



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
ECOLOGÍA

**EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN MINERAL Y EL ESTRÉS HÍDRICO SOBRE  
LA INTERACCIÓN PLANTA-LEPIDÓPTERO-BACULOVIRUS**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**RAUL OMAR REAL SANTILLAN**

**TUTOR PRINCIPAL: DR. JOHN LARSEN**  
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
**COMITÉ TUTOR: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI**  
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
DR. TREVOR WILLIAMS  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**Morelia, Michoacán Junio de 2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
ECOLOGÍA

**EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN MINERAL Y EL ESTRÉS HÍDRICO SOBRE  
LA INTERACCIÓN PLANTA-LEPIDÓPTERO-BACULOVIRUS**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**RAUL OMAR REAL SANTILLAN**

TUTOR PRINCIPAL: DR. JOHN LARSEN  
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
COMITÉ TUTOR: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI  
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
DR. TREVOR WILLIAMS  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**Morelia, Michoacán Junio de 2014**



Dr. Isidro Ávila Martínez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 3 de marzo del 2014, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestro en Ciencias Biológicas del alumno Raúl Omar Real Santillán con número de cuenta 512027096 con la tesis titulada: "Efecto de la fertilización mineral y el estrés hídrico sobre la interacción planta-lepidóptero-baculovirus" bajo la dirección del Dr. John Larsen.

- Presidente: Dr. Erick de la Barrera Montpellier
- Vocal: Dra. Ana Mabel Martínez Castillo
- Secretario: Dra. Ek del Val de Gortari
- Suplente: Dra. María Cristina del Rincón Castro
- Suplente: Dr. Roberto Antonio Lindig Cisneros

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a, 22 de mayo del 2014.

*M. del Coro Arizmendi*  
Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga  
Coordinadora del Programa



## AGRADECIMIENTOS

- Le agradezco primeramente a la UNAM y al Posgrado en Ciencias Biológicas, por darme la oportunidad de superarme y alcanzar mis metas.
- Al Dr. John Larsen, por darme la permitirme estudiar en su laboratorio y por guiarme académicamente para lograr mi superación personal. También por su amistad, compañía y preocupación por sus alumnos.
- A la Dra. Ek del Val de Gortari que me guio y me permitió usar su laboratorio para criar insectos, por la cuantificación de fenoles y taninos y por sus observaciones en la escritura de la tesis.
- Al Dr. Trevor Williams, le agradezco sus excelentes comentarios para diseñar el experimento, y su interés para mejorar el proyecto.
- A la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo, por su ayuda con los virus y con sus conocimientos, le agradezco.
- A todo mi comité revisor: a la Dra. María Cristina del Rincón Castro, al Dr. Erick de la Barrera Montpellier y al Dr. Roberto Lindig Cisneros, por sus aportes en la revisión final de la tesis.
- A la M.C. Maribel Nava Mendoza del laboratorio de Biogeoquímica, por su asesoría en la cuantificación de nitrógeno y fósforo
- Al Dr. Horacio Paz Hernández, por prestarme su invernadero para realizar mis experimentos.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que me otorgo (CVU/Becario: 480509/280540).

## **AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL**

A mi familia, mi mama, mi tía Mayde, mis hermanos y sobrinos por su apoyo moral.

A todos mis compañeros de laboratorio, John, Dante, Marcela, Semiramis, Andrea, Carlos, Miguel, Abraham, Netza, Angy, Ricardo, Lupita, David, Mónica, Alejandro, Marlene, Jazmín, Dainiz, Ceci, Brenda, Fany, Rebeca, Carla, Huriel. Por su amistad y compañerismo.

A Ornella, Venecia, Yola, Dainiz, Karina, Citlali, Lorena, Oscar, Mónica, Judith, Margarita, Miriam, Paulette, Griselda, Edith. Por su amistad.

A mis amigos del ajedrez.

A Fermín. Por su amistad.

A Norma que fue pieza importante en mi proyecto.

A Dolores, por ayudarme en los distintos tramites y no desesperarse.

A Heberto, Alberto y Atzimba por su ayuda técnica.

A la vida, a la naturaleza, a todas las cosas buenas del mundo.

Finalmente todas las personas que he se han perdido en la bruma del tiempo, que se me escapan de la memoria, pero que han sido muy importantes para mí.

## **DEDICATORIA**

Este trabajo se lo dedico a dos personas muy importantes para mí:

A mi madre por su apoyo en todo para continuar mis estudios.

A Ornella que es mi compañera en la vida.

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS .....	III
RESUMEN .....	V
ABSTRACT .....	VI
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. HIPÓTESIS .....	3
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
2.1 General:.....	3
2.2 Específicos:.....	3
<b>3. ANTECEDENTES .....</b>	<b>4</b>
3.1 <i>Zea mays</i> .....	4
3.1.1. Principales plagas que lo atacan.....	5
3.2. Genotipos de maíz .....	6
3.2.1. Variedad de maíz usadas en el experimento (NB9 y NB10) .....	6
3.3 Estrés en plantas.....	7
3.3.1 Estrés hídrico en maíz.....	8
3.4. Defensa vegetal contra insectos herbívoros.....	9
3.5. Nutrición de la planta y su relación con los insectos herbívoros.....	11
3.6. <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	13
3.6.1. El género <i>Spodoptera</i> .....	13
3.6.2. <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	13
3.6.3. Comportamiento y daños al maíz .....	15
3.6.4. Características generales de <i>S. frugiperda</i> .....	16
3.6.5. Métodos de control químico .....	18
3.6.6. Control biológico con enemigos naturales .....	18
3.7. Los baculovirus .....	18
3.7.1. La familia <i>Baculoviridae</i> .....	18
3.7.2. Ciclo de infección .....	20
3.7.3. SfMNPV como agente de control biológico.....	22
<b>4. METODOLOGÍA.....</b>	<b>23</b>
4.1. EXPERIMENTO I - Desempeño, nutrición y defensa de dos híbridos de <i>Zea mays</i> bajo estrés hídrico .....	23
4.1.1. Diseño experimental .....	23
4.1.2. Establecimiento del experimento .....	23
4.1.3. Cosecha y análisis .....	24
4.1.4. Cuantificación de fenoles .....	25
4.1.5. Cuantificación de taninos .....	26
4.1.6. Cuantificación de nitrógeno y fósforo en tejido vegetal .....	27
4.1.7. Análisis estadístico .....	29
4.2. EXPERIMENTO II - Desempeño de <i>S. frugiperda</i> con diferentes niveles de irrigación y fertilización mineral.....	29
4.2.1. Diseño Experimental .....	29
4.2.2. Establecimiento del experimento .....	30
4.2.3. Cría de <i>S. frugiperda</i> .....	31
4.2.4. Exposición de <i>S. frugiperda</i> a los tratamientos .....	32

4.2.5.	<i>Colecta del insecto</i> .....	33
4.2.6.	<i>Cosecha</i> .....	33
4.2.7.	<i>Cuantificación de nitrógeno y fósforo totales</i> .....	33
4.2.8.	<i>Análisis estadístico</i> .....	34
<b>4.3.</b>	<b>EXPERIMENTO III - Desempeño e interacción del SfMNPV en larvas de <i>S. frugiperda</i> bajo estrés hídrico y fertilización</b> .....	<b>34</b>
4.3.1.	<i>Diseño experimental</i> .....	34
4.3.2.	<i>Establecimiento del experimento</i> .....	35
4.3.3.	<i>Cría de las larvas</i> .....	35
4.3.4.	<i>Prueba preliminar de SfMNPV para encontrar la CL<sub>50</sub></i> .....	35
4.3.5.	<i>Aplicación de <i>S. frugiperda</i></i> .....	36
4.3.6.	<i>Colecta del insecto</i> .....	37
4.3.7.	<i>Inoculación larvaria con el nucleopoliedrovirus</i> .....	37
4.3.8.	<i>Cosecha</i> .....	38
4.3.9.	<i>Cuantificación de nitrógeno y fósforo totales</i> .....	39
4.3.10.	<i>Análisis estadístico</i> .....	39
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>40</b>
<b>5.1.</b>	<b>EXPERIMENTO I - Desempeño, nutrición y defensa de dos híbridos de <i>Zea mays</i> bajo estrés hídrico</b> .....	<b>40</b>
5.1.1.	<i>Altura de la planta</i> .....	40
5.1.2.	<i>Peso seco parte aérea</i> .....	41
5.1.3.	<i>Peso seco parte radical</i> .....	42
5.1.4.	<i>Peso húmedo aéreo entre peso seco de la raíz</i> .....	42
5.1.5.	<i>Fenoles totales</i> .....	43
5.1.6.	<i>Cuantificación de taninos</i> .....	44
5.1.7.	<i>Nitrógeno total</i> .....	45
5.1.8.	<i>Fósforo total</i> .....	46
<b>5.2.</b>	<b>EXPERIMENTO II - Desempeño de <i>S. frugiperda</i> con diferentes niveles de irrigación y fertilización mineral</b> .....	<b>48</b>
5.2.1.	<i>Altura de la planta (antes de la colocación del insecto)</i> .....	48
5.2.2.	<i>Peso seco parte radical</i> .....	49
5.2.3.	<i>Peso seco de la parte Aérea</i> .....	50
5.2.4.	<i>Cociente peso seco parte aérea / raíz</i> .....	51
5.2.5.	<i>Peso y longitud larvaria</i> .....	53
5.2.6.	<i>Peso y longitud de las pupas</i> .....	54
5.2.7.	<i>Categorías de daño</i> .....	55
5.2.8.	<i>Nitrógeno total</i> .....	56
5.2.9.	<i>Fósforo total</i> .....	56
<b>5.3.</b>	<b>EXPERIMENTO III - Desempeño e interacción del SfMNPV en larvas de <i>S. frugiperda</i> con diferentes bajo estrés hídrico y fertilización</b> .....	<b>59</b>
5.3.1.	<i>Altura de las plantas</i> .....	59
5.3.2.	<i>Peso seco de la parte aérea</i> .....	60
5.3.3.	<i>Peso seco parte radicular</i> .....	61
5.3.4.	<i>Cociente Peso seco parte Aérea / Raíz</i> .....	61
5.3.5.	<i>Nitrógeno total</i> .....	62
5.3.6.	<i>Fósforo total</i> .....	63
5.3.7.	<i>Prueba preliminar para encontrar la concentración letal 50</i> .....	63
5.3.8.	<i>Experimento en las hojas de maíz de los tratamientos de fertilización e irrigación</i> .....	64
5.3.9.	<i>Mortalidad larvaria</i> .....	65
5.3.10.	<i>Mortalidad ajustada</i> .....	65
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>69</b>
<b>6.1.</b>	<b>Efecto del estrés hídrico y la fertilización sobre el desempeño del maíz.</b> .....	<b>69</b>
6.1.1.	<i>Estrés hídrico</i> .....	69

6.1.2.	<i>Fertilización mineral y su impacto en la nutrición vegetal del Zea mays</i> .....	70
6.1.3.	<i>Defensa vegetal (fenoles y taninos)</i> .....	73
<b>6.2.</b>	<b>Desempeño de <i>Spodoptera frugiperda</i></b> .....	<b>74</b>
6.2.1.	<i>Peso y longitud larval</i> .....	74
6.2.2.	<i>Peso y longitud de pupas</i> .....	75
6.2.3.	<i>La nutrición como defensa</i> .....	76
<b>6.3.</b>	<b>Desempeño del Nucleopoliedrovirus</b> .....	<b>78</b>
6.3.1.	<i>Prueba preliminar</i> .....	78
6.3.2.	<i>Efecto de la fertilización e irrigación sobre el SfMNPV</i> .....	79
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>82</b>
<b>8.</b>	<b>LITERATURA CITADA</b> .....	<b>83</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

<b>Figura 1.</b>	Ilustración de la planta de maíz. (Tomada de Köhler 1887).....	4
<b>Figura 2.</b>	Plagas de maíz importantes. (Modificada de Ramírez 2012). .....	5
<b>Figura 3.</b>	Planta de los híbridos usados. a) Genotipo NB9. b) Genotipo NB10. (Tomadas de NOVASEM® <a href="http://www.novasem.com.mx">www.novasem.com.mx</a> ).....	7
<b>Figura 4.</b>	Ciclo de vida de <i>S. frugiperda</i> . Tomada de BAYER® Crop Science México ( <a href="http://www.bayercropscience.com.mx">www.bayercropscience.com.mx</a> . Consultada el 11 de septiembre de 2013). .....	15
<b>Figura 5.</b>	Fases de <i>S. frugiperda</i> y daño a la planta. a) Larvas en el sexto estadio (Tomada de <a href="http://www.agritotal.com">www.agritotal.com</a> , 3 de abril de 2014). b) Pupas. c) Adulto del gusano cogollero (macho). d) <i>S. frugiperda</i> alimentándose del maíz (tomada de <a href="http://es.wikipedia.org/wiki/Spodoptera_frugiperda">http://es.wikipedia.org/wiki/Spodoptera_frugiperda</a> , consultada el 3 de abril de 2014).....	17
<b>Figura 6.</b>	a) Cuerpos de inclusión. b) Virion brotado. (Imágenes en falso color, modificadas de Jeroen 2008 y Van Oers y Vlak 2007). .....	19
<b>Figura 7.</b>	Modo de infección de los NPV en las larvas. 1) pH alcalino. 2) Mesenteron. 3) Membrana peritrófica. 4) Estomodeo. 5) Proctodeo. 6) Poliedros. 7) Ingestión de los poliedros. 8) Disolución de los poliedros, liberando los viriones y rompiendo la membrana peritrófica. 9) Membrana peritrófica. 10) Células epiteliales del intestino medio (Modificada de Kalmakoff y Ward 2003).....	20
<b>Figura 8.</b>	El destino de los baculovirus de lepidópteros en el ambiente. Las líneas solidas muestran las rutas de transmisión, las líneas con puntos muestran la dispersión y las líneas punteadas la inactivación de los NPV (modificada de Richards <i>et al.</i> 1998). .....	21
<b>Figura 9.</b>	Colocación de la malla de tela de tergal francés conteniendo las larvas de <i>S. frugiperda</i> recién eclosionadas.....	37
<b>Figura 10.</b>	Larvas en la caja de celdas a los dos días de alimentarse de la hoja con virus. ....	38
<b>Figura 11.</b>	Promedios y LSD de la altura final de las plantas. ....	40
<b>Figura 12.</b>	Altura de los genotipos NB9 y NB10, luego de seis semanas en el invernadero. ....	41
<b>Figura 13.</b>	Promedios y LSD de la comparación del peso parte aérea entre tratamientos. ....	41
<b>Figura 14.</b>	Promedios y LSD del peso seco de la raíz.....	42
<b>Figura 15.</b>	Promedios y LSD del cociente entre peso seco aéreo y peso seco radical. ....	43
<b>Figura 16.</b>	Promedios y LSD de la concentración de fenoles totales por tratamiento.....	43
<b>Figura 17.</b>	Correlación entre la concentración y la absorbencia del blanco.....	44
<b>Figura 18.</b>	Promedios y LSD de la concentración de taninos totales por tratamiento.....	45
<b>Figura 19.</b>	Promedios y LSD de la concentración de nitrógeno por tratamiento. ....	45
<b>Figura 20.</b>	Promedios y LSD de la concentración de fósforo en los tratamientos. ....	46
<b>Figura 21.</b>	Promedios y LSD de la altura de las plantas de maíz. ....	48

<b>Figura 22.</b> Efecto de los tratamientos del segundo experimento a las seis semanas, antes de la aplicación de <i>S. frugiperda</i> . Se muestran los factores de irrigación y fertilización. ....	49
<b>Figura 23.</b> Promedios y LSD del peso seco de las raíces. ....	49
<b>Figura 24.</b> Promedios y LSD del peso seco de la parte aérea. ....	50
<b>Figura 25.</b> Promedios y LSD del cociente del peso seco la parte aérea entre el de la raíz. ....	51
<b>Figura 26.</b> Promedios y LSD del peso de larval. ....	53
<b>Figura 27.</b> Promedios y LSD de la longitud larvaria. ....	54
<b>Figura 28.</b> Promedios y LSD del peso de las pupas. ....	54
<b>Figura 29.</b> Promedios y LSD de la longitud de las pupas. ....	55
<b>Figura 30.</b> Promedios y LSD de las categorías de daño. ....	55
<b>Figura 31.</b> Promedios y LSD del contenido de nitrógeno total del segundo experimento. ....	56
<b>Figura 32.</b> Promedios y LSD del contenido de fósforo en el follaje. ....	57
<b>Figura 33.</b> Se muestran la irrigación y la fertilización de las plantas para el tercer experimento, luego de ocho semanas. ....	59
<b>Figura 34.</b> Promedios y LSD del crecimiento en altura de la planta. ....	60
<b>Figura 35.</b> Promedios y LSD del peso seco de la parte aérea. ....	60
<b>Figura 36.</b> Promedios y LSD del peso seco radicular. ....	61
<b>Figura 37.</b> Promedios y LSD del peso aéreo entre el peso radicular. ....	62
<b>Figura 38.</b> Promedios y LSD del contenido de nitrógeno foliar. ....	62
<b>Figura 39.</b> Promedios y LSD del contenido de fósforo en el follaje. ....	63
<b>Figura 40.</b> Promedios y LSD de la mortalidad larvaria de la prueba preliminar. ....	64
<b>Figura 41.</b> Promedios y LSD de la mortalidad en tratamientos del SfMNPV y el control. ....	65
<b>Figura 42.</b> Promedios y LSD de la mortalidad ajustada. ....	66
<b>Figura 43.</b> a) Larva sana. b) Larva con los síntomas clásicos por infección de baculovirus. c) Larva que murió por el virus. d) Larva colgada y que llegó al proceso de la licuefacción. ....	66
<b>Cuadro 1.</b> Plagas importantes del maíz. ....	6
<b>Cuadro 2.</b> Características generales de los híbridos NB9 y NB10. ....	7
<b>Cuadro 3.</b> Algunas plantas hospederas de <i>S. frugiperda</i> de importancia comercial. ....	14
<b>Cuadro 4.</b> Ejemplos de enemigos naturales y patógenos de <i>S. frugiperda</i> . ....	17
<b>Cuadro 5.</b> Fertilidad y características físicas del sustrato. ....	23
<b>Cuadro 6.</b> Solución nutritiva de NPK mineral. ....	31
<b>Cuadro 7.</b> Dietas semisintéticas recomendadas para nóctuidos. ....	32
<b>Cuadro 8.</b> Promedios, error estándar, diferencias mínimas significativas (LSD) y valores de P del desarrollo de los genotipos de maíz bajo diferentes niveles de irrigación, defensa vegetal y nutrición de la planta. ....	47
<b>Cuadro 9.</b> Promedio, error estándar, LSD y valores de P del desempeño de la planta para el segundo experimento. ....	52
<b>Cuadro 10.</b> Promedio, error estándar, LSD y valores de P del desempeño de <i>S. frugiperda</i> en plantas fertilizadas con NPK y sin fertilizar con dos niveles de irrigación y nutrición de la planta. ....	58
<b>Cuadro 11.</b> Análisis Probit. ....	64
<b>Cuadro 12.</b> Promedios, error estándar, diferencias mínimas significativas y valores de P para el desempeño de la planta y nutrición de la planta. ....	67
<b>Cuadro 13.</b> Mortalidad larvaria. ....	68

## RESUMEN

Los baculovirus son virus entomopatógenos que usualmente infectan lepidópteros, algunos de los cuales son importantes plagas de cultivos. Los estudios sobre nucleopoliedrovirus se han enfocado en su actividad biológica contra plagas y su potencial como insecticidas biológicos. Sin embargo pocos estudios han examinado a la nutrición de la planta como un factor importante que influya en la capacidad de la planta para defenderse del ataque de herbívoros. Para ayudar a dilucidar esto, se realizaron tres experimentos en un invernadero. Tratamientos con fertilización mineral y estrés hídrico fueron usados para examinar la interacción entre híbridos de maíz, larvas del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* Smith y su nucleopoliedrovirus (SfMNPV). En el primer experimento se midió el desempeño del *Zea mays* cuando fue sometido a los tratamientos de humedad del suelo y fertilización. El peso seco del follaje y de las raíces así como la altura variaron significativamente (ANOVA,  $P < 0.001$ ) con la humedad del suelo (70 y 85% de la capacidad de campo). El contenido de compuestos fenólicos fue significativamente alto ( $P < 0.001$  para fenoles totales y taninos) en la menor humedad del suelo (40% de la capacidad de campo), comparado con altos niveles de humedad ( $P < 0.05$ ). El contenido de taninos mostró una interacción significativa con la humedad del suelo ( $P < 0.05$ ). Del mismo modo, el contenido de nitrógeno y fósforo fue significativamente alto ( $P < 0.001$  para ambos) con la humedad más baja del suelo (40%). Larvas que se desarrollaron en plantas de maíz, sometidas a fertilización mineral crecieron más grandes (peso y longitud larval;  $P < 0.001$ ) comparado con plantas de tratamientos no fertilizados, pero no fueron detectadas diferencias entre tratamientos de humedad del suelo. Plantas en los tratamientos fertilizados tuvieron significativamente altas concentraciones de nitrógeno ( $P < 0.001$ ). Una interacción significativa ( $P < 0.001$ ) de humedad del suelo x tratamientos de fertilización fue también observada. La concentración letal al 50% ( $CL_{50}$ ) fue estimada en 10 OBs/mm<sup>2</sup> en larvas de segundo estadio. En el tercer experimento, la nutrición de la planta se comportó como en el segundo experimento. El desempeño del virus mostró que hubo un efecto mayor cuando había fertilización mineral y mayor irrigación ( $P < 0.001$ ). Es probable que la baja humedad haya influido en el desempeño del SfMNPV al impedirle a los cuerpos de inclusión, esparcirse uniformemente en la hoja. Por lo tanto el factor de la irrigación es posible que tenga un papel importante sobre la interacción de la planta, el virus insecto y el insecto.

## ABSTRACT

Baculoviruses are entomopathogenic viruses that usually infect Lepidoptera, some of which are important crop pests. Studies on nucleopolyhedroviruses have focussed on their biological activity against pest insects and their potential as the basis for biological insecticides. However few studies have examined plant nutrition as an important factor, which influences the plant's ability to defend itself from the attack of a herbivore. To help elucidate this issue I performed three experiments in a greenhouse. Mineral fertilization and water stress treatments were used to examine the interaction between hybrid corn plants, larvae of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* Smith, and its nucleopolyhedrovirus (SfMNPV). In the first experiment the performance of *Zea mays* L. was measured when subjected to soil moisture and fertilization treatments. The dry weight of foliage and roots as well as plant height varied significantly (ANOVA,  $P < 0.001$ ) at high soil moisture (70 and 85% of field capacity). Phenolic content was significantly higher (total phenols  $P < 0.01$  and tannins  $P < 0.001$ ) in the lowest soil moisture (40% of field capacity) compared to higher moisture treatments. Tannin content showed a significant interaction (of soil moisture ( $P < 0.05$ )). Similarly, nitrogen and phosphorus content was significantly higher ( $P < 0.001$  for both) at the lower soil moisture (40%). Larvae that developed on maize plants subjected to mineral fertilization grew larger (larval length and weight  $P < 0.001$ ) compared to larvae on non-fertilized plants, but no differences were detected among soil moisture treatments. Plants in the fertilized treatments had a significantly higher nitrogen concentration ( $P < 0.001$ ) and differed significantly according to soil moisture ( $P < 0.001$ ), a significant interaction ( $P < 0.001$ ) of soil moisture x fertilization treatment was also observed. The 50% lethal concentration ( $LC_{50}$ ) was estimated at 10 OBs/mm<sup>2</sup> in second instar larvae. In the third experiment plant nutrition behaves in the same way as second experiment. In conclusion, nucleopolyhedrovirus had a different performance with mineral fertilization and irrigation levels ( $P < 0.001$ ). It is likely that low humidity had influenced on SfMNPV performance by preventing the inclusion bodies from spread evenly on the leaf. Therefore it is probably that irrigation factor has a key role on the interaction between the plant, insect viruses and the insect.

# 1. INTRODUCCIÓN

El maíz, *Zea mays* L. es el cultivo de cereal más importante para la alimentación de los mexicanos por ser una fuente básica de carbohidratos. Un ejemplo de ello es la tortilla, que posiblemente es el principal alimento de la población mexicana y por otro lado su consumo es también muy elevado en otros países latinoamericanos y en los Estados Unidos (Arámbula *et al.* 2004). Además, este cultivo se usa para producir otros alimentos tanto para humanos como para ganado y aglutina a dos terceras partes de los productores agrícolas en el país, que aprovecha todos los tejidos del maíz (Valdés 2007). Otros de sus usos llegan a ser muy variados, como la producción de biocombustibles como biodiesel y el bioetanol (Kim y Dale 2005).

México es el centro de domesticación del maíz, junto con el frijol (*Phaseolus vulgaris*, entre otras especies del mismo género) y la calabaza (*Cucurbita* spp.). Particularmente la ribera del río Balsas se ha propuesto como uno de los centros de domesticación de este cultivo (Kwak *et al.* 2009). En el país existen decenas de variedades de maíz que han derivado de una intensa interacción entre genotipos y de un rango muy diverso de ambientes (Nadal 2002).

Sin embargo, año con año, este cultivo se ve amenazado por diversas plagas de insectos herbívoros y enfermedades que lo atacan, reduciendo los rendimientos y la calidad del grano e impactando fuertemente la economía de los productores, tanto que pueden llegar a hacer perder completamente las cosechas (CESAVEG 2008).

Diversos modelos matemáticos que proyectan el clima en los campos agrícolas nacionales, han encontrado una gran variabilidad intraestacional con cambios en la precipitación, temperatura y humedad en algunos campos de maíz en las próximas décadas (Cai *et al.* 2007). Uno de los cambios climáticos más importantes que afectan a los cultivos es la sequía, la cual representa uno de los más importantes factores que limitan la productividad de los cultivos en el mundo, inhibiendo la expansión de los órganos de las plantas (Grzesiak *et al.* 2001).

Figuroa (2002) observó que entre las diversas plagas de maíz, el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith L. (Lepidoptera: Noctuidae) es la principal plaga en México, así como en otros países del continente, tanto por su amplia distribución como por el daño que causa.

Nagoshi *et al.* (2010) afirmaron que para mantener la producción adecuada de alimento, es crítico proteger a la agricultura local de las plagas de insectos. Desde la revolución verde, se han usado multitud de insecticidas químicos para controlar al gusano cogollero con consecuencias poco favorables para el ambiente así como para el desarrollo de resistencia en los insectos.

No obstante, cada vez se pone más atención a los insecticidas biorracionales: como los baculovirus. Estos son un grupo de virus que ataca principalmente a insectos y que tienen un gran potencial de control de plagas (Vanarsdall *et al.* 2007), en particular para controlar a *S. frugiperda*, ya que no dañan al ambiente, ni a la salud de los demás animales o a los insectos benéficos, por su alta especificidad y persistencia en el ambiente (Monobrullah y Nagata 1999).

## 1.1. HIPÓTESIS

- H<sub>1</sub>.** A diferentes niveles de estrés hídrico y fertilización en maíz, la interacción con el virus (SfMNPV) contra *S. frugiperda* será diferente.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 General:

Evaluar la eficiencia de control biológico con el virus SfMNPV contra el gusano cogollero (*S. frugiperda*) bajo diferentes condiciones de estrés hídrico y fertilización en maíz

### 2.2 Específicos:

1. Determinar el desempeño, nutrición (nitrógeno y fósforo) y defensa (compuestos fenólicos) del maíz en diferentes niveles de irrigación y fertilización mineral.
2. Determinar el desempeño de *S. frugiperda* en maíz con diferentes niveles de irrigación y fertilización mineral.
3. Determinar la interacción del maíz con el virus SfMNPV en larvas de *S. frugiperda* crecido con diferentes niveles de irrigación y fertilización mineral.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 *Zea mays*

El maíz, *Zea mays* L. (Poaceae), es una planta domesticada y el principal representante de la familia Poaceae, que pertenece a la tribu Maydeae (Ávila 2007). Es uno de los tres cereales más importantes del mundo después del trigo y el arroz (Aydinsakir *et al.* 2013). Se cultiva prácticamente en todos los países del mundo. México produce alrededor de 20 millones de toneladas, debajo de la media mundial (Araus *et al.* 2010).



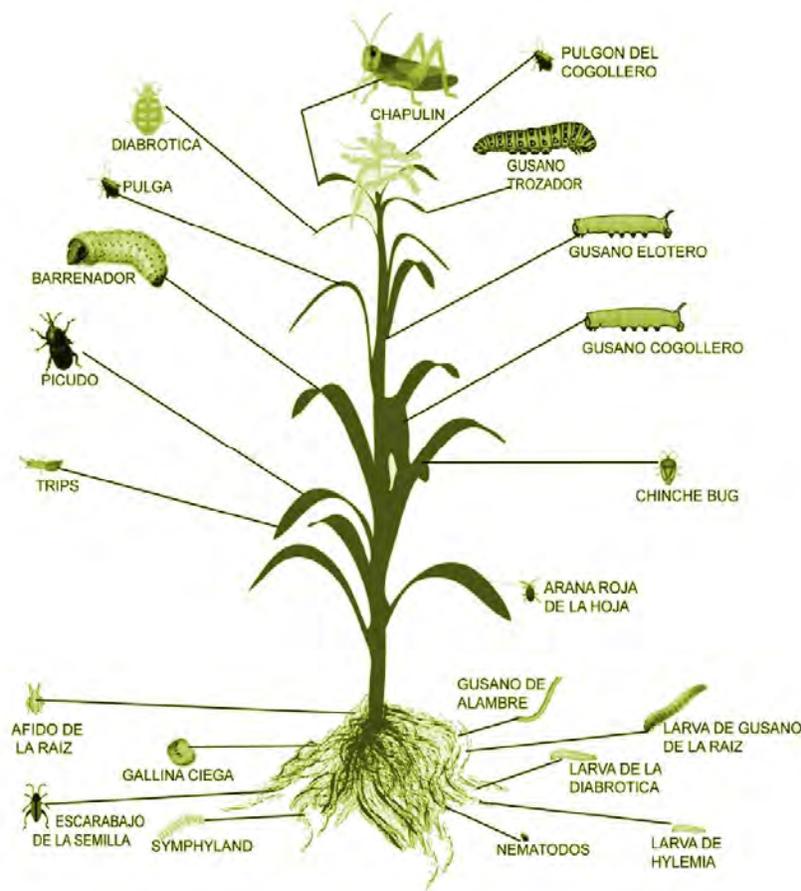
**Figura 1.** Ilustración de la planta de maíz. (Tomada de Köhler 1887).

