



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

QUITOSÁN COMO POSIBLE INDUCTOR DE MECANISMOS DE  
DEFENSA EN MAÍZ CONTRA EL ATAQUE DEL GUSANO  
COGOLLERO *Spodoptera frugiperda* (Smith).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

MINERVA ANGÉLICA REZA ÁNGELES

ASESORES DE TESIS:

Dra. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO

Dr. SERGIO JIMÉNEZ AMBRÍZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo Profesional**

Quitosán como posible inductor de mecanismos de defensa en maíz contra el ataque del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith)

Que presenta la pasante: **Minerva Angélica Reza Ángeles**  
Con número de cuenta: **305183556** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 09 de Septiembre de 2015.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
<b>VOCAL</b>	Dra. Elsa Gutiérrez Cortez	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
<b>1er. SUPLENTE</b>	I.A. Ana María Soto Bautista	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Dra. Dolores Molina Jasso	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).  
IHM/prc\*

*“El ayer es historia, el mañana es un misterio, pero  
el hoy es un obsequio. . . por eso se llama  
presente.”*

*Kung fu - Panda*

---

## Dedicatoria

*A Dios por darme la vida.*

*A mis padres Patricia Ángeles Granados y Luis Reza Villasana por su amor, su cuidado, su apoyo a lo largo de toda mi vida, quienes me han enseñado el ser una persona de bien y que gracias a sus esfuerzos y sacrificios me encuentro en esta etapa de mi vida. Es un orgullo para mí el ser su hija.*

*A mi hermana Diana Patricia Reza Ángeles mi mejor amiga, quien me ha apoyado en todo momento de alegría o tristeza siempre estás conmigo, por cada consejo que me has dado y que me ayuda a tomar las decisiones correctas, gracias por tu cariño y tu confianza.*

*A mi abuelita Ramona Granados Juárez mi gran ejemplo de esfuerzo y valentía, quien me ha enseñado a mantenerme en pie, a pesar de los obstáculos. Y que agradezco cada una de sus palabras y consejos llenos de sabiduría que me hacen crecer cada día como persona.*

*Gracias a Dios porque ustedes comparten esta etapa de mi vida.*

## Agradecimientos

*A Dios por darme la fuerza, valor y perseverancia para llegar a la etapa más importante de mi vida.*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de ser profesionista de su casa, es un honor para mí pertenecer a la Máxima Casa de Estudios.*

*A la Dra. Susana Patricia Miranda Castro y al Dr. Sergio Jiménez Ambríz por la gran confianza depositada en mí para la realización de este proyecto, el más importante de mi carrera universitaria, gracias por su asesoría, enseñanzas, paciencia, dedicación, consejos y su gran apoyo. Gracias por darme la oportunidad de trabajar con ustedes.*

*Al MAI. Jorge H. Luna Domínguez por su valioso apoyo y su gran colaboración en el análisis estadístico.*

*A cada uno de mis profesores de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por todas sus enseñanzas y dedicación.*

*A la Dra. Rosa Navarrete Maya por permitir usar el invernadero para la realización de este proyecto de tesis.*

*Al Ingeniero Juan José Arias por las facilidades y el apoyo en busca de la plaga en el Rancho Gonzales Blanco.*

*A mis papás, mi hermana y mi abuelita que siempre fueron la motivación más grande, por su enorme apoyo sin ustedes no lo hubiera logrado.*

*A Laurita Ancheita por su apoyo, ayuda y generosidad.*

*A Obed, Johanny, Berenice, Laurita, Lulú, Miguel, David, Mauricio, Diego, Isabel, Giovanni, Estrella, Monse y Javier, quienes me han dado su amistad y apoyo incondicionalmente, por sus consejos, confianza, y cada momento lleno de alegría.*

