajas de 12 celdas para cultivo de tejidos (Corning®, New York, New York, EU), las cuales contuvieron en su base papel filtro húmedo para evitar su desecación. Se colocó una larva de segundo estadio sobre cada rectángulo de hoja de maíz y se utilizaron 12

larvas por concentración con tres réplicas. Las hojas testigo se trataron únicamente con agua con SDS.

Después de 72 h de exposición al tratamiento, las larvas se transfirieron a placas provistas con dieta semisintética para continuar su observación. La mortalidad larvaria se registró en periodos de 24 h y los datos se analizaron mediante un análisis Probit (Finney, 1972) con el programa POLO PC (LeOra Software, 1987). Mediante este programa se obtuvieron las líneas de regresión y el grado de heterogeneidad calculado mediante la prueba de χ^2 para un nivel de significancia de 95%.

2.4. Bioensayos para determinar el efecto de las micorrizas y la nutrición de las plantas sobre la interacción maíz-insecto-virus

Metodología 1. Las aplicaciones de las CL₂₅ ó CL₅₀ del SfMNPV se realizaron sobre las plantas de maíz que se establecieron en condiciones de invernadero con los factores anteriormente señalados. Como testigo, se utilizaron plantas sin la aplicación del virus. Se utilizaron un total de cinco repeticiones por tratamiento (una planta por repetición). La aplicación se realizó a punto de goteo con la ayuda de un aspersor manual de plástico de 0.5 L de capacidad. Para aumentar la deposición del virus sobre las hojas, se utilizó SDS al 0.01%. Después de las aplicaciones, las plantas se dejaron secar por una hora y se cortó una hoja por planta desde su base. Cada hoja se colocó en un contenedor de plástico (1 L de capacidad), el cual se cubrió con papel servitoalla y con una tapa perforada que permita una adecuada ventilación. A cada contenedor, se le colocó un rectángulo de papel filtro 20 x 10 cm² humedecido con agua destilada con el fin de evitar la desecación de las hojas. Por cada hoja, se colocaron 12 larvas de segundo estadio de *S. frugiperda*, las cuales estuvieron previamente en ayuno durante 8 h y se mantuvieron en este sistema durante 36 h. Posteriormente, las larvas se transfirieron individualmente a cajas de cultivo de tejido de 12 celdas, provista con piezas de hoja maíz (~20 x 10 mm²) del mismo tratamiento, pero sin virus. Las celdas se cubrieron una capa de papel filtro húmedo para evitar la desecación de las piezas y después se colocó la tapa. En este sistema, se dejaron durante 24 h y, posteriormente, se cambiaron a celdas provistas con dieta semi-sintética libre de virus. La mortalidad larvaria se cuantifico diariamente a partir del tercer día durante siete días posteriores a la aplicación del virus.

Metodología 2. Esta metodología fue similar a la descrita en la metodología anterior, con las siguientes diferencias: las hojas de maíz se cortaron desde su base y se colocaron en un recipiente (25 x 15 x 9.5 cm³) que contenía la concentración letal del virus (CL₂₅ ó CL₅₀) en un volumen de 700 ml de agua + SDS al 0.01%. Las hojas se mantuvieron en un movimiento suave (100 rpm) durante un min en un agitador MAX Q 2000 Thermo Scientific (Waltham, Massachusetts, Estados Unidos). Posteriormente, las hojas se dejaron secar sobre una malla de plástico hasta el secado de las mismas. Cada hoja, se colocó en recipiente redondo de medio litro de capacidad y se les colocaron 25 larvas de segundo estadio de *S. frugiperda*, las cuales se mantuvieron previamente en ayuno durante 8 h. Cada contenedor contenía un papel filtro húmedo en su base y se cubrió con una película plástica y una tapa para evitar el escape de las larvas.

Cabe señalar, que previamente se realizaron observaciones para garantizar que en este sistema se conservara la turgencia de la hoja y se tuviera un adecuado desarrollo de los insectos. Las larvas se mantuvieron en este sistema durante 40 h y después se transfirieron individualmente a placas de cultivo de tejidos de 24 celdas. En cada celda se colocó una pieza rectangular de hoja de maíz (1 x 2 cm²) proveniente del mismo tratamiento, pero en ausencia del virus. Las placas se mantuvieron en temperatura ambiente y cada tercer día se realizó un cambio de pieza de hoja maíz hasta el décimo día post-tratamiento (dpt). A partir del 11^o dpt, las larvas se pesaron individualmente y se colocaron en nuevas cajas de cultivo de tejidos de 24 celdas, a las cuales se les suministró un cuadro de dieta semi-sintética propuesta por Poitout y Bues (1974). Todos los individuos se revisaron diariamente hasta la formación de la pupa. Además, cuando el adulto emergió se registró el sexo y día de la emergencia.

2.5. Tinción de las raíces y lectura de colonización de raíces con HMA

Para confirmar presencia de micorrizas en las raíces de las plantas, éstas, se descongelaron y se procesaron de acuerdo con la técnica modificada de clareo y tinción propuesta por Phillips y Hayman (1970). Para ello, las raíces se lavaron hasta eliminar todos los residuos de suelo, posteriormente, con unas tijeras se cortaron en fragmentos de aproximadamente 1 cm³ y se homogenizaron los fragmentos de cada raíz en una en un recipiente con agua. Después, se extrajeron 2 g de raíz y se colocaron en tubos falcón a los cuales se les adicionó KOH al 10%, los tubos se taparon y se colocaron en baño

María durante 15 minutos a 70 °C. Al terminar este tiempo, las raíces se enjuagaron con agua corriente. Posteriormente, se les adicionó agua oxigenada (H₂O₂) durante 30 min a temperatura ambiente. Finalmente, las raíces se enjuagaron y después se les adicionó azul tripano al 0.05% hasta cubrirlas. Después las raíces se colocaron en baño María durante 10 min a 70 °C. Se eliminó el exceso de colorante y las raíces se enjuagaron cuidadosamente para colocarlas en tubos colonizadores de plástico con glicerina con el fin de almacenarlas y posteriormente realizar la cuantificación micorrízica. Para el conteo de esporas en la raíz se realizó un conteo por el método de línea-intercepto (Giovannetti y Mosse, 1980), basado en la presencia y ausencia de estructuras micorrízicas, en las raíces, que interceptaron sobre las líneas de una cuadrícula dibujadas en una caja Petri (1 x 1 cm²). La cuantificación se efectuó con un microscopio estereoscopio de la marca AmScope a 4X.

2.6. Análisis estadísticos

Para ambos experimentos se emplearon análisis tipo ANOVA de tres vías para buscar diferencias significativas, y se aplicó la prueba de Bartlett para la verificación de homogeneidad de varianza y la prueba de Tukey para encontrar diferencias entre medias. Todos los análisis se realizaron en el programa Statgraphic Centurion XV versión 2.06 (Statpoint[®]) y Sigma Plot para el diseño de los gráficos.

3. RESULTADOS

3.1 Bioensayos para determinar la susceptibilidad de las larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* al SfMNPV

El inicio de la mortalidad larvaria se observó a partir de las 120 h posteriores a la realización del bioensayo (Figura 1). En general, se observó una relación positiva entre la mortalidad y la concentración, con excepción de la concentración 1 x 10⁵ OBs/ml, cuya mortalidad fue menor a la concentración que le antecedió (1 x 10⁴ OBs/ml). El ajuste al modelo Probit se obtuvo a las 168 h (Cuadro 1). Los valores de las CL₅₀ y CL₂₅ se utilizaron para evaluar el efecto de las micorrizas sobre la interacción maíz-insecto-virus.