Gran parte del éxito del maíz se debe al hecho de que puede ser cultivado en casi todos los climas, altitudes y tipos de suelos (Salazar y Godínez 2010). Es una planta de metabolismo de fijación de carbono tipo  $C_4$  que le confiere una capacidad fotosintética mayor que las plantas  $C_3$ . Por esto, logra una elevada producción de materia y un alto contenido de carbohidratos solubles y estructurales.

Se cree que es una de las primeras plantas cultivadas hace aproximadamente 7000 años por las antiguas civilizaciones prehispánicas. Hallazgos fósiles sustentan la teoría de que México es el centro de su origen (Salazar y Godínez 2010). Después del petróleo es el producto natural que más usos tiene, por ejemplo puede hacerse biodiesel, etanol, jarabe de glucosa, biopolímeros, polivinil, almidón, fructuosa, manosa esterés, dextrinas, aceite de maíz, colorantes, gluten y varios más (Salazar y Godínez 2010).

### 3.1.1 . Principales plagas que lo atacan al maíz

El maíz tiene muchas plagas entre insectos y enfermedades. Se han publicado 125 enfermedades del maíz provocadas por patógenos, entre hongos, bacterias y virus (De León 2008). En el cuadro 1 se citan algunos de los insectos herbívoros plaga, más importantes de este cultivo.



**Figura 2.** Plagas de maíz importantes. (Modificada de Ramírez 2012).

**Cuadro 1.** Plagas importantes del maíz.

Nombre común	Nombre científico	Descrito por	Orden y familia
Gusano cogollero	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Smith	Lepidoptera: Noctuidae
Gusano soldado	<i>Spodoptera exigua</i>	Hübner	Lepidoptera: Noctuidae
Gusano elotero	<i>Helicoverpa zea</i>	Boddie	Lepidoptera: Noctuidae
Gusano barrenador	<i>Diatraea saccharalis</i>	Fabricius	Lepidoptera: Crambidae
Gusano alfilerillo	<i>Diabrotica virgifera</i>	LeConte	Coleoptera: Chrysomelidae
Ácaros	<i>Tetranychus urticae</i>	Koch	Prostigmata: Tetranychidae
Picudos	<i>Geraeus senilis</i>	Casey	Coleoptera: Curculionidae
Gallina ciega *	<i>Phyllophaga</i> spp.	Harris	Coleoptera: Melolonthinae
Trips o arañuelas	<i>Frankliniella occidentalis</i>	Pergande	Tysanoptera: Thripidae
Gusano de alambre	<i>Agrotis</i> spp.	Eschscholtz	Coleoptera: Elateridae

\* La gallina ciega es un complejo de varias especies. Se cita la más común.

### 3.2. Genotipos de maíz

Córdova (1992) y De la Rosa *et al.* (2000), señalaron que en la necesidad de encontrar variedades de maíz cada vez más resistentes a diversos factores bióticos o abióticos, que dan más rendimiento de grano, que resisten enfermedades o plagas de insectos y más aceptables a la mayoría de condiciones de producción, ha sido necesario cruzar diversas variedades sintéticas haciendo que los híbridos liberados comercialmente porten genes deseables. Hay evidencia que los nuevos híbridos aparte de tolerar mejor la sequía, también lo hacen con baja fertilización ya que están asociadas a tolerar una alta densidad de plantas en competencia intra-específica (Araus *et al.* 2010).

#### 3.2.1. Variedad de maíz usadas en el experimento (NB9 y NB10)

La variedad NB9 es una maíz producido por la empresa Novasem<sup>®</sup>, recomendado para la zona del Bajío Mexicano y la ciénaga occidente. NB10 también producido por la empresa Novasem<sup>®</sup>, es recomendado para la zona del Bajío y la región noroeste de México (Figura 3). En el cuadro 2, se señalan las características de las dos. Actualmente, existen híbridos y variedades que son más tolerantes al estrés hídrico. Por ejemplo, los rendimientos de maíz en Estados Unidos han aumentado mucho desde la utilización de híbridos, aumentando

75% y solo 25% a mejoras de riego. Estos híbridos soportan mejor las condiciones de poca agua (Tollenar *et al.* 2000).



**Figura 3.** Planta de los híbridos usados. a) Genotipo NB9. b) Genotipo NB10. (Tomadas de NOVASEM® [www.novasem.com.mx](http://www.novasem.com.mx)).

**Cuadro 2.** Características generales de los híbridos NB9 y NB10.

Planta	NB9	NB10
Uso	Grano	Grano
Ciclo	Intermedio	Intermedio
Tipo de Cruza	Triple	Triple
Floración	70 a 75 días	75 a 78 días
Madurez	125 a 130 días	135 días
Cosecha	180 a 185 días	190 días
Altura	2.60 a 2.80 m	2.50 a 2.80 m
Desarrollo inicial	Rápido	Rápido
Tolerancia a estrés	Excelente	Excelente
Zona de adaptación	500 a 2000 msnm	0 a 1800 msnm
Mazorca	Cilíndrica	Cilíndrica
Tipo de grano	Semicristalino	Dentado
Numero carreras (Mazorca)	16 a 18	14 a 16
Color de grano	Blanco	Blanco

### 3.3 Estrés en plantas

Las plantas a menudo deben enfrentarse a condiciones extremas, debido a las latitudes o altitudes donde se encuentran diversos factores bióticos y abióticos. El estrés hídrico, llega a tener un gran impacto en la fisiología de la planta que debe accionar varios mecanismos fisiológicos. Una definición útil para el estrés biológico en plantas puede ser como una fuerza adversa o una influencia que tienda a inhibir normalmente el sistema de su óptima

función. Es común que las plantas que se cultivan, deban enfrentarse a largos periodos de sequía, a inundaciones, salinidad del suelo, temperatura alta, radiación solar extrema, deficiente calidad de nutrientes y a que sus raíces sean contaminadas por suelos muy salinos y con diversos pH. Sin embargo el exceso de agua también es otro tipo de estrés para las plantas. Otro tipo de estrés muy importante es el biótico. Consistente en plagas de insectos y enfermedades (bacterias, virus y hongos) que pueden disminuir los rendimientos o incluso acabar con la planta (Hopkins y Hüner 2004a).

En los últimos años las actividades antropogénicas han sido incluidas como otro tipo de estrés, como la contaminación atmosférica, contaminación por metales pesados y de aguas residuales y suelos (Hopkins y Hüner 2004a).

### *3.3.1 Estrés hídrico en maíz*

El agua es el factor que más comúnmente limita la producción de maíz en las zonas tropicales, llega a reducir los rendimientos de este cultivo (Palacios 2010). El clima predominante en México es entonces un factor limitante en la producción en el país por su intensa radiación y por tener lluvias insuficientes, además sin la debida infraestructura en las zonas rurales que permitan una buena obtención de agua para riego. Palacios (2010), señala, que no se debe de permitir que se reduzca la capacidad de campo en un 50% en la etapa reproductiva y menos del 40% en la de maduración de maíz.

Sin embargo también puede existir estrés hídrico cuando hay un exceso de agua, por ejemplo cuando se producen inundaciones. Este tipo de estrés es comúnmente asociado a una falta de oxígeno, pues las raíces pueden reducir su suministro de este elemento (Hopkins y Hüner 2004a).

El maíz es un cultivo muy sensible al déficit hídrico como se ha mencionado antes. Esto trae consigo respuestas fisiológicas de la planta, como el retraso en el desarrollo por la dificultad de que los nutrientes lleguen a todas las zonas de la planta estresándose. En general, el maíz necesita por lo menos 500 a 700 mm de precipitación durante el ciclo del

cultivo (Lafitte 1993). Otra de las consecuencias directas de la falta de agua, es la disminución del área foliar con el fin de limitar la transpiración. De igual forma la planta estresada puede también acelerar la abscisión y la senescencia de las hojas antiguas, esto se conoce como ajuste de área foliar (Hopkins y Hüner 2004a).

La mayor parte del maíz en México se cultiva bajo condiciones de temporal. Sin embargo, el estado de Sinaloa al tener un mejor sistema de riego tiene la mayor producción del cereal en el país. Michoacán ocupa el cuarto lugar nacional (INEGI 2012). El riego constante puede triplicar la producción con respecto a la de temporal.

Comprender los mecanismos fisiológicos que las plantas llevan a cabo para protegerse del déficit de agua, es sumamente importante, porque se pueden dañar estructuras como la integridad de las membranas o puede tener una disfunción en el metabolismo (Hopkins y Hüner 2004a).

Hay respuestas fisiológicas del maíz ante la sequía para conservar el agua, como son el enrollamiento de sus hojas, el cierre de los estomas y una densa capa cerosa epicuticular que protege a la planta de la pérdida de líquidos cuando la humedad relativa en el ambiente es baja (Ludlow y Muchow 1990). Los tricomas pueden ayudar a mantener el balance hídrico (Molina *et al.* 2006).

El estrés hídrico puede también afectar el número potencial de granos de la mazorca, lo que lleva a un decremento de rendimiento. Otro síntoma de estrés es que hay foto-oxidación (partes de la hoja descoloridas y amarillentas) (Lafitte 1993). El maíz, posee un mecanismo que bajo situaciones de deficiencia hídrica permite que su sistema radicular aumente la velocidad de exploración en profundidad (Hsiao y Xu 2000 Munns 2002).

#### **3.4. Defensa vegetal contra insectos herbívoros**

A menos que los insectos ayuden a la planta polinizándola, dispersando las semillas o protegiéndola de depredadores, el impacto de los insectos hacia las plantas es dañino

(Speight *et al.* 2008). Estos daños en forma de pérdida de néctar, agua, nutrientes, tejido foliar o introducción de diversos patógenos, puede tener incidencia no solo en la supervivencia de la planta, sino también en la reproducción, para la siguiente generación (Speight *et al.* 2008).

Dada la alta presión de selección ejercida por los herbívoros sobre las plantas, éstas han desarrollado una gran variedad de defensas para limitar sus pérdidas en tejido foliar y adecuación. Éstas pueden ser divididas en respuestas constitutivas y repuestas inducidas (Taiz y Zeiger 2006). Taiz y Zeiger (2006), señalan que las repuestas constitutivas son aquellas defensas que siempre están presentes, son específicas y de reducida toxicidad. También indican que las respuestas de defensa inducidas se producen cuando se ha dado un daño y requiere que las plantas inviertan recursos adicionales para ello, pueden activarse rápidamente y ser muy efectivas.

Ante el ataque de insectos herbívoros se activan genes de respuesta en la planta, que produce una amplia réplica que se denomina: respuesta hipersensible, que consistente en la producción de varios metabolitos secundarios, entre ellos varios tipos de fenoles y taninos. Entre estos últimos, se han dividido en dos clases: Taninos hidrolizables (ácido tánico y otros), que tienen enlaces débiles y taninos condensados (comúnmente protoantocianidinas y catequinas), con enlaces éster más estables (Naczka *et al.* 1994).

Hay tres categorías generales de insectos que se alimentan de las plantas. Primero están los insectos que se alimentan del floema; como los áfidos y las mosquitas blancas que dañan la epidermis y las células mesófilas, sirviendo de vectores para virus que pueden causar mucho más daño. Los segundos son los ácaros y trips que succionan nutrientes. Los terceros son los insectos masticadores como lepidópteros, algunos coleópteros y ortópteros (Speight 2008).

Alborn *et al.* (1997), mencionaron que las plantas pueden reconocer el ataque de los insectos por componentes en su saliva llamados activadores, que desencadenan una compleja transducción de señal y que les permiten defenderse. Por otro lado algunas plantas

pueden interferir en la digestión de los insectos inhibiendo la absorción de nutrientes en las células epiteliales del intestino medio (Peumans y Van Damme 1995). Molina *et al.* 2006, indicaron que además de las defensas químicas, las plantas también tienen defensas físicas, como los tricomas en la superficie de las hojas, que pueden servir como simples barreras, pero también llegan a secretar compuestos nocivos.

### **3.5. Nutrición de la planta y su relación con los insectos herbívoros**

Los nutrientes que constituyen a las plantas tienen un efecto directo sobre las comunidades de insectos que se alimentan de ellas. Ahmad (1986) señaló, que los requerimientos nutricionales de los insectos varían entre especies y con el estado de desarrollo y condiciones ambientales.

El nitrógeno forma parte de los aminoácidos que conforman las proteínas, y de los nucleótidos que constituyen los ácidos nucleídos, también es muy importante para el exoesqueleto de los insectos en forma de quitina (Osuna 1995). El fósforo se usa en reacciones energéticas como la molécula del adenosin trifosfato (ATP). Sin embargo las plantas también están constituidas de carbohidratos y lípidos necesarios para el aporte calórico. Schoonhoven *et al.* (2006) indicaron que el nitrógeno es uno de los elementos que más le interesan a los herbívoros y a todos los animales porque es uno de los mayores componentes de los seres vivos. Sin embargo, también mencionaron que aunque el nitrógeno es muy importante para los animales, es uno de elementos menos disponibles, pues por lo general se encuentra en su forma inorgánica, o mezclado con otros compuestos químicos. Como arriba se menciona, el contenido nutricional de las plantas afecta significativamente a los insectos herbívoros que se alimentan de ellas. Una planta con diferentes proporciones entre sus compuestos que la constituyen, será atacada por ciertas plagas dependiendo de su relación entre ellas.

Por ejemplo en algunas especies de plantas que tengan una relación entre proteínas y carbohidratos de 79:21 tendería a ser atacado por insectos que necesiten crecer más rápidamente, que para otros que tienen ciclos de vida muy largos, pero que necesitan mucha

más energía para sus actividades diarias. Este ejemplo pudiera ser identificado con insectos lepidópteros que necesitan comer muchas proteínas para crecer rápidamente y convertirse en adultos (Schoonhoven *et al.* 2006). En cambio si la proporción fuera 50:50 (proteína-carbohidrato), los que consumirían este alimento serían por ejemplo insectos fitófagos del orden ortóptera, los cuales tienen un ciclo de vida muy largo a comparación de los lepidópteros y necesitan de mucha energía, y por lo tanto prefieren consumir plantas cuya proporción deberá ser mayor de carbohidratos que de proteínas o lípidos (Schoonhoven *et al.* 2006).

En la planta los conductos que transportan nutrientes como la savia por el floema contienen mejores nutrientes en cantidad y calidad que los que transporta el xilema (mayormente transporta agua) y por esto es más apreciado y consumido por los insectos (Douglas 2003). Por ejemplo el floema transporta diez veces más nitrógeno que el xilema. Sin embargo, una mala calidad nutricional de follaje puede resultar ser malo para los herbívoros. Moran y Hamilton (1980) indicaron que los insectos son capaces de detectar la baja calidad nutricional y moverse para evitar esas plantas, ya que alimentarse de ellas puede hacer que se reduzca su tamaño o que desarrollen un riesgo de enfermedad o depredación.

En el caso del nitrógeno este también constituye las sustancias que las plantas llegan a necesitar para su defensa, como aleloquímicos, por ejemplo los taninos. Haukioja (1985) observó que las plantas de *Betula pubescens* Ehrh (Betulaceae) en respuesta a la defoliación de *Epirritia autumnata* Borkhausen (Lepidoptera: Geometridae), aumentó los niveles de fenoles foliares y disminuyó el nitrógeno foliar. La aplicación de nitrógeno cuando se fertiliza se espera que tenga efectos positivos en el desempeño de los herbívoros (White 1993). Sin embargo, un aumento de nitrógeno por fertilización tiene muchos cambios en la fisiología de la planta. Entre ellos la producción de metabolitos secundarios que resultan en un aumento en la producción de sustancias de defensa (Schoonhoven *et al.* 2006). A pesar de lo anterior, Fischer y Fiedler (2000), advirtieron que no se debe generalizar los resultados y observaciones obtenidas solo de la fase larval, puesto que un rápido crecimiento, por una buena calidad de nutrientes, no garantiza al 100 por ciento que vaya a existir un éxito en el desempeño de los insectos. Puede darse el caso de que haya

mortalidad en la fase de pupa o que los adultos salgan con malformaciones y no sean reproductivos. De tal manera que aún no se tienen respuestas universales sobre la relación entre la fertilización de las plantas y el desempeño de los herbívoros.

También el agua es un factor determinante en la nutrición de la planta y que es muy requerida por los insectos. Estos la necesitan para sus procesos fisiológicos y además una planta más hidratada a diferencia de una con problemas de sequía, podrá transportar más los nutrientes y producir más biomasa (Showler 2003).

### **3.6 . *Spodoptera frugiperda***

#### *3.6.1. El género Spodoptera*

*Spodoptera* Guenée (Noctuidae) es un género cosmopolita que se encuentra principalmente en las regiones tropicales y subtropicales (Lafontaine y Schmidt 2010). Es un género que tiene varias especies especialistas y otras que son polípagas (Slansky y Rodriguez 1987). Incluye varias plagas importantes de cultivos, vegetales, plantas forrajeras y diversos pastos (Watabiki *et al.* 2013). Entre estas plagas de noctuidos de gran importancia económica por el daño causado están: *Spodoptera frugiperda* Smith, *Spodoptera exigua* Hubner, *Spodoptera litura* Fabricius, *Spodoptera littoralis* Boisduval, *Spodoptera exempta* Walker, entre otras (Nagoshi *et al.* 2010).

#### *3.6.2. Spodoptera. frugiperda*

Este artrópodo es comúnmente conocido como el gusano cogollero. Es un lepidóptero ditrisio de la familia Noctuidae que se encuentra en el continente americano y tiene una amplia distribución desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina y Chile (Pogue 2002). Es una especie polífaga que se alimenta de varios cultivos, pero principalmente de maíz. Gómez *et al.* (2010) señalaron que por su amplia distribución geográfica y la gran cantidad de hospederos alternos (Cuadro 3), hacen que el daño causado por este insecto, sea uno de los más importantes a nivel económico. En México, *S. frugiperda* es de las más serias

plagas en estados costeros como Michoacán, Oaxaca, Chiapas, Yucatán y algo menos en Morelos, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Guanajuato, Querétaro y el Estado de México (Sifuentes 1978). Tiene muchas especies hospederas, tales como el arroz, trigo, sorgo, soya y plantas ornamentales (Wiseman y Davis 1979). Actualmente se considera que hay dos biotipos principales de esta plaga fenotípicamente idénticas; uno ataca principalmente al maíz y otro es más especializada al arroz *Oryza sativa* L. (Pashley 1986). Sin embargo, aunque se pensaría que hay un proceso de especiación del tipo simpátrico ya que los diferentes biotipos están especializadas en los cultivos y además hay cierto aislamiento geográfico los estudios filogenéticos indican que aún es la misma especie, sugiriendo que debe haber flujo génico entre ambas (Murúa *et al.* 2008).

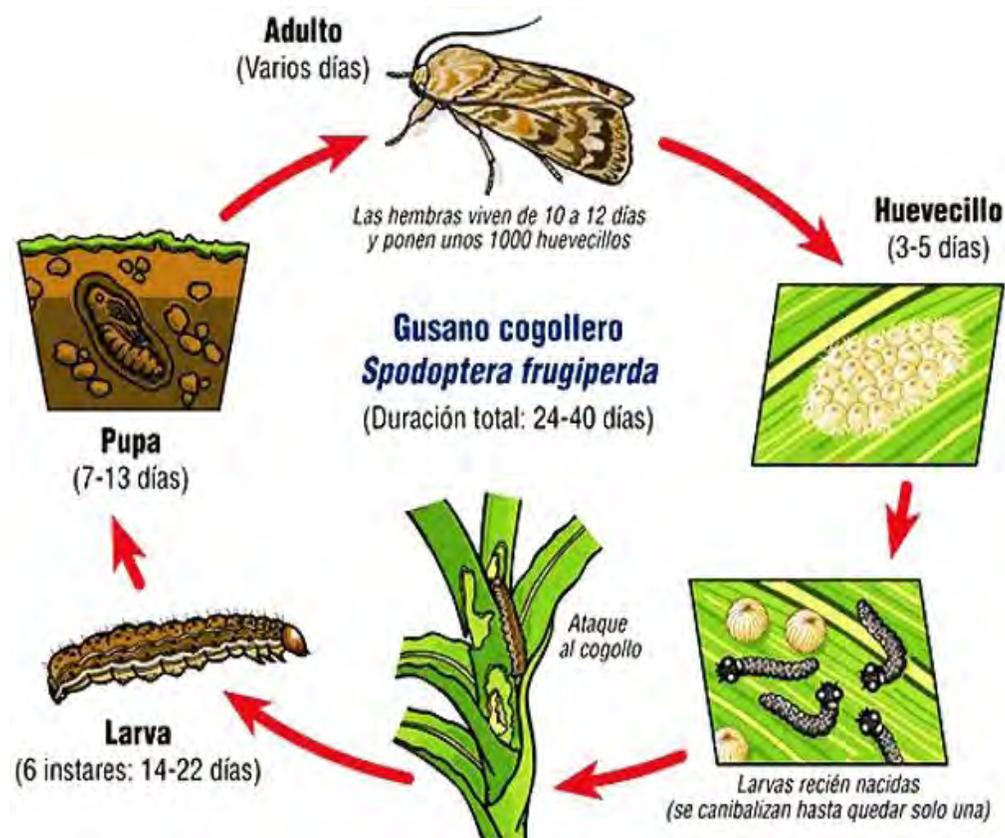
**Cuadro 3.** Algunas plantas hospederas de *S. frugiperda* de importancia comercial.

Planta	Nombre científico	Descriptor	Familia
Maíz	<i>Zea mays</i>	Linneo	Poaceae
Sorgo	<i>Sorghum bicolor</i>	Linneo	Poaceae
Arroz	<i>Oryza sativa</i>	Linneo	Poaceae
Caña de azúcar	<i>Saccharum officinarum</i>	Linneo	Poaceae
Trigo	<i>Triticum</i> sp.	Linneo	Poaceae
Soya	<i>Glycine max</i>	Linneo	Fabaceae
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Linneo	Fabaceae
Frijol	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Linneo	Fabaceae
Trébol	<i>Trifolium</i> sp.	Linneo	Fabaceae
Calabaza	<i>Cucurbita</i> sp.	Linneo	Cucurbitaceae
Papa	<i>Solanum tuberosum</i>	Linneo	Solanaceae
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	Linneo	Solanaceae
Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>	Linneo	Solanaceae
Chile	<i>Capsicum</i> sp.	Linneo	Solanaceae
Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>	Linneo	Solanaceae
Lechuga	<i>Lactuca sativa</i>	Linneo	Asteraceae
Algodón	<i>Gossypium hirsutum</i>	Linneo	Malvaceae
Ajo	<i>Allium sativum</i>	Linneo	Amaryllidaceae
Cebolla	<i>Allium cepa</i>	Linneo	Amaryllidaceae
Betabel	<i>Beta vulgaris</i>	Linneo	Amaranthaceae

Clavijo y Pérez (2000); Chereguino y Menéndez (1975).

### 3.6.3. Comportamiento y daños al maíz

En gramíneas como el maíz y el sorgo la presencia del *S. frugiperda* se considera endémica, esto significa que hay poblaciones en todo el año que causan daño en mayor o menor proporción en este cultivo. Como plaga causa importantes daños en este cultivo por que consume grandes cantidades de follaje (Cruz *et al.* 1999) y sobre todo cuando ocurre en las etapas tempranas del desarrollo de la planta, pues puede provocar la pérdida de toda la cosecha. En otras plantas este lepidóptero solo se encuentra por temporadas y se considera de poca importancia (Zenner de Polanía *et al.* 2007).



**Figura 4.** Ciclo de vida de *S. frugiperda*. Tomada de BAYER® Crop Science México (www.bayercropscience.com.mx . Consultada el 11 de septiembre de 2013).

Como larva *S. frugiperda* se alimenta de la planta hospedera hasta que complete seis estadios, y después se deja caer del follaje e inicia la pupa dentro del suelo (Miranda *et al.* 2002). Durante los dos primeros estadios, las larvas roen la epidermis de las hojas, dejando manchas translúcidas; a partir del tercer estadio, consumen toda la lámina foliar dejando huecos irregulares en el follaje, luego migran hacia el cogollo, donde encuentran

protección. Tienen hábitos caníbales, y por eso generalmente se encuentra una sola por cogollo, aunque es posible encontrar varias en cada planta y el mayor consumo (80% de la ingesta), lo realizan en los dos últimos estadios (Murillo 1991).

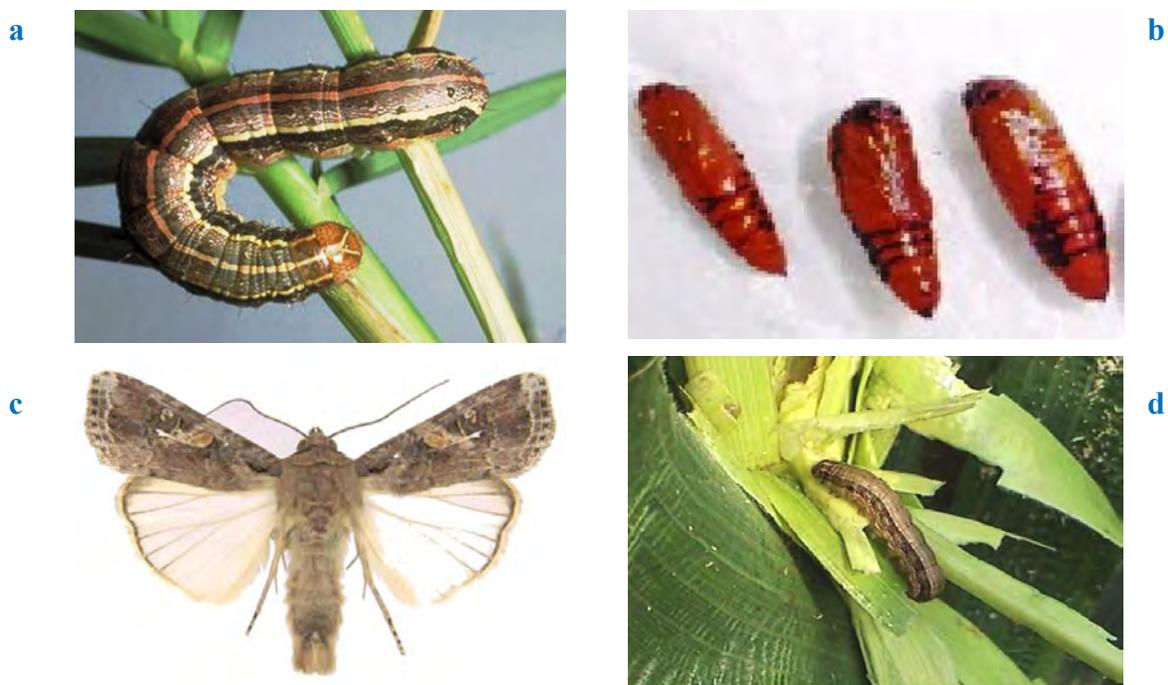
#### 3.6.4. Características generales de *S. frugiperda*

La palomilla es de coloración gris oscura algo maculada, las hembras tienen alas lisas de color pardo-grisáceas, mientras que los machos tienen grecas arabescas llamativas en las alas delanteras, y las traseras son blancas. Las hembras depositan los huevos corrientemente durante las primeras horas de la noche como masas en las hojas distribuidos al azar y llegan a poner como promedio 1000 huevecillos en masas de 10 a 350 en cada puesta (Cruz *et al.* 1999).

Las temperaturas tienen una gran influencia en el desarrollo embrionario de *S. frugiperda*, las larvas eclosionan a los tres o cuatro días, cuando la temperatura es elevada. Estas al eclosionar se alimentan del corion, más tarde se trasladan a diferentes partes de la planta o a las vecinas, evitando así la competencia por el alimento y el canibalismo (Chapman *et al.* 2000) (Figura 5). Su color es en general oscuro con tres rayas pálidas estrechas y longitudinales; en el dorso se distingue una banda negruzca más ancha hacia el costado y otra parecida pero amarillenta más abajo, en la parte frontal de la cabeza se distingue una "Y" invertida.

El período de tiempo para el desarrollo larval es menor a medida que aumentan las temperaturas. Las larvas pasan por seis fases llamadas estadios, en el primero estas miden hasta 2-3 mm y la cabeza es negra, el segundo mide de 4-10 mm; las larvas pueden alcanzar hasta 35 mm en su último estadio.

Las pupas son de color caoba rojiza de 17 a 20 mm y esta fase usualmente se desarrolla en el suelo y ahí se queda en reposo de ocho a diez días hasta la emergencia del adulto (Figura 3). Su ciclo de vida completo varía según la temperatura pero puede llegar a ser de 38 a 45 días.



**Figura 5.** Fases de *S. frugiperda* y daño a la planta. a) Larvas en el sexto estadio (Tomada de [www.agritotal.com](http://www.agritotal.com), 3 de abril de 2014). b) Pupas. c) Adulto del gusano cogollero (macho). d) *S. frugiperda* alimentándose del maíz (tomada de [http://es.wikipedia.org/wiki/Spodoptera\\_frugiperda](http://es.wikipedia.org/wiki/Spodoptera_frugiperda), consultada el 3 de abril de 2014).

**Cuadro 4.** Ejemplos de enemigos naturales y patógenos de *S. frugiperda*.

Controlador	Nombre común y/o científico	Descriptor	Orden y/o familia
Depredadores	Tijerillas	DeGeer	Dermaptera
	Arañas	Clerk	Araneae
	Catarinas	Philippi & Philipp	Coleoptera: Coccinellidae
Parasitoides	<i>Chelonus insularis</i>	Cresson	Hymenóptera: Braconidae
	<i>Campoletis sonorensis</i>	Cameron	Ichneumonidae
	<i>Cotesia marginiventris</i>	Cresson	Hymenóptera: Braconidae
	Taquinidos	-	Diptera: Tachinidae
Bacterias	<i>Bacillus thuringensis</i>	Berliner	Bacillales
	<i>Beauveria bassiana</i>	Balsamo y Vuillemin	Hypocreales
Hongos	<i>Metarrizium anisoplaea</i>	Metchnikoff	Hypocreales
	<i>Paecilomyces fumorosoroseus</i>	Wize	Eurotiales
	<i>Nomurea rileyi</i>	(Farlow) Samson	Moniliales
Virus	Nucleopoliedrovirus	-	Baculoviridae

### 3.6.5. Métodos de control químico

Comúnmente *S. frugiperda* se controla con insecticidas químicos. McConnell y Hruska (1993) señalaron que los insecticidas más utilizados para el control de esta plaga son organofosforados como el paratión metílico, metamidofos y clorpirifos. Sin embargo, cada vez existe más resistencia a estas sustancias y en ocasiones es necesario aplicar dosis mucho más altas que las recomendadas y con mayor frecuencia, provocando consecuencias para la salud humana, animal, teniendo un fuerte impacto en los ecosistemas y elevando los costos (García 2000).