*A Cesar Cedillo gracias por todo.*

***“Por mi raza hablará el espíritu”***

*José Vasconcelos*

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	IV
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	VIII
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES</b> .....	4
1.1 Quitina y quitosán.....	5
1.1.1 Generalidades .....	5
1.1.2 Historia y origen .....	6
1.1.3 Estructura química .....	7
1.1.4 Propiedades físicas y químicas .....	9
1.1.5 Fuentes de obtención .....	10
1.1.6 Métodos de extracción .....	11
1.1.7 Quitosán como elicitador .....	12
1.1.8 Otras aplicaciones del quitosán .....	14
1.2 Maíz .....	15
1.2.1 Generalidades .....	15
1.2.2 Clasificación Taxonómica.....	16
1.2.3 Morfología de la planta.....	17
1.2.4 Fenología.....	17
1.2.5 Estructura de la semilla .....	19
1.2.6 Composición química .....	20
1.2.7 Tipos .....	21

1.2.8	Productos.....	21
1.2.9	Principales plagas .....	22
1.2.10	Aspectos socioeconómicos.....	28
1.3	Gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith) .....	31
1.3.1	Generalidades .....	31
1.3.2	Clasificación taxonómica .....	32
1.3.3	Hábitos .....	33
1.3.4	Ciclo de vida.....	34
1.3.5	Características morfológicas .....	35
1.3.6	Daño que ocasiona a la planta de maíz .....	39
1.3.7	Gusano cogollero en México.....	42
1.3.8	Muestreo y métodos de control .....	43
<b>CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....</b>		<b>49</b>
2.1	Objetivo general y objetivos particulares.....	50
2.2	Cuadro metodológico.....	52
2.3	Materiales y métodos .....	54
2.3.1	Actividades preliminares.....	54
2.3.2	Colocación de las larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> en las hojas de las plantas de semillas acondicionadas con quitosán y en el control. ....	70
2.3.3	Cuantificación del área de follaje consumida por el gusano cogollero .....	73
2.3.4	Evaluación del desarrollo del gusano cogollero de maíz.....	77
<b>CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>		<b>81</b>
3.1	Actividades preliminares.....	82
3.1.1	Limpieza del gorgojo de frijol.....	82

3.1.2	Extracción de quitina de insecto ( <i>Zabrotes subfasciatus</i> Boheman) y su conversión a quitosán por el método químico .....	82
3.1.3	Obtención de quitosán de crustáceo .....	83
3.1.4	Siembra y riego de semillas en invernadero sin acondicionar .....	84
3.1.5	Colecta de larva de gusano cogollero en cultivos de maíz .....	84
3.1.6	Cría del gusano cogollero en laboratorio .....	85
3.1.7	Preparación de soluciones de quitosán a diferentes concentraciones de dos diferentes fuentes (insecto y crustáceo) .....	86
3.1.8	Acondicionamiento y siembra de semillas de maíz.....	86
3.2	Objetivo particular 1 .....	88
3.3	Objetivo particular 2 .....	91
3.4	Objetivo particular 3 .....	95
3.4.1	Relación consumo vs días .....	100
<b>CONCLUSIONES</b> .....		103
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		105
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....		106
<b>ANEXOS</b> .....		115

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Estructura química de la celulosa, quitina y quitosán.	8
2. Estructura de la semilla de maíz.	19
3. Larva de gusano cogollero.	22
4. Ninfa de trips.	23
5. Gusano soldado provocando daño.	23
6. Larva de trozador.	24
7. Larva de gusano elotero ocasionando daño a la mazorca.	24
8. Barrenador del tallo.	25
9. Adulto de picudo.	25
10. Adulto de la araña roja.	26
11. Larva de gallina ciega.	26
12. Larva y adulto de diabrotica.	27
13. Larva y adulto de gusano de alambre.	27
14. Producción mundial del maíz.	28
15. Principales estados productores del maíz en México.	30
16. Ciclo de vida del gusano cogollero.	35
17. Ovipostura de gusano cogollero.	36
18. Larvas de gusano cogollero. A, Larvas recién emergidas. B, Larvas de los últimos instares.	37
19. Pupa de gusano cogollero.	37
20. Adulto del gusano cogollero. A, Palomilla macho. B, Palomilla hembra.	38
21. Daño a la planta de maíz por larvas recién emergidas de gusano cogollero.	39
22. A, Gusano cogollero trozando el tallo del maíz. B, Daño a la planta del maíz.	40
23. Daño en hojas de maíz y defoliación completa de la planta de maíz.	40
24. Larva localizada en el cogollo de la planta de maíz.	41
25. Incidencia del gusano cogollero.	42
26. Daño fresco hecho por el gusano cogollero.	43