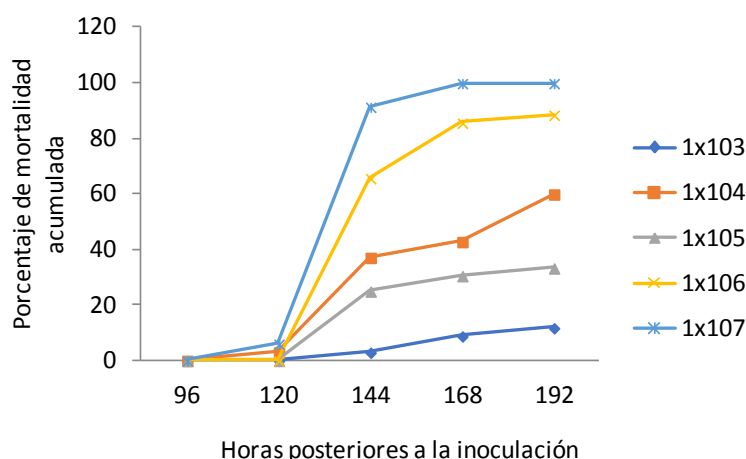


Figura 1. Porcentaje de mortalidad acumulada por SfMNPV-MER en larvas de segundo estadio. Las concentraciones se estimaron en OBs/ml.

Cuadro 1. Análisis de regresión a las 168 h en larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* muertas por la exposición a los aislados de SfMNPV-MER.

	OBs/ml	Límites de confianza al 95%	Pendiente- Ordenada al origen $\pm$ EE	X ²
CL ₅₀	26575	2246.4-2.28X10 ⁷	0.82 $\pm$ 0.11-3.6 $\pm$ 0.51	^a 2.43
CL ₂₅	4065.8	44.6-26458	-----	-----

^a Valores de la X² se encuentran dentro de los valores tabulados al 95% de confianza.

3.2 Efecto de las micorrizas y la nutrición de las plantas sobre la interacción maíz-insecto-virus

Metodología 1. No se observaron diferencias significativas entre la mortalidad larvaria por virus y el factor HMA (Cuadro 2, Figura 2A). En contraste, la mortalidad y el factor nitrógeno fueron significativamente distintos ($P < 0.05$). En este caso, se observó una mortalidad menor en la mayor concentración de nitrógeno (1.6 veces) comparado con la menor concentración (Figura 2B). Así mismo, se observaron diferencias significativas entre la mortalidad larvaria y las diferentes concentraciones aplicadas ($P < 0.001$). Contrario a lo esperado, las larvas que presentaron un mayor porcentaje de mortalidad

fueron aquellas que se trataron con la concentración CL₂₅ (Figura 2C). La mortalidad del testigo no superó el 10%. No se observaron diferencias significativas entre ninguna de las interacciones (Cuadro 2).

Cuadro 2. Análisis ANOVA (metodologías 1 y 2) con los factores hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (suelo estéril y HMA), nitrógeno (50 y 100%) y concentración letal (CL) (0, 25 y 50).

Mortalidad por							
virus	HMA	Nitrógeno	CL	HMA X N	HMA X CL	N X CL	HMA X N X CL
Metodología 1	0.21	*	***	0.73	0.67	0.29	0.70
Metodología 2	**	*	***	0.44	0.54	0.44	---

* P < 0.05 ** P < 0.01 *** P < 0.001.

Metodología 2. Similar a lo observaron en la metodología 1, no se observaron diferencias significativas en ninguna de las interacciones (Cuadro 1). En contraste, si se observaron diferencias entre la mortalidad por el virus y los factores HMA, nitrógeno y concentración ($P < 0.05$) (Cuadro 1). Así mismo, las larvas que se alimentaron con plantas de maíz tratadas con 50% de nitrógeno presentaron una mortalidad significativamente mayor (1.4 veces) que las que se alimentaron con 100% de nitrógeno. Por otro lado, las larvas que se expusieron a la CL₅₀ presentaron un porcentaje de mortalidad significativamente mayor que las larvas expuestas a la concentración menor (CL₂₅) ($P < 0.001$) (Figura 2). La mortalidad del testigo no superó el 17%. No se observaron diferencias significativas en el tiempo de desarrollo y el peso de *S. frugiperda* cuando las larvas se alimentaron con las hojas de maíz tratadas con la CL₂₅ y dos niveles de nitrógeno (Cuadro 3).

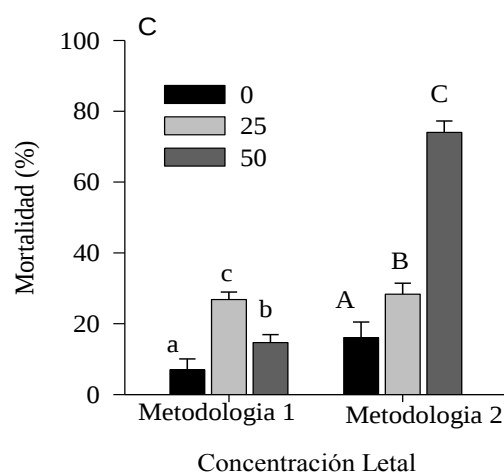
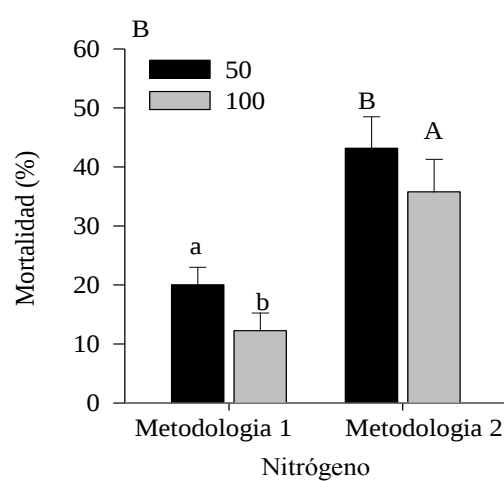
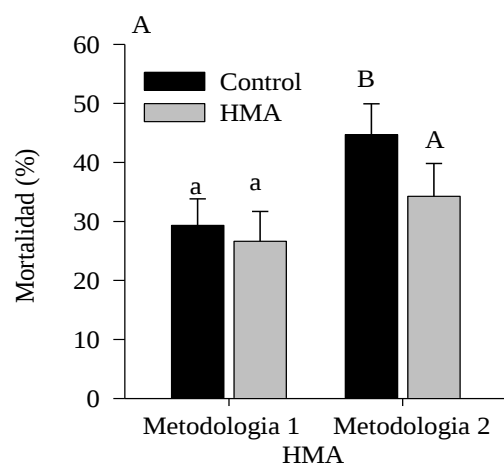


Figura 2. Porcentaje de mortalidad larvaria ($\pm$ EE) de *S. frugiperda* después de alimentarse con hojas de maíz de plantas tratadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y dos niveles de nitrógeno (50 y 100%); influencia del nitrógeno (A) y de la

concentración letal (B). Barras encabezadas con la misma letra no son significativamente diferentes (ver estadísticos en el cuadro 2).