### 3.6.6. Control biológico con enemigos naturales

Ante el uso indiscriminado de sustancias químicas con los problemas arriba expuestos cada vez se ha despertado un mayor interés por control de plagas con enemigos naturales. *S. frugiperda* es un insecto con una gran multitud de enemigos naturales (Cuadro 4), que se encuentran en el ambiente y pueden llegar a reducir esta plaga (García *et al.* 2000).

## 3.7. Los baculovirus

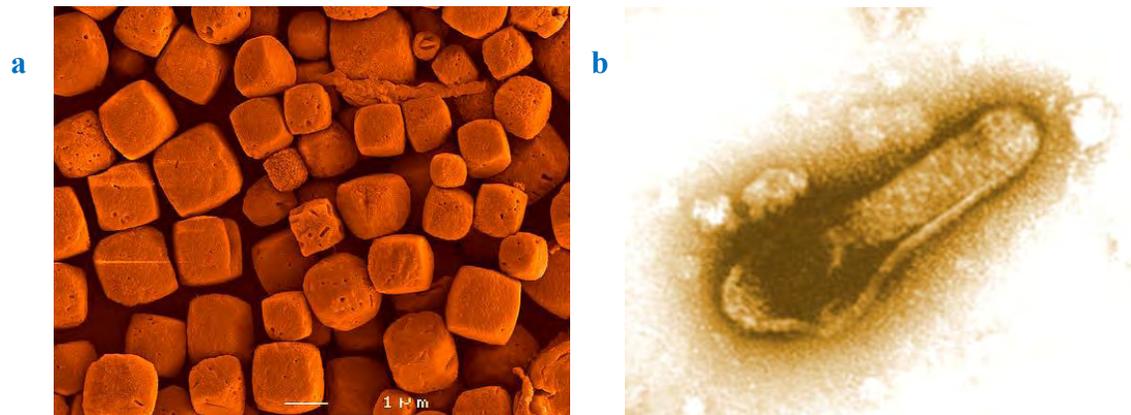
### 3.7.1. La familia Baculoviridae

La familia Baculoviridae es la más numerosa de todos los grupos de virus patógenos de insectos (Caballero *et al.* 2009). Muchos de ellos son utilizados como bioinsecticidas en el control de insectos plagas en cultivos de importancia económica (Granados y Federici 1986), debido a su elevada especificidad, pues está restringido su huésped natural y a algunas especies filogenéticamente muy próximas (Gróner 1986).

Los baculovirus infectan a artrópodos y han sido reportados alrededor del mundo sobre 600 especies hospederas, la mayoría insectos, sobre todo del orden Lepidóptera aunque también se han identificado en Díptera, Himenóptera y también se sabe que atacan crustáceos del orden Decápoda (Herniou *et al.* 2003).

Los baculovirus tienen forma de varilla que envuelven virus de ADN de doble cadena (Figura 4), con genomas de tamaño grande en el rango de 90 Kb a 180 Kb (Herniou *et al.* 2003). Gupta *et al.* (2007) mencionaron que los baculovirus como todos los virus necesitan ser replicados en sus larvas hospederas (*in vivo*) o en cultivos celulares (*in vitro*). Dos morfologías son claramente apreciables en esta familia, los nucleopoliedrovirus y los granulovirus.

Están embebidos en cuerpos de inclusión (OBs: Occlusion bodies por sus siglas en ingles), que está formado de una matriz proteínica que les confiere resistencia a factores bióticos y abióticos (Herniou *et al.* 2003). En el caso de los nucleopoliedrovirus la matriz es de poliedrina que como su nombre lo dice tiene formas poliédricas y suelen contener varios viriones distribuidos al azar (Figura 6).



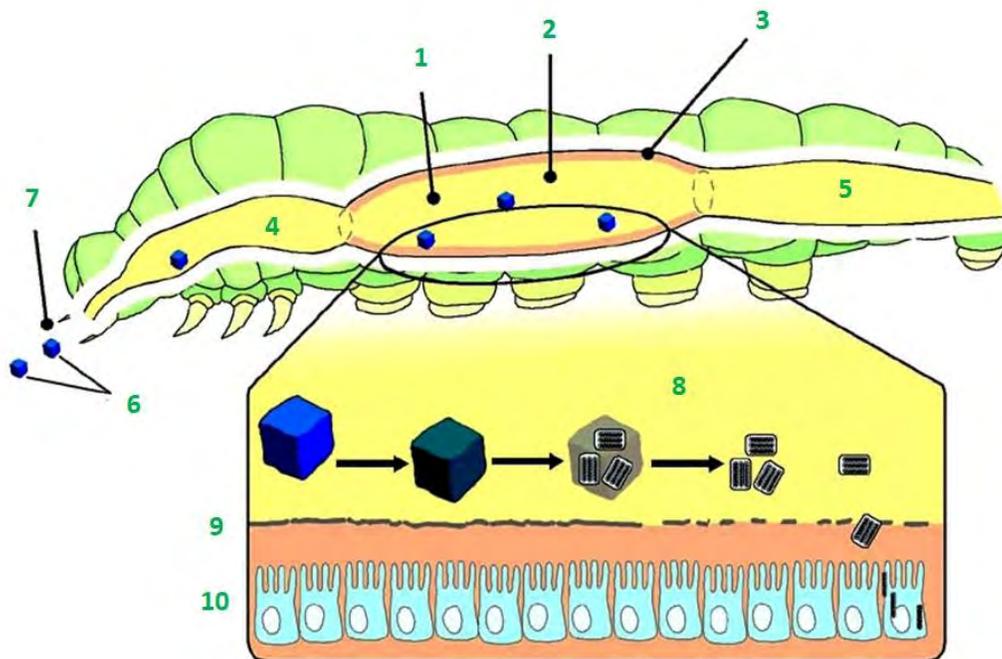
**Figura 6.** a) Cuerpos de inclusión. b) Virion brotado. (Imágenes en falso color, modificadas de Jeroen 2008 y Van Oers y Vlak 2007).

En el caso de los granulovirus, estos están conformados de otra proteína que se llama granulina y generalmente solo tienen un cuerpo de inclusión. Sin embargo la clasificación actualmente aceptada mediante análisis filogenéticos, indica que la familia de estos entomopatógenos está conformada por cuatro géneros: *Alphabaculovirus* que son nucleopoliedrovirus específicos para lepidópteros, *Betabaculovirus* que son granulovirus específicos de lepidópteros, *Gammabaculovirus* que son nucleopoliedrovirus específicos para himenópteros y *Deltabaculovirus* que son específicos para dípteros (Jehle 2006). Los nucleopoliedrovirus a su vez, se han subdividido en SNPV y MNPV, los primeros conteniendo un único virion y los segundos conteniendo varios.

Estudios moleculares han estimado que el origen de los baculovirus se remonta alrededor de 310 millones de años, durante el periodo carbonífero de la era paleozoica (Thézé *et al.* 2011). Cory y Myers (2003), señalaron que los baculovirus, pueden transmitirse de manera horizontal (entre individuos) y vertical (a su descendencia).

### 3.7.2. Ciclo de infección

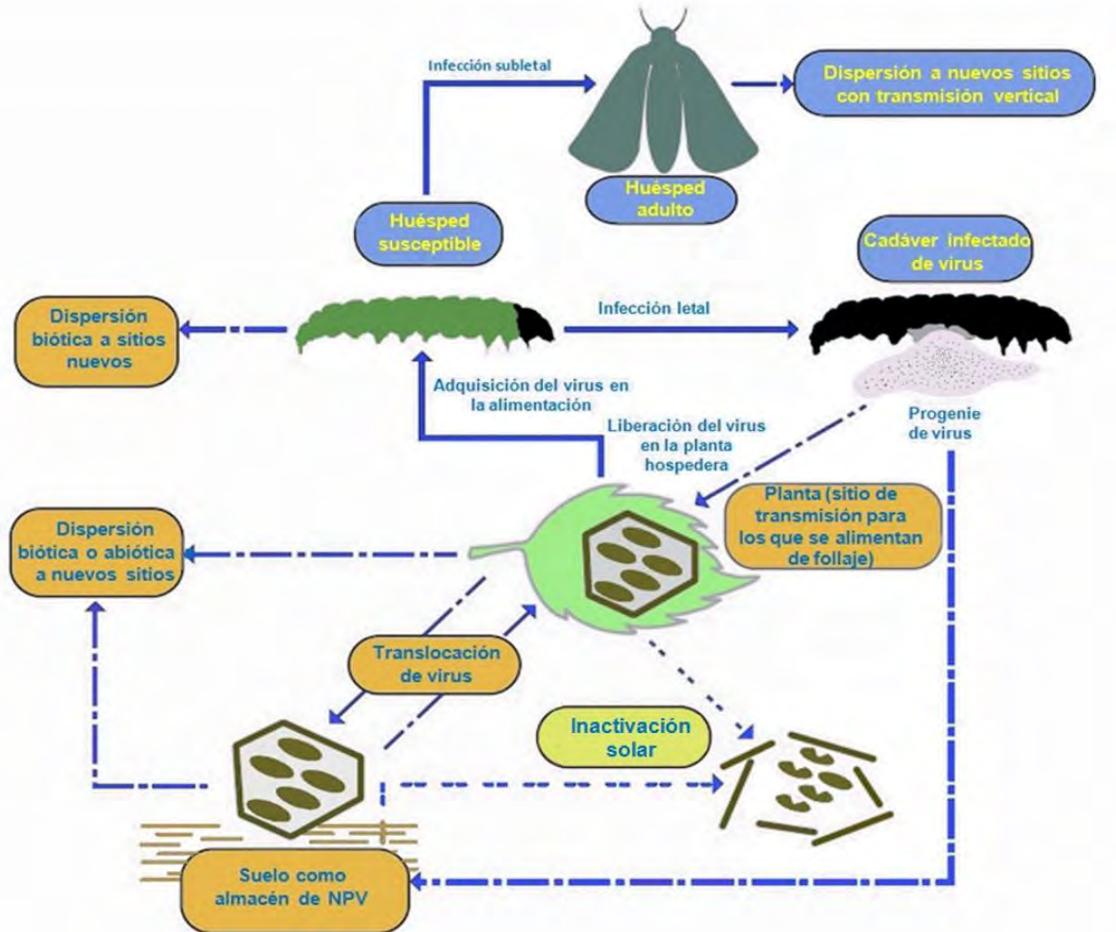
Los baculovirus infectan a su hospedero al alimentarse este del follaje contaminado. Entran al intestino medio del insecto llamado mesenterón. Como el pH del mesenterón es alcalino de 8 a 11 dependiendo de la especie hospedante, la poliedrina de los cuerpos de inclusión pierde su conformación y se deshace liberando a los baculovirus ya desnudos que infectan a las células epiteliales del intestino medio llegando a su núcleo (Possee *et al.* 2010).



**Figura 7.** Modo de infección de los NPV en las larvas. 1) pH alcalino. 2) Mesenteron. 3) Membrana peritrófica. 4) Estomodeo. 5) Proctodeo. 6) Poliedros. 7) Ingestión de los poliedros. 8) Disolución de los poliedros, liberando los viriones y rompiendo la membrana peritrófica. 9) Membrana peritrófica. 10) Células epiteliales del intestino medio (Modificada de Kalmakoff y Ward 2003).

Posteriormente los virus se multiplican en estas células produciendo los llamados viriones brotados que lisan estas para enseguida en una segunda infección atacar al resto de las células del insecto a través del hemocele o las traqueolas respiratorias.

En el núcleo de las células se introducen diversos genes que expresan diversas proteínas. Como el gen EGT (ecdysteroid UDP-glicosyltransferase) que modifica el comportamiento del insecto, catepsinas que básicamente muelen los órganos y enzimas quitinasas que degradan la cutícula del insecto y ocasionan la licuefacción para liberar los cuerpos de inclusión al ambiente (Goulson 1997; Figura 7).



**Figura 8.** El destino de los baculovirus de lepidópteros en el ambiente. Las líneas solidas muestran las rutas de transmisión, las líneas con puntos muestran la dispersión y las líneas punteadas la inactivación de los NPV (modificada de Richards *et al.* 1998).

Los insectos enfermos cambian su comportamiento y migran a la parte más alta de las hojas, ahí se cuelgan de los pseudópodos (propatas), posiblemente esperando a que algún pájaro las ingiera o que se produzca la licuefacción y así el virus tenga un mayor rango de dispersión (la figura 8 muestra el destino de los virus en el ambiente). Esto es conocido en especies de lepidópteros, el que los baculovirus les inducen una modificación al

comportamiento del hospedero y que resulta en comportamiento de escalar la hoja y colgarse de la punta (Goulson 1997). Por lo general estos cuerpos de inclusión quedan en el suelo y luego mediante diversos transportes como son insectos o factores abióticos como el viento o el agua regresan de nueva cuenta a la hoja en espera que otro insecto se alimente de la parte aérea de la planta contaminada. A pesar de los avances en comprender la base de estos mecanismos por el cual el hospedero es manipulado y después se licue desparramándose, y liberando OBs, las consecuencias evolutivas y los orígenes de estas características se mantienen aún en el ámbito especulativo (Hamblin y Tanaka 2013).

### 3.7.3 . *SfMNPV como agente de control biológico*

*Spodoptera frugiperda* tiene un nucleopoliedrovirus específico, denominado SfMNPV (*Spodoptera frugiperda* multinucleopoliedrovirus). Aislamientos del patógeno han mostrado un claro potencial para el control de esta plaga (Escribano 1999).

Una característica a favor del uso de estos virus es que no deja residuos tóxicos en el ambiente y tiene una baja probabilidad de desarrollar resistencia (Monobrullah 2003). Otra ventaja más es su persistencia en los ambientes naturales principalmente en el suelo y la hojarasca y que es la fuente de inóculo para las generaciones subsecuentes de la plaga.

En lo anterior Garden y Fuxa (1980) señalaron que este virus que puede perdurar por gran tiempo en las poblaciones naturales de *S. frugiperda*, y esto puede prolongar el efecto de la aplicación o el establecimiento del virus como factor de regulador de las poblaciones de la plaga (Ibarra y Del Rincón 2001).

El uso alternado de estos compuestos en el contexto de un apropiado manejo integrado de plagas, podría minimizar el costo de estrategias de control de plagas basadas en baculovirus. En varios lugares del mundo se han registrado baculovirus como bioinsecticidas y se utiliza con en el control de plagas (Moscardi 1999). Martínez *et al.* (2012), concluyeron que el uso del SfMNPV es compatible con la acción de otros enemigos naturales e incluso con algunos otros insecticidas.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. EXPERIMENTO I - Desempeño, nutrición y defensa de dos híbridos de *Zea mays* bajo estrés hídrico

#### 4.1.1. Diseño experimental

El experimento tuvo dos factores que correspondían a dos variedades híbridas de maíz (NB9 y NB10 de la empresa Novasem<sup>®</sup>) y a un gradiente de irrigación para cada variedad de maíz con cuatro niveles: 40, 55, 70 y 85% de la capacidad de campo. Se llevaron a cabo seis repeticiones por cada tratamiento dando por total 48 unidades experimentales (2x4x6).

**Cuadro 5.** Fertilidad y características físicas del sustrato.

Fertilidad											
Elemento	N	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Zn	Mn	Cu	Co
ppm	23.2	5.8	303	2985	709	192	76.2	5.37	50.5	1.97	1.97

Características Físicas del Suelo									
Tipo de Suelo	Arena (%)	Arcilla (%)	Limo (%)	Punto de Saturación (%)	Capacidad campo (%)	Punto de marchitez (%)	Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )	pH suelo	Carbonatos Totales (%)
Arcilla	19.4	53.2	27.2	50	37.5	19.7	1.17	7.28	1.46

#### 4.1.2. Establecimiento del experimento

El experimento comenzó en junio de 2012 en condiciones de invernadero con dos variedades híbridas de maíz (NB9 y NB10, Novasem<sup>®</sup>), recomendadas para la zona del Bajío. Para esto se utilizaron 24 macetas por variedad de maíz que contenían 800 gramos de suelo (Vertisol) y arena de río en proporción 1:1 (en el cuadro 5 se muestran las características del sustrato). Se sembraron tres semillas por maceta y se germinaron durante diez días regándose diariamente a 65% de la capacidad de campo. En un estudio anterior con este sustrato, Lopez (2013) estimó la capacidad de campo, mediante el método gravimétrico propuesto por Llorca (2006), que consistió en pesar cinco muestras de 50 y

1000 g de sustrato saturado de agua. Posteriormente las muestras fueron secadas en un horno por 48 horas a 105 °C. El porcentaje de humedad del suelo se obtuvo de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de la capacidad de campo} = \frac{(\text{Peso de suelo húmedo} - \text{Peso de suelo seco}) \times 100}{\text{Peso de suelo seco}}$$

Cuando las plántulas emergieron en el genotipo NB9, se eliminaron dos de cada maceta con el objetivo de homogeneizar todas las plántulas del tratamiento. En el caso de las plantas NB10 al tener una menor tasa de germinación, hubo macetas que no tuvieron plántulas por lo que se decidió trasplantar plantas de las macetas que tuvieran demás, procurando que tuvieran un tamaño similar. A los diez días del establecimiento de las plántulas se comenzó el tratamiento de irrigación con los diferentes tratamientos antes mencionados. Durante seis semanas se regó diariamente. Es importante indicar que en los días lluviosos y fríos, solo se regaba una sola vez cada tarde y cuando el día era muy soleado se aplicaba el nivel de irrigación dos veces al día: (11:00 am y 17:00 pm). Cada semana a la misma hora, se midió el tamaño de la planta desde la base hasta la punta de la hoja más larga.

#### *4.1.3. Cosecha y análisis*

Al finalizar las seis semanas, las plantas se cosecharon separando la parte aérea (tallos y hojas) de las raíces y se colocaron en bolsas de papel. También se cortó la tercera hoja más joven de cada planta para ser liofilizada y cuantificar el contenido de los fenoles totales y taninos. Se obtuvo el peso fresco de cada planta y de la hoja a liofilizar por separado en una balanza analítica de la marca Ohaus<sup>®</sup>. La parte aérea se secó en un horno de de la marca Fisher Scientific<sup>®</sup> durante 72 h a 70 °C e inmediatamente se midió el peso seco de toda la parte aérea en la balanza arriba mencionada. De la parte radical se midió sólo su peso fresco y se almacenaron en un congelador a -18 °C por siete meses.

La liofilización de las hojas se realizó en un liofilizador de la marca Christ<sup>®</sup> a -50 °C al vacío por 72 horas. Posteriormente, las hojas liofilizadas y las raíces se almacenaron en un

congelador a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y las muestras de la parte aérea que solamente se secaron en el horno se almacenaron a temperatura ambiente.

Las raíces de cada planta fueron pesadas y se obtuvo su peso fresco. Posteriormente, fueron almacenadas en un congelador a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  por siete meses. Al cabo de los siete meses de congelación se extrajeron de cada raíz entre 1.5 g y 2 g de tejido con el fin de estudiar su colonización por hongos micorrizicos (este análisis no se presenta en la tesis). Después todos los pesos (peso fresco, peso de raíces para colonizar, peso seco) mediante una fórmula se obtuvo el peso seco radical total que se muestra en los resultados.

Las muestras secas de cada hoja liofilizada y de la toda la parte aérea (tallo y hojas) se molieron por separado en un molino de la marca Thomas Scientific<sup>®</sup> hasta obtener un polvo fino, el cual se tamizó con una malla del número 40 (0.424 mm).

#### *4.1.4. Cuantificación de fenoles*

Para la cuantificación de fenoles, se usó el método propuesto por Price y Butler (1977). Las muestras de las hojas liofilizadas se pesaron (0.05 gr) y se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL y se les añadió 1 mL de metanol al 50%. Posteriormente, las muestras se almacenaron en un refrigerador a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas.

Al cumplirse las 24 horas se preparó el reactivo azul de Prusia diluyendo en un vaso de precipitado 2.49 mL de HCl (ácido clorhídrico) en 300 mL de agua destilada, con agitación continua se agregaron 0.972 gr de  $\text{FeCl}_3$  (cloruro férrico) para obtener un solución al 0.02 M. En otro vaso de precipitado se disolvieron 0.789 g de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (potasio-ferrocianuro) en 500 mL de agua destilada para obtener una solución al 0.016 M. Las muestras que contenían 1 mL de metanol, se centrifugaron por 10 minutos a 10 mil rpm en una centrifugadora de la marca Eppendorf<sup>®</sup> con el fin de separar la fase acuosa de la solución. Se tomó una alícuota de 0.06 mL (600 microlitros) del sobrenadante de cada tubo y se colocaron en tubos de ensaye de 13 x 100mm que contenían 1.8 mL de agua destilada. Todo el procedimiento se llevó cabo tras un cristal en una campana de extracción.

Teniendo los tubos de ensayo con la muestra y el agua como arriba se menciona, se procedió a añadirles a cada tubo 0.6 mL del reactivo que contenía  $K_3Fe(CN)_6$  al 0.016 M y otros 0.6 mL del reactivo al 0.02 M de  $FeCl_3$ , tiñéndose al instante de color azul de Prusia que sólo se da en presencia de fenoles. La solución usada como blanco para la calibración del espectrofotómetro se preparó de la misma manera que cada tubo individual (1.8 mL de agua destilada, 0.6 de la solución de  $K_3Fe(CN)_6$  y 0.6 mL de la solución con  $FeCl_3$ ). Al no contener tener fenoles no se tiñó.

En un agitador magnético de la marca Scientific Industries<sup>®</sup> se homogeneizaron las muestras por ocho segundos. Debido a la naturaleza difásica de las muestras, éstas se colocaron inmediatamente después de la agitación en el espectrofotómetro Thermo Scientific<sup>®</sup> a 720 nm y se tomaba la lectura. Los análisis se llevaron a cabo en bloques (se llevó a cabo una repetición por vez, hasta completar las seis).

#### *4.1.5 . Cuantificación de taninos*

Para la cuantificación de taninos totales se usó el método de la proantocyanidina propuesto por Waterman y Mole (1994). Para su preparación, se pesó 0.28 gr de hidrato de sulfato ferroso y se mezcló con 20 mL de ácido clorhídrico hasta disolverse totalmente. Posteriormente, se le añadió 380 mL de butanol y se agitó hasta su homogenización por varios minutos.

Del material liofilizado restante se tomó una muestra de 0.05 gr de tejido vegetal molido como arriba se describe y se adicionó con 1 mL de metanol al 50% y se mezcló durante 10 segundos. Después se centrifugó a 10 mil rpm durante diez minutos como se menciona en el caso de los fenoles y se recuperó el sobrenadante. A este último, se le añadieron 7 mL de la solución que contenía el butanol, sulfato ferroso y ácido clorhídrico y se taparon los tubos con una tapa rosca que tenía una lámina de teflón y se pusieron a hervir por 40 minutos.

Por otro lado se prepararon ocho concentraciones diferentes para cuantificar la curva estándar de la siguiente manera: en diferentes tubos de ensayo con tapa rosca de teflón se

colocaron las ocho concentraciones de ácido tánico (0.005, 0.008, 0.01, 0.03, 0.05, 0.08, 0.11 y 0.3 g). Se les adicionaron 7 mL de la solución que contenía el butanol y el sulfato ferroso y se calentó de la forma arriba descrita.

El blanco se preparó con 0.007 gr de sulfato ferroso, 0.5 mL de agua destilada y 10 mL de butanol y se calentó de igual manera. A todas las muestras se les cuantificó la concentración de ácido tánico presente entre el tejido foliar. Esto se llevó a cabo en un espectrofotómetro Thermo Scientific® a 550 nm.

#### *4.1.6. Cuantificación de nitrógeno y fósforo en tejido vegetal*

Al ser muy parecido el protocolo para cuantificar nitrógeno y fósforo, los análisis se realizaron al mismo tiempo y solo difieren en una parte que al final de este apartado se explica. Al momento de iniciar el proceso de predigestión las muestras llevaban varios meses almacenadas a temperatura ambiente, fue necesario volver a secar por 24 horas para así eliminar posibles restos de humedad.

La cuantificación del nitrógeno y fósforo total de la parte aérea de las plantas, se llevó a cabo por el método Micro-Kjeldahl propuesto por Murphy y Riley (1962). Previo al proceso de predigestión, las muestras que se encontraban almacenadas a temperatura ambiente, se volvieron a secar en un horno a 70 °C por 24 horas para así eliminar posibles restos de humedad.

La mezcla digestora preparada con 1.0 g Sulfato de Cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y 10.0 g de Fosfato de Potasio Monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), en una proporción 1:10, se mezcló con las plantas secas y se trituró en un mortero de ágata hasta obtener un polvo muy fino. Posteriormente las muestras secas se pesaron en una balanza analítica para obtener 0.25 g y ponerlos en tubos de ensayo de 75 ml.

A la par se prepararon dos tubos que sirvieron como blancos y que solo contenían la mezcla digestora sin materia orgánica. A continuación se adicionó 1.1 g de la mezcla digestora

arriba descrita a todos los tubos con el fin de elevar la temperatura para catalizar, y así incrementar la velocidad de ruptura de los enlaces moleculares facilitando la oxidación de la materia orgánica y la obtención del nitrógeno contenido de la muestra.

En seguida se añadieron 3 mL de Peróxido de Hidrogeno ( $H_2O_2$ ) al 30% a cada tubo por diez minutos para llevar a cabo la reacción de oxidación. Posteriormente en una cámara de extracción se agregaron lentamente por las paredes del tubo digestor 7 mL de ácidos sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) con el fin de disociar los compuestos nitrogenados de restos de agua, fosfatos y dióxido de carbono presentes en la muestra.

Posteriormente, las muestras en los tubos digestores se colocaron en un bloque digestor para elevar la temperatura gradualmente  $50\text{ }^\circ\text{C}$  cada 20 minutos hasta alcanzar  $375\text{ }^\circ\text{C}$ . Se mantuvo esta temperatura durante tres horas, hasta que los sólidos adquirieron una coloración blanquecina y una fase líquida transparente. Las muestras se dejaron reposando por 24 horas.

Después el extracto se filtró en discos de papel Whatman<sup>®</sup> del número 1 (0.125 mm) en viales de cristal. A continuación se diluyeron 0.2 mL de la muestra en 9.8 mL de  $H_2O$  destilada para obtener una dilución 1:50. Para el caso del fósforo se usó una dilución de 2 mL en 8 mL de agua destilada para obtener una proporción de 1:5. Los extractos se homogeneizaron con un agitador mecánico de la marca Eberbach<sup>®</sup>, a 300 rpm durante 30 minutos.

Para la cuantificar la cantidad de amonio presente en la muestra, se utilizó el método colorimétrico en un autoanalizador de la marca Bran Luebbe<sup>®</sup> a una longitud de onda de 660 nm. Para la cuantificación de nitrógeno total se hicieron absorber en el orden en este autoanalizador: una solución buffer de trabajo, nitropruciatosalicilato de sodio [ $(Na_2Fe(CN)_5 NO_2H_2O)$ ], hipoclorito de sodio ( $NaClO$ ), agua, solución de lavado (ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) al 4%).

La cuantificación de fósforo se hizo de la misma manera que la de nitrógeno, con la diferencia de que en el autoanizador en lugar de usar hipoclorito se usó molibdato después de la reducción con el ácido ascórbico.

#### *4.1.7. Análisis estadístico*

Se llevaron a cabo ANOVA de dos vías para evaluar el experimento, la prueba de Bartlett para la verificación de homogeneidad de la varianza y la prueba LSD (diferencias mínimas significativas) de rango múltiples o grupos homogéneos. En todos las gráficas de barras de los tres experimentos se muestran se muestra el error estándar (EE).

Las variables respuestas fueron: altura, peso seco parte aéreo, peso seco parte radical, relación parte aérea entre parte radicular, defensa vegetal (fenoles y taninos) y nutrición vegetal (contenido de nitrógeno y fósforo. Cuando el test de Bartlett indicaba mucha variación ( $P < 0.05$ ) se procedía a transformar los datos logarítmicamente.

Se usó una alfa de 0.05. Para lo anterior se usó el programa Statgraphic Centurion XV versión 2.06 de la empresa Statpoint<sup>®</sup>. Para las gráficas se usó el programa SigmaPlot<sup>®</sup> de la marca Systat Software Inc, y para manejar las bases de datos se utilizó el programa Excel 2007 de la empresa Microsoft<sup>®</sup>. También se usó de apoyo el programa Gnumeric versión 1.10.

## **4.2. EXPERIMENTO II - Desempeño de *S. frugiperda* con diferentes niveles de irrigación y fertilización mineral**

### *4.2.1 . Diseño Experimental*

El experimento II se diseñó con tres factores: 1) dos niveles de irrigación contrastantes seleccionados del anterior experimento (40 y 85% de la capacidad de campo), 2) dos niveles de fertilización (con y sin NPK), y 3) presencia del insecto (con y sin insecto). Se realizaron seis repeticiones para obtener 48 unidades experimentales (2x2x2x6).

#### *4.2.2. Establecimiento del experimento*

En el mes de abril de 2013 se sembraron tres semillas del genotipo NB9 que previamente había sido seleccionado del primer experimento por su tolerancia al estrés hídrico en macetas con capacidad de 1 L. Se usó el mismo sustrato que en el anterior experimento anterior, consistente en 800 g de suelo tipo vertisol y arena de río en proporción 1:1.

Antes de la siembra se prepararon diversas soluciones que constituían NPK mineral completo (nitrógeno, fósforo, potasio y micronutrientes, Cuadro 6) y se añadió a los tratamientos que contenían la fertilización: 75 mg de sulfato de potasio, 75 mg cloruro de calcio, 63.5 mg de varios micronutrientes y 100 mg de fosfato de potasio. Posteriormente se dejó secar durante algunas horas y se revolvió con el sustrato para obtener una mezcla homogénea. El nitrato de amonio se les añadió semanalmente.

Todos los días durante dos semanas cada planta se regó al 65% de la capacidad de campo calculado para ese sustrato. Para homogeneizar el número y tamaño de las plántulas por maceta, se procedió al raleo, que consistió en remover las plantas que estuvieran de más en una sola maceta, quitándose las que eran mayores o menores del estándar establecido con anterioridad, para así dejar solo una por unidad experimental.

A cada planta se le aplicó a los diez días de sembradas su respectivo nivel de estrés hídrico, con dos riegos (al día todos otras seis semanas que duró el experimento).