27. Trampa de feromonas.	44
28. Tapón de excreta hecho por la larva en el cogollo de la planta de maíz.	44
29. Cuadro metodológico.	52
30. Esquema de planteamiento de los acondicionamientos de la semilla de maíz.	53
31. Limpieza del gorgojo de frijol. A, Lavado del gorgojo con agua corriente. B, Gorgojo limpio. C, Gorgojo seco.	55
32. Extracción del quitosán de insecto. A, Desproteínización. B, Despigméntación. C, Quitina de insecto. D, Quitosán de insecto.	56
33. Quitosán de crustáceo.	57
34. A, Selección de semillas de maíz. B, Colocación de tierra en vasos de unicel. C, Colocación de las semillas. D, Riego de las semillas en invernadero.	58
35. A, Botellas de plástico para la colecta del gusano cogollero. B, Daño en la planta y presencia del gusano cogollero en cogollo del maíz. C, D y E, Diferentes larvas recolectadas.	59
36. A, Alimentación del gusano cogollero en su último estadio larval. B, Jaula de apareamiento acondicionada. C y D, Pupas de gusano cogollero colocadas en macetas dentro de la jaula de apareamiento.	60
37. Palomilla de <i>Spodoptera frugiperda</i> . A, Preparación de alimento para las palomillas. B, Cambio del algodón con miel. C, Palomillas de gusano cogollero dentro de la jaula de apareamiento. D, Palomillas escondidas en una esquina de la jaula de apareamiento durante el día.	61
38. A, Huevecillos de gusano cogollero. B, Primera oviposición. C, Dispositivo para la observación de la primera oviposición.	61
39. Diferentes oviposiciones encontradas en el haz y envés de la hoja de maíz.	62
40. Verdolaga ( <i>Portulaca oleracea</i> ).	63
41. A, Emergencia de larvas. B, Larvas colocadas en los frascos de vidrio con verdolaga fresca.	63
42. A, Selección de las larvas para los frascos. B, Colocación de larva grande en frasco pequeño. C, Larva mediana. D, Frascos donde se observa presencia de agua en el fondo.	64

43. A, Pupas en jaulas de apareamiento. B, Palomillas recién emergidas dentro de la jaula de apareamiento	65
44. A, Oviposiciones encontradas. B, Eclosión de los huevecillos y emergencia de las larvas.	65
45. A, Grado de desacetilación. B, Equipo para prueba de viscosimetría capilar.	66
46. A, Selección de semilla de maíz. B, Colocación de las semillas en los frascos por concentración. C, Reposo	67
47. A, Acondicionamientos y control. B, Acondicionamiento y control en invernadero.	68
48. Riego de plantas de semillas acondicionadas.	69
49. A, Plantas de maíz de 4 semanas de edad. B, Selección de plantas de maíz.	70
50. A, Selección de ovipostura al azar. B, Segunda generación de larvas.	71
51. A, Colocación de la larva en la segunda hoja. B, Sellado del dispositivo. C, Colocación del dispositivo de forma paralela.	72
52. Unidades experimentales de cada acondicionamiento de semilla de maíz	73
53. Localización de la larva.	73
54. A, Conteo del consumo hecho por el gusano cogollero. B, Colocación y acomodo de la hoja de maíz sobre la hoja milimétrica. C, Conteo realizado para las cuatro repeticiones de cada concentración de cada quitosán.	74
55. A, Hojas de maíz consumidas por completo por el gusano cogollero. B, Hojas de maíz fotocopiadas.	75
56. Formato para el consumo de hoja de maíz hecho por el gusano cogollero.	76
57. Etapa larva.	77
58. Etapa prepupa.	78
59. Etapa pupa. Pupa recién formada.	78
60. Emergencia de la palomilla.	79
61. Formato para el desarrollo del insecto.	80
62. Gorgojo de frijol <i>Zabrotes subfasciatus</i> (Boheman).	82
63. A, Quitina de insecto. B, Proteína de insecto.	83
64. Langostino <i>Pleuroncodes monodon</i> .	83
65. Plantas de maíz de semillas sin acondicionar en invernadero.	84