Se obtuvo una diferencia significativa en el peso de las larvas antes de alimentarse con dieta ($p < 0.05$). Las larvas que se alimentaron con HMA presentaron un mayor peso larval en comparación con las testigos (Figura 3)

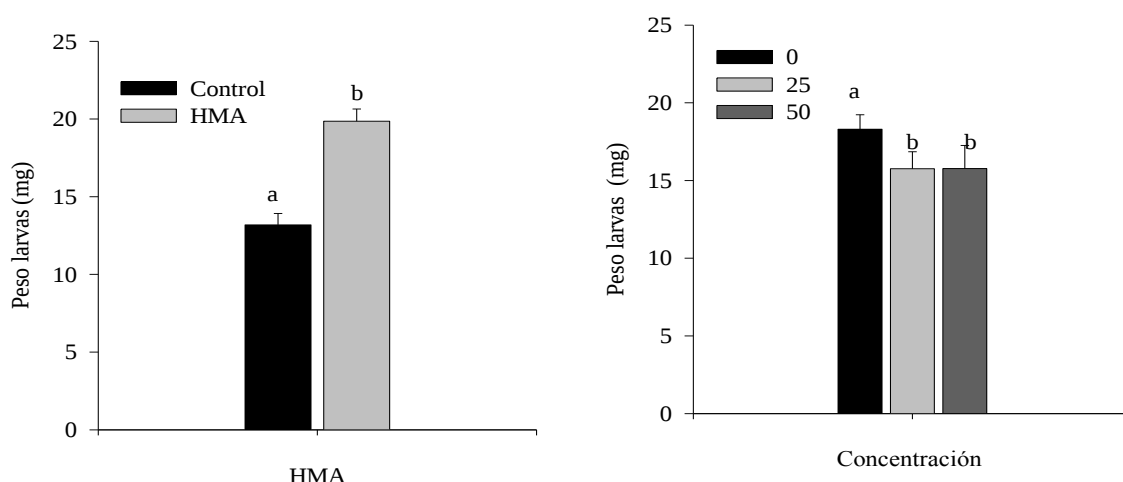


Figura 3. Peso larval de larvas alimentadas con hoja al 50 y 100% de nitrógeno y de la concentración letal.

Cuadro 3. Desarrollo de *S. frugiperda* después que las larvas de segundo estadio se inocularon con el virus.

Suelo	Nitrógeno	Concentración letal	Duración de larva-pupa $\pm$ EE (mg) ^a	Duración de pupa $\pm$ EE (días) ^b	Peso pupa $\pm$ EE (mg) ^c
HMA	50	0	26.48 $\pm$ 0.35 a	11.12 $\pm$ 0.27 a	176.37 $\pm$ 6.59 a
		25	26.63 $\pm$ 0.32 a	11.0 $\pm$ 0.38 a	177.65 $\pm$ 23.14 a
	100	0	27.15 $\pm$ 0.25 a	11.13 $\pm$ 0.28 a	165.79 $\pm$ 6.58 a
		25	27.37 $\pm$ 0.37 a	11.13 $\pm$ 0.29 a	161.98 $\pm$ 8.75 a
Estéril	50	0	29.77 $\pm$ 3.29 a	11.0 $\pm$ 0.52 a	192.15 $\pm$ 7.26 a
		25	27.0 $\pm$ 0.49 a	11.0 $\pm$ 0.44 a	166.25 $\pm$ 13.37 a
	100	0	25.47 $\pm$ 0.27 a	11.4 $\pm$ 0.78 a	152.46 $\pm$ 6.90 a
		25	25.33 $\pm$ 0.33 a	12.33 $\pm$ 1.45 a	173.56 $\pm$ 12.51 a

Letras iguales dentro de la misma columna no difieren significativamente. ^a Chi-cuadrado = 19.86, g.l.= 7; $p = 0.006$. ^b F = 1.50, g.l.= 7,91; $p = 402$. ^c F = 1.76, g.l.=7,94; $p = 0.105$).

3.3 Porcentaje de colonización de los HMA

Todas las plantas tratadas con los HMA presentaron colonización intra-radical; sin embargo, esta colonización se cuantificó con base en la presencia de micelio, ya que en ningún caso se observaron esporas ni vesículas. No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de colonización de los HMA entre las plantas fertilizadas con 50 y 100% de nitrógeno. El nivel de colonización se observó de 32 y 30% ($P = 0.18$) en las plantas destinadas para la metodología 1, mientras que en las plantas destinadas para la metodología 2, la colonización se observó entre 22 y 24%, respectivamente ($P = 4.22$). En ningún caso se observó la presencia de los HMA en las plantas testigo.

4. DISCUSIÓN

Debido a la importancia de los baculovirus para el control de plagas, la mayoría de los estudios se han enfocado en la asociación insecto-patógeno (Dias-Vasconcelos, 2001). Sin embargo, esto representa una simplificación de la compleja red de interacciones que existe entre las especies en las poblaciones naturales (Cory *et al.*, 1997, 2010), especialmente porque las plantas tienen un fuerte impacto sobre la persistencia de estos patógenos (Cory *et al.*, 1997; Dias-Vasconcelos, 2001; Cory y Evans, 2007). Contrario a nuestra hipótesis, la asociación de los HMA en las plantas de maíz provocó una disminución en la tasa de infección por el baculovirus; sin embargo, esta sólo fue significativa cuando el insecto se alimentó continuamente con las plantas tratadas con los HMA (metodología 2). Por otro lado, en ambos experimentos, el nitrógeno fue un factor que también influyó negativamente sobre el número de individuos muertos por el patógeno. En este caso, la tasa de muerte fue menor cuando las larvas se alimentaron con la mayor concentración del compuesto (100%).

Aunque las razones de los anteriores resultados no son claras, posiblemente se relacionan con la respuesta del insecto al consumir plantas con un alto nivel nutricional, el cual quizás fue adquirido tanto por el nivel de fertilización como por la influencia de los HMA (Allen *et al.*, 2003; Ferraris *et al.*, 2006; Barrer, 2009; Wang, 2016; Liu, 2019). En el capítulo II de la tesis fue claro que los HMA favorecieron la acumulación de fósforo y nitrógeno en las hojas, por lo tanto, no se descarta que esto haya ocurrido en el presente estudio. Aunado a ello, se conoce que la incorporación de nitrógeno en

las plantas tiene la función de inducir un mejor efecto de los HMA (Espinosa-Cuéllar *et al.* 2015).

En general, el papel de la nutrición del insecto hospedero en el proceso de infección de los baculovirus ha sido poco estudiado. Sin embargo, la calidad alimenticia de las plantas podría influir en la adquisición de la enfermedad, ya que las proteínas, derivadas de la plantas (Paungfoo-Lonhienne, 2008), pueden fortalecer el sistema inmunológico y el desarrollo de los insectos en general (Siva-Jothy y Thompson, 2002) y desencadenar un importante mecanismo de defensa contra los baculovirus (Lee, 2002; Cory y Myers, 2003; Cory, 2010; Ribeiro *et al.*, 2017). Cabe señalar que debido a que el índice proteico de las plantas está relacionado con el aumento de los niveles de nitrógeno (AtanasovaAtananova, 2008), esto posiblemente influyó en la resistencia de *S. frugiperda* hacia el patógeno.