A continuación se le aplicó 3 mL de nitrato de amonio a los tratamientos con fertilizante y se procedió a medir desde la base de la planta hasta la punta de la hoja más grande. Esto último (fertilización y medición) se hizo cada semana a la misma hora durante todo el experimento.

Aproximadamente en la quinta semana, se añadieron a todas las plantas otros 5 mL de fosfato de potasio debido a que algunas plantas exhibieron falta de este elemento.

**Cuadro 6.** Solución nutritiva de NPK mineral.

Solución	NPK mineral		Aplicación (mL) por Maceta de 800 g*
	Concentración (g/l)	(mg)	
Sulfato de Potasio			
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	25	75	2.4
Cloruro de Calcio			
CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	25	75	2.4
Micronutrientes			
CuSO <sub>4</sub> x 5H <sub>2</sub> O	0.7	2.1	
ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	1.8	5.4	
MnSO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	3.5	10.5	
CoSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.13	0.39	2.4
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	15	45	
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0.06	0.18	
Nitrato de Amonio			
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	28.57	86.2	3
Fosfato de Potasio			
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	43.93	100	10

Aplicación por mL de fertilización mineral. Se aplicaron antes de la siembra. El nitrato de amonio se aplicó cuando la plántula estaba bien establecida y cada semana hasta antes de la colocación de las larvas de *S. frugiperda*.

#### 4.2.3. Cría de *S. frugiperda*

Las larvas del gusano cogollero procedieron del laboratorio de Entomología Agrícola del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y fueron criadas en el laboratorio de Interacciones Bióticas en Hábitats Alterados del Centro de Investigaciones en Ecosistemas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Dicha cría se llevó a cabo a temperatura y humedad del ambiente con la dieta semisintética propuesta por Poitout y Bues (1974), especial para larvas de noctuidos (Cuadro 7). Los adultos se alimentaron con miel de abeja al 15%. La

cría de estas larvas fue desfasada algunos estadios con el fin de tener en poco tiempo larvas en el segundo estadio o huevecillos cuando se necesitaran larvas neonatas para los experimentos.

#### 4.2.4. Exposición de *S. frugiperda* a los tratamientos

En la sexta semana de crecimiento de las plantas, se colocaron larvas de *S. frugiperda* en los tratamientos correspondientes. Previamente, estos insectos eclosionaron y se desarrollaron en plantas de maíz que tenían el mismo tratamiento y las mismas condiciones de las plantas del experimento. Primero se colocó en la planta una malla de tela de tul que cubriera toda la planta desde la base hasta la punta de las hojas para evitar el escape de las larvas. Posteriormente, se colocaron lo más cercano posible al cogollo o en las hojas adyacentes, seis larvas de *S. frugiperda* de segundo estadio recién mudadas (L<sub>2</sub>). Sin embargo el tamaño del poro de 2 mm de la malla era un poco mayor al tamaño de la larva y entonces se optó de último momento a colocar el doble de insectos.

**Cuadro 7.** Dietas semisintéticas recomendadas para nóctuidos.

	Original (Cría)	Modificada (Bioensayos)
H <sub>2</sub> O destilada	759.5 mL	730 mL
Agar	11.0 g	11.9 g
Harina de maíz	128.4 g	31.7 g
Germen de trigo	32.1 g	31.7 g
Levadura de cerveza	34.3 g	39.7 g
Ácido benzoico	1.3 g	2.3 g
Nipagin	2.0 g	0.8 g
Ácido Ascórbico	4.5 g	0.8 g
Tetraciclina	0.5 g	0.25 g
Formaldehido	0.30 mL	-
Colina	1 mL (al 15%)	-
Vitaminas	2.0 g	-

Las dos dietas son para preparar un kilo de alimento.

#### *4.2.5. Colecta del insecto*

A las dos semanas de que se colocó el insecto en las plantas de su respectivo tratamiento se retiraron las larvas que se encontraron, se pesaron en una balanza analítica y medidas en su longitud y se registró su estadio larval. A continuación se regresaron a la planta de procedencia para continuar con su desarrollo.

#### *4.2.6. Cosecha*

Al cabo de quince días después de la colecta del insecto, se colectaron las pupas que se encontraron, se pesaron y se midieron en longitud. Las pupas ya pesadas y medidas fueron incorporadas a la cría del insecto. También se cuantificó el porcentaje de herbivoría por planta. Este se obtuvo mediante el uso de categorías de daño. Ello consistía en dividir los daños de cada planta en seis categorías de menor a mayor pérdida de material vegetal usando la metodología propuesta por Dirzo y Domínguez (1995). Las pupas ya pesadas y medidas fueron incorporadas a la cría del insecto.

Posteriormente, las plantas se cosecharon separando la parte aérea (tallos y hojas) de la raíz y se pesaron por separado en la balanza analítica arriba mencionada y para obtener su peso fresco. Las plantas que eran muy grandes se pesaron en una balanza granataria electrónica de la marca Ohaus®. En seguida la parte aérea y raíz se almacenaron por tres días en un refrigerador a 4°C y posteriormente llevadas a un horno de secado para eliminar rastros de humedad por 48 horas a 70 °C y vueltas a pesar en la balanza analítica arriba mencionada, obteniéndose su peso seco.

#### *4.2.7. Cuantificación de nitrógeno y fósforo totales*

El nitrógeno y fósforo se cuantificó siguiendo la misma metodología del primer experimento, con la única diferencia de que en este caso sólo eran 21 muestras de las plantas que no tuvieron el insecto.

#### 4.2.8 . *Análisis estadístico*

Para evaluar los efectos del experimento se realizaron ANOVA de dos vías para encontrar diferencias significativas la prueba de Bartlett para verificación de homogeneidad de varianza y el test LSD (diferencias mínimas significativas) de rango múltiples. Las variables respuesta fueron: altura de la planta, peso seco de parte aérea, peso seco parte radicular, relación follaje - raíz, peso y longitud larvaria y de las pupas, daño a la planta y nutrición vegetal (nitrógeno y fósforo).

Cuando el test de Bartlett indicaba mucha variación ( $P < 0.05$ ) se procedía a transformar los datos logarítmicamente. Se usó una alfa de 0.05 alcanzando así el 95% de confianza. Para lo anterior se usó el programa Statgraphic Centurion XV versión 2.06 de la empresa Statpoint®. Para las gráficas se usó el programa Sigma Plot® de la marca Systat Software Inc. Para las gráficas y hacer las bases de datos se utilizó el programa Excel 2007 de la empresa Microsoft®. También se utilizó de apoyo el programa Gnumeric versión 1.10.

### **4.3. EXPERIMENTO III - Desempeño e interacción del SfMNPV en larvas de *S. frugiperda* bajo estrés hídrico y fertilización**

#### 4.3.1 . *Diseño experimental*

Se utilizó un diseño experimental con tres factores: 1) irrigación con dos niveles contrastantes seleccionados del primer experimento (40% y 85% de la capacidad del campo), 2) fertilización mineral con dos niveles (con y sin NPK) y 3) inoculación con el SfMNPV (con y sin NPV).

Este diseño experimental consistió en que los dos primeros factores fueron usados en la planta y el tercer factor hasta que las larvas colectadas de las plantas fueron llevadas a cajas de cultivos de 12 celdas. Se utilizaron 48 macetas (2x2x2x6).

#### 4.3.2. *Establecimiento del experimento*

La siembra y la preparación del sustrato se realizó de la misma manera que lo descrito en el segundo experimento en el mes de Julio de 2013. Todos los días durante dos semanas cada planta se regó al 65% de la capacidad de campo calculado para ese sustrato. Para homogeneizar el número y tamaño de las plántulas por maceta, se realizó el mismo procedimiento descrito en el experimento anterior. Las plantas se regaron todos los días, se fertilizaron con nitrato de amonio y se midieron cada semana de la misma forma que en el experimento dos.

#### 4.3.3. *Cría de las larvas*

La cría de las larvas se llevó a cabo en el laboratorio de Interacciones Bióticas en Hábitats Alterados del Centro de Ecosistemas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las larvas y los adultos se alimentaron de la misma forma que lo descrito en el segundo experimento.

#### 4.3.4. *Prueba preliminar de SfMNPV para encontrar la CL<sub>50</sub>*

Con el fin de encontrar una concentración que matara al 50% de las larvas se realizó el siguiente experimento. En cajas de cultivo de 12 celdas estériles de la marca Nunclon<sup>®</sup> se colocaron discos de la dieta propuesta por Poitout y Bues (1974), recomendada para noctúidos y modificada en cantidades (Figura 6). Los discos eran de 2 cm de diámetro y cubrían toda la celda y a los cuales previamente se les había inoculado distintas concentraciones de cuerpos de inclusión por mm<sup>2</sup>. Cinco concentraciones de virus y un testigo fueron usadas con tres repeticiones. Cada una de las cajas tenía 12 celdas. Dando un total de 216 larvas en 18 unidades experimentales (6x3). En estas unidades experimentales habían larvas recién mudadas a segundo estadio en cada celda. Se usó un nucleopoliedrovirus aislado procedente de Nicaragua y caracterizado por Escribano *et al.* (1999). Las concentraciones usadas como arriba se menciona fueron cinco: 10, 30, 100, 300 y 1000 OBs/mm<sup>2</sup>. Dichas concentraciones se obtuvieron de la siguiente forma: de una

solución madre previamente cuantificada que contenía  $6.68 \times 10^6$  OBS/ $\mu$ L se diluyeron 100  $\mu$ L en 900  $\mu$ L de una solución de dodecil sulfato sódico (SDS) al 0.1% en agua destilada estéril como surfactante propuesto por Lasa *et al.* (2007). Después se hizo una segunda dilución de la misma forma antes descrita para obtener  $1.2 \times 10^4$  OBS/ $\mu$ L y una tercera de  $1.2 \times 10^3$  OBS/ $\mu$ L y finalmente una cuarta con  $1.2 \times 10^2$  OBS/ $\mu$ L.

Se prepararon 18 soluciones en tubos eppendorf de 2 mL que resultaron de los cinco tratamientos con el NPV con sus repeticiones. El testigo sólo llevo 100  $\mu$ L de la solución SDS al 0.1%.

El experimento se hizo en cuatro bloques y a cada uno le correspondió toda una serie de las soluciones arriba mencionadas. Luego se inocularon los discos de dieta con 100  $\mu$ L de la solución que contenía el SfMNPV y el SDS, de tal manera que toda la superficie del disco fuera impregnada homogéneamente. Después se colocaron las larvas en los discos y se cerraron las tapas con tres hojas de papel de cocina y dos ligas fuertemente enredadas para evitar que las larvas se escaparan de su celda. El testigo se realizó antes de tratamientos virales. A los tres días en que los insectos se alimentaron de la dieta contaminada, se llevaron a cajas y a celdas con dieta limpia del SfMNPV y cada 12 horas se observó su desarrollo y mortalidad. Algunas larvas que presentaron los síntomas clásicos por infección de la poliedrosis, como son cambios de coloración en el tegumento, brillo de la cutícula y conducta errática se separan en tubos eppendorf de 1.5 mL. Este experimento se llevó a cabo por siete días completos.

#### 4.3.5. *Aplicación de S. frugiperda.*

Cuando las plantas tuvieron diez semanas de desarrollo se procedió a colocarles una malla de tela tergal francés con el tamaño del poro de 200 micrómetros, envolviéndolas por completo con el fin de evitar fugas. A continuación se pusieron entre 40 y 50 larvas neonatas (recién eclosionadas) aun sin alimentarse a cada maceta que lo requiriera (Figura 9).

#### 4.3.6 . *Colecta del insecto*

A los cinco días que las larvas fueron aplicadas en las macetas, de los tratamientos que tenían la fertilización mineral se colectaron las larvas en L2 y en las que no tenían la fertilización se esperó hasta el día siguiente, pues las primeras llegaron antes al segundo estadio y las otras iban retrasadas por la alimentación.



**Figura 9.** Colocación de la malla de tela de tergal francés conteniendo las larvas de *S. frugiperda* recién eclosionadas.

Por cada maceta se colectaron 12 larvas para aplicarles el virus y otras 12 que sirvieron como control. Sin embargo en el tratamiento de 85% de la capacidad del campo sin fertilización, se recolectaron muy pocas larvas, que comían de la parte entre el tallo y la raíz.

#### 4.3.7. *Inoculación larvaria con el nucleopoliedrovirus*

Se prepararon diluciones de 1.4 mL por cada caja de cultivo 12 celdas de la marca Nunclon<sup>®</sup>, que previamente habían sido esterilizadas en cloro y en 20 minutos bajo la luz ultravioleta. Aunque la CL<sub>50</sub> según el análisis probit era de 10 OBs/mm<sup>2</sup>, se optó por usar la concentración arriba inmediata de 30 OBs/mm<sup>2</sup> (a causa de que las dos concentraciones no

eran significativamente diferentes entre ellas). En cada celda se puso un disco de papel filtro Whatman® No. 1 con el fin de tener la hoja de la planta húmeda. En seguida se recortó un cuadrado de aproximadamente 1.5cm x 1.5cm, de las hojas para cada celda, procurando evitar la nervadura central.



**Figura 10.** Larvas en la caja de celdas a los dos días de alimentarse de la hoja con virus.

Las hojas se limpiaron previamente con cloro al 15%. Después las hojas se trataron con 100  $\mu$ L de una solución de SDS (dodecil sulfato sódico) al 0.01% + SfMNPV, con 30 cuerpos de inclusión entre  $\text{mm}^2$ . Al grupo de testigo sólo se le trató con 100  $\mu$ L de SDS al 0.01%. Se colocó una larva en cada celda (Figura 10) y se taparon las cajas con tres capas de papel de cocina.

Cada celda fue humedecida a los dos días con 100  $\mu$ L de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada estéril. Cuatro días después del tratamiento a todas las larvas se cambió a todas las larvas la hoja por otra que no estaba contaminada, y esto se repitió cada dos días. El experimento continuó por ocho días. Las larvas infectadas con el virus se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL y se almacenaron en un congelador a  $-20^\circ\text{C}$ .

#### 4.3.8. Cosecha

Después de seis días aproximadamente de exposición larvaria, las plantas se cosecharon separando la parte aérea (tallo y hojas) de la raíz y pesándolas por separado en la balanza

analítica arriba mencionada y para obtener su peso fresco. La parte aérea y raíz se secaron por dos días en un horno de la marca Fisher Scientific® para eliminar rastros de humedad por 48 horas a 70 °C y vueltas a pesar en la balanza analítica arriba mencionada, obteniéndose su peso seco.

#### 4.3.9. Cuantificación de nitrógeno y fósforo totales

Se cuantificó el nitrógeno y fósforo siguiendo la misma metodología del primer experimento con la única diferencia de que en este caso solo eran 22 muestras de las plantas que no tuvieron el insecto.

#### 4.3.10. Análisis estadístico

Para evaluar los efectos del experimento se realizaron ANOVA de dos vías para buscar diferencias significativas entre tratamientos, la prueba de Bartlett para verificación de homogeneidad de varianza y el test LSD (diferencias mínimas significativas). Se usó el test de Bartlett para verificar la homogeneidad de varianza ( $P > 0.05$ ), cuando no había se procedía a transformar los datos logarítmicamente. Las variables respuesta fueron: altura, peso seco parte aérea y parte radical de la planta, así como relación follaje - raíz del maíz, concentración letal a 50%, nutrición vegetal (contenido de nitrógeno y fósforo), y mortalidad verdadera y ajustada.

Para lo anterior se usó el programa Statgraphic Centurion XV versión 2.06 de la empresa Statpoint®. Para las gráficas se usó el programa SigmaPlot® de la marca Systat Software Inc. También se usó de apoyo el programa Gnumeric versión 1.10. La fórmula de Abbott se usó para la mortalidad ajustada (Mushobozi *et al.* 2006).

$$\text{Mortalidad ajustada} = \frac{(\% \text{ de mortalidad observada} - \% \text{ mortalidad del control}) \times 100}{100 - \% \text{ mortalidad del control}}$$

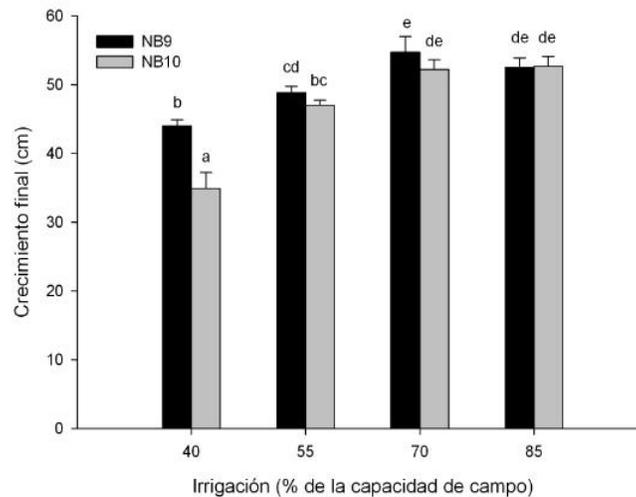
Para determinar la concentración que matara el 50% de las larvas por el SfMNPV se usó el programa Polo-Plus 1.0 de LeOra Software Company®.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. EXPERIMENTO I - Desempeño, nutrición y defensa de dos híbridos de *Zea mays* bajo estrés hídrico

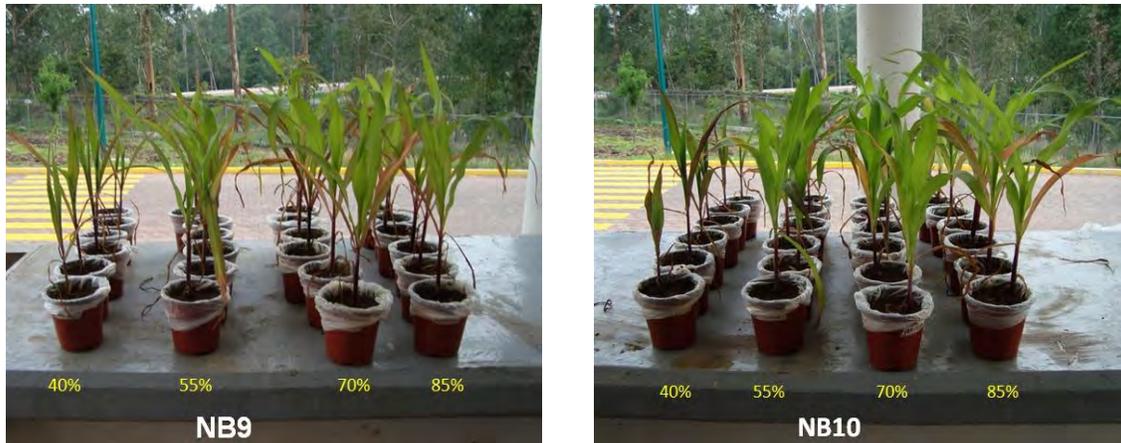
#### 5.1.1. Altura de la planta

La altura de las plantas de los genotipos de maíz fueron significativamente diferentes ( $F_{1, 40}=9.39$ ,  $P= 0.0039$ ) al final del experimento (Figura 11). El híbrido NB9 tuvo una mayor altura que el híbrido NB10.



**Figura 11.** Promedios y LSD de la altura final de las plantas.

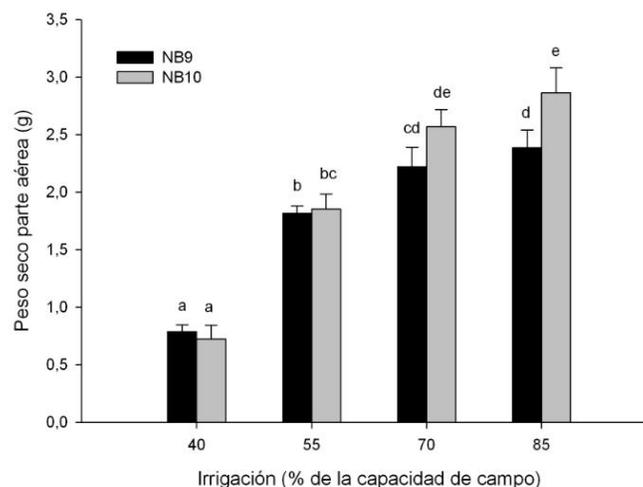
También se encontró que el factor de irrigación tuvo un efecto significativo en la altura de la planta ( $F_{3, 40}= 9.39$ ,  $P< 0.0001$ ). La prueba de diferencias mínimas significativas (LSD), muestra que los tratamientos al 40 y 55% de la capacidad de campo fueron más pequeños en altura que los de 70 y 85%. Aunque el tratamiento del híbrido NB10 con 40% de la capacidad de campo fue significativamente distinto a todos los demás. Se observó una interacción significativa entre los factores de genotipo e irrigación ( $F_{3, 40}= 3.44$ ,  $P= 0.0255$ ). Se encontró un efecto positivo que aumentó los valores al pasar del 40 al 55% de irrigación en el genotipo NB10. Del 55 a 70% de la capacidad de campo, no hubo ningún efecto visible en ninguno de los dos genotipos, sin embargo del 70 al 85% se observó un efecto de irrigación que hace descender los valores del genotipo NB9.



**Figura 12.** Altura de los genotipos NB9 y NB10, luego de seis semanas en el invernadero.

### 5.1.2. *Peso seco parte aérea*

El peso seco de la parte aérea (hojas y tallo) mostró una significativa diferencia entre los genotipos: ( $F_{1, 40} = 4.71, P = 0.035$ ) (Figura 13), apreciándose que la variedad NB9 tuvo una menor biomasa aérea que la variedad NB10. Se encontró que los tratamientos de 40 y 55% tuvieron un menor peso del follaje, presentando estrés por falta de agua, sobre todo en los tratamientos con el 40% de la capacidad de campo, por lo que existió una diferencia significativa entre los distintos tratamientos: ( $F_{3, 40} = 73.65, P < 0.0001$ ) (Figura 13). Así mismo se observa que los tratamientos con la menor cantidad de irrigación fueron significativamente diferentes a los demás tratamientos (Figura 13).

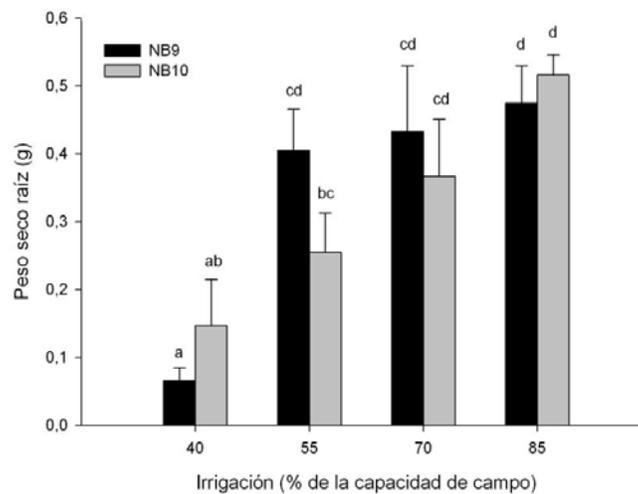


**Figura 13.** Promedios y LSD de la comparación del peso parte aérea entre tratamientos.

No hubo una interacción significativa entre los dos factores Genotipo x Irrigación ( $F_{3, 40}= 1.97, P= 0.1337$ ).

### 5.1.3. *Peso seco parte radical*

El peso radicular no fue significativamente diferente entre los genotipos de maíz en el peso seco de la parte aérea ( $F_{1, 40}= 0.28, P= 0.6024$ ). Se detectaron diferencias significativas entre el factor de la irrigación  $F_{3, 40}= 13.47, P<0.0001$  (Figura 14). Así mismo, se observó que cuando había menos irrigación hubo un menor peso de las raíces.

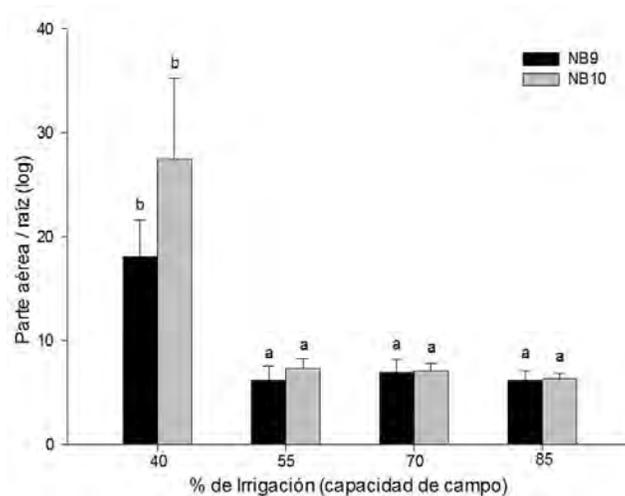


**Figura 14.** Promedios y LSD del peso seco de la raíz.

El tratamiento con solo el 40% de la capacidad de campo fue significativamente diferente a todos. No se observó una interacción entre los factores de Irrigación vs Genotipo ( $F_{3, 40}= 1.35, P= 0.2731$ ).

### 5.1.4 . *Peso húmedo aéreo entre peso seco de la raíz*

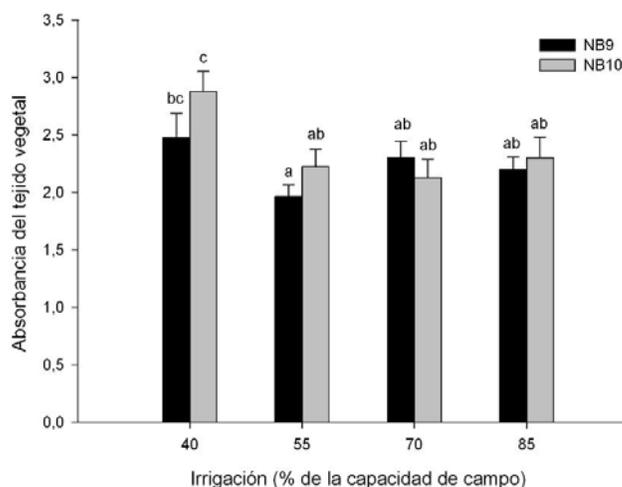
Se encontró una diferencia significativa en el factor de irrigación:  $F_{3, 35}= 19.79, P< 0.0001$  (Figura 15). No se encontraron diferencias entre los factores genotipos ( $F_{1, 35}= 3.25, P= 0.0800$ ), ni se encontró una interacción significativa ( $F_{3, 35}= 0.49, P= 0.6906$ ).



**Figura 15.** Promedios y LSD del cociente entre peso seco aéreo y peso seco radical.

### 5.1.5. Fenoles totales

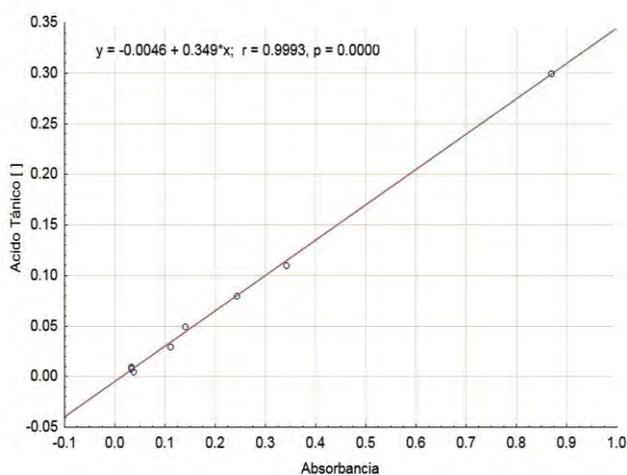
Se observaron diferencias significativas en la factor irrigación con respecto a la concentración de fenoles:  $F_{3, 40} = 5.18$ ,  $P = 0.0041$ . El tratamiento que tenía menos cantidad de irrigación fue el causante de tales diferencias, ya que con un 40% de irrigación, el genotipo NB10 tuvo una producción de fenoles más alta (Figura 16). Sin embargo, la variedad NB10 tuvo un mayor crecimiento. Tampoco hubo una interacción significativa entre ambos factores ( $F_{3, 40} = 1.20$ ,  $P = 0.3228$ ). No se encontraron diferencias significativas en el factor de los genotipos y sus niveles ( $F_{1, 40} = 1.75$ ,  $P = 0.1928$ ).



**Figura 16.** Promedios y LSD de la concentración de fenoles totales por tratamiento.

### 5.1.6. Cuantificación de taninos

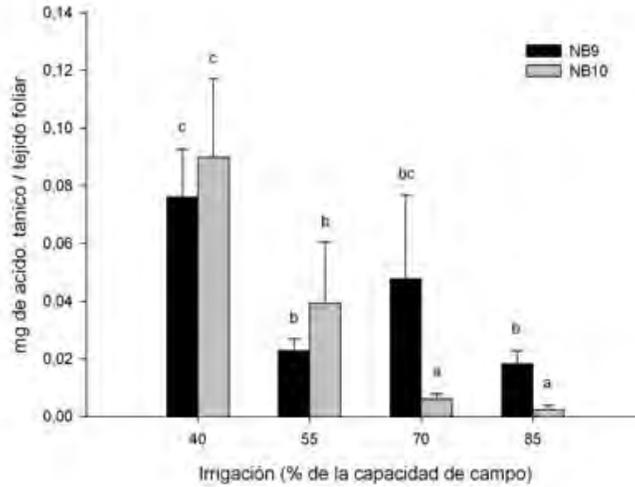
La curva patrón mostró, una alta correlación entre las concentraciones y la absorbancia de los blancos ( $r = 0.9993$ ,  $P < 0.0001$ ), y se sustituyeron los valores de absorbancia de las muestras en la ecuación para obtener los valores, para luego analizarlos mediante un ANOVA de dos vías (Figura 17). Los taninos presentaron el mismo patrón que los fenoles. Las plantas tratadas con 40% de estrés hídrico presentaron una mayor producción que las demás y por lo tanto se diferenciaron del resto como se observa en la gráfica anterior. Como el test de Bartlett indicó que la varianza no era homogénea fue necesario normalizar los datos con una transformación logarítmica.



**Figura 17.** Correlación entre la concentración y la absorbancia del blanco.

Esta reveló un efecto significativo del genotipo en la producción de taninos ( $F_{1, 39} = 11.63$ ,  $P = 0.0015$ ). El genotipo NB9 produjo una mayor cantidad de taninos totales (Figura 10). El factor de la irrigación tuvo un fuerte efecto en la producción de taninos ( $F_{3, 39} = 15.35$ ,  $P < 0.0001$ ) (Figura 18).