---

66.	Larvas de gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith) recolectadas.	85
67.	Colonia de gusano cogollero.	85
68.	Acondicionamientos de semillas de maíz.	86
69.	Diferencia en el crecimiento de las plantas de maíz de semillas acondicionadas. Flechas amarillas: plantas de crecimiento lento. Flechas azules: crecimiento acelerado. Flechas rosas: control.	87
70.	Consumo total promedio del follaje de plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con diferente concentración de quitosán realizado por el gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i> .	90
71.	Porcentaje de disminución de consumo del follaje de plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con diferente concentración de quitosán.	90
72.	Supervivencia total promedio en días del insecto: gusano cogollero.	93
73.	Deformación de la etapa pupa de las larvas que consumieron el follaje de plantas de semillas acondicionadas con quitosán de insecto al 1%.	94
74.	Comparación del efecto del consumo del follaje de plantas de maíz de semillas acondicionadas con diferentes concentraciones de dos tipos de quitosán (insecto y crustáceo) hecho por el gusano cogollero.	97
75.	Comparación por concentraciones del porcentaje de disminución del consumo del follaje de las plantas de maíz de semillas acondicionadas con dos tipos de quitosán (insecto y crustáceo).	98
76.	Comparación de la supervivencia en días del desarrollo total del insecto gusano cogollero de los diferentes acondicionamientos de quitosán.	99
77.	Comparación de la supervivencia en días del insecto gusano cogollero: control vs acondicionamiento de quitosán 1%.	100
78.	Relación consumo total del follaje de plantas de semillas acondicionadas con diferentes concentraciones de dos tipos de quitosán vs supervivencia total en días del insecto: gusano cogollero.	101
79.	Jaula de apareamiento acondicionada.	115

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Pág.
1. Contenido de quitina de algunos organismos.	10
2. Aplicaciones del quitosán.	14
3. Taxonomía del maíz.	16
4. Etapas de desarrollo de la planta de maíz.	18
5. Composición química de la semilla de maíz.	20
6. Productos obtenidos del maíz.	21
7. Principales países exportadores de maíz.	29
8. Producción de maíz en México.	30
9. Taxonomía del gusano cogollero.	32
10. Especies de insectos y de entomopatógenos mas comunes que atacan al gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i> .	45
11. Fechas de acondicionamiento y siembra de semillas de maíz.	68
12. Características y concentraciones de quitosanos.	86
13. Porcentaje de disminución del consumo total promedio del follaje de plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con diferente concentración de quitosán, hecho por el gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i> .	89
14. Desarrollo en días de cada una de las etapas del gusano cogollero, <i>S. frugiperda</i> .	92
15. Análisis estadístico del consumo hecho por el gusano cogollero.	116
16. Análisis ANOVA de un factor del consumo total hecho por el gusano cogollero.	116
17. Análisis post hoc con el método Schaffé.	118
18. Tabla de subconjuntos del consumo total y orden de consumo de los acondicionamientos.	118
19. Análisis de supervivencia método Kaplan-Meier.	119
20. Prueba Log Rank.	120

## RESUMEN

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* es considerada una de las plagas principales del maíz por causar serias afectaciones al cultivo y para controlarla se utilizan una variedad de insecticidas y plaguicidas, siendo el método más efectivo contra esta plaga; sin embargo, también existe la problemática de que estos agentes químicos llegan a provocar contaminación en el ambiente e intoxicaciones al consumidor.