Al respecto, Peng *et al.*, (1999) observaron que las larvas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) alimentadas con *Vicia luteola* (Janq.) Benth (Fabaceae) fueron más resistentes a su nucleopoliedrovirus (AgMNPV) comparado con insectos alimentados con hojas de soya, *Glicine max* L., (Fabacea). Así mismo, Povey *et al.* (2014) observaron que las larvas de *Spodoptera exempta* (Walker) expuestas a dietas con un alto contenido proteico fueron más resistentes a su nucleopoliedrovirus (SpexNPV). En relación a *S. frugiperda*, también se ha observado que, al alimentarse con distintas especies de plantas, la susceptibilidad de las larvas hacia el SfMNPV es significativamente distinta (Richter *et al.*, 1987). Sin embargo, el efecto de las plantas sobre la dinámica de los baculovirus aún amerita futuros estudios, sobre todo aquellos relacionados con la resistencia hacia éstos patógenos.

Aunque en el presente estudio la respuesta inmune de las larvas de *S. frugiperda* hacia el SfMNPV posiblemente se incrementó al ser alimentadas continuamente con plantas con un alto nivel nutricional, no se observó un efecto significativo en el tiempo de desarrollo y el peso de pupas cuando las larvas se alimentaron con las hojas de maíz de plantas tratadas los HMA, dos niveles de nitrógeno y una concentración del virus (CL₂₅). Esto posiblemente puede indicar que los insectos sobrevivientes a la infección pueden adaptarse a cambios en la calidad de su dieta, posiblemente compensando su tasa de ingestión. Similarmente, Hernández-Camargo (2019) observó que el peso promedio de las pupas de *S. frugiperda* (150 mg) de individuos sobrevivientes a una

infección por el mismo aislado del SfMNPV utilizado en el presente estudio no fue significativamente distinto al testigo (152 mg). Así mismo, Murray *et al.* (1991) determinaron que el peso de las pupas de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Erebidæ) de individuos sobrevivientes a dosis subletales de su nucleopoliedrovirus (LdMNPV) no fue significativamente distinto al testigo. En contraste, Myers *et al.* (2000) observaron que un grupo de pupas de *L. dispar* que sobrevivieron a una infección causada por el LdMNPV fueron significativamente más pequeñas (1.58 g) que las pupas de control (1.91 g). Las diferencias entre estos estudios, incluyendo el nuestro, posiblemente se relacionen con las características de los distintos aislados, la concentración utilizada y el desarrollo experimental.

En general, los promedios de pesos pupas de *S. frugiperda* (rango de 153 a 192 mg) tiempo de desarrollo de larva-pupa (25 a 30 días) y tiempo de desarrollo de pupa (11 a 12 días) del presente estudio, fueron menores o similares comparados con otros estudios. Por ejemplo, Martínez *et al.* (2004) y Huerta-Valdovinos *et al.* (2016) obtuvieron un rango de peso de pupas entre 200 y 224 mg en crías del gusano cogollero alimentadas con una dieta semisintética. López *et al.* (1999) observaron pesos en un rango de 156 a 215 mg entre cinco poblaciones mexicanas alimentadas con un genotipo de maíz. Da Rosa *et al.* (2012) observaron una mayor variabilidad en el peso de pupas (20 a 134 mg) de una población brasileña alimentada con distintas variedades de maíz. Arévalo y Zenner (2009) evaluaron los parámetros biológicos de una población de *S. frugiperda* colectada en Colombia en condiciones de laboratorio. En este estudio, la duración de larvas y pupas se observó en un rango de 19.55 ± 1.17 a 30.1 ± 4.62 días y 10.94 a 14.68 días, respectivamente, cuando las larvas se alimentaron con distintas dietas, incluyendo hojas de maíz y dieta artificial. Es claro que las diferencias en el desarrollo del insecto pueden relacionarse con las características biológicas de cada población, el tipo de dieta y las condiciones ambientales.

Por otro lado, el efecto de los metabolitos secundarios producidos por las plantas sobre la actividad de los baculovirus es un factor que ha sido ampliamente estudiando (Duffey *et al.*, 1995; Cory y Hoover, 2006; Cory, 2010). Por ejemplo, estudios de laboratorio indicaron que una proporción de caseína, sales (Keating *et al.*, 1988) y taninos (Hunter y Schultz, 1993) pueden reducir la infectividad de los baculovirus. Así mismo, los compuestos fenólicos se han relacionado con la susceptibilidad del huésped hacia los baculovirus (Raymond *et al.*, 2002). Sin embargo, la influencia de los

metabolitos secundarios es extremadamente compleja, ya que ellos interactúan entre sí y muchas veces el efecto de una sola sustancia puede ser enmascarada (Dias-Vasconcelos, 2001).

Por la naturaleza del presente estudio, la influencia de los metabolitos secundarios por efecto de la herbivoría y los HMA (Camarena-Gutiérrez, 2009; Jinfeng, 2018) no se descarta. Especialmente, porque la síntesis de varios compuestos secundarios puede estar relacionadas con la presencia de estos hongos. Por ejemplo, Ramírez-Gómez y Rodríguez (2012) señalaron, que las plantas pueden activar una línea de sistémica de defensa, conocida como “resistencia inducida”, la cual puede ser activada por organismos benéficos, entre ellos los HMA y rizobacterias. La activación de respuesta de defensa acompañada de una estrategia efectiva es fundamental para el control de plagas, ya que se generan metabolitos secundarios que pueden alterar la herbivoría (Camarena-Gutiérrez, 2009). Sin embargo, en algunos sistemas, los niveles de herbivoría causados por varios insectos (e.g. crisomélidos, lepidópteros y homópteros) sobre *Datura stramonium* L. (Solanaceae) no se relacionaron significativamente con la intensidad de la colonización micorrízica (Aguilar-Chama *et al.*, 2016).

Por otro lado, en ambas metodologías de bioensayo, se observó una similar influencia de los HMA y los niveles de nitrógeno sobre la mortalidad larvaria de *S. frugiperda*; sin embargo, el mayor porcentaje de muerte (35-40%) ocurrió en la metodología 2, lo cual posiblemente se relaciona con una mejor deposición del virus sobre las hojas y/o un mayor tiempo de exposición al virus. Así mismo, en dicha metodología las larvas se alimentaron durante un tiempo más prolongado (10 días) con hojas de maíz, lo cual posiblemente tuvo un impacto sobre su susceptibilidad. Como se mencionó anteriormente, las plantas son componentes altamente activos en la interacción insecto-baculovirus, ya que exhiben respuestas bioquímicas y fisiológicas que pueden afectar las tasas de infección de estos patógenos, lo cual puede ocurrir en la fase previa y la infectiva (Duffey *et al.* 1995; Dias-Vasconcelos, 2001).

En relación al nivel de colonización de los HMA en las plantas de maíz, la presencia del hongo no fue distinta entre las plantas tratadas con 50 (22%) y 100% (24%) de nitrógeno, lo cual podría indicar que el crecimiento de los HMA puede inducirse con niveles más bajos del compuesto. Al respecto, Usuga-Osorio *et al.* (2008) observaron que la fertilización de plantas de banano, *Musa* AAA cv. Gran Enano (Musaceae), con base en nitrógeno, fósforo y nitrato de potasio, no afectó

significativamente la asociación de los HMA (35 y 37%) cuando el fertilizante se aplicó con la dosis completa requerida por planta y la mitad de esta, respectivamente. Similarmente, Pérez-Luna *et al.* (2012) observaron que el porcentaje de colonización de un consorcio natural de HMA no varió significativamente entre parcelas de maíz con o sin la aplicación de un fertilizante vegetal (70 y 76%, respectivamente). En contraste, Montañó-Arias *et al.*, (2001) observaron un mayor porcentaje de colonización micorrízica en genotipos en maíz y trigo con baja eficiencia nutrimental de nitrógeno y fósforo. Asimismo, Pedraza *et al.* (2001) señalaron, que cuando las plantas de *G. jamesonii* L. (Asteraceae) se fertilizaron con 32 y 64 mg kg⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, el porcentaje de colonización de los HMA fue mayor en la tasa más baja (72 y 63%, respectivamente). Las diferencias en el porcentaje de colonización entre estos estudios y el nuestro, posiblemente se relacionan con varios factores, entre ellos, las distintas especies de plantas, las diferentes condiciones del suelo, la diversidad de los hongos y las condiciones de establecimiento de los experimentos. Cabe señalar que, en el presente estudio, sólo se observó la presencia de los HMA por su micelio intra-radical, lo cual posiblemente se atribuye al tiempo de colonización y a la edad de las plantas analizadas (entre 54 y 45 días para ambas metodologías). Al respecto se conoce que las esporas aparecen en etapas posteriores del desarrollo simbiótico (Jakobsen, 1992).