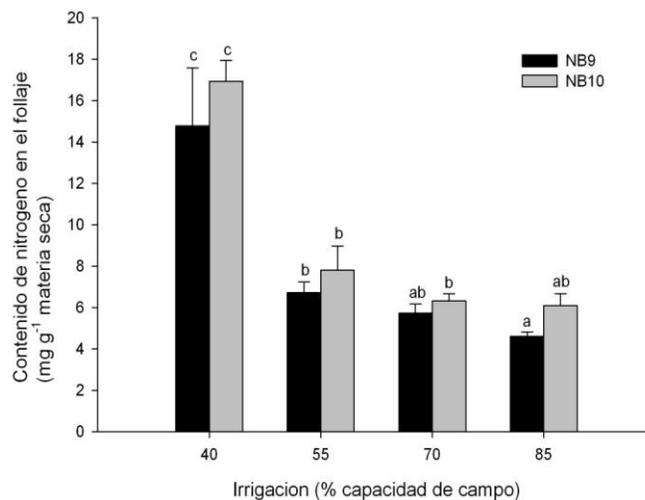
El tratamiento con el nivel de 40% de irrigación, fue estadísticamente diferente a los demás. Se encontró también una interacción entre los genotipos: ( $F_{3, 39} = 3.89$ ,  $P = 0.0159$ ) (Figura 18).



**Figura 18.** Promedios y LSD de la concentración de taninos totales por tratamiento.

### 5.1.7. Nitrógeno total

El nitrógeno siguió la misma el mismo patrón que los fenoles y taninos, los tratamientos que tenían sólo 40% de la capacidad de campo fueron las plantas que más concentraron este elemento. Los datos fueron transformados.



**Figura 19.** Promedios y LSD de la concentración de nitrógeno por tratamiento.

El análisis mostró una diferencia entre los genotipos ya que el genotipo NB10 contenía más nitrógeno ( $F_{1, 40} = 6.12$ ,  $P = 0.0177$ ). Las diferencias en el factor de la irrigación, fueron significativas:  $F_{3, 40} = 48.57$ ,  $P < 0.0001$ .

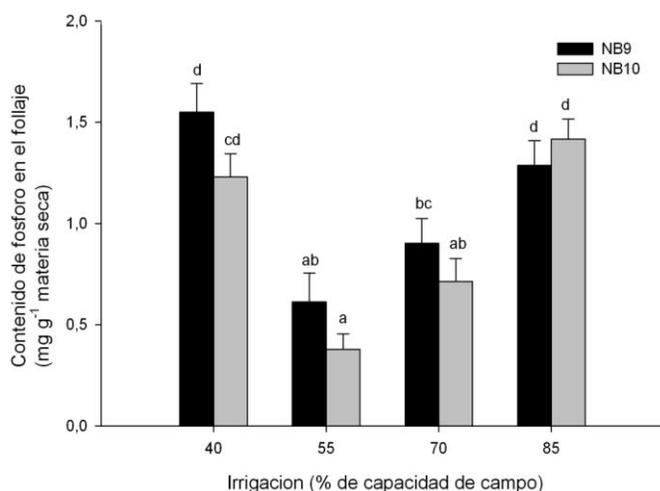
Los tratamientos con 40% de la capacidad de campo tuvieron más nitrógeno en sus tejidos y fueron significativamente diferentes a los demás (Figura 19). No se encontró una interacción entre los dos factores de genotipo e irrigación con sus respectivos niveles ( $F_{3, 40} = 0.32$ ,  $P = 0.8136$ ).

#### 5.1.8. Fósforo total

Los tratamientos con 40% de irrigación tuvieron una mayor concentración de fósforo. Sin embargo, los tratamientos con mayor nivel de irrigación (85%), también contenían una mayor cantidad de fósforo que los de 55 y 70% de la capacidad de campo (Figura 20).

No fue observada interacción significativa entre los dos factores ( $F_{3, 40} = 1.38$ ,  $P = 0.2638$ ). Aunque el genotipo NB9 contenía más fósforo en su tejido aéreo, no se encontraron diferencias significativas entre los genotipos ( $F_{1, 40} = 3.34$ ,  $P < 0.0749$ ).

Solamente hubo diferencia significativa entre el factor de la irrigación:  $F_{3, 40} = 27.13$ ,  $P < 0.0001$ ).



**Figura 20.** Promedios y LSD de la concentración de fósforo en los tratamientos.

**Cuadro 8.** Promedios, error estándar, diferencias mínimas significativas (LSD) y valores de P del desarrollo de los genotipos de maíz bajo diferentes niveles de irrigación, defensa vegetal y nutrición de la planta.

Medias, Error Estándar y LSD									
Genotipo	Irrigación	Altura (cm)	PSPS (g)	PSPR (g)	Cociente (g)	Fenoles **	Taninos (log)*	N (log) (ppm)	Fósforo (ppm)
NB9	40%	44.0 ± 0.88 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>a</sup>	18.07 ± 3.54 <sup>b</sup>	2.47 ± 0.21 <sup>bc</sup>	0.076 ± 0.01 <sup>c</sup>	14.7 ± 2.79 <sup>c</sup>	1.54 ± 0.14 <sup>d</sup>
	55%	48.8 ± 0.91 <sup>cd</sup>	2.06 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.40 ± 0.06 <sup>cd</sup>	6.110 ± 1.48 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.022 ± 0.004 <sup>b</sup>	6.71 ± 0.51 <sup>b</sup>	0.61 ± 0.14 <sup>ab</sup>
	70%	54.7 ± 2.27 <sup>e</sup>	2.49 ± 0.18 <sup>cd</sup>	0.43 ± 0.097 <sup>cd</sup>	6.931 ± 1.22 <sup>a</sup>	2.29 ± 0.14 <sup>ab</sup>	0.047 ± 0.03 <sup>bc</sup>	5.72 ± 0.44 <sup>ab</sup>	0.90 ± 0.123 <sup>bc</sup>
	85%	52.5 ± 1.36 <sup>de</sup>	2.64 ± 0.16 <sup>d</sup>	0.47 ± 0.55 <sup>d</sup>	6.114 ± 0.95 <sup>a</sup>	2.19 ± 0.11 <sup>ab</sup>	0.018 ± 0.004 <sup>b</sup>	4.60 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.28 ± 0.121 <sup>d</sup>
NB10	40%	34.9 ± 2.32 <sup>a</sup>	0.83 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.146 ± 0.068 <sup>ab</sup>	27.46 ± 7.81 <sup>b</sup>	2.87 ± 0.17 <sup>c</sup>	0.09 ± 0.027 <sup>c</sup>	16.9 ± 1.00 <sup>c</sup>	1.23 ± 0.11 <sup>cd</sup>
	55%	47.0 ± 0.74 <sup>bc</sup>	2.120 ± 0.14 <sup>bc</sup>	0.25 ± 0.058 <sup>bc</sup>	7.356 ± 0.89 <sup>a</sup>	2.22 ± 0.15 <sup>ab</sup>	0.04 ± 0.021 <sup>b</sup>	7.79 ± 1.17 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.07 <sup>a</sup>
	70%	52.2 ± 1.37 <sup>de</sup>	2.88 ± 0.15 <sup>de</sup>	0.36 ± 0.084 <sup>cd</sup>	7.103 ± 0.71 <sup>a</sup>	2.12 ± 0.15 <sup>ab</sup>	0.06 ± 0.001 <sup>a</sup>	6.31 ± 0.35 <sup>c</sup>	0.71 ± 0.11 <sup>ab</sup>
	85%	52.6 ± 1.47 <sup>de</sup>	3.21 ± 0.216 <sup>e</sup>	0.51 ± 0.029 <sup>d</sup>	6.327 ± 0.55 <sup>a</sup>	2.29 ± 0.18 <sup>ab</sup>	0.002 ± 0.001 <sup>a</sup>	6.09 ± 0.56 <sup>ab</sup>	1.41 ± 0.098 <sup>d</sup>
ANOVA (Valor de P)	Genotipo	0.0038	0.03592	0.6024	0.0800	0.1928	0.0015	0.0177	0.0749
	Irrigación	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0041	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	G x I	0.0255	0.1337	0.2731	0.6906	0.3238	0.0159	0.8136	0.2638

Letras iguales en la misma columna indican valores que no son diferentemente significativas entre tratamientos con un 95% de confianza. PSPA (peso seco parte aérea), PSPR (peso seco parte radical) Cociente (parte aérea/parte radical, N (nitrógeno). \*\* Absorbancia en tejido vegetal. \* Concentración de ácido tánico.

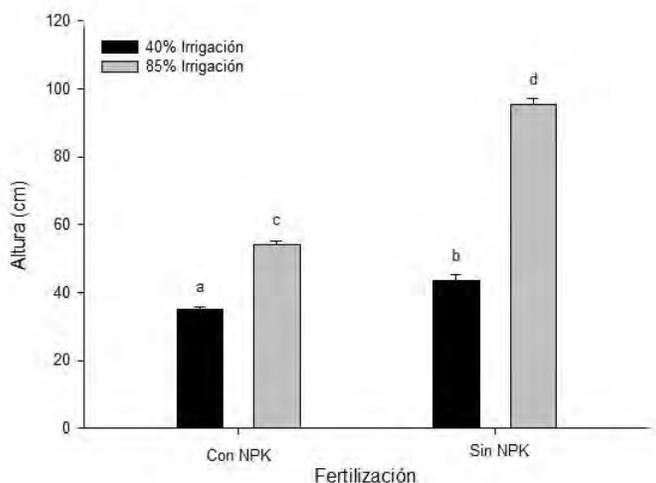
## 5.2. EXPERIMENTO II - Desempeño de *S. frugiperda* con diferentes niveles de irrigación y fertilización mineral

### 5.2.1. Altura de la planta (antes de la colocación del insecto)

Se observó que las plantas que recibieron un 85% de la capacidad de campo, tuvieron un crecimiento mayor que los del 40% ( $F_{1, 38} = 538.14, P < 0.0001$ ).

De igual manera en el factor fertilización afectó el crecimiento de las plantas ( $F_{1, 38} = 233.41, P < 0.0001$ ) (Figura 21).

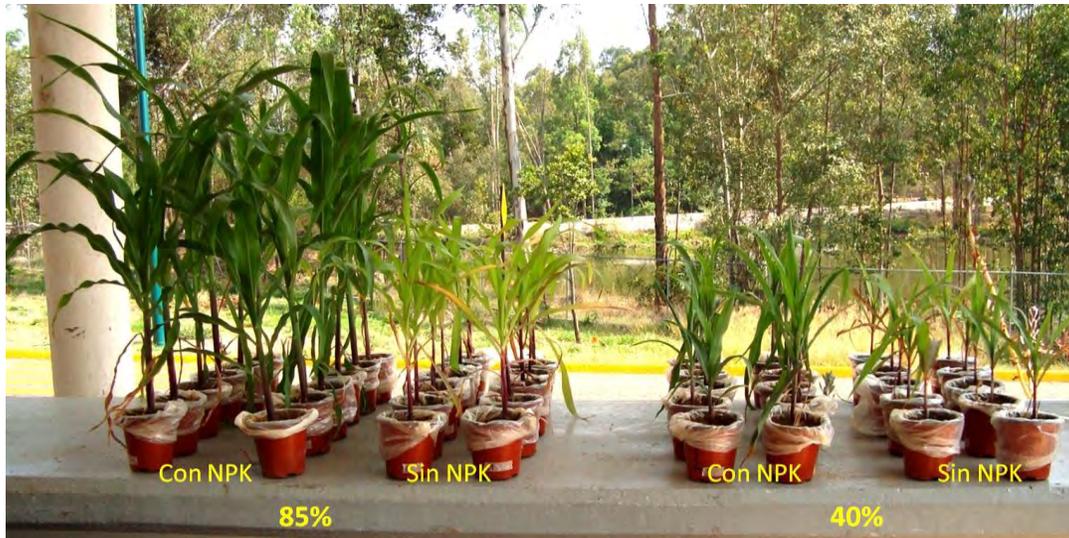
Las plantas fertilizadas mineral tuvieron una altura mayor que las plantas sin fertilización (Figura 21 y 22).



**Figura 21.** Promedios y LSD de la altura de las plantas de maíz.

Se observó una interacción altamente significativa entre los factores irrigación y fertilización ( $F_{1, 38} = 51.04, P < 0.0001$ ).

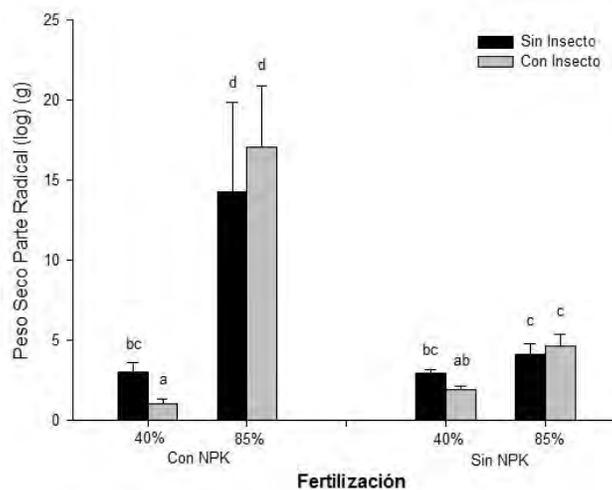
La respuesta de crecimiento de las plantas a aplicación de NPK en términos de altura fue mayor en combinación con irrigación con 85% de la capacidad de campo.



**Figura 22.** Efecto de los tratamientos del segundo experimento a las seis semanas, antes de la aplicación de *S. frugiperda*. Se muestran los factores de irrigación y fertilización.

### 5.2.2. *Peso seco parte radical*

El peso seco de las raíces fue normalizado mediante una transformación logarítmica. Se encontraron diferencias altamente significativas en el factor de la irrigación ( $F_{1, 31} = 66.2$ ,  $P < 0.0001$ ). Los tratamientos con 85% de irrigación tuvieron diferencias significativas y presentaron un mayor peso radicular que los del 40%.



**Figura 23.** Promedios y LSD del peso seco de las raíces.

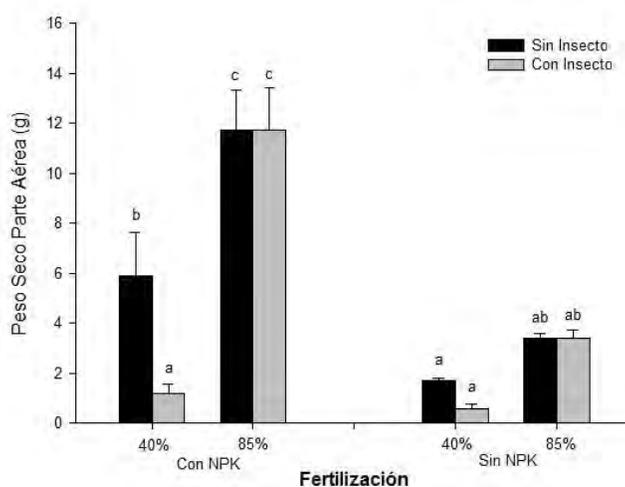
Igualmente se observó una ligera diferencia en el factor de la fertilización ( $F_{1, 31} = 5.65$ ,  $P < 0.0239$ ). Los tratamientos que tenían NPK fueron significativamente diferentes a los que no

llevaban la fertilización y presentaron una mayor producción de la raíz (Figura 23). El factor del insecto no presentó diferencias significativas ( $F_{1, 31} = 3.05, P = 0.0907$ ). Se observaron interacciones significativas entre los factores “Irrigación-Fertilización” ( $F_{1, 31} = 20.63, P < 0.0001$ ) y “Irrigación – Insecto” ( $F_{1, 31} = 8.29, P = 0.0072$ ). La respuesta de crecimiento de las plantas a aplicación de NPK en términos del peso seco de las raíces fue mayor en combinación con irrigación con 85% de la capacidad de campo (Figura 21).

Se observó una reducción en el peso seco de las raíces en tratamientos con insectos pero solo en plantas irrigados con 45% de la capacidad de campo. No se observó una interacción entre los factores “Fertilización – Insecto” ( $F_{1, 31} = 0.71, P = 0.4065$ ) y tampoco entre los factores “Irrigación - Fertilización - Insecto” ( $F_{1, 31} = 1.07, P = 0.3079$ ).

### 5.2.3. Peso seco de la parte Aérea

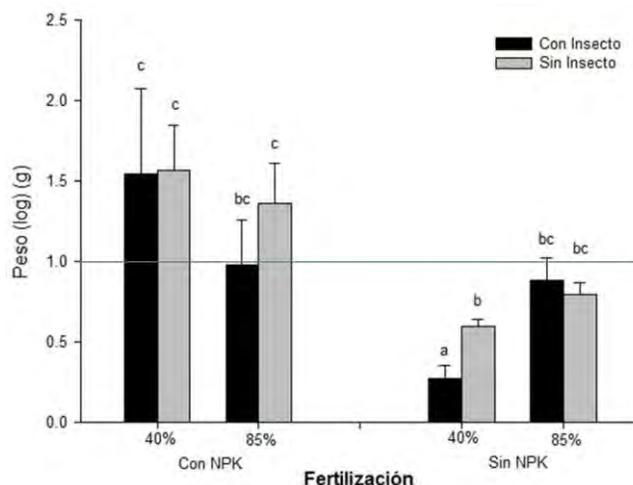
En el peso seco de la parte aérea, el test de homogeneidad de varianza indicó que esta no era uniforme y aun con una transformación logarítmica, o tratado de transformar con varias funciones (seno, arcoseno o tangente), por lo tanto se aplicó la prueba H de Kruskal-Wallis. Se observaron significativas entre el peso seco de la parte aérea y la fertilización ( $\chi^2_7 = 35.19, P < 0.0001$ ) (Figura 24), donde el tratamiento con 85% de nivel de irrigación y con fertilización mineral tuvo un desarrollo mayor que los demás.



**Figura 24.** Promedios y LSD del peso seco de la parte aérea.

#### 5.2.4. Cociente peso seco parte aérea / raíz

El factor irrigación no presentó diferencias ( $F_{1, 35} = 1.96$ ,  $P = 0.1707$ ). Sin embargo, el factor de la fertilización si presentó diferencias significativas ( $F_{1, 35} = 20.85$ ,  $P < 0.0001$ ), donde los tratamientos con NPK tuvieron un mayor producción de tejido aéreo y en cambio los que no tenían la fertilización mineral produjeron más raíz (Figura 25). El tratamiento de 40% de irrigación, sin NPK y con el insecto fue significativamente diferente a todos los demás.



**Figura 25.** Promedios y LSD del cociente del peso seco la parte aérea entre el de la raíz.

El factor del insecto tuvo una diferencia significativa sobre el cociente ( $F_{1, 35} = 4.88$ ,  $P = 0.0338$ ), mostrando que en los tratamientos que conllevaban a *S. frugiperda*, estos produjeron menos biomasa que los que no lo tenían. Sólo se encontró una interacción significativa de la irrigación x fertilización ( $F_{1, 35} = 11.32$ ,  $P = 0.0019$ ).

La fertilización produjo un aumento de los valores del peso al pasar de los tratamientos sin fertilización a los que sí tenían la fertilización mineral, y este efecto en los tratamientos con 40% de capacidad de campo fue más pronunciado.

No hubo interacciones significativas entre los factores irrigación x insecto ( $F_{1, 35} = 1.20$ ,  $P = 0.2811$ ), y en la fertilización x insecto ( $F_{1, 35} = 0.15$ ,  $P = 0.7007$ ). De la misma forma no se encontró que existiera alguna interacción entre los tres factores ( $F_{1, 35} = 3.53$ ,  $P = 0.0686$ ).

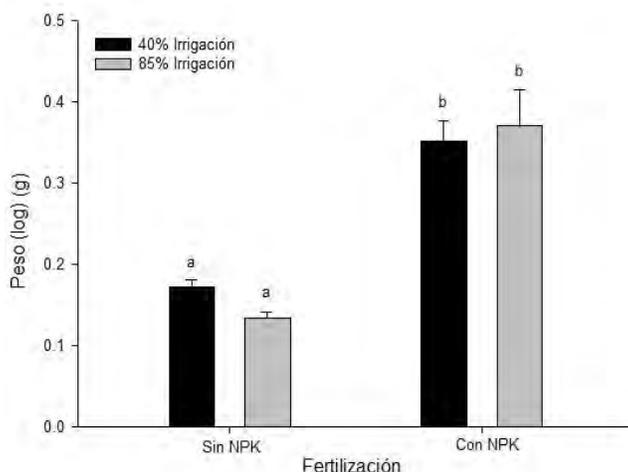
**Cuadro 9.** Promedio, error estándar, LSD y valores de P del desempeño de la planta para el segundo experimento.

Promedios $\pm$ Error Estándar, LSD y Valores de P						
Irrigación	Fertilización	<i>S. frugiperda</i>	Altura (cm)	Peso Seco Parte Radicular (g)	Peso Seco Aéreo / Raíz (g)	Peso Seco Parte Aérea (g) *
40%	Sin NPK	Sin larvas	35.16 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	2.966 $\pm$ 0.205 <sup>bc</sup>	0.593 $\pm$ 0.049 <sup>b</sup>	1.724 $\pm$ 0.059 <sup>a</sup>
		Con larvas		1.935 $\pm$ 0.198 <sup>ab</sup>	0.276 $\pm$ 0.074 <sup>a</sup>	0.566 $\pm$ 0.178 <sup>a</sup>
	Con NPK	Sin larvas	43.41 $\pm$ 1.67 <sup>b</sup>	3.007 $\pm$ 0.585 <sup>bc</sup>	1.569 $\pm$ 0.281 <sup>c</sup>	5.873 $\pm$ 1.784 <sup>b</sup>
		Con larvas		1.071 $\pm$ 0.261 <sup>a</sup>	1.549 $\pm$ 0.529 <sup>c</sup>	1.189 $\pm$ 0.376 <sup>a</sup>
85%	Sin NPK	Sin larvas	54.0 $\pm$ 1.11 <sup>c</sup>	4.137 $\pm$ 0.658 <sup>c</sup>	0.795 $\pm$ 0.074 <sup>bc</sup>	3.401 $\pm$ 0.177 <sup>ab</sup>
		Con larvas		4.684 $\pm$ 0.676 <sup>c</sup>	0.883 $\pm$ 0.140 <sup>bc</sup>	3.407 $\pm$ 0.320 <sup>ab</sup>
	Con NPK	Sin larvas	95.2 $\pm$ 1.81 <sup>d</sup>	14.30 $\pm$ 5.623 <sup>d</sup>	1.365 $\pm$ 0.250 <sup>c</sup>	11.72 $\pm$ 1.700 <sup>c</sup>
		Con larvas		17.10 $\pm$ 3.834 <sup>d</sup>	0.976 $\pm$ 0.279 <sup>bc</sup>	11.73 $\pm$ 1.605 <sup>c</sup>
ANOVA (Valor de P)		Irrigación	< 0.0001	< 0.0001	0.1707	
		Fertilización	< 0.0001	0.0239	< 0.0001	
		<i>S. frugiperda</i>	-	0.0907	0.0338	Kruskal-Wallis (Valor de P)
		I x F	< 0.0001	< 0.0001	0.0019	
		I x S	-	0.0072	0.2811	< 0.0001
		F x S	-	0.4065	0.7007	
		I x F x S	-	0.3079	0.0686	

Letras iguales en la misma columna no son diferentemente significativas entre tratamientos con un 95% de confianza. \* Se usó la prueba H de Kruskal Wallis.

### 5.2.5. Peso y longitud larvaria

El peso de las larvas mostró diferencias significativas entre los tratamientos mostrando que las larvas que se alimentaron de las plantas con fertilización mineral tuvieron un mayor peso independientemente del factor de irrigación. Los datos fueron transformados logarítmicamente. El factor de irrigación no mostró ninguna diferencia ( $F_{1,16} = 0.92$ ,  $P = 0.3516$ ), en cambio la fertilización sí mostró diferencias significativas como arriba se menciona ( $F_{1,16} = 50.91$ ,  $P < 0.0001$ ), mostrando que las larvas que se habían alimentado con los tratamientos fertilización mineral en las plantas produjeron más biomasa que se tradujo en peso de las larvas (Figura 26).

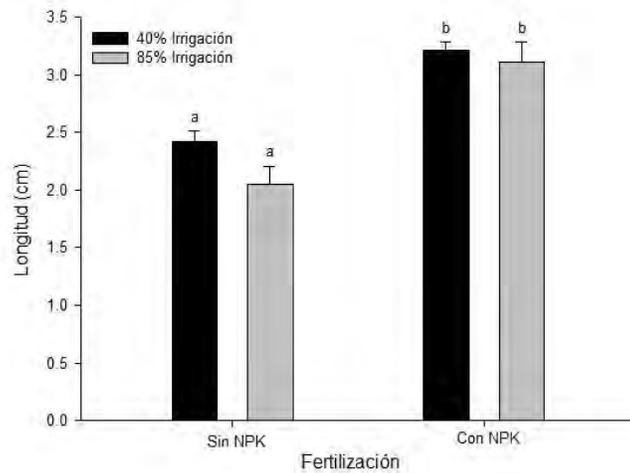


**Figura 26.** Promedios y LSD del peso de larval.

No se observó interacción entre los factores de irrigación y fertilización ( $F_{1,16} = 1.35$ ,  $P = 0.2631$ ).

La longitud de los insectos presentó un patrón muy parecido al peso larvario, puesto que no se encontraron diferencias significativas en el factor irrigación ( $F_{1,16} = 2.45$ ,  $P = 0.1373$ ).

Los tratamientos que contenían la fertilización mineral tuvieron un mayor desarrollo en el tamaño de los insectos ( $F_{1,16} = 38.17$ ,  $P < 0.0001$ ), (Figura 27), pero no se observó interacción entre los factores ( $F_{1,16} = 0.81$ ,  $P = 0.3808$ ).

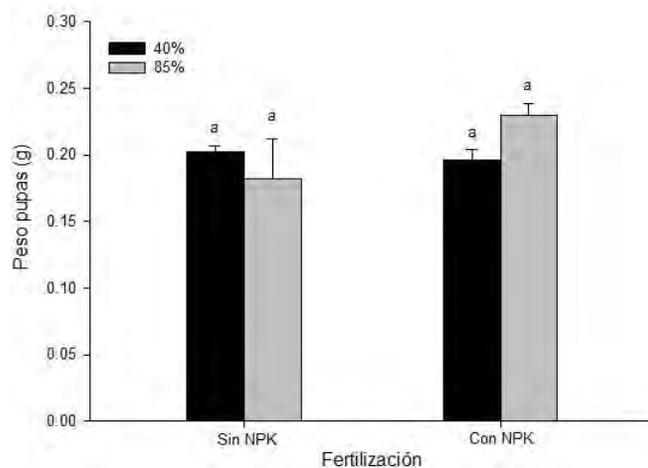


**Figura 27.** Promedios y LSD de la longitud larvaria.

### 5.2.6. *Peso y longitud de las pupas*

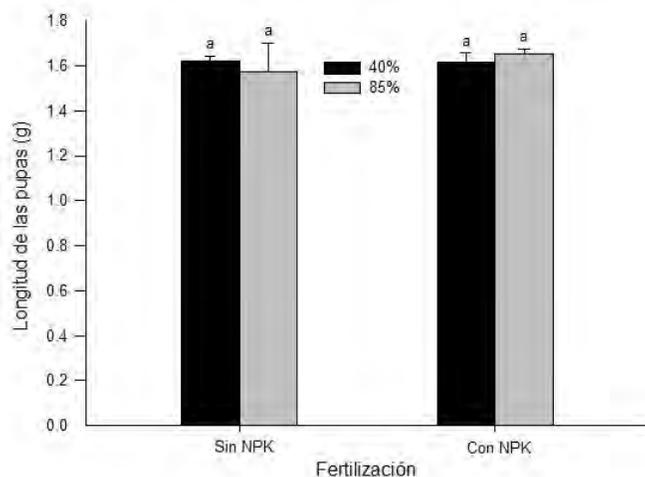
El peso de las pupas, que en fase de larvas se alimentaron de las plantas, no mostró ninguna diferencia significativa en los tratamientos de irrigación (Figura 28), los valores del factor irrigación fueron ( $F_{1, 10} = 0.137$ ,  $P = 0.5566$ ).

La fertilización tampoco presentaron diferencias significativas ( $F_{1, 10} = 2.62$ ,  $P = 0.1365$ ). Así mismo, no se encontró una interacción significativa ( $F_{1, 10} = 4.01$ ,  $P = 0.0730$ ).



**Figura 28.** Promedios y LSD del peso de las pupas.

No hubo diferencias significativas en la irrigación ( $F_{1, 10} = 0.10$ ,  $P = 0.9264$ ), ni en fertilización ( $F_{1, 10} = 0.61$ ,  $P = 0.4513$ ), (Figura 29). No hubo interacción ( $F_{1, 10} = 0.70$ ,  $P = 0.4229$ ).

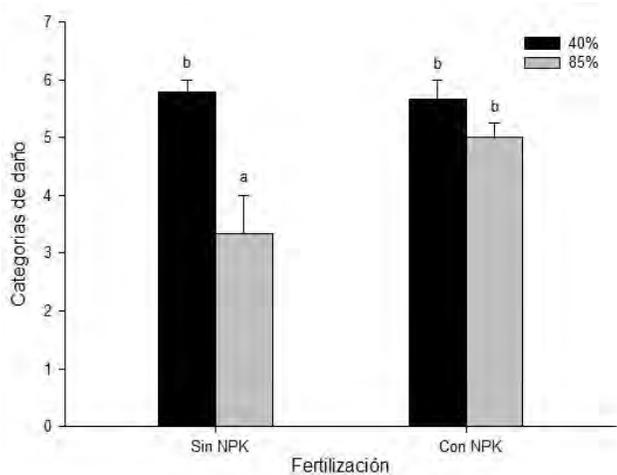


**Figura 29.** Promedios y LSD de la longitud de las pupas.

### 5.2.7. Categorías de daño

El daño producido por los insectos mostraron diferencias significativas en el factor de irrigación ( $F_{1, 16} = 20.60$ ,  $P = 0.0003$ ), el genotipo con el 40% de la capacidad de campo tuvo un ataque mayor. La fertilización mostró una diferencia significativa en la cantidad de daño producido ( $F_{1, 16} = 4.93$ ,  $P = 0.0411$ ) (Figura 30).