El quitosán ha tenido una amplia aplicación en la agricultura debido a sus propiedades de reducir e inhibir bacterias, hongos y virus en las plantas, reduciendo las enfermedades que provocan estos microorganismos al activar mecanismos de defensas en ellas.

El objetivo de este proyecto de tesis, bajo condiciones de laboratorio, consistió en evaluar el efecto que tiene el quitosán como inductor de mecanismos de defensa en la planta de maíz contra el ataque del gusano cogollero a través de las variables de consumo de las hojas de maíz hecho por la larva y la supervivencia del insecto.

Se recolectaron larvas de gusano cogollero con las que se estableció una colonia. Se acondicionaron semillas de maíz con 2 tipos de quitosán (extraído de crustáceo y de insecto) a tres concentraciones (0.5%, 1% y 2%). Se sembraron las semillas y se dejaron crecer las plantas hasta tener entre 4 y 5 semanas de edad.

En un dispositivo formado por una caja Petri se colocó una hoja de cada planta y una larva recién nacida para que consumiera dicha hoja. Para evaluar el consumo, se contabilizó la superficie consumida de la hoja sobre papel milimétrico. Para la evaluación de la supervivencia del insecto se tomó el inicio de las etapas larva, pupa, hasta la emergencia de la palomilla. Las pruebas se realizaron por cuadruplicado.

Los resultados obtenidos en este proyecto mostraron que las plantas de maíz cuyas semillas fueron acondicionadas con quitosán de crustáceo al 2% y quitosán de insecto al 1% causaron efecto al ataque del gusano cogollero tanto en el consumo de dichas plantas hecho por el gusano como en la supervivencia del insecto reduciendo ambas variables con respecto al control.

Se cree que posiblemente estos tipos de quitosán de bajo peso molecular como en el caso de quitosán de crustáceo y alta concentración, puede activar algunos mecanismos de defensas en las plantas que las protejan contra el ataque de este tipo de plagas, siendo una alternativa al uso de insecticidas químicos, ya que el quitosán tiene la propiedad de ser no tóxico y tener alta biodegradabilidad lo que lo hace amable con el ambiente.

**Palabras clave:** Defensa, inductor, maíz, *Spodoptera frugiperda*, quitosán.

## INTRODUCCIÓN

El maíz es un cereal nativo, cuyo centro original de domesticación fue Mesoamérica, (Asturias, 2004). Constituye una de las fuentes principales de nutrición para la población, además de obtener de este grano diversos productos como harina, sémola, almidón y gluten (Chacón *et al.*, 2008). La planta tierna, empleada como forraje, se ha utilizado con gran éxito en las industrias lácteas y cárnicas. Tras la recolección del grano, las hojas y la parte superior, incluidas las flores, se utilizan como forraje de calidad relativamente buena para alimentar a los rumiantes (FAO, 1993); sin embargo, al igual que otras especies animales, existen otros consumidores biológicos que encuentran en esta planta los recursos indispensables para su desarrollo como en el caso de *Spodoptera frugiperda* (Smith), conocido comúnmente como "gusano cogollero del maíz" (García *et al.*, 1999) y que ha sido señalado como una plaga severa, debido a la frecuente presencia de éste en las plantas y mazorcas tiernas que conllevan a una devaluación seria sobre el rendimiento de los granos del cultivo y cuyos granos dañados pueden considerarse como fuente de contaminación si no son eliminados durante el proceso de la elaboración de productos alimenticios (Casmuz *et al.*, 2010).

Los plaguicidas químicos representan el método principal para controlar plagas de insectos agrícolas. El uso continuo de estos compuestos se ha enfrentado a la creciente preocupación pública sobre la contaminación de los alimentos con residuos de plaguicidas, y la proliferación de la resistencia en las poblaciones de plagas (Badawy y El-Aswad, 2012) y ser la causa de diversos y complejos impactos directos e indirectos en los ecosistemas, en la vida silvestre y en la salud humana al consumir alimentos contaminados (Pérez *et al.*, 2013).