En general, el uso de los baculovirus (Moscardi, 1999; Zamora-Avilés *et al.*, 2017; Williams, 2018) y las micorrizas (Cuenca, 2007; Barrer, 2009) en la agricultura es muy amplio y con importantes expectativas en la mejora de la calidad de los cultivos y su productividad. Sin embargo, bajo las condiciones del presente experimento, se concluye que su presencia, en combinación con altos niveles de nitrógeno, puede afectar la capacidad insecticida del SfMNPV para controlar al gusano cogollero.

5. LITERATURA CITADA

- Aguilar-Chama, A., Guevara, R., y Rocha, S. (2016). Herbivoría y micorrizas arbusculares en poblaciones naturales de *Datura stramonium* L. relación con la disponibilidad de nutrientes en el suelo. *Polibotánica* 41: 49-65
- Allen, M. F., Swenson, W., Querejeta, J. I., Egerton-Warburton, L. M., y Treseder, K. K. (2003). Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex

- interactions among plants and fungi. *Annual Review of Phytopathology* 41 (1): 271-303.
- Arévalo, H., y Zenner, de Polanía, I. (2009). Evaluación de dietas merídicas para la cría en laboratorio de *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. UDCA Actualidad. y Divulgacion. Científica* 12(1): 79-90.
- Armenta, R., Martínez, A. M., Chapman, J. W., Magallanes, R., Goulson, D., Caballero, P. y Penagos, D. I. (2003). Impact of a nucleopolyhedrovirus bioinsecticide and selected synthetic insecticides on the abundance of insect natural enemies on maize in southern Mexico. *Journal of Economic Entomology* 96 (3): 649-661.
- Atanasova, E. (2008). Effect of nitrogen sources on the nitrogenous forms and accumulation of amino acid in head cabbage. *Plant Soil and Environment* 54(2): 66.
- Bahena, J. F., De Lange, E., Farnier, K., Cortez, M. E., Sánchez, M. R., García P. F., Miranda, S. M., Degen, T., Gaudillat, B., y Aguilar, R. R. (2010). Parasitismo en gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el centro de México. En: XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Uruapan, Michoacán. México 204-209 pp.
- Barrer, S. E. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 7:1
- Barrera, G., Simón, O., Villamizar, L., Williams, T., y Caballero, P. (2011). *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide: genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. *Biological Control* 58(2): 113-120.
- Berretta, M. F., Rios, M. L., y de Cap, A. S. (1998). Characterization of a nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera frugiperda* from Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology* 71: 280-282.
- Caballero, Blissad, P., López-Ferber, M., y Williams, T. (2001). Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Editorial Phytoma. España. Universidad Pública de Navarra 517 pp.

- Camarena-Gutiérrez, G. (2009). Señales en la interacción planta insecto. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente* 15 (1): 81-85.
- Celebi, S. Z., Demir, S., Celebi, R., Durak, E. D., y Yilmaz, I. H. (2010). The effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) applications on the silage maize (*Zea mays* L.) yield in different irrigation regimes. *European Journal of Soil Biology* 46 (5): 302-305.
- Cory, J. S y Evans, H. F. (2007). Viruses In: L.A. Lacey y H.K. Kaya (eds.), *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Springer Dordrecht.149–174.
- Cory, J. S., (2010). The ecology of baculoviruses, in: Asgari, S., Johnson K. (eds.), *Insect Virology*. Caister Academic Press, Norfolk, pp. 411–427.
- Cory, J. S., Hails, R. S., y Sait, S. M. (1997). Baculovirus ecology. En: *The Baculoviruses* (L. K. Miller, ed.), Plenum Press, New York 301-339 pp.
- Cory, J. S., y Hoover, K. (2006). Plant-mediated effects in insect–pathogen interactions. *Trends in ecology evolution* 21(5): 278-286.
- Cory, J. S., y Myers, J. H. (2003). The ecology and evolution of insect baculoviruses. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34(1): 239-272.
- Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, G., Hasmy, Z., y Urdaneta, C. (2007). Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia* 32 (1).
- da Rosa, A. P. A., Trecha, C. O., Alves, A. C., Garcia, L., y Gonçalves, V. P. (2012). Biology and fertility life table of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) in strains of corn. *Arquivos do Instituto Biológico* 79(1): 39-45.
- De León, C. (2008). Enfermedades importantes. En: *El cultivo del maíz. Temas selectos* (Rodríguez M.R., De León C., eds). Colegio de Postgraduados-Mundi-Prensa, México DF. 47-62 pp.
- Del Rincón, C. M. C., Méndez-Lozano, J., Ibarra, J. E. (2006) Caracterización de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* con actividad insecticida hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae). *Folia Entomologica mexicana* 45: 157-164

- Dias-Vasconcelos, S. D. (2001). Ecología de los baculovirus. In Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas 143-202). pp.
- Duffey, S. S., Hoover, K., Bonning, B., y Hammock, B. D. (1995). The impact of host plant on the efficacy of baculoviruses. *Reviews in pesticide toxicology* 3 137-295
- Escribano, A., Williams, T., Goulson, D., Cave, R. D., Chapman, J. W., y. Caballero P. (1999). Selection of a nucleopolyhedrovirus for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). structural, genetic, and biological comparison of four isolates from the Americas. *Journal of Economic Entomology* 92: 1079-1085.
- Espinosa-Cuéllar, A. E., Martínez, L. R., Espinosa, R. R., y Cuéllar, E. E. (2015). Efecto del Nitrógeno y hongos micorrízicos arbusculares en dos clones comerciales de boniato sobre un suelo Pardo mullido carbonatado. *Centro Agrícola* 42 (2): 39-46.
- Ferraris, G. N., y Couretot, L. A. (2006). Evaluación de la inoculación con micorrizas en maíz bajo diferentes ambientes de fertilidad. Área de desarrollo Rural. INTA EEA. Pergamino: Proyecto Regional Agrícola, Cerban, 35 p.
- Finlay, R. D. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extra-radical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59: 1115-1126.
- Fuxa, J. R. (2004). Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. *Agriculture Ecosystems and Environment* 103: 27-43.
- Fuxa, J. R., Richter, A. R., y Milks, M. L. (2007). Threshold distances and depths of nucleopolyhedrovirus in soil for transport to cotton plants by wind and rain. *Journal of Invertebrate Pathology* 95: 60-70.
- García-Banderas, D. (2016). Actividad biológica de tres nucleopoliedrovirus sobre distintas poblaciones mexicanas del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Maestría en ciencias biológicas. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 61pp