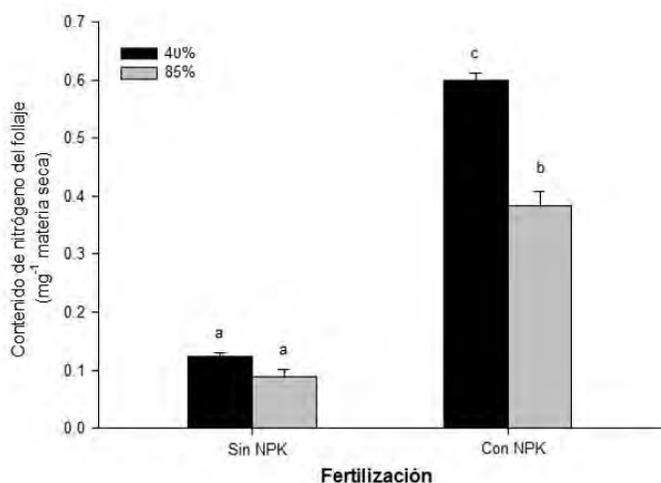
Una interacción fue encontrada ( $F_{1, 16} = 6.80$ ,  $P = 0.0191$ ).



**Figura 30.** Promedios y LSD de las categorías de daño.

### 5.2.8. Nitrógeno total

Las plantas al 40% de irrigación, concentraron más nitrógeno, tanto la irrigación como el factor de la fertilización mostraron diferencias altamente significativas ( $F_{1, 16} = 62.17$ ,  $P < 0.0001$  y  $F_{1, 16} = 575.46$ ,  $P < 0.0001$  respectivamente). Las plantas al 40% de irrigación, concentraron más nitrógeno. En los tratamiento sin fertilización con el 85% de irrigación, se observó clorosis (hojas de color amarillento y traslucidas). También se observó que los tratamientos que contenían la fertilización mineral, tuvieron un mayor crecimiento que las no fertilizadas, (Figura 31).

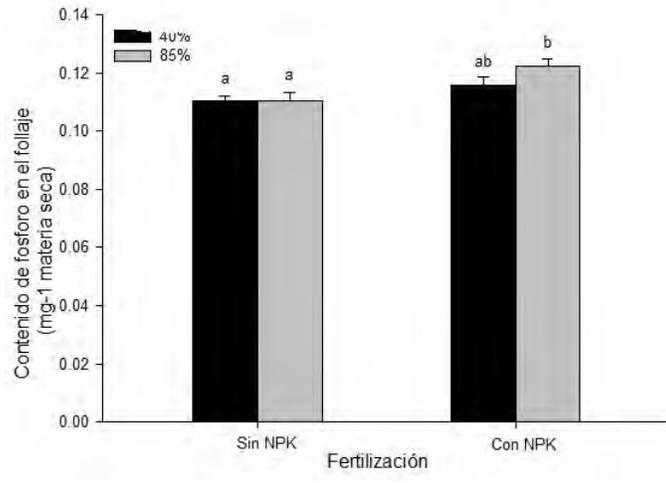


**Figura 31.** Promedios y LSD del contenido de nitrógeno total del segundo experimento.

Se observó una interacción significativa entre los dos factores ( $F_{1, 16} = 31.60$ ,  $P < 0.0001$ ). La fertilización hacia que el contenido de nitrógeno en el follaje, aumentara al pasar de los tratamientos sin fertilización a los que llevaban NPK, aunque al 40% de la capacidad de campo fue más elevada esta concentración.

### 5.2.9. Fósforo total

El factor de la fertilización mostró diferencias significativas en el contenido de fósforo ( $F_{1, 16} = 12.87$ ,  $P = 0.0025$ ). Sin embargo el factor de la irrigación no fue significativamente distinto ( $F_{1, 16} = 1.43$ ,  $P = 0.2496$ ). donde el tratamiento de 85% de irrigación y con fertilización mineral, tuvo un crecimiento mayor. (Figura 32). No se encontró interacción ( $F_{1, 16} = 1.43$ ,  $P = 0.2635$ ).



**Figura 32.** Promedios y LSD del contenido de fósforo en el follaje.

**Cuadro 10.** Promedio, error estándar, LSD y valores de P del desempeño de *S. frugiperda* en plantas fertilizadas con NPK y sin fertilizar con dos niveles de irrigación y nutrición de la planta.

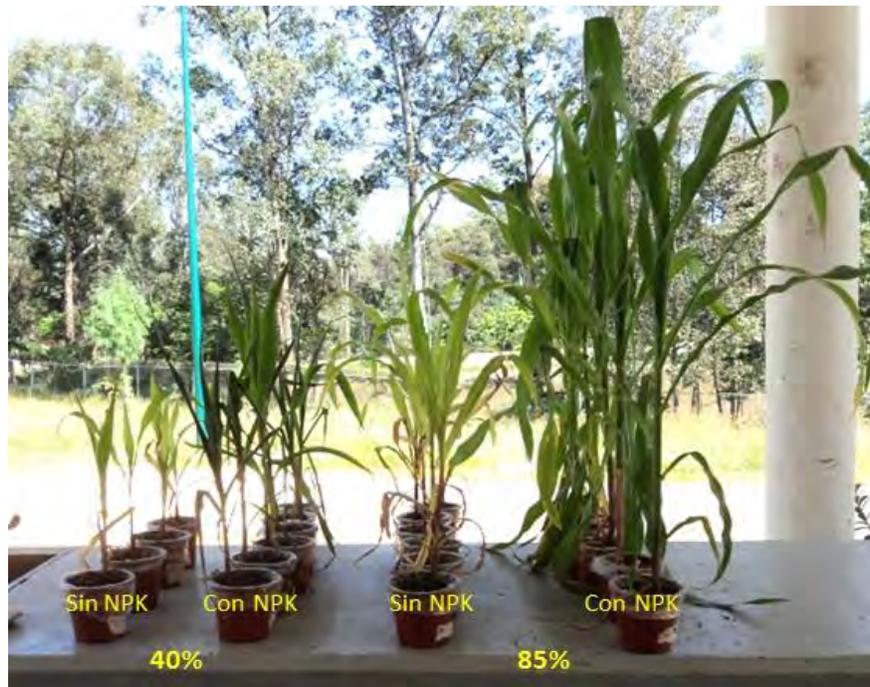
Promedios ±Error Estándar, LSD y Valores de P								
Irrigación	Fertilización	Larvas		Pupas		Categorías *	Nitrógeno	Fósforo
		Peso (log) (g)	Longitud (cm)	Peso (g)	Longitud (cm)			
40%	Sin NPK	0.17 ± 0.024 <sup>a</sup>	2.42 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.005 <sup>a</sup>	1.62 ± 0.02 <sup>a</sup>	5.8 ± 0.20 <sup>b</sup>	0.12 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.001 <sup>a</sup>
	Con NPK	0.352 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.21 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.19 ± 0.008 <sup>a</sup>	1.61 ± 0.042 <sup>a</sup>	5.66 ± 0.33 <sup>b</sup>	0.59 ± 0.013 <sup>c</sup>	0.11 ± 0.002 <sup>ab</sup>
85%	Sin NPK	0.134 ± 0.007 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.125 <sup>a</sup>	3.33 ± 0.66 <sup>a</sup>	0.088 ± 0.013 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.002 <sup>a</sup>
	Con NPK	0.37 ± 0.04 <sup>b</sup>	3.11 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.007 <sup>a</sup>	1.62 ± 0.02 <sup>a</sup>	5.0 ± 0.26 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.025 <sup>b</sup>	0.12 ± 0.002 <sup>b</sup>
ANOVA (Valor de P)	Irrigación	0.3516	0.1373	0.5566	0.9264	0.0003	< 0.0001	0.2496
	Fertilización	< 0.0001	< 0.0001	0.1365	0.4513	0.0411	< 0.0001	0.0025
	I x F	0.2631	0.3808	0.073	0.4229	0.0191	< 0.0001	0.2635

Letras iguales en la misma no columna son significativamente diferentes entre tratamientos con un 95% de confianza.

### 5.3. EXPERIMENTO III - Desempeño e interacción del SfMNPV en larvas de *S. frugiperda* con diferentes bajo estrés hídrico y fertilización

#### 5.3.1. Altura de las plantas

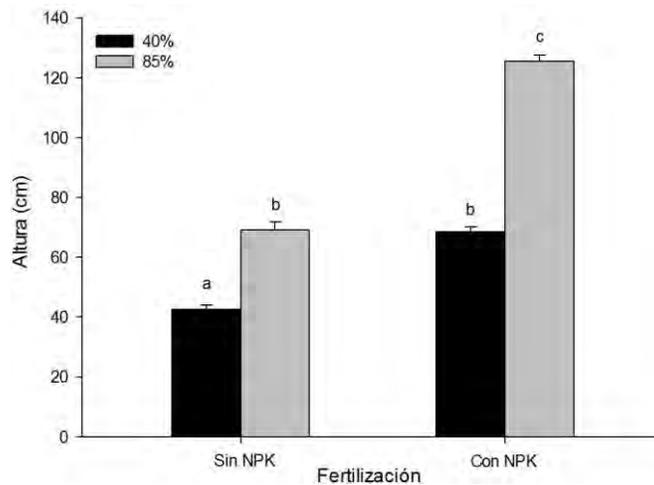
La altura de las plantas en la octava semana (Figura 33), un día antes de la colocación de las larvas neonatas, mostró diferencias significativas entre los tratamientos.



**Figura 33.** Se muestran la irrigación y la fertilización de las plantas para el tercer experimento, luego de ocho semanas.

Los tratamientos que tenían el 85% de la capacidad de campo crecieron más, mostrando diferencias significativas en el factor irrigación ( $F_{1, 44} = 445.05$ ,  $P < 0.0001$ ).

El factor de la fertilización también mostró diferencias significativas ( $F_{1, 44} = 431.82$ ,  $P < 0.0001$ ). Los tratamientos que se les añadió NPK tuvieron una mayor altura (Figura 34).

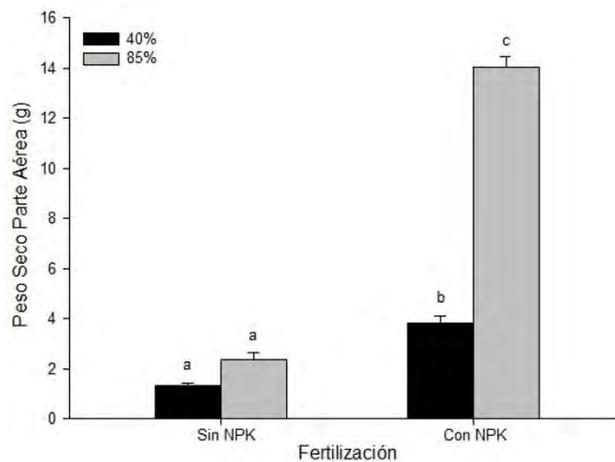


**Figura 34.** Promedios y LSD del crecimiento en altura de la planta.

De la misma manera se encontró una interacción significativa entre los dos factores, la cual hace que los valores de altura en centímetros sean positivos al pasar del 40 al 85% de la capacidad de campo ( $F_{1, 44} = 58.67, P < 0.0001$ ).

### 5.3.2. *Peso seco de la parte aérea*

En los tratamiento en que las plantas no llevaban fertilización y con el 85% de irrigación, se observó clorosis (color amarillento y traslucido en las hojas, por falta principalmente de nitrógeno).



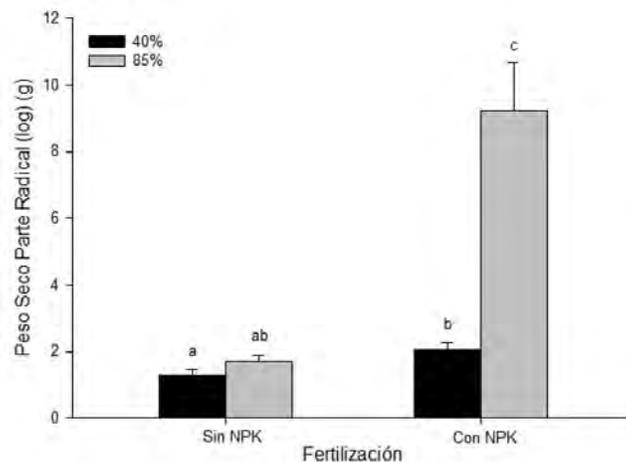
**Figura 35.** Promedios y LSD del peso seco de la parte aérea.

Se encontraron diferencias altamente significativas entre el factor irrigación del peso seco del follaje ( $F_{1, 18} = 292.10$ ,  $P < 0.0001$ ). También se observaron marcadas diferencias altamente significativas para la fertilización ( $F_{1, 18} = 468.62$ ,  $P = 0.0001$ ), donde se observa que los tratamientos que contenían NPK tuvieron un mayor desarrollo (Figura 35).

De la misma manera se encontró una interacción significativa entre los factores irrigación x fertilización ( $F_{1, 18} = 195.34$ ,  $P < 0.0001$ ).

### 5.3.3. *Peso seco parte radicular*

El peso seco de las raíces mostraron diferencias significativas para los factores de irrigación y fertilización, con una transformación logarítmica ( $F_{1, 18} = 37.71$ ,  $P < 0.0001$  y  $F_{1, 18} = 58.31$ ,  $P < 0.0001$ , respectivamente). Una interacción significativa fue encontrada entre los dos factores debido a que el peso seco de la parte radicular fue cinco veces mayor en las plantas con NPK y 85% de capacidad de campo ( $F_{1, 18} = 17.76$ ,  $P = 0.0005$ ; Figura 36).

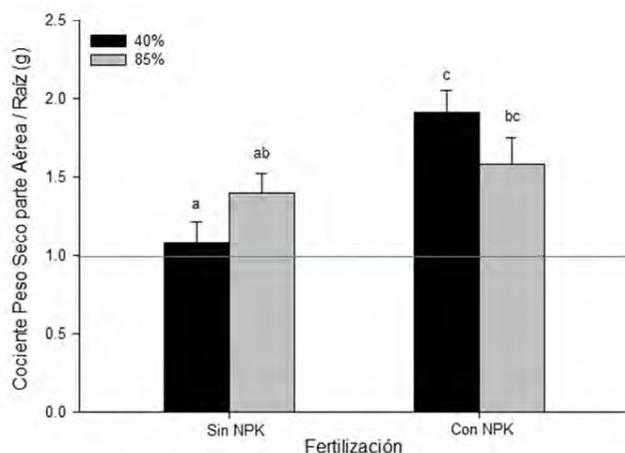


**Figura 36.** Promedios y LSD del peso seco radicular.

### 5.3.4. *Cociente Peso seco parte Aérea / Raíz*

El análisis varianza demostró que no hubo diferencias para la irrigación ( $F_{1, 18} = 0.10$ ,  $P = 0.9656$ ). Sin embargo el factor de fertilización si muestra diferencias significativas ( $F_{1, 18} =$

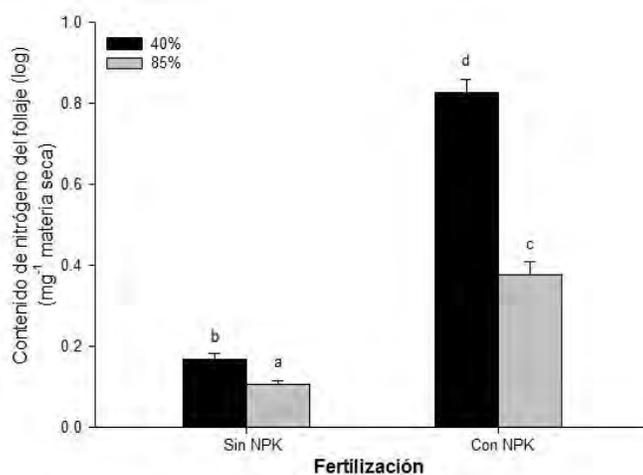
11.41,  $P= 0.0034$ ), (Figura 37). Se encontró una interacción significativa entre la interacción y la fertilización ( $F_{1, 18}= 4.69$ ,  $P= 0.0440$ ).



**Figura 37.** Promedios y LSD del peso aéreo entre el peso radicular.

### 5.3.5. Nitrógeno total

La irrigación mostró mediante una transformación logarítmica, diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $F_{1, 18}= 77.39$ ,  $P < 0.0001$ ). El factor de la fertilización también mostró diferencias altamente significativas ( $F_{1, 18}= 413.15$ ,  $P < 0.0001$ ), (Figura 38).

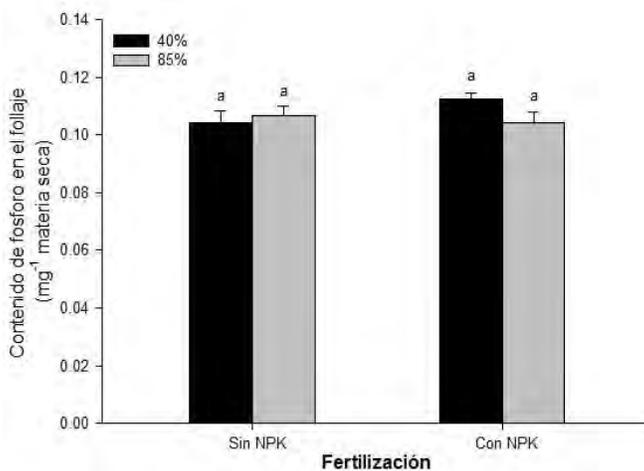


**Figura 38.** Promedios y LSD del contenido de nitrógeno foliar.

Se encontró una interacción significativa entre los factores ( $F_{1, 18}= 6.36$ ,  $P < 0.0213$ ), mostrando una concentración mayor de nitrógeno en las plantas fertilizadas y con menor irrigación.

### 5.3.6. Fósforo total

El contenido de nitrógeno de las plantas fue afectado significativamente por la irrigación. No se encontraron diferencias en el factor de la irrigación, ni tampoco entre el de la fertilización ( $F_{1, 18} = 0.68$ ,  $P = 0.4199$  y  $F_{1, 18} = 0.72$ ,  $P = 0.4061$  respectivamente), (Figura 39). Tampoco se observó alguna interacción significativa entre los factores ( $F_{1, 18} = 2.61$ ,  $P < 0.1234$ )



**Figura 39.** Promedios y LSD del contenido de fósforo en el follaje.

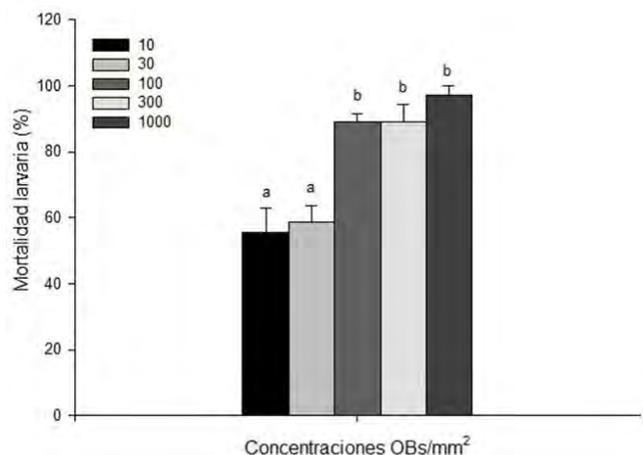
### 5.3.7. Prueba preliminar para encontrar la concentración letal 50

En las cinco concentraciones de virus utilizadas (10 OBs/mm<sup>2</sup>, 30 OBs/mm<sup>2</sup>, 100 OBs/mm<sup>2</sup>, 300 OBs/mm<sup>2</sup> y 1000 OBs/mm<sup>2</sup>), se encontraron diferencias significativas en relación a la concentración letal necesaria para matar al 50% de los insectos ( $F_{4, 10} = 14.77$ ,  $P = 0.0003$ ) (Figura 40).

La concentración más cercana al 50% de mortalidad, fue la primera concentración de 10 OBs/mm<sup>2</sup> y que alcanzó el 55.63% de mortalidad pero no fue significativamente diferente a la concentración de 30 OBs/mm<sup>2</sup> (Figura 40).

Es interesante notar que las cinco concentraciones se comportaron en de forma logarítmica, así la concentración de 10 OBs/mm<sup>2</sup> y la de 30 OBs/mm<sup>2</sup> fueron cercanas e iguales

mediante la prueba de LSD, la de 100 OBS/mm<sup>2</sup>, la 300 OBS/mm<sup>2</sup> y la de 1000 OBS/mm<sup>2</sup> (Figura 40).



**Figura 40.** Promedios y LSD de la mortalidad larvaria de la prueba preliminar.

**Cuadro 11.** Análisis Probit.

	Ecuación	$\chi^2$	Grados de libertad	$\chi^2$ (valor de tabla)
	$y = -0.98 + 0.999x$	2.671	3	7.82
Concentración (10 OBS/mm <sup>2</sup> )	Heterogeneidad	Valor de P	CL <sub>50</sub> esperada (OBS/mm <sup>2</sup> )	Límites de confianza
	0.89	0.1384	9.749	3.142 - 18.29

Se muestran los valores de mortalidad encontrados para la CL<sub>50</sub> con un 95% de confianza.

### 5.3.8. Experimento en las hojas de maíz de los tratamientos de fertilización e irrigación

Aunque el experimento en principio fue planeado para tener cuatro combinaciones de tratamientos, que contenían entre el virus y el control, en el tratamiento que tenía 85% de la capacidad de campo y sin ningún tipo de fertilización no se pudieron recuperar larvas.

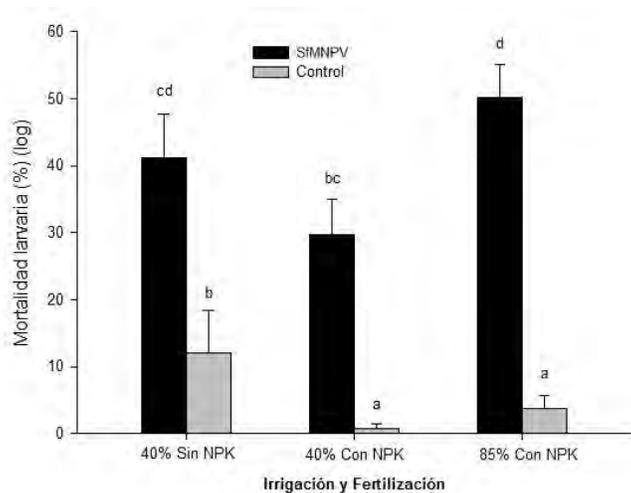
Presumiblemente por ser de muy mala calidad nutricional (como se explica en la discusión en el apartado de la nutrición como defensa) y así todo este tratamiento no se pudo llevar a cabo.

Ante esto sólo se pudieron coleccionar larvas de los otros tres tratamientos y los análisis estadísticos debieron ser adaptados ante el comportamiento inesperado del sistema.

### 5.3.9. Mortalidad larvaria

Se encontró que la mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* fue significativamente afectada por la irrigación y la fertilización y hubo una diferencia significativa ( $F_{2, 18} = 5.87$ ,  $P = 0.0109$ ) (Figura 41).

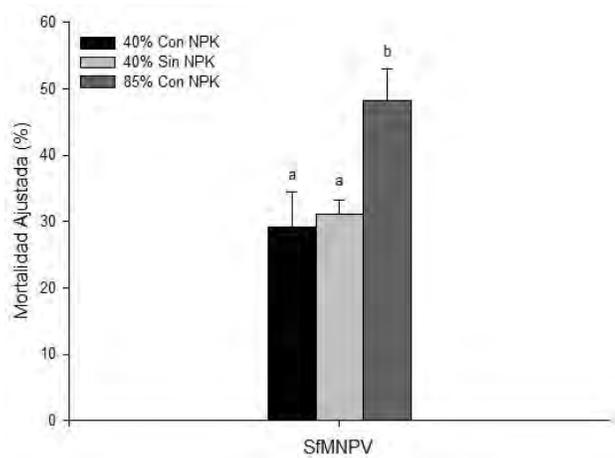
El factor del SfMNPV y el control mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $F_{1, 18} = 59.32$ ,  $P < 0.0001$ ). Se encontraron también una interacción entre los dos factores ( $F_{2, 18} = 4.23$ ,  $P = 0.0312$ ).



**Figura 41.** Promedios y LSD de la mortalidad en tratamientos del SfMNPV y el control.

### 5.3.10. Mortalidad ajustada

Se encontraron diferencias significativas en la mortalidad ajustada en relación al factor de irrigación ( $F_{2, 15} = 5.70$ ,  $P = 0.0144$ ) (Figura 42). La figura 43, muestra las larvas sanas y enfermas por el SfMNPV.



**Figura 42.** Promedios y LSD de la mortalidad ajustada.



**Figura 43.** a) Larva sana. b) Larva con los síntomas clásicos por infección de baculovirus. c) Larva que murió por el virus. d) Larva colgada y que llegó al proceso de la licuefacción.

**Cuadro 12.** Promedios, error estándar, diferencias mínimas significativas y valores de P para el desempeño de la planta y nutrición de la planta.

Medias, Error Estándar y LSD							
Irrigación	Fertilización	Altura (cm)	Peso Seco Parte Aéreo (g)	Peso Seco Parte Radical (log) (g)	Peso Seco Aéreo/Raíz	Nitrógeno (log)	Fósforo (log)
40%	Sin NPK	42.63 ± 1.305 <sup>a</sup>	1.333 ± 0.083 <sup>a</sup>	1.289 ± 0.166 <sup>a</sup>	1.081 ± 0.132 <sup>a</sup>	0.167 ± 0.013 <sup>b</sup>	0.104 ± 0.004 <sup>a</sup>
	Con NPK	68.59 ± 1.547 <sup>b</sup>	3.843 ± 0.261 <sup>b</sup>	2.060 ± 0.194 <sup>b</sup>	1.912 ± 0.144 <sup>c</sup>	0.826 ± 0.034 <sup>c</sup>	0.112 ± 0.002 <sup>a</sup>
85%	Sin NPK	69.21 ± 2.582 <sup>b</sup>	2.352 ± 0.273 <sup>a</sup>	1.702 ± 0.188 <sup>ab</sup>	1.399 ± 0.123 <sup>ab</sup>	0.108 ± 0.007 <sup>a</sup>	0.106 ± 0.003 <sup>a</sup>
	Con NPK	125.4 ± 2.211 <sup>c</sup>	14.01 ± 0.443 <sup>c</sup>	9.222 ± 1.450 <sup>c</sup>	1.580 ± 0.169 <sup>bc</sup>	0.377 ± 0.030 <sup>d</sup>	0.104 ± 0.003 <sup>a</sup>
ANOVA	Irrigación	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.9656	< 0.0001	0.4199
	Fertilización	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0034	< 0.0001	0.4061
	I x F	< 0.0001	< 0.0001	0.0005	0.0441	< 0.0213	0.1234

Letras iguales en la misma columna no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ). Con 95% de confianza.

**Cuadro 13.** Mortalidad larvaria.

Irigación y Fertilización	Virus y Testigo	Medias, Error Estándar, LSD y Valor de P			
		Mortalidad (%) (log)	Mortalidad Ajustada (%)	Prueba preliminar para la CL50 (%) OBS/mm <sup>2</sup>	
40% Sin NPK	SfMNPV	41.21 ± 6.401 <sup>cd</sup>	29.11 ± 5.391 <sup>a</sup>	10	55.64 ± 7.45 <sup>a</sup>
	Control	12.10 ± 6.279 <sup>b</sup>		30	58.44 ± 4.90 <sup>a</sup>
40% Con NPK	SfMNPV	29.67 ± 5.263 <sup>bc</sup>	31.09 ± 2.215 <sup>a</sup>	100	88.88 ± 2.77 <sup>b</sup>
	Control	0.713 ± 0.713 <sup>a</sup>		300	88.88 ± 5.55 <sup>b</sup>
85% Con NPK	SfMNPV	50.19 ± 4.823 <sup>d</sup>	48.17 ± 4.882 <sup>b</sup>	1000	97.22 ± 2.78 <sup>b</sup>
	Control	3.766 ± 1.846 <sup>a</sup>			
ANOVA (Valor de P)	I	-	0.0144	ANOVA (Una vía)	0.0003
	F	-			
	I + F	0.0109			
	V + C	< 0.0001			
	IF + VC	0.0312			

Letras iguales en la misma columna no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ), con 95% de confianza.

## 6. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de la fertilización y el estrés hídrico sobre los parámetros de vida de la planta de maíz y de la plaga *S. frugiperda*, así como de su interacción con un nucleopoliedrovirus. En general, se encontró que la fertilización con NPK mineral y el aumento en la irrigación, mejoraron tanto el desempeño vegetal, como el del insecto, y particularmente la irrigación, tuvo un efecto en el virus para controlar al gusano cogollero.

### 6.1. Efecto del estrés hídrico y la fertilización sobre el desempeño del maíz.

#### 6.1.1. Estrés hídrico

En este trabajo las plantas mostraron en general tanto un crecimiento en altura como un aumento en el peso de la parte aérea y de la parte radicular conforme se incrementaba la cantidad de agua. La irrigación fue un factor que interactuó con el factor de fertilización y del insecto a lo largo de los experimentos, fue limitante para el desarrollo, sobre todo la altura de las plantas y el peso, o por el contrario, lo aumentaba cuando había un excedente del líquido. Esto posiblemente se deba a que las plantas al estar bien hidratadas pueden llevar a cabo adecuadamente sus reacciones fisiológicas como la fotosíntesis, el transporte de solutos, entre otras con normalidad (Galmés *et al.* 2007). Por lo tanto, el agua es un factor clave que influencia el desarrollo, los rendimientos y la calidad de los cultivos (Ge *et al.* (2010).

El genotipo NB9 tolerante a la sequía, tuvo un crecimiento mayor que el NB10, esto está acorde a los datos proporcionados por Novasem<sup>®</sup> (Cuadro 2), y también mostró una tendencia clara en la que las plantas, al ser irrigadas con poca cantidad de agua, tenían un mejor desarrollo que las plantas con NB10. Hopkins y Hüner (2004a) señalaron, que uno de los efectos tempranos del déficit de agua, es una reducción en el crecimiento vegetativo, sobre todo el área foliar de las hojas que son muy sensibles a la escasez de humedad, posiblemente para reducir pérdida de agua por transpiración, en espera de mejores

condiciones. Çakir (2004), indicó que el maíz afectado por estrés hídrico por sequía, puede llegar a reducir su altura, su peso seco y llegar a perder de 28 a 32% de biomasa. Grammatikopoulos y Manetas (1994), indicaron que los tricomas o pelos, juegan un papel crítico al ayudar a reducir el estrés hídrico y retener el agua en la superficie de la hoja, ayudando a su absorción en el mesófilo.

Un reciente estudio realizado con el genotipo NB9 indicó que hay una correlación positiva entre el estrés hídrico y el aumento en el desarrollo de las plantas, y por el contrario una correlación negativa que hace decrecer este desarrollo ante la escasez de agua (López 2013). Doorenbos y Kassam (1979), Nesmith y Ritchie (1992), Stone *et al.* (2001), Steduto *et al.* (2012) y Aydinsakir *et al.* (2013) encontraron que entre menos cantidad de agua se les proporcione a las plantas, éstas tienen un crecimiento menor en altura, finalmente ellos concluyen que el rendimiento del maíz y su desempeño son afectados tanto por la irrigación, como por el genotipo usado.