Las investigaciones actuales acerca del quitosán, biopolímero natural ( $\beta$ - (1,4) -N-acetil-D-glucosamina) derivado de la quitina después de la desacetilación (Paulino *et al.*, 2006), y en gran parte proveniente de desechos de la industria procesadora de alimentos marinos, (Marmol *et al.*, 2011) se han centrado principalmente en el control de microorganismos (bacterias y hongos), al inducir mecanismos de defensa en plantas con el fin de aumentar sus respuestas contra el ataque de patógenos (Miranda y Lizárraga, 2012); además existen

antecedentes sobre el uso del quitosán como inductor de mecanismos con efectos de protección a la planta. Uno de los primeros hallazgos fue que el quitosán es activo contra algunos insectos como los lepidópteros y homópteros (Miranda y Lizárraga, 2012) y particularmente contra especies como *Spodoptera littoralis* una importante plaga destructiva del algodón (Badawy y El-Aswad, 2012). Hoy en día el quitosán ha sido considerado como un inductor, es decir, un activador del mecanismo de defensa en las plantas, pudiendo ser una alternativa al uso de plaguicidas químicos ya que no es tóxico y tiene la característica de ser biodegradable (Miranda y Lizárraga, 2012).

# CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES

## 1.1 Quitina y quitosán

**"La quitina es a los crustáceos lo que la celulosa es a los árboles"**

Susana Patricia Miranda Castro

### 1.1.1 Generalidades

Los polisacáridos son muy comunes en la naturaleza y la celulosa es el compuesto orgánico más común en el planeta (Miranda y Lizárraga, 2012). En la actualidad, la quitina es el segundo polisacárido natural más abundante después de la celulosa (Gonil y Sajomsang, 2012), se estima que se produce anualmente casi tanto como la celulosa y ha sido de gran interés no sólo como un recurso infrautilizado, sino también como un nuevo material funcional de alto potencial en varios campos, especialmente en la industria alimenticia y farmacéutica debido a su biodistribución y actividad antimicrobiana (Escobar *et al.*, 2011); los recientes avances en la química de la quitina son bastante notables (Majeti y Kumar, 2000) ya que dentro de la agricultura la quitina y sus derivados son efectivos en el control de enfermedades y plagas vegetales. Sus mecanismos de acción están vinculados a su estructura química. Pueden actuar sobre el organismo patógeno o inducir mecanismos de defensa en las plantas, contra varias enfermedades vegetales antes y después de la cosecha. Como reguladores del crecimiento, aceleran la germinación de las semillas y el vigor de las plantas. Se augura que la quitina y sus derivados se utilizarán con una mayor extensión, principalmente como sustitutos de los actuales plaguicidas químicos o como reguladores del crecimiento de las plantas (Ramírez *et al.*, 2010).

Al menos 10 gigatoneladas de quitina se sintetizan y degradan cada año en la biosfera acuática (Yeul y Rayalu, 2013), debido a esto la quitina y el quitosán son de interés comercial además de su alto porcentaje de nitrógeno (6,89%) en comparación con el sustituto de celulosa sintética (1,25%) esto hace que la quitina sea un agente quelante útil.

La mayoría de los polímeros de hoy en día son materiales sintéticos, su biocompatibilidad y biodegradabilidad los hace más limitados en sus usos, a diferencia de los polímeros naturales tales como celulosa, quitina, quitosán y sus derivados, en este sentido, se recomiendan como materiales funcionales adecuados, debido a que estos polímeros

naturales tienen excelentes propiedades tales como la biocompatibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad y propiedades de adsorción, entre muchas otras más (Majeti y Kumar, 2000).