- Hernández, M. I., y Chailloux, M. (2004). Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral de tomate. *Cultivos Tropicales* 25(2): 5-12.
- Hernández-Camargo, L. A. (2019). Características genéticas y biológicas de un asilado del nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera frugiperda*: Efecto sobre el desarrollo y reproducción del huésped Tesis maestría en ciencias biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
- Huerta-Valdovinos, F., García-Banderas, D. V., Figueroa-De la Rosa, J. I., Pineda, G. S., Chavarrieta, M., y Martínez-Castillo, A. M. (2016). Reproducción y desarrollo de poblaciones de campo del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomología Mexicana* 3: 855-858. ISBN: 2448-475X
- Hunter, M. D., Schultz, J. C. (1993). Induced plant defenses breached? Phytochemical induction protects an herbivore from disease. *Oecologia* 94: 195– 203.
- Jakobsen, I., Abbott, L. K., Robson, A. D. (1992). External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 1. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist* 120(3): 371–380.
- Jinfeng, Q., Guojing, S., Lei, G., Cuiping, Z., Jing, L., Jingxiong, Z., y Jianqiang, W. (2018). Current understanding of maize and rice defense against insect herbivores. *Plant diversity* 40: 189-195.
- Keating, S. T., McCarthy, W. J., y Yendol, W. G. (1988). Gypsy moth (*Lymantria dispar*) larval susceptibility to a baculovirus affected by selected nutrients, hydrogen ions (pH), and plant allelochemicals in artificial diets. *Journal of Invertebrate Pathology* 54 (2): 165-174.
- Lee, K. P. (2002). Ecological factors impacting on the nutritional biology of a generalist and a specialist caterpillar: effects of pathogen and plant structural compound on macro-nutrient balancing. Doctoral dissertation, University of Oxford). 168 pp.
- León, G. I., Rodríguez, L. E., Ortega, A. L. D., y Solís, A. J. F. (2012). Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a insecticidas asociada a césped en Quintana Roo, México *Agrociencia* 46(3): 1-9.

- Letourneau, D. K. (1988). Conceptual framework of three-trophic-level interactions. In Barbosa P. y Letourneau D. K., editors, *Novel Aspects of Insect-Plant Interactions*, Wiley Interscience 1–10 pp.
- Liu, J., Liu, J., Liu, J., Cui, M., Huang, Y., Tian, Y., y Xu, G. (2019). The potassium transporter SIHAK10 is involved in mycorrhizal potassium uptake. *Plant physiology* 180(1): 465-479
- López, E. M., Hernández-Mendoza, J. L., Pescador-Rubio, A., Molina-Ochoa, J., Lezama-Gutiérrez, R., Hamm, J. J., y Wiseman, B. R. (1999). Biological differences between five populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) collected from corn in Mexico. *Florida Entomologist* 82(2): 254-262.
- Martínez, A. M., Caballero, P., Villanueva, M., Miralles, N., San Martín, I., López, E., y Williams, T. (2004). Formulation with an optical brightener does not increase probability of developing resistance to *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus in the laboratory. *Journal of Economic Entomology* 97: 1202-1208.
- Miller, L. (1997). The Viruses: The Baculoviruses. New York: Plenum Press. 433 pp.
- Myers, J. H., Malakar, R., y Cory, J. S. (2000). Sublethal nucleopolyhedrovirus infection effects on female pupal weight, egg mass size, and vertical transmission in gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environmental Entomology* 29(6): 1268-1272.
- Montaño-Arias, N. M., Quiroz-García, V., y Cruz-Flores, G. (2001). Colonización micorrízica arbuscular y fertilización mineral de genotipos de maíz y trigo cultivados en un Andisol. *Terra Latinoamericana* 19(4).
- Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 44: 257-289.
- Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual review of entomology* 44(1): 257-289.
- Murray, K. D., Shields, K. S., Burand, J. P., y Elkinton, J. S. (1991). The effect of gypsy moth metamorphosis on the development of nuclear polyhedrosis virus infection. *Journal of Invertebrate Pathology* 57 (3): 352-361.

- Murúa, M. G., Molina-Ochoa, J., Coviella, C. (2006). Population dynamics of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoids in Northwestern Argentina. *Florida Entomologist* 89: 175-182.
- Nexticapan, G. A., Magdub, M. A., Vergara, Y. S., Martin, M. R., y Larqué, S. A. (2009). Fluctuación poblacional y daños causados por gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) en maíz cultivado en el sistema de producción continua afectado por el huracán Isidoro. *Universidad y Ciencia* 25 (3): 273-277.
- Pacheco, C. J. J. (1993). Monitoring insecticide resistance in *Spodoptera frugiperda* populations from the Yaqui Valley, Son. México. *Resistant Pest Management Newsletter* 5: 3-4.
- Paungfoo-Lonhienne, C., Lonhienne, T. G., Rentsch, D., Robinson, N., Christie, M., Webb, R. I., y Schmidt, S. (2008). Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(11): 4524-4529.
- Pedraza, M., Jaen, D., Gutiérrez, A., Colinas, T., y López, C. (2001). Crecimiento y nutrición de microplantas de gerbera inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. *Agrociencia* 35(2).
- Peng, F., Fuxa, J. R., Richter, A. R., y Johnson, S. J. (1999). Effects of heat-sensitive agents, soil type, moisture, and leaf surface on persistence of *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus. *Environmental entomology* 28(2): 330-338.
- Pérez-Luna, Y. D. C., Álvarez-Solís, J. D., Mendoza-Vega, J., Pat-Fernández, J. M., Gómez-Álvarez, R., y Cuevas, L. (2012). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana Botánica* 69(1): 46-56.
- Phillips, J. M., y Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society* 55(1): 158-IN18

- Poitout, S., y Bues, R. (1974). Elevage de chenilles de vingt-huit espèces de lépidoptères Noctuidae. *Annales de Zoologie Ecologie Animale* 6 : 341-411.
- Povey, S., Cotter, S. C., Simpson, S. J., y Wilson, K. Dynamics of macronutrient self-medication and illness-induced anorexia in virally infected insects. *Journal of Animal Ecology* 83(1): 245-255.
- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., McPherson, B. A., Thompson, J. N., y Weis, A. E. (1980). Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual review of Ecology and Systematics* 11(1): 41-65.
- Ramírez-Gómez, M., y Rodríguez, A. (2012). Plant defense mechanisms and responses in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: a review. *Revista Colombiana de Biotecnología* 14(1): 271-284.
- Raymond, B., Vanbergen, A., Pearce, I., Hartley, S. E., Cory, J. S., Hails, R. S. (2002). Host plant species can influence the fitness of herbivore pathogens: the winter moth and its nucleopolyhedrovirus. *Oecologia* 131: 533– 41.
- Ribeiro, L. V., Machado, L. C., Zago, H. B., Garcia, R. V., Stinguel, P., Paiva, C. E. C., y dos Santos Junior, H. J. G. (2017). Substratos alimentares para produção de baculovirus spodoptera. Seagro: anais da semana acadêmica do curso de agronomia do ccae/ufes 1(1).
- Richter, A. R., Fuxa, J. R., y Abdel-Fattah, M. (1987). Effect of host plant on the susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to a nuclear polyhedrosis virus. *Environmental Entomology* 16(4): 1004-1006.
- Rios-Velasco, C., Gallegos-Morales, G., Del Rincón-Castro, M. C., Cerna-Chávez, E., Sánchez-Peña, S. R., y Siller, M. C. (2011). Insecticidal activity of native isolates of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus from soil samples in Mexico. *The Florida Entomologist* 94 (3): 716-718.
- Rojas, J. C., y Malo, E. A. (2012). Temas selectos en ecología química de insectos. 1ª edición. Editado por el Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) El Colegio de la Frontera Sur. Chiapas. (México). 174pp