Por otra parte, Hu y Schmidhalter (2005) mencionaron que es ampliamente aceptado, que aunque en el suelo haya una gran cantidad de nutrientes, o estos sean proporcionados mediante fertilización, las plantas no podrán mejorar su crecimiento cuando hay una sequía severa. Sin embargo en los cocientes entre peso foliar y radical, del segundo y tercer experimento de este trabajo, la irrigación no tuvo ningún efecto significativo. Tal vez debido a que las plantas en ambientes con déficit de agua, inhiben el desarrollo de la parte foliar en pro de favorecer la producción de raíces aun en suelos muy salinos y condiciones adversas, esto se conoce como: "el enigma de la raíz" (Sharp y Davies 1979, Hsiao y Xu 2000 y Munns 2002).

#### 6.1.2. Fertilización mineral y su impacto en la nutrición vegetal del *Zea mays*

¿Cómo escribir sobre la fertilización mineral en el desempeño de las plantas, y al mismo tiempo dejar en otro apartado la nutrición vegetal? Es por ello que en esta sección se discutirá el impacto de la fertilización, sobre el desempeño de la planta y la nutrición vegetal, con un enfoque hacia el nitrógeno y el fósforo.

El NPK mineral generalmente aumentó la biomasa y produjo diferencias significativas en casi todos los análisis. En el primer experimento, cuando no se había aplicado aun ningún tipo de fertilización, las plantas que tenían una menor cantidad de agua, y por lo tanto crecieron menos, tuvieron la tendencia a concentrar más nitrógeno y fósforo, que en los tratamientos con un menor nivel estrés hídrico (Figuras 19 y 20). Es conocido que cuando las plantas están estresadas por sequía tienden a aumentar sus niveles de nitrógeno y fósforo en sus tejidos en forma de proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos (pueden llegar a representar 10% del nitrógeno disponible), fenoles, alcaloides y otros metabolitos secundarios (White 1984, Slansky y Rodríguez 1987 y Cockfield 1988). Todo esto se discutirá más adelante en el apartado de la defensa vegetal.

Por otro lado, se observó que las plantas con baja irrigación y/o falta de fertilización mostraron colores amarillentos y traslucidos que son síntomas de clorosis (escasez de nitrógeno y otros nutrientes). Hopkins y Hüner (2004b) mencionaron que el nitrógeno es constituyente de muchas moléculas, como las proteínas, ácidos nucleicos, clorofila y ciertos tipos de hormonas (por ejemplo citoquininas), y entonces no es de extrañar que uno de los síntomas por déficit de nitrógeno sea, un desarrollo lento de las plantas, llegando a quedar enanas, y presentar clorosis. También indicaron que las plantas responden a un exceso de nitrógeno, acelerando su desarrollo.

La fertilización interactuó con el factor de la irrigación, en todos los análisis, pero no así con el factor del insecto en el segundo experimento (Figuras 23, 24 y 25). Esto puede deberse, a que las plantas, al estar bien hidratadas, pudieron hacer mejor la fotosíntesis y transportar con eficacia los nutrientes a todo el follaje, en comparación a aquellos tratamientos en los que había limitación de humedad. János (2010) encontró que al usar seis niveles de fertilización y dos niveles de irrigación (con y sin irrigación), en plantas de maíz, que los dos factores (fertilización e irrigación), siempre interactuaron entre ellos, haciendo que las plantas crecieran y tuvieran un mayor desarrollo en conjunto, pero no por separado. En un temprano estudio Smika *et al.* (1965), demostraron que la fertilización con nitrógeno no aumenta el rendimiento en grano y desarrollo de las plantas, si no hay suficiente humedad en el suelo, y por el contrario aumentando los niveles de irrigación tampoco dan

buenos resultados sin la fertilización. Existe una correlación positiva lineal entre la aplicación de niveles de nitrógeno adicionales a diversos genotipos de maíz, y el aumento de su desempeño en altura, área foliar, índice foliar (la acumulación de peso seco está en función y magnitud de su área foliar), color intenso, producción de grano y mazorca (Bejarano 1971, Donald y Hamblin 1976, Martínez y Vega 1987, Studer *et al.* 2007, Lui y Wiatrak 2011, Rehman *et al.* 2013 y Xu *et al.* 2014).

En recientes estudios con el genotipo NB9 se observó que la adición de NPK incrementaba significativamente el desarrollo de las plantas, tanto en altura, como en peso seco foliar y de la raíz (López 2013 y Mejía 2013). Estos estudios estuvieron en concordancia con lo observado en el presente trabajo. Sin embargo los tratamientos con fertilización, pero una baja capacidad de campo, tuvieron un crecimiento menor, y los nutrientes se concentraron en la poca biomasa. Lo cual puede deberse a una disminución de la absorción de nutrientes por en las raíces, debido a la transpiración restringida, y al deterioro de transporte y permeabilidad de las membranas, afectando la difusión de nutrientes cuando hay una sequía prolongada (Alam 1999).

El fósforo, es un elemento muy importante que participa en una infinidad de reacciones metabólicas, como la aportación de energía (ATP, ADP, enzimas fosfatasa, etc.), y es constituyente también de la estructura del ADN, fosfolípidos, etc. Sin embargo Pinkerton y Simpson (1986) indicaron que el consumo de fósforo por las plantas es reducido en suelos secos y esto puede llevar a que las hojas exhiban colores morados y púrpuras.

En este estudio se usó un suelo tipo vertisol, el cual tenía un contenido muy bajo de fósforo (ver cuadro 5), y se apreciaron estos colores antes mencionados en algunas hojas de las plantas, de los tratamientos que no llevaban NPK. Kang y Osiname (1979) mencionaron que para que un cultivo de maíz tenga buenos rendimientos tanto en desarrollo como en producción de grano, el nivel de fósforo en un suelo debe oscilar entre de 10 a 14 ppm. En nuestro estudio, el fósforo presente en el sustrato contenía cantidades muy bajas (5.8 ppm).

### 6.1.3. Defensa vegetal (fenoles y taninos)

En el primer experimento, se midió la concentración de fenoles y taninos, en las plantas de maíz bajo diferentes niveles de estrés hídrico. Las concentraciones más elevadas de estos compuestos se encontraron cuando había menos cantidad de agua en el sustrato, que eran 40% de la capacidad de campo para los dos híbridos ensayados (Figuras 16 y 18). Zobayed *et al.* (2007) mencionaron que cuando hay estrés hídrico, las plantas incrementan las concentraciones de metabolitos secundarios (taninos, fenoles, etc.). Esta concentración de compuestos fenólicos, en plantas con déficit de agua, puede ser en parte debida a un efecto de fotoprotección. García y Becerril (2000) señalaron que el estrés hídrico por sequía, aumenta la sensibilidad del aparato fotosintético a la radiación solar que es recibida, y es probable que este exceso de luz, llegue a ser peligroso para la planta. Ante esto, Nogués y Baker (2000) y Hura *et al.* (2008) resaltaron que los compuestos fenólicos, tienen una función importante en plantas estresadas por escasez de agua, al absorber, filtrar y proteger a los tejidos del mesófilo, de cantidades excesivas de luz solar, al actuar como fotoprotector y al limitar la excitación de la clorofila.

También se conoce que ciertos compuestos fenólicos (taninos condensados como protoantocianidina) tienen una capacidad antioxidante al eliminar radicales libres (Blokina *et al.* 2002; Hichem *et al.* 2009), proteger a las raíces al formar una barrera contra la penetración de patógenos colonizadores (Hidalgo 1999), y ayudar a su elongación (Yamaguchi y Sharp 2010). En contraste, Coley *et al.* (1985), al presentar la hipótesis de disponibilidad de recursos, para intentar explicar el surgimiento de las defensas en las plantas, entre varios argumentos, mencionaron que cuando las plantas se encuentran con abundancia de recursos, donde puedan crecer y reparar rápidamente sus tejidos foliares y ante el ataque de herbívoros, sus defensas serán bajas.

Culvenor (1973) mencionó, que la familia Poaceae tiene menos compuestos secundarios que las demás. Por ejemplo casi no tiene alcaloides y tampoco terpenoides nocivos, y carecen de muchas clases de compuestos químicos regularmente presentes en otras familias, tales como aminoácidos tóxicos, acetilenos, lactonas, fumarocumarinas y

compuestos de sulfuro. Por lo tanto es posible, que gran parte de ese nitrógeno, que se concentró en los tratamientos con más estrés hídrico, y que se discutirá en el apartado de la nutrición vegetal, sea en forma de metabolitos secundarios en las hojas, en compuestos que no son digeribles y pudieran ser dañinos para los insectos, como son fenoles y taninos, como afirma Cockfield (1988). Sin embargo Haukioja *et al.* (1991) mencionaron, que los compuestos negativos de las plantas (fenoles, alcaloides, aleloquímicos, etc.), han recibido menos atención que los compuestos positivos (desde el punto de vista antropogénico; proteínas, minerales, vitaminas, sustancias curativas, etc.) eclipsándolas.

En los experimentos dos y tres, la idea principal, fue analizar, si la calidad nutricional y el estrés hídrico, tenían efecto como parte de una defensa, al influir en el desempeño del insecto y el SfMNPV.

## **6.2. Desempeño de *Spodoptera frugiperda***

### *6.2.1. Peso y longitud larval*

En el segundo experimento, se observó que el crecimiento de las larvas, tanto en peso como en longitud, sólo fue influenciado por los niveles de la fertilización, sin importar la humedad del sustrato. Las larvas crecieron mucho más, tanto en su peso como en su longitud, cuando se había adicionado NPK mineral (Figuras 26 y 27). Scriber (1977) menciona que es conocido que un bajo contenido de agua en las hojas, puede causar bajas tasas de crecimiento en orugas. Sin embargo, en este estudio, la irrigación, no produjo diferencias significativas, como se mencionó antes.

Por otro lado en diversos estudios con fertilización con NPK en insectos se encontró, que el nitrógeno por sí mismo tiene fuertes efectos en el desempeño y rendimiento de insectos herbívoros, existiendo una correlación lineal entre la cantidad de nitrógeno adicionado a las plantas y la eficiencia de los insectos para convertir el material de la planta en tejidos de su cuerpo (peso y longitud), y por el contrario, bajos contenidos de nitrógeno en plantas hospederas resultan en un pobre desempeño larval (McNeill y Southwood 1978, Yarro

1984, Clancy 1992, Fisher y Fiedler 2000 y Chen *et al.* 2008). Así mismo, Scriber (1984) enumeró 115 estudios, de la literatura de su tiempo, en que los insectos crecen mejor con el aumento de nitrógeno en las plantas. Chen *et al.* (2014) encontraron que la fertilización con nitrógeno tiene efectos indirectos, al fertilizar plantas de algodón con cinco niveles de nitrógeno (42, 112, 196 y 289 ppm), observaron que los parasitoides (*Cotesia marginiventris* Cresson) en las larvas de *S. exigua* que se alimentaron del tratamiento de 42 ppm, tuvieron 30% de desarrollo más lento, que las que se alimentaron de los otros tres tratamientos.

### 6.2.2. *Peso y longitud de pupas*

El peso y longitud de las pupas no presentaron ninguna diferencia en relación a los factores de irrigación y fertilización, lo cual posiblemente refleja que las larvas compensaron la falta de nutrientes (especialmente nitrógeno en formas de proteínas), aumentando su tasa de consumo y tiempo de desarrollo (Slansky y Feeny 1977 y Slansky 1993). Es conocido que los lepidópteros, deben alimentarse de los nutrientes necesarios, para llegar a la pupa, emerger como adultos, aparearse y en el caso de las hembras poner huevecillos. Schonhooven *et al.* (2006) señalaron que muchos herbívoros que se alimentan de hospederos de baja calidad nutricional, solucionan el bajo aporte proteínico, incrementando su consumo de alimento, entre otros mecanismos.

Uno de estos mecanismos es el buscar nuevas plantas hospederas, (que será discutido más adelante). Mattson (1980) indicó que los insectos que se alimentan de plantas con un contenido de 1% de nitrógeno, requieren tres veces más alimento, que aquellas que se alimentaron de plantas con contenidos de nitrógeno del 6%. Es conocido que los lepidópteros pueden ser limitados por nutrientes y/o estrés hídrico, y pueden llegar a aumentar sus poblaciones, incrementando las pérdidas en los cultivos, debido a la preferencial alimentación, derivada de una alta tasa de fertilización con nitrógeno (Gillion y Gillion 1967 y Chen, *et al.* (2008).

### 6.2.3. *La nutrición como defensa*

En el segundo y tercer experimento, se observó, que el tratamiento que contenía fertilización mineral y 85% de la capacidad de campo, fue muy mal alimento para las larvas. En ese segundo experimento, las larvas se colocaron en segundo estadio recién mudado. Como se indicó en la metodología, la tela de malla, era más grande que el grosor del insecto, ante este problema, se decidió colocar el doble de larvas de las planeadas a todos los tratamientos, con la idea de que si había escapes (como así fue), algunas quedarán en las plantas. Sin embargo ese tratamiento en particular, hubo un escape mucho mayor, y solo quedaron muy pocas larvas, que se usaron para medir sus peso y longitud (larval y de pupas). Las larvas que se escaparon, muy posiblemente hayan migrado a tratamientos donde no les correspondía. Kaufmann (1983) dijo que es común que los insectos recién eclosionados busquen sus plantas hospederas, ya que los lepidópteros, pueden poner sus huevos en sitios cercanos y Chapman (1955), señaló que se ha demostrado que las larvas neonatas, tienen la capacidad de orientarse y buscar su planta hospedera por anemotaxis (busca de olores) y de varios químicos epicuticulares de las plantas.

En el tercer experimento, se colocaron las larvas recién eclosionadas, pero al ser las bolsas que recubrían las macetas, hechas una malla de tergal francés de 200 micrómetros, las larvas no pudieron escapar. Sin embargo en ese mismo tratamiento (85% de irrigación, sin NPK), casi todas las larvas recién eclosionadas trataron de escaparse, y al no alimentarse de las hojas, murieron. Unas pocas que se recuperaron, se encontraron comiendo del tallo, en una zona donde empieza a tener su nacimiento las raíces de soporte y anclaje. En los dos experimentos, este tratamiento (85% de irrigación, sin NPK), mostró un color amarillento y traslucido, que es una de los síntomas de la clorosis, por falta de nutrientes, en especial de nitrógeno. En las figuras 31 y 38, se puede apreciar como este tratamiento era el que tenía menor contenido de nitrógeno. Caswell *et al.* (1973), Lyttleton (1973) y Bernays (1985) mencionaron que comparados con otras familias de herbáceas, la concentración de proteínas en los pastos pastos C<sub>4</sub> (Poaceae, principalmente), tiende a ser muy baja, y es similar al encontrado en plantas leñosas.

Es probable que este comportamiento de escape observado en las larvas en los tratamientos de las plantas con una mala calidad nutricional, se deba a que los insectos, que se encuentran sobre estas plantas, pueden llegar a correr graves peligros, al estar comiendo de las hojas más tiempo de lo debido. Entre estos riesgos, está una mayor posibilidad de ser depredados por sus enemigos naturales (pájaros, arañas, mantidos, coleópteros, etc.), o atacados por patógenos (bacterias, hongos, o virus). Bernays (1997) resalta que los lepidópteros, tienen 100 veces más riesgo de ser depredados cuando se alimentan, que en los periodos en que no lo hacen. En un estudio de campo Loader y Damman (1991) demostraron que reducidos contenidos de nitrógeno en cultivos, aumentaron las tasas de depredación, en la palomilla blanca *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae).

Otra explicación plausible es que la calidad de la planta hospedera sea tan baja, que no alcancen a formar una pupa, o que emerjan como adultos mal formados, con baja capacidad reproductiva e incluso infértiles, y ello a la postre, pueda acarrear una alteración sobre el desempeño del fitófago para las siguientes generaciones. Hassell y Southwood (1978) señalaron que la adecuación evolutiva (fitness), depende significativamente de una dieta óptima en cantidad y calidad. Las estrategias de alimentación son por lo tanto, conformadas por selección natural y deben ser consideradas en términos de maximizar los nutrientes netos ganados de la alimentaciones y que ellos minimizan el riesgo de supervivencia.

Por todo esto, es muy posible que los insectos hayan escapado (experimento dos) o lo hayan intentado (experimento tres). Simpson y Simpson (1990) mencionaron que los insectos que seleccionaron al inicio una planta, pueden abandonarla y buscar otra, si la calidad alimenticia es inadecuada. Berenbaum (1995) desarrolló una interesante y famosa teoría en la que las plantas mejor defendidas pueden ser aquellas que tienen una nutrición pobre comparadas con aquellas que tienen mejor calidad nutricional y por otro lado, Haukioja, *et al.* (1991) concluyeron que una baja calidad nutricional de la planta hospedera, puede resultar una defensa contra herbívoros. En concordancia con este estudio Brewer *et al.* (1987) mencionaron que cuando realizaron pruebas con varios niveles de nitrógeno en el desarrollo y supervivencia de estadios jóvenes de *Choristoneura occidentalis* Freeman (Lepidoptera: Tortricidae), tuvieron una mayor cantidad de escapes de larvas en el nivel

que no tenía nitrógeno añadido, y concluyeron que puede ser debido a la mala calidad alimenticia de la planta. Lynch *et al.* (1983) mencionaron que la resistencia de pastos de Bermuda a *Spodoptera frugiperda*, puede ser debido a antibiosis debida a falta de nutrientes o al desequilibrio de estos. Reese y Field (1986) observaron, que las larvas de *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae), crecieron más lentamente sobre plántulas de maíz, que alimentadas con dieta artificial, porque esta última tenía más nutrientes. Slansky (1993) igualmente mencionaron, que las orugas, pueden no consumir las hojas, si les falta estimulantes alimentarios, como nutrientes, o por la presencia de repelentes (usualmente aleloquímicos). Sin embargo, y a pesar de lo anterior, esta teoría (la calidad nutricional como defensa), aún no ha podido ser demostrada.

### **6.3. Desempeño del Nucleopoliedrovirus**

#### *6.3.1. Prueba preliminar*

Antes de realizar el tercer experimento, con la idea de medir las interacciones entre la fertilización mineral, el estrés hídrico y el SfMNPV sobre las larvas de *S. frugiperda* en segundo estadio, se realizó una prueba preliminar, para buscar cual concentración era o se acercaba a la CL<sub>50</sub>. Se encontró que las concentraciones más bajas 10 y 30 OBs/mm<sup>2</sup> se acercaron más a la concentración letal al 50% (Figura 40). La de  $\chi^2$  Probit mostró que la CL<sub>50</sub> se encontraba entre los 3 y los 18 OBs/mm<sup>2</sup> (cuadro 11). Sin embargo, al no ser estadísticamente diferentes estas dos concentraciones (Figura 40), se optó por usar la más alta próxima, como se indica en el apartado de la metodología. Esta concentración fue cercana a los resultados esperados en los tratamientos de 85% de capacidad de campo y al del 40% sin fertilización. No se puede asegurar al 100% que esta concentración sea la CL<sub>50</sub>, pues era necesario volver a repetir el experimento, con dos concentraciones abajo de la que la que llegó al 50% de mortalidad (1 y 3 OBs/mm<sup>2</sup>). Como las plantas ya tenían un mes de crecimiento, no fue posible repetirlo. Sin embargo, el experimento para medir las interacciones entre la fertilización y la irrigación sobre el virus y el insecto fue cercana a lo observado con esta prueba. En otro estudio Martínez *et al.* (2003) encontraron, que la CL<sub>50</sub> para larvas de *S. frugiperda* era de 26 OBs/mm<sup>2</sup>, que es cercano a lo observado en el

presente estudio. Escribano *et al.* (1999), encontraron al caracterizar este mismo aislado, encontraron la  $CL_{50}$  en 203 OBs/mm<sup>2</sup>, en larvas de segundo estadio. Sin embargo, los resultados no son completamente comparables, considerando que las metodologías de los experimentos fueron diferentes, debido las condiciones, como el tener las larvas en las cajas a temperatura ambiente, sin control de la humedad y sin un fotoperíodo constante. Por otro lado, en este estudio, se usó para la prueba preliminar la técnica por contaminación de superficie de dieta, y ellos usaron la técnica de la gota, consistente en alimentar con una gota, de una solución de carbohidratos (sacarosa), un colorante (azul de Tusca) y los cuerpos inclusión. Estos resultados dispares denotan que hay mucha variación de la cantidad de OBs para alcanzar algún rango de mortalidad en un mismo aislado. También entre otros aislados se encuentra esto, por ejemplo en larvas de tercer estadio, cuando García *et al.* (2013), ensayaron con aislados nativos de SfMNPV, procedentes de Sinaloa en larvas de L3, encontraron que la  $CL_{50}$  estaba en 100 OBs/mm. En otro estudio, Gómez *et al.* (2010) probaron tres aislados de SfMNPV colectados en diferentes provincias de Colombia, en larvas también de tercer estadio de *S. frugiperda*, y encontraron una gran variación entre las cepas. Los aislados obtenidos en los departamentos de Córdoba, Tolima y Meta mostraron la  $CL_{50}$  en 230, 150 y 710 OBs/mm<sup>2</sup>, respectivamente. Esta gran variabilidad entre aislados puede deberse a la alta tasa de mutación que se da en los virus. Brown *et al.* (1979), señalaron que los baculovirus, presentan tasas de mutación muy rápidas.

### 6.3.2. Efecto de la fertilización e irrigación sobre el SfMNPV

Como se discute en el apartado de la nutrición vegetal como defensa, las larvas del tratamiento que contenía 85% de la capacidad de campo sin fertilización, se escaparon, y no fue posible recuperar más que algunas pocas, que tampoco se pudieron ensayar. Los tratamientos fueron entonces tres: 1) 85% de irrigación más la fertilización mineral, 2) 40% de irrigación más fertilización mineral, y 3) 40% de irrigación sin fertilización mineral.

En el tratamiento con 85% de capacidad de campo y con fertilización mineral, la mortalidad larvaria alcanzó el 50%. Posiblemente, se pueda deber a que las hojas de la

planta tenían un buen porcentaje de nutrientes, sobre todo nitrógeno (Figura 38), y un buen nivel de irrigación, y así las larvas comieron más cantidad de tejido contaminado, y por lo tanto más cantidad de virus.

En cambio el tratamiento de 40% de la capacidad de campo con NPK, solo alcanzó el 29% de mortalidad larvaria, tanto en la mortalidad ajustada como en la mortalidad sin tomar en cuenta el control. En la figura 38, se puede observar que este tratamiento fue el que contenía más nitrógeno. Lochmiller y Deerenberg (2000) mencionaron que el estado nutricional de los hospederos puede afectar la capacidad de los insectos para defenderse y resistir una infección por patógenos. Povey *et al.* (2013), demostraron, que larvas de *S. exempta*, infectadas con su nucleopoliedrovirus específico, tuvieron tasas de supervivencia mayores, cuando se les alimento con dieta rica en proteínas (y por tanto nitrógeno), que aquellas que tenían dietas con proporciones mayores en carbohidratos. Ellos concluyeron que cuando las larvas infectadas por baculovirus pueden cambiar su alimentación y escoger proporciones mayores de algún macronutrientes o proporciones mayores entre proteínas sobre carbohidratos, en las primeras 24 horas post-infección, tienen más probabilidades de sobrevivir. En el mismo sentido, Lee *et al.* (2006) mencionaron que al experimentar con diversas proporciones de P:C (Proteína: Carbohidrato), usando el nucleopoliedrovirus específico de *Spodoptera littoralis*, sobre larvas de esta especie, encontraron que la mayoría de estos insectos que sobrevivieron al virus, se habían alimentado de una mayor cantidad y proporción de proteínas, fortaleciendo su sistema inmunológico.

El tratamiento con 40% de irrigación y sin fertilización, llegó al 31% de mortalidad ajustada como se puede observar en la gráfica 42 y el cuadro 17. Sin embargo, hay que notar, que cuando se analiza sin tomar en cuenta la fórmula de Abbott, y solamente la mortalidad, ésta alcanza el 41%. En este último tratamiento hubo una mayor mortalidad del testigo (que llego a más del 12%) (Figura 41). Dos larvas se infectaron del hongo *Nomurea rileyi* (una en el tratamiento con el virus y otra en el testigo), otras larvas del control simplemente murieron de causas desconocidas (presumiblemente a causa de bacterias, manejo o incluso de alguna defensa de la planta). Debido a que había un intenso estrés hídrico, posiblemente, el gran contenido de nitrógeno estaba en formas de metabolitos

secundarios, como fenoles y taninos como mencionó Zobayed (2007), y esto haya causado un efecto en que las larvas se alimentaron en menor cantidad. Naczk *et al.* (1994) mencionaron que los taninos pueden reducir la palatabilidad y por lo tanto constituyen una protección contra los herbívoros.

También es posible que los mecanismos de defensa físicos como los tricomas, hayan jugado un importante papel en estos dos tratamientos con estrés hídrico, (40% con y sin NPK), en este sentido, Molina *et al.* (2006) señalaron que los tricomas pueden ser asociados a defensas físicas de las plantas, así como también a mantener el balance hídrico y la reflexión de la luz del sol. Estos tricomas y posiblemente una capa cerosa, hicieron que la solución que contenía los baculovirus y el SDS, no pudiera esparcirse homogéneamente en la hoja, tal como si paso en el tratamiento con más irrigación y con fertilización mineral. Ludlow y Muchow (1990), encontraron una capa cerosa en plantas de maíz estresadas por déficit de humedad, y concluyeron que se puede deber a un mecanismo fisiológico de la planta para evitar la desecación. También es conocido que ante la sequía, los estomas permanecen cerrados (Hopkins y Hüner 2004a). Por lo tanto, es probable que los tricomas, el cierre estomático y la capa cerosa o la combinación e interacción de los tres factores, pudieron estar involucrados, en la menor mortalidad, a comparación con el tratamiento con mejor hidratación y con NPK mineral (85% de capacidad de campo y NPK), el cual no observó ningún problema.

Por esto último, es también posible que las larvas, aunque hayan estado en interacción con el nucleopoliedrovirus, no hayan comido la misma cantidad de baculovirus, por no estar los OBs distribuidos uniformemente. También se observó el mismo patrón en la superficie de la hoja que no permitía que la solución del virus y el surfactante, se esparcieran homogéneamente en la hoja. Probablemente a los mismos mecanismos, del tratamiento de 40% de irrigación y con fertilización mineral. Por lo anterior no es posible concluir si los tratamientos con mejor cantidad de irrigación, la menor mortalidad se debiera a una defensa química y física de la planta, o a que los insectos se defendieron del virus, usando la mayor concentración de nutrientes, para fortalecer su sistema inmune.

## 7. CONCLUSIONES

En este estudio, se observó que el estrés hídrico y la fertilización mineral tienen un efecto, sobre el desarrollo de la planta, desempeño del insecto, y probablemente en la dinámica y ecología del nucleopoliedrovirus.

El estrés hídrico, provocó que las plantas tengan un reducido crecimiento y tiende a concentrar más los nutrientes como nitrógeno y fósforo, y compuestos secundarios como fenoles, taninos.

La fertilización mineral, siempre incrementó el crecimiento de las plantas, pero sólo, cuando no existió un estrés hídrico por sequía, ya que el agua es necesaria para las reacciones fisiológicas del maíz y el transporte de compuestos.

Los insectos se desarrollaron mejor cuando había fertilización mineral (peso y longitud larval).

La concentración letal 50% (de la prueba preliminar), se comportó como lo esperado en los experimentos con maíz cuando había fertilización mineral y mucha agua, pero cuando había estrés hídrico o no había fertilización, tuvo un comportamiento distinto (menos mortalidad), tal vez por una "automedicación" del insecto o por defensas de la planta (cierre estomático, capa cerosa, tricomas), que hicieron el virus no se esparciera uniformemente en la planta.

Se recomienda realizar más experimentos con condiciones controladas de laboratorio, enfocándose en la defensa, nutrición y fisiología de la planta.

En general, el estrés hídrico afectó el desempeño del nucleopoliedrovirus para controlar a la plaga *S. frugiperda*. Por lo tanto, es mejor tener las plantas con buena cantidad de irrigación y fertilización, para que el virus pueda actuar mejor contra la plaga.

## 8. LITERATURA CITADA

- Ahmad, S. 1986. **Enzymatic adaptation of herbivorous insects and mites to phytochemicals.** *Journal of Chemical Ecology* 12: 533-560
- Alam, S. M. 1999. **Nutrient uptake by plants under stress conditions.** En: Pessarakli, M.(Ed.). *Handbook of Plant and Crop Stress*. New York pp. 285-314.
- Alborn, H. T., Turlings, T. C., Jones, T. H., Stenhagen, G. S., Loughrin, J. H., y Thumlinson, J. H. 1997. **An elicitor of plant volatiles identified from beet armyworm oral secretions.** *Science* 276: 945-949
- Arámbula, V. G., Méndez, A. A., González, H. J., Gutiérrez, A. E. y Moreno, M. E. 2004. **Evaluación de una metodología para determinar características de textura de tortilla de maíz (*Zea mays* L.).** *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54(2): 216-222
- Araus, J. L., Sánchez, C. y Edmeades, G. O. 2010. **Maíz tropical: fisiología del rendimiento y adaptación a sequía.** En: De León, C. y Rodríguez, M. R. (Eds.). *El cultivo del maíz - Temas selectos II*. Colegio de Postgraduados pp. 61-76
- Ávila, R. D. N. 2007. **Distribución de nutrimentos en hojas y secciones de tallos de maíz (*Zea mays*), a cuatro edades en clima templado subhúmedo.** *Tesis para obtener el Título de Médica Veterinaria Zootecnista*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México pp. 62
- Aydinsakir, K., Erdal, S., Buyuktas, D., Bastug, R. y Toker, R. 2013. **The influence of regular deficit irrigation applications on water use, yield, and quality components of two corn (*Zea mays* L.) genotypes.** *Agricultural Water Management* 128: 65– 71
- Bejarano, E. W. 1971. **Dosis y fraccionamiento de la fertilización nitrogenada en maíz en Chapingo, México.** *Tesis para obtener el Título de Maestro en Ciencias*. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Mexico
- Berenbaum, M. R. 1995. **Turnabout is fair play: secondary roles for primary compounds.** *Journal of Chemical Ecology* 21(7): 925-940
- Bernays, E. A. 1985. **Arthropods in weed control for IPM system.** En: Hoy, M. A. y Herzog (Eds.). *Biological Control in Agricultural Integrated Pest Management Systems*. Academic, New York pp. 373-391
- Bernays, E. A. 1997. **Feeding by lepidopterous larvae is dangerous.** *Ecological Entomology* 22: 121-123
- Blokhina, O., Virolainen, E. y Fagerstedt, K. V. 2002. **Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review.** *Annals of Botany* 91: 179–194
- Brewer, J. W., O'Neill, K. M. y Deshon, R. E. 1987. **Effects of artificially altered foliar nitrogen levels on development and survival of young instars of western spruce budworm, *Choristoneura occidentalis* Freeman.** *Journal of Applied Entomology* 104: 121-130
- Brown, M., Crawford, A. M. y Faulkner, P. 1979. **Genetic analysis of a baculovirus, *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus.** *Journal of Virology* 31(1): 190-198
- Caballero, P., Murillo, R., Muñoz, D. y Williams T. 2009. **El nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) como bioplaguicida: un análisis de avances recientes en España.** *Revista Colombiana de Entomología* 35: 105-115

- Cai, X., Wang, D. y Laurent, R. 2007. **Impact of climate change on crop yield: A case study of rainfed corn in central Illinois.** *Journal of Applied Meteorology and climatology* 48: 1868-1881
- Caswell, H. F., Reed, F. Stephenson, N. y Werner, P. A. 1973. **Photosintetic pathways and selective herbivory: A hypothesis.** *American Naturalist* 107: 465-480
- Cesaveg. 2008. **Campaña de manejo fitosanitario de maíz.** *Comité estatal de sanidad vegetal de Guanajuato.* Folleto informativo pp. 14
- Chapman. R. F. 1955. **A laboratory study or roosting behaviour in hoppers or the African migratory locust (*Locusta migratoria migratorioides*).** *Anti-Locust Bulletin* 19: 1-40
- Chapman, J.W., Williams, T., Martínez, A.M., Cisneros, J., Caballero, P., Cave, R.D. y Goulson, D. 2000. **Does cannibalism in *Spodoptera frugiperda* reduce the risk of predation?** *Behavioural Ecology & Sociobiology* 48: 321-327
- 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): 244-255
- Chen, Y., Ruberson, J.R. y Ni, X. 2014. **Influence of host plant nitrogen fertilization on hemolymph protein profiles of herbivore *Spodoptera exigua* and development of its endoparasitoid *Cotesia marginiventris*.** *Biological Control* 70: 9-16
- Chereguino, R. S. y Menéndez, M. A. L. 1975. **Biología y hábitos del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en El Salvador.** *Memorias de la XXI Reunión del PCCMA.* San Salvador pp. 251-261
- Clancy, K. M. 1992. **Response of western spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) to increased nitrogen in artificial diets.** *Environmental Entomology* 21: 331-344
- Clavijo, S., y Pérez, G. 2000. **Protección y sanidad vegetal. Insectos plagas del maíz.** En Fontana, N. y Narváez, C. (Eds.). *El maíz en Venezuela.* Fundación Polar. Caracas Venezuela pp. 345-361
- Cockfield, S. D. 1988. **Relative availability of nitrogen in host plants of invertebrate herbivores: Three possible nutritional and physiological definitions.** *Oecologia* 77: 91-94
- Coley, P.D., Bryant, J.P. y Chapin III, F.S. 1985. **Resource availability and plant antiherbivore defense.** *Science* 230(4728): 895-899
- Córdova, H. 1992. **Respuestas diferenciales para rendimiento de híbridos de maíz evaluados en ambientes contrastantes de Latinoamérica.** *Agronomía mesoamericana* 3: 1-18
- Cory, J. S. y Myers, J. H. 2003. **The ecology and evolution of insect baculoviruses.** *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34: 239-272
- Cruz, I., Figuereido, M. L. C., Oliveira, A. C. y Vasconcelos, C. A. 1999. **Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation.** *International Journal of Pest Management* 45(4): 293-296
- Culvenor, C. C. J. 1973. **Alkaloids.** En: Butler, G. W. y Bailey, R. W. (Eds.). *Chemistry and Biochemistry of Herbage.* Academic London 1: 375-447

- Çakir, R. 2004. **Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn.** *Field Crops Research* 89: 1–16
- De la Rosa, A., De León, H., Martínez, G. y Rincón, F. 2000. **Heterosis, habilidad combinatoria y diversidad genética en híbridos comerciales de maíz (*Zea mays* L.).** *Agronomía mesoamericana* 11(1): 113-122
- De León, C. 2008. **Enfermedades importantes en el maíz.** En: Rodríguez, M. R. y De León, C. (Eds.). *El cultivo del maíz. Temas Selectos.* Colegio de Postgraduados pp. 46-62
- Dirzo, R. y Domínguez, C. A. 1995. **Plant-herbivore interactions in Mesoamerican tropical dry forest.** En: Bullock, S. H., Mooney H. A. y Medina, E. (Eds.). *Seasonally Dry Tropical Forest.* Cambridge University Press. pp. 304-325
- Doorenbos, J., y Kassam, A.K. 1979. **Yield response to water, Irrigation and Drainage.** FAO, United Nations, Rome, p. 176.
- Donald, C. M. y Hamblin, J. 1976. **The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria.** *Advances in Agronomy* 28: 361-405
- Douglas, A. E. 2003. **The nutritional physiology of aphids.** *Advances in Insect Physiology* 31: 73-140
- Escribano, A., Williams, T., Goulson, D. C., 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 Economic Entomology* 92(5): 1079-1085
- Figueroa, B. R. 2002. **Evaluación de extractos vegetales contra el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz.** Tesis para obtener el Título de Maestro en Ciencias. Facultad de Ciencias, División de estudios de Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 94
- Fischer, K. y Fiedler, K. 2000. **Response of the copper butterfly *Lycaena tityrus* to increased leaf nitrogen in natural food plants: evidence against the nitrogen limitation hypothesis.** *Oecologia* 124: 234-241
- Galmés, J., Abadía, A., Medrano, H. y Flexas, J. 2007. **Photosynthesis and photoprotection responses to water stress in the wild-extinct plant *Lysimachia minoricensis*.** *Environmental and Experimental Botany* 60(3): 308-317
- García, F. 2000. **Manejo integrado del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*.** En: López, A. A. (Ed.). *Curso-taller internacional control biológico, componente del manejo integrado de plagas en una agricultura sostenible.* Bogotá Colombia Corpoica-MIP pp. 146-154
- García, P. J. I. y Becerril, J. M. 2000. **Effects of drought on photoprotective mechanisms in European beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings from different provenances.** *Trees* 14: 485–490.
- García, G. C., Escobedo, B. C. M. y López, M. A. 2013. **Infectivity of a Sinaloa native isolate of multicapsid nuclear polyhedrosis virus (SfMNPV) against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).** *Southwestern Entomologist* 38(4):597-604
- Garden, W. Y Fuxa, J. 1980. **Pathogens for suppression of the fall armyworm.** *Florida Entomologist* 63. 439-447
- Ge, T. D., Sui, F.G., Nie, S., Sun, N.B., Xiao, H. y Tong, C.L. 2010. **Differential responses of yield and selected nutritional compositions to drought stress in summer maize grains.** *Journal of Plant Nutrition* 33(12): 1811-1818

- Gillion, Y y Gillion, D. 1967. **Recherches ecologiques dans la savane de Lamto (Cote d' Ivoire): Cycle annuel des effectifs et des biomáss d' arthropodes de la strate herbacee.** *Terre Vie* 3: 262-277
- Gómez, V. J. A., Guevara, A. E. J., Barrera, C. G. P., Cotes, P. A. M. y Villamizar, R. L. F. 2010. **Aislamiento, identificación y caracterización de nucleopoliedrovirus nativos de *Spodoptera frugiperda* en Colombia.** *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 63(2): 5511-5520
- Goulson, D. 1997. **Wipfelkrankheit: modificación of host behaviour during baculoviral infection.** *Oecologia* 109: 219-228
- Grammatikopoulos, G. y Manetas, Y. 1994. **Direct absorption of water by hairy l eaves of *Phlomis fruticosa* and its contribution to drought avoidance.** *Canadian Journal of Botany* 72: 1805-1811
- Granados, R. y Williams, K. 1986. **In vivo infection and replication of baculoviruses.** En: Granados, R. y Federici, B. (Eds.). *The biology of baculoviruses*. Boca Raton, Florida: CRC Press pp. 89-108
- Gróner, A. 1986. **Specificity and safety of baculoviruses.** En: Granados, R. R. y Federici, B. (Eds.). *The biology of baculoviruses*. CRC Press, Boca Raton, Florida pp. 177-202
- Grzesiak, S. 2001. **Genotypic variation between maize (*Zea mays* L.) single cross hybrids in response to drought stress.** *Acta Physiologiae Plantarum* 23(4): 443-456
- Gupta, R., Raina, J. y Monobrullah, M. 2007. **Optimization of in vivo production of nucleopolyhedrovirus in homologous host larvae of *Helicoverpa armigera*.** *Journal of Entomology* 4: 279-288
- Hamblin, S. y Tanaka, M. M. 2013. **Behavioural manipulation of insect hosts by Baculoviridae as a process of niche construction.** *Evolutionary Biology* 13:170
- Hassel, M. P. y Southwood, T. R. E. 1978. **Foraging strategies of insects.** *Annual Review of Ecology and Systematics*. 9: 75-98
- Haukioja, E., Niemela, P. y Siren, S. 1985. **Foliage phenols and nitrogen in relation to growth, insect damage, and ability to recover after defoliation, in the mountain birch *Betula pubescens* spp. *tortuosa*.** *Oecologia* 65: 214-222
- Haukioja, E., Ruohomaki, K. Sumonela, J. y Vuorisalo. T. 1991. **Nutritional quality as a defense against herbivores.** *Forest Ecology and management* 39: 237-245
- Herniou, E. A., Olszewski, J. A., Cory, J. S. y O'Reilly, D. R. 2003. **The genome sequence and evolution of baculoviruses.** *Annual Review of Entomology* 48: 21-34
- Hichem, H., Mounir, D. y Naceur, E.A. 2009. **Differential responses of two maize (*Zea mays* L.) varieties to salt stress: Changes on polyphenols composition of foliage and oxidative damages.** *Industrial Crops and Products* 30(1): 144-151
- Hidalgo, A. G. A. 1999. **Adaptación y validación de métodos cuantitativos para determinar nitratos y taninos en muestras vegetales.** *Tesis para obtener el Título de Química de Alimentos*. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México pp. 128
- Hopkins, W. G. y Hüner, N. P. A. 2004a. **Plant environmental stress physiology.** En: (Hopkins, W. G. y Hüner, N. P. A. (Eds.). *Introduction to plant physiology*. Wiley pp. 459-492
- Hopkins, W. G. y Hüner, N. P. A. 2004b. **Plants and inorganic nutrients.** En: (Hopkins, W. G. y Hüner, N. P. A. (Eds.). *Introduction to plant physiology*. Wiley pp. 241-257

- Hsiao, T. C. y Xu, L. K. 2000. **Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: Biophysical analysis and relation to water transport.** *Journal of Experimental Botany* 51(350): 1595-1616
- Hu, Y. y Schmidhalter, U. 2005. **Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants.** *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168(4): 541-549
- Hura, T., Hura, K. y Grzesiak, S. 2008. **Contents of total phenolics and ferulic acid, and PAL activity during water potential changes in leaves of maize single-cross hybrids of different drought tolerance.** *Journal of Agronomy and Crop Science* 194: 104-112
- Ibarra, J. E. y Del Rincón, C. M. 2001. **Capacidad insecticida de los baculovirus.** En: Caballero, P., Lopez, F. M. y Williams, T. (Eds.). *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas.* Phytoma Valencia España pp. 203-224
- INEGI. 2012. **El sector alimentario en México 2012.** Serie estadísticas sectoriales. *Instituto Nacional de Estadística y Geografía* 26: 50
- János, N. 2010. **Impact of fertilization and irrigation on the correlation between the soil plant analysis development value and yield of maize.** *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41: 1293-1305.
- Jehle, J.A., Blissard, G.W., Bonning, B.C., Cory, J.S., Herniou, E.A., Rohrmann, G.F., Theilmann, D.A., Thiem, S.M. Vlaskin, J.M. 2006. **On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision.** *Archives of Virology* 151: 1257-1266
- Jeroen, M. C. 2008. Corps d'inclusion. Vir-Ex, Biocolor. <http://www.biocolor-tec.es/fr/produits/biotechnologiques/vir-ex/> (consultada el 3 de abril de 2014).
- Kalmakoff, J. y Ward, V. 2003. **Baculoviruses.** *University of Otago.* New Zealand. [www.microbiologybytes.com/virology/kalmakoff/baculo/baculo.html](http://www.microbiologybytes.com/virology/kalmakoff/baculo/baculo.html), (consultada el 3 de abril de 2014).
- Kang, B. T. y Osiname, A. 1979. **Phosphorus response of maize grown on alfisols of southern Nigeria.** *Agronomy Journal* 71(5): 873-877
- Kaufmann, T. 1983. **Behavioral biology, feeding habits, and ecology of three species of maize stem-borers; *Eldana saccharina*, *Sesamia calamistis* and *Bussola fusca* in Ibadan, Nigeria, West Africa.** *Journal of the Georgia Entomological Society* 18: 255-259
- Kim, S. y Dale, B. E. 2005. **Life cycle assessment of various cropping systems utilized for producing biofuels: bioethanol and biodiesel.** *Biomass and Bioenergy* 29: 426-439
- Köhler, E. 1887. **Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen abbildungen mit kurz erläuternd.** *Gera untermhaus* pp. 85
- Kwak, M., Kami, J. A. y Gepts, P. 2009. **The putative mesoamerican domestication center of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma-Santiago basin of Mexico.** *Crop Science* 49: 554-663
- Lafontaine, J. D. y Schmidt, B. C. 2010. **Annotated check list of the Noctuoidea (Insecta, Lepidoptera) of North America north of Mexico.** *Zookeys*. 40: 1-239
- Lafitte, H. R. 1993. **Identificación de problemas en la producción de maíz tropical. Guía de campo.** *CIMMYT* pp. 122

- Lasa, R., Pagola, I., Ibañez, I., Belda, J. E., Williams, T. y Caballero, P. 2007. **Efficacy of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus as a biological insecticide for beet armyworm control in greenhouse of southern Spain.** *Biocontrol Science and Technology* 17(3): 221-23
- Lee, K. P., Cory, J. S., Wilson, K., Raubenheimer, D. y Simpson, S. J. 2006. **Flexible diet choice offsets protein cost of pathogen resistance in a caterpillar.** *Proceedings of the Royal Society* 273: 823-829
- Liu, K. y Wiatrak, P. 2011. **Corn (*Zea mays* L.) Plant characteristics and grain yield response to N fertilization programs in no-tillage system.** *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 6(2): 279-286
- Llorca, L. R. 2006. **Prácticas de atmósfera, suelo y agua.** Universidad Politécnica de Valencia pp. 107
- Loader, C. y Damman, H. 1991. **Nitrogen content of food plants and vulnerability of *Pieris rapae* to natural enemies.** *Ecology* 72: 1586-1590
- Lochmiller, R. L. y Deerenberg, C. 2000. **Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity?** *Oikos* 88: 87-98
- López, C. D. A. 2013. **Respuesta de micorrizas de maíz (*Zea mays*) a un gradiente de estrés hídrico y fertilización mineral.** Tesis para obtener el Título de Maestro en Ciencias Biológicas. Posgrado en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México pp. 77
- Ludlow, M. M. y Muchow, R. C. 1990. **A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments.** *Advances in Agronomy* 43: 107-153
- Lynch, R. E., Monson, W. G., Wiseman, B. R. y Burton, G. W. 1983. **Bermuda-grass resistance to the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae).** *Environmental Entomology* 12: 1837-1840
- Lyttleton, J. W. 1973. **Protein and nucleic acids.** En: Butler, G. W. y Bailey, R. W.(Eds.). *Chemistry and Biochemistry of Herbage.* Academic London pp. 63-103
- Martínez, S. J. y Vega, G. S. 1987. **Análisis de crecimiento y componentes de rendimiento de siete variedades de maíz bajo el efecto de fertilización N, P, K y densidad de plantas en Calimaya, Edo. de México.** Tesis para obtener el Título de Ingeniero Agrícola. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 142
- Martínez, A. M., Simón, O., Williams, T. y Caballero, P. 2003. **Effect of optical brighteners on the insecticidal activity of a nucleopolyhedrovirus in three instars of *Spodoptera frugiperda*.** *Entomologia Experimentalis et Applicata* 109(2): 139-146
- Martínez, A. M., Pineda, S., Figueroa, J., Chavarrieta, J. y Williams, T. 2012. **Los baculovirus como bioinsecticidas: evaluación de un nucleopoliedrovirus para el combate de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en México y Honduras.** *Ciencia Nicolaita* 56: 35-47
- Mattson, W. J. 1980. **Herbivory in relation to plant nitrogen content.** *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 119-161.
- McConnell, R. y Hruska, A. 1993. **An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries.** *American journal of Public Health* 83: 1559-1562
- McNeill, S. y Southwood, T. R. E. 1978. **The role of nitrogen in the development of insect plant relationships.** En: Harborne, J. B. (Ed.). *Biochemical aspects of plant and animal coevolution.* Academic Press, London pp. 77-98

- Mejía, G. A. **Control biológico de *Spodoptera frugiperda* con un nucleopoliedrovirus en diferentes genotipos de *Zea mays*. Reporte para obtener el Título de Técnico Superior en Biotecnología.** Universidad Tecnológica de Morelia pp. 59
- Miranda, A. M., Guevara, F. P. y García, R. B. 2002. **Circadian locomotor activity in the larva and adult fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae): effect of feeding with the resistant variety of maize CML67.** *Biological Rhythm Research* 33(5): 475-486
- Molina, M. A., Avila, P., Hurtado, R., Valdivia, A. I. y Gianoli, E. 2006. **Leaf trichome density may explain herbivory patterns of *Actinote* sp. (Lepidoptera: Acraeidae) on *Liabum mandonii* (Asteraceae) in a montane humid forest (Nor Yungas, Bolivia).** *Acta Oecologica* 30(2):147-150
- Monobrullah, M. y Nagata, M. 1999. **Immunity of lepidopteran insects against baculoviruses.** *Journal of Entomological Research* 23: 185-194
- Monobrullah, M. 2003. **Optical brighteners-pathogenicity enhancers of entomopathogenic viruses.** *Current Science* 84: 640-645
- Moran, N. y Hamilton, W. D. 1980. **Low nutritive quality as defense against herbivores.** *Journal of Theoretical Biology* 86: 247-254
- Moscardi, F. 1999. **Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera.** *Annual Review Entomology* 44: 257-289
- Munns, R. 2002. **Comparative physiology of salt and water stress.** *Plant, Cell and Environment* 225: 239-250
- Murillo, A. 1991. **Distribución, importancia y manejo del complejo *Spodoptera* en Colombia.** En: Zuluaga, J. L. y Muñoz, G. (Eds.). *Seminario *Spodoptera frugiperda* (El gusano cogollero) en sorgo, maíz y otros cultivos.* Cali, Colombia pp. 15-23
- 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
- Murúa, M. G., Vera, M. T., Abraham, S., Juárez, M. L., Prieto, S., Head, G. P. y Willink, E. 2008. **Fitness and mating compatibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations from different host plant and regions in Argentina.** *Annals Entomological Society of America* 101(3): 639-649
- Mushobozi, W., Grzywacz, D., Moscardi, F. y Wilson, K. 2006. **The african armyworm *Spodoptera exempta* nucleopolyhedrovirus (NPV) production and application manual.** *Natural Resources Institute.* Ministry of Agriculture and Food Security Tanzania pp. 71
- Naczek, M., Nichols, T., Pink, D. y Sosulski, F. 1994. **Condensed tannins in canola hulls.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(10): 2196-2200
- Nadal, A. 2002. ***Zea mays*: Effects of trade liberalization of Mexico's corn sector.** En: Deere, C. y Esty, D. C. (Eds.). *Greening the Americas: Nafta's lessons for hemispheric trade.* MIT Press, pp. 382
- Nagoshi, R. N., Brambilla, J. y Meagher, R. L. 2010. **Use of DNA barcodes to identify invasive armyworm *Spodoptera* species in Florida.** *Journal of Insects Science* (2): 154
- Nesmith, D.S. y Ritchie, J.T. 1992. **Maize response to a severe soil water deficit during grain filling.** *Field Crops Research* 29: 23-35

- Nogués, S. y Baker, N. R. 2000. **Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation.** *Journal of Experimental Botany* 51(348): 1309–1317
- Novasem, 2013. [www.novasem.com.mx](http://www.novasem.com.mx). Consultado el día 27 de Septiembre de 2013
- Osuna, A. E. 1995. **El cuerpo de los insectos: la pared del cuerpo.** En: Osuna, A. E. (Ed.). *Morfología del exoesqueleto de los insectos*. Universidad central de Venezuela pp. 73-76
- Palacios, V. E. 2010. **La importancia del riego en la producción de maíz en México. El maíz y sus usos estratégicos.** En: De León, C. y Rodríguez, M. R. (Eds.). *El cultivo del maíz - Temas selectos II*. Colegio de Postgraduados pp. 175-190
- Pashley, D. P. 1986. **Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). A sibling species complex?** *Annals of the Entomological Society of America* 79(6): 898-904
- Paul, E. A. y Clark F. E. 1989. **Soil microbiology and biochemistry.** *Academic Press*. San Diego. USA. pp. 131-144
- Peumans, W. J., y Van Damme, E. J. M. 1995. **Lectins as plant defense proteins.** *Plant Physiology* 109: 347-352
- Pinkerton, A. y Simpson, J. R. 1986. **Interactions of surface drying and subsurface nutrients affecting plant-growth on acidic soil profiles from an old pasture.** *Australian Journal of Experimental Agriculture* 26: 681–689
- Pogue, M. G. 2002. **A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae).** *Memoirs of the American Entomological Institute* 43: 1-202
- Poitout, S. y Bues, R. 1974. **Elevage de chenilles de vingt-huit espèces de lépidoptères Noctuidae et de deux espèces d'Arctiidae sur milieu artificiel simple. Particularités de l' élevage selon les espèces.** *Annales de Zoologie Ecologie Animale* (6): 431–441
- Possee R. D., Griffiths, C. M. Hichman, R. B. Chambers, A. Murguia, M. F., Danquah, J., Jeshtadi, A. y King, A. 2010. **Baculoviruses: biology, replication, and exploitation.** En: Asgari, S. y Johnson, K. (Eds.). *Insect Virology*. Caister Academic Press. Norfolk, Reino Unido. pp. 35-57
- Povey, S., Cotter, S. C., Simpson, S. J. y Wilson, K. 2013. **Dynamics of macronutrient self-medication and illness-induced anorexia in virally- infected insects.** *Journal of Animal Ecology* 83: 245-255
- Price, M. L. y Butler L. G. 1977. **Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain.** *Journal of Agricultural Food Chemistry* 25(6): 1268-1273
- Ramirez, Z. E. G. 2012. **Efectos de la comunidad de artrópodos asociada al cultivo de maíz en un gradiente de tecnificación, situación actual.** *Tesis para obtener el Título de Licenciado en Ciencias Ambientales*. Escuela Nacional de Estudios Superiores. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 80
- Reese, J. C. y Field, M. D. 1986. **Defense against insect attack in susceptible plants: cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) growth on corn seedlings and artificial diet.** *Annals of the Entomological Society of America* 79: 372-376
- Rehman, A., Mahmood, A., Iqbal, Z., Ahmed, Z., Zeb, A. y Ahmed, K. 2013. **Growth and yield performance of maize (*Zea mays* L.) as affected by planting methods and NPK levels.** *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 50(3): 329-335

- Richards, A., Matthews, M. y Christian, P. 1998. **Ecological considerations for the environmental impact evaluation of recombinant baculovirus insecticides.** *Annual Review of Entomology* 43: 493-517
- Salazar, A. H. C. y Godínez, G. M. M. 2010. **El maíz y sus usos estratégicos.** En: De León, C. y Rodríguez, M. R. (Eds.). *El cultivo del maíz - Temas selectos II.* Colegio de Postgraduados pp. 35-48
- Schoonhoven, L. M., Van Loon, J. J. A. y Dicke, M. 2006. **Plant as insect food: not the ideal.** En: Schoonhoven, L. M., Van Loon, J. J. A. y Dicke, M. (Eds.). *Insect-Plant Biology.* Oxford Academic Press pp. 99-127
- Scriber, J. M. 1977. **Limiting effects of low leaf water content on the nitrogen utilization, energy budget and larval growth of *Hyalophora cecropia*.** *Oecologia* 28: 269-287
- Scriber, J. M. 1984. **Host-plant suitability.** En: Bell, W. J. y Cardé, R. T. (Eds.). *Chemical Ecology of Insects.* Chapman & Hall, London, pp. 159-202
- Sharp, R. E. y Davies, W. J. 1979. **Solute regulation and growth by roots and shoots of water-stressed maize plants.** *Planta* 147(1): 43-49
- Showler, A. T. 2002. **Effects of water deficit stress, shade, weed competition, and kaolin particle film on selected foliar free amino acid accumulations in cotton, *Gossypium hirsutum* (L.).** *Journal of Chemical Ecology* 29: 631-651
- Sifuentes, J. A. 1978. **Plagas del maíz en México: algunas consideraciones sobre su control.** *Folleto divulgativo.* INIA-SAG 58: 21
- Simpson, S. J. y Simpson, C. L. 1990. **The mechanisms of nutritional compensation by phytophagous insects.** En: Bernays, E. A. (Ed.). *Insect-Plant Interactions.* CRC Press, Boca Raton, 2: 111-160
- Slansky Jr., F. y Feeny, P. 1977. **Stabilization of the rate of nitrogen accumulation by larvae of the cabbage butterfly on wild and cultivated food plants.** *Ecological Monographs* 47: 209-228
- Slansky, F. I. y Rodríguez, J. G. 1987. **Nutritional ecology of grass foliage-chewing insects.** En: Slansky, F. I. y Rodríguez, J. G. (Eds.). *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates.* Wiley Interscience. pp. 147-176
- Slansky, Jr. F. 1993. **Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients.** En: Stamp, N. E. y Casey, T. M. (Eds.). *Caterpillars, Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging.* Chapman & Hall, New York pp. 29-91
- Smika, D., Haas, H. y Power, W. 1965. **Effects of moisture and nitrogen fertilizer on growth and water use by native grass.** *Agronomy Journal* 57: 483-486.
- Speight M. R., Hunter, M. D., y Watt, A. D. 2008. **Insect herbivores.** En: Speight M. R., Hunter, M. D., y Watt, A. D. (Eds.). *Ecology of insects. Concepts and applications.* Wiley-Blackwell pp. 61-102
- Statgraphic Centurion XV 15.2.06. Statpoint Inc. 2007. <http://www.statgraphics.com>
- Steduto, P., Hsiao, T. C., Fereres, E. Raes, D. 2012. **Yield response to water of herbaceous crops: the Aqua crop simulation model.** *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).* Rome
- Stone, P.J., Wilson, D.R., Reid, J.B. y Gillespie, R.N. 2001. **Water deficit effects on sweet corn. I. Water use, radiation use efficiency, growth, and yield.** *Australian Journal of Agricultural Research* 52: 103-113

- Studer, C., Hu, Y. y Schmidhalter, U. 2007. **Evaluation of the differential osmotic adjustments between roots and leaves of maize seedlings with single or combined NPK-nutrient supply.** *Functional Plant Biology* 34(3): 228-236
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2006. **Secondary metabolites and plant defense.** En: Taiz, L. y Zeiger, E. (Eds.). *Plant physiology*, Sinauer cuarta edición pp. 315-350
- Thézé, J., Bézier, A., Periquet G., Drezen, J. y Herniou, E. A. 2011. **Paleozoic origin of insect large dsDNA viruses.** *PNAS* 108(38): 15931–15935
- Tollenaar, M., Ying, J. y Duvik, D. N. 2000. **Genetic gain in corn hybrids from the northern and central corn belt.** En: *Proceedings of the 55th Corn Sorghum Research Conference*. Chicago. ASTA, Washington D. C. pp. 53-62
- Valdez, L. C. A. 2007. **La producción del maíz en México, entre el ajuste económico y la apertura comercial.** *Seminario taller para obtener el Título de Licenciado en Economía*. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 111
- Vanarsdall, A.L., Mikhailov, V.S. y Rohrmann, G.F. 2007. **Characterization of a baculovirus lacking the DBP (DNA-binding protein) gene.** *Virology* 364: 475-85
- Van Oers, M. M. y Vlak, J. M. 2007. **Baculovirus genomics.** *Current Drug Targets* (10): 1051-1068
- Watabiki, D., Yoshimatsu, S. I, Yoshitake, H., Baba, Y., Uesato, T., Shimatani, M., Ibusuki, H. y Yuda, T. 2013. **Discrimination methods for japanese pest species of *Spodoptera Guenée* (Lepidoptera: Noctuidae) lured by traps using a synthetic sex pheromone for *Spodoptera exempta*.** *Japanese Journal or Applied Entomology and Zoology* 57(1): 19-26
- Waterman, P.G. y Mole, S. 1994. **Analysis of Phenolic Plant Metabolites.** *Methods in Ecology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford pp. 237
- Wiseman, B. R. y Davis, F. M. 1979. **Plant resistance to the fall armyworm.** *Florida Entomologist* 62(2): 82-87
- White, T. C. R. 1984. **The abundance of vertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants.** *Oecologia* 63: 90-105
- White, T. C. R. 1991. **The inadequate environment: nitrogen and the abundance of animals.** *Springer Verlag*, Berlin
- Xu, X., He, P., Pampolino, M.F., Johnston, A.M., Qiu, S., Zhao, S., Chuan, L. y Zhou, W. 2014. **Fertilizer recommendation for maize in China based on yield response and agronomic efficiency.** *Field Crops Research* 157: 27-34
- Yamaguchi, M. y Sharp, R.E. 2010. **Complexity and coordination of root growth at low water potentials: Recent advances from transcriptomic and proteomic analyses.** *Plant, Cell and Environment* 33(4): 560-603
- Yarro, M. C. 1984. **Survival and development of the African armyworm *Spodoptera exempta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) on some grass species.** *Insect Science and its Application* 5: 1-5
- Zenner de Polanía, I., Arévalo, H. A., y Mejía, R. 2007. **El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas.** *Revista Colombiana en Ciencias Hortícolas* 1(1): 103-113
- Zobayed, S. M. A. Afreen, F. y Kozai, T. 2007. **Phytochemical and physiological changes in the leaves of St. John's wort plants under water stress condition.** *Environmental and Experimental Botany* 59: 109-116