- Salinas, M. Y., Soria, R. J., y Espinosa, T. E. (2010). Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el Estado de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). México Folleto Técnico no. 42
- Shapiro, D. I., Fuxa, J. R., Braymer, H. D., y Pashley, D. P. (1991). DNA restriction polymorphism in wild isolates of *Spodoptera frugiperda* nuclear polyhedrosis virus. *Journal of Invertebrate Pathology* 58: 96-105.
- Siva-Jothy, M. T., y Thompson, J. J. (2002). Short-term nutrient deprivation affects immune function. *Physiological Entomology* 27(3): 206-212.
- Usuga-Osorio, C. E. U., Sánchez, D. A. C., Molano, A. E. F., Velásquez, F. A. G., y Agudelo, C. A. L. (2008). Efecto de la micorrización y la fertilización en la acumulación de biomasa en plantas de banano (Musa AAA cv. Gran Enano) (Musaceae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 61(1): 4269-4278.
- Valderrama, J. G., y Villamizar, L. (2013). Baculovirus: Hospederos y especificidad. *Revista Colombiana de Biotecnología* 15 (2): 143-155.
- Vanarsdall, A. L., Mikhailov, V. S., y Rohrmann, G. F. (2007). Characterization of a baculovirus lacking the DBP (DNA-binding protein) gene. *Virology* 364 (2): 475-485.
- Vargas-Aguirre, T. C. (2016). Efecto de tres aplicaciones de boro en dos híbridos maíz (*Zea mays* L.) Efecto de tres aplicaciones de boro en dos híbridos maíz Guayaquil Ecuador. 48pp
- Veiga, R. S., Jansa, J., Frossard, E., y van der Heijden, M. G. (2011). Can arbuscular mycorrhizal fungi reduce the growth of agricultural weeds?. *PloS one* 6(12).
- Wang, X., Zhao, S., y Bücking, H. (2016). Arbuscular mycorrhizal growth responses are fungal specific but do not differ between soybean genotypes with different phosphate efficiency. *Annals of botany* 118 (1):11-21.
- Williams (2018). Viruses. In: A. Hajek E., Shapiro Ilan David I.ed *Ecology of Invertebrate Diseases*, Cornell University, Ithaca New York: Ann E. Hajek. 213-285pp

- Williams, T., Goulson, D., Caballero, P., Cisneros, J., Martínez, A. M., Chapman, J. W. Roman, D. X., y Cave, R. D. (1999). Evaluation of a baculovirus bioinsecticide for small scale maize growers in Latin America. *Biological Control* 14: 67-75.
- Zamora-Avilés N., Murillo R., Lasa R., Pineda S., Figueroa J. I., Bravo-Patiño A., y Martínez A. M. (2017). Genetic and biological characterization of four nucleopolyhedrovirus isolates collected in Mexico for the control of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of economic entomology* 110(4): 1465-1475.

CAPITULO IV

6. DISCUSION GENERAL

Los ecosistemas terrestres se caracterizan por una gran riqueza de especies y su consecuente diversidad de interacciones que están presentes en ellos (Hernández-Ortiz, 2019). El estudio de las interacciones tritróficas constituye una parte esencial para poder comprender de una forma más realista el funcionamiento de los sistemas más complejos. En la agricultura, dicha interacción está principalmente representada por las relaciones alimenticias entre las plantas, insectos herbívoros y sus enemigos naturales (patógenos depredadores y parasitoides). Sin embargo, todavía hay pocos estudios enfocados en comprender a este complejo (Cuevas-Reyes *et al.*, 2007).

En este estudio se realizaron experimentos para analizar la interacción maíz-hongos micorrízicos arbusculares (HMA)-insecto-baculovirus con el fin de utilizar este conocimiento para el manejo del gusano cogollero, la plaga más importante del maíz en América. Dicho análisis se fundamentó en la hipótesis de que las asociaciones micorrízicas y la nutrición de las plantas afectan su desarrollo, la herbivoría y la efectividad de un nucleopoliedrovirus en plantas de maíz. La primer parte del estudio mostró datos no esperados, puesto que las plantas que estuvieron asociadas a los HMA presentaron un menor desarrollo en términos de su peso seco de raíz y aéreo, altura, longitud del tallo y biomasa total comparadas con las plantas no asociadas. Tal efecto se relacionó mayoritariamente con la asociación simbiótica, puesto que posiblemente enfocaron mayormente su energía en establecer dicha asociación que en su propio desarrollo.

Por otro lado, se observó que la simbiosis con los HMA incrementó la asimilación del nitrógeno y el fósforo en las plantas de maíz. Al respecto se sabe que la asociación planta-HMA pueden aumentar la acumulación de los nutrientes en las plantas (Blanke *et al.*, 2005), especialmente en ambientes en donde el desarrollo de éstas mismas es limitado debido a la baja fertilidad de los suelos (Hell y Hillebrand, 2001). Además, se ha estudiado que las la simbiosis con HMA aumentan la acumulación de nutrientes en las plantas de maíz (Wu *et al.*, 2005). Todas las plantas tratadas con los HMA presentaron colonización intra-radical y los porcentajes (22-30%) coinciden con los niveles de colonización observados en distintas especies de plantas (Usuga-Osorio *et al.* (2008), pero fueron menores que otros estudios realizados con

plantas de maíz (Veiga *et al.*, 2011). Es ampliamente conocido que las diferencias en los porcentajes de colonización de los HMA entre plantas pueden relacionarse con la diversidad de los hongos evaluados, las distintas condiciones del suelo, las distintas especies de plantas hospederas y las diferencias experimentales.

En previos estudios se ha observado que las plantas que presenta un mayor nivel de nitrógeno o nutrientes en general pueden ser más apetecibles para los insectos (Castellanos *et al.* 2015). Esto fue claramente observado en el presente estudio, ya que las plantas tratadas con HMA y 100% de nitrógeno presentaron un mayor daño foliar. Consecuentemente, las larvas de *S. frugiperda* que se alimentaron con estas plantas, obtuvieron un mayor peso corporal.

Por otro lado, la asociación de los HMA en las plantas de maíz provocó una disminución en la tasa de infección por el baculovirus; sin embargo, esta sólo fue significativa cuando el insecto se alimentó continuamente con las plantas tratadas con los HMA. Además, el nitrógeno fue un factor que también influyó negativamente sobre el número de individuos muertos por el patógeno. En este caso, la tasa de muerte fue menor cuando las larvas se alimentaron con la mayor concentración del compuesto (100%), lo cual se relacionó con una mejor condición nutricional por parte del insecto (Siva-Jothy y Thompson, 2002; Paungfoo-Lonhienne, 2008) y, por lo tanto, con una mayor defensa contra el patógeno (Lee, 2002; Cory y Myers, 2003; Cory, 2010; Ribeiro *et al.*, 2017). Si bien, la respuesta inmune de las larvas de *S. frugiperda* hacia el SfMNPV posiblemente se incrementó al ser alimentadas continuamente con plantas con un alto nivel nutricional, en este estudio no se observó un efecto significativo en el tiempo de desarrollo y el peso de pupas cuando las larvas se alimentaron con las hojas de maíz de plantas tratadas los HMA, dos niveles de nitrógeno y una concentración del virus (CL₂₅). Esto posiblemente puede indicar que los insectos sobrevivientes a la infección pueden adaptarse a cambios en la calidad de su dieta, posiblemente compensando su tasa de ingestión (Hernández-Camargo, 2019).

En otros sistemas insecto-baculovirus ha sido ampliamente demostrado que la presencia de algunos metabolitos secundarios de las plantas (e.g., fenoles, caseína, sales y taninos, entre otros) pueden reducir la infectividad de los baculovirus (Keating *et al.*, 1988; Duffey *et al.*, 1995; Hunter y Schultz, 1993; Raymond *et al.*, 2002; Cory y Hoover, 2006; Cory, 2010). Por las características del presente estudio, la influencia de los metabolitos secundarios sobre la actividad del SfMNPV no se descarta,

especialmente porque la síntesis de varios compuestos secundarios puede estar relacionadas con la presencia de estos hongos (Camarena-Gutiérrez, 2009; Jinfeng, 2018). En general, la nutrición de las plantas fue uno de los factores que influyó significativamente sobre la herbivoría, la condición del insecto y la susceptibilidad del gusano cogollero hacia el SfMNPV, debido a ello se sugiere continuar con estudios que evalúen este efecto bajo condiciones experimentales más reales.

LITERATURA CITADA

- Blanke, V., Renker, C., Wagner, M., Füllner, K., Held M., Kuhn, A. J., y Buscot, F. (2005). Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate polluted field site. *New Phytologist* 166(3): 981-992.
- Camarena-Gutiérrez, G. (2009). Señales en la interacción planta insecto. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente* 15 (1): 81-85.
- Castellanos, G. L., de Mello, P. R., Barbosa da Silva, J. G., Campos, S., Naudi, C., Fernández, O., y Alvarez, P. R. (2015). Daños por *Spodoptera frugiperda* Smith en maíz en función de nitrógeno, potasio y silicio. *Revista de Protección Vegetal* 30 (3): 176-184.
- Cory, J. S., (2010). The ecology of baculoviruses, in: Asgari, S., Johnson K. (eds.), *Insect Virology*. Caister Academic Press, Norfolk, pp. 411–427.
- Cory, J. S., y Myers, J. H. (2003). The ecology and evolution of insect baculoviruses. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34(1): 239-272.
- Cory, J. S., y Hoover, K. (2006). Plant-mediated effects in insect–pathogen interactions. *Trends in ecology evolution* 21 (5): 278-286.
- Cuevas-Reyes, P., Quesada, M., Hanson, P., Oyama, K. (2007). Interactions among three trophic levels and diversity of parasitoids: a case of top-down processes in Mexican tropical dry forest. *Environmental entomology* 36 (4): 792-800.
- Duffey, S. S., Hoover K., Bonning, B., y Hammock, B. D. (1995). The impact of host plant on the efficacy of baculoviruses. *Reviews in pesticide toxicology* 3 137-295

- Hell, R., y Hillebrand, H. (2001). Plant concepts for mineral acquisition and allocation. *Current Opinion in Biotechnology* 12 (2): 161-168.
- Hernández-Camargo, L. A. (2019). Características genéticas y biológicas de un asilado del nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera frugiperda*: Efecto sobre el desarrollo y reproducción del huésped Tesis maestría en ciencias biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
- Hernandez-Ortiz, V. (2019). Interacciones Multitróficas <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/investigacion/149-interacciones-multitroficas> (sitio consultado julio 2019)
- Hunter, M. D., Schultz, J. C. (1993). Induced plant defenses breached? Phytochemical induction protects an herbivore from disease. *Oecologia* 94: 195– 203.
- Jinfeng, Q., Guojing, S., Lei, G., Cuiping, Z., Jing, L., Jingxiong, Z., y Jianqiang, W. (2018). Current understanding of maize and rice defense against insect herbivores. *Plant diversity* 40: 189-195.
- Keating, S. T., McCarthy, W. J., y Yendol, W. G. (1988). Gypsy moth (*Lymantria dispar*) larval susceptibility to a baculovirus affected by selected nutrients, hydrogen ions (pH), and plant allelochemicals in artificial diets. *Journal of Invertebrate Pathology* 54 (2): 165-174.
- Lee, K. P. (2002). Ecological factors impacting on the nutritional biology of a generalist and a specialist caterpillar: effects of pathogen and plant structural compound on macro-nutrient balancing. Doctoral dissertation, University of Oxford). 168 pp.
- Paungfoo-Lonhienne, C., Lonhienne, T. G., Rentsch, D., Robinson, N., Christie, M., Webb, R. I., y Schmidt, S. (2008). Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(11): 4524-4529.
- Raymond, B., Vanbergen, A., Pearce, I., Hartley, S. E., Cory, J. S., Hails, R. S. (2002). Host plant species can influence the fitness of herbivore pathogens: the winter moth and its nucleopolyhedrovirus. *Oecologia* 131: 533– 41.
- Ribeiro, L. V., Machado, L. C., Zago, H. B., Garcia, R. V., Stinguel, P., Paiva, C. E. C., y dos Santos Junior, H. J. G. (2017). Substratos alimentares para produção de

baculovirus spodoptera. Seagro: anais da semana acadêmica do curso de agronomia do ccae/ufes 1(1).

Siva- Jothy, M. T., y Thompson, J. J. (2002). Short- term nutrient deprivation affects immune function. *Physiological Entomology* 27(3), 206-212.

Usuga-Osorio, C. E. U., Sánchez, D. A. C., Molano, A. E. F., Velásquez, F. A. G., y Agudelo, C. A. L. (2008). Efecto de la micorrización y la fertilización en la acumulación de biomasa en plantas de banano (Musa AAA cv. Gran Enano) (Musaceae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 61(1): 4269-4278.

Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C., y Wong, M. H. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125 (1-2): 155-166.

7. CONCLUSIONES GENERALES

- ✚ Las plantas de maíz asociadas con los HMA tuvieron el menor desarrollo aéreo y radical, lo cual posiblemente se relaciona con la inversión de energía de la planta para realizar la simbiosis o con las propias características de las especies de HMA presentes en el consorcio y su distinta interacción con las plantas.
- ✚ El nivel de daño foliar por *S. frugiperda* en plantas de maíz y la condición del insecto tuvieron una mayor relación con la nutrición de las plantas que con la presencia de los HMA.
- ✚ Bajo las condiciones del presente estudio, la interacción de los HMA con un alto nivel de nitrógeno afectó negativamente la capacidad insecticida del SfMNPV para controlar al gusano cogollero.
- ✚ No se obtuvo ningún efecto significativo sobre la condición del insecto huésped cuando las larvas se alimentaron con hojas de maíz de plantas tratadas los HMA, dos niveles de nitrógeno y una concentración del virus.

8. PERSPECTIVAS

Esta investigación es uno de los primeros estudios que relaciona el impacto de las micorrizas y la nutrición vegetal sobre la capacidad infectiva de un baculovirus. Para una mejor comprensión de la interacción planta-micorriza-insecto-patógeno, son necesarias futuras investigaciones que analicen los mecanismos la defensa de las plantas y su relación con los HMA y los distintos niveles de nutrición. Así mismo, se debe profundizar en los mecanismos de resistencia del insecto hacia el baculovirus, principalmente en términos de la calidad nutricional de sus plantas hospederas y condiciones fisiológicas del propio insecto.