### 1.1.2 Historia y origen

La quitina se ha detectado en los insectos fósiles que datan de hace 25 millones de años (Gonil y Sajomsang, 2012) y se cree que podría ser un constituyente de la primera célula viva. Ya que en realidad, llegó a existir mucho antes que los dinosaurios. A finales del período Precámbrico, hace dos millones de años, las células vivas aparecieron con núcleos que contienen quitina alrededor de ellos. En el período Silúrico hace 440 millones años, aparecen las plantas terrestres con contenido de celulosa. El pez apareció en el período Cámbrico y posteriormente, los artrópodos en la Período Devónico. Los primeros dinosaurios vivieron hace doscientos millones de años y durante la segunda mitad del período Jurásico apareció el cangrejo rico en quitina (Miranda y Lizárraga, 2012). Los primeros trabajos sobre la quitina que se mencionan en la literatura son los de un investigador Inglés, Hachett. En 1799, se informó que después de la desmineralización mediante tratamiento ácido en conchas de crustáceos, estas mantuvieron sus propiedades físicas intactas (Yeul y Rayalu, 2013). Sin embargo se considera que el primer descubrimiento oficial de quitina fue hecho por el botánico francés Henri Braconnot en 1811 (Amar, 2011) quién obtuvo una fracción alcalina insoluble llamándola "fungine" de algunas setas (Gonil y Sajomsang 2012; Miranda y Lizárraga, 2012).

En 1823, la quitina se aisló de los insectos y obtuvo su nombre "quitina" gracias al científico francés, A. Odier quien la llamó "chitine" (Amar, 2011), cuya etimología griega evoca el significado de túnica (Ruiz, 1993).

En 1824, un investigador Inglés J. G. Children, tradujo en inglés el trabajo de A. Odier y confirmó la presencia de nitrógeno en la estructura química en la quitina (Yeul y Rayalu, 2013).

En 1859, C. Rouget informó que después del tratamiento de la quitina en hidróxido de potasio caliente y concentrada, se obtenía una nueva sustancia soluble en soluciones acuosas ácidas diluidas y la llamó " quitina modificada ". En 1894, F. Hoppe Seyler

atribuye el nombre real, “quitosán”, a esta nueva sustancia (Yeul y Rayalu, 2013). Desafortunadamente, este nombre originó un problema muy difícil de nomenclatura. La quitina y el quitosán son ambos polímeros de las mismas unidades que se repiten y, como consecuencia sólo un nombre se debería usar para estos mismos polímeros. En 1928, K. H. Meyer y H. Mark proponen por primera vez, la estructura del anillo de piranosa ligado en  $\beta$ , (1 $\rightarrow$ 4) como la unidad de repetición de cadenas de quitina. La descripción de la estructura química de la quitina se logró por completo en 1939 por A. Neuberger y R. Pitt Rivers, quienes describieron la estructura exacta del anillo de piranosa de N-acetilglucosamina con el grupo amino en la C2. La estructura cristalográfica, en particular, describió por primera vez la presencia de tres polimorfos diferentes correspondientes a quitinas alfa, beta y gamma por KM Rudall en 1963 (Yeul y Rayalu, 2013).

Han pasado más de dos siglos desde que la quitina fue descubierta formalmente y se considera muy importante desde el punto de vista científico e industrial, ya que tiene muchas aplicaciones en muchas áreas diferentes y el desarrollo de aplicaciones comerciales para la quitina y el quitosán ha progresado. El primer uso conocido de quitosán era una película duradera, flexible, que se usaba como un componente en el barniz aplicado a violines Stradivarius, sin embargo, nuevos esfuerzos están cambiando su visión en el mercado (Miranda y Lizárraga, 2012). El énfasis en la tecnología respetuosa con el medio ambiente ha estimulado el interés en biopolímeros, que son más versátiles y mucho más biodegradables que su contraparte sintética (Miranda y Lizárraga, 2012).

### 1.1.3 Estructura química

La quitina se compone principalmente del aminoazúcar N-acetilglucosamina (GlcNAc). Está presente en la naturaleza por lo general unida con otros polisacáridos y con proteínas. Es un polímero de glucosamina (GlcN) con un grupo acetilo unido a un número variable de las moléculas individuales de glucosamina (formando acetilglucosamina) (Yeul y Rayalu, 2013).

Un polímero compuesto totalmente de acetilglucosamina se llama quitina, y un polímero compuesto totalmente de glucosamina se llama quitosán (Yeul y Rayalu, 2013).

La quitina es un poli-  $\beta$ -1,4-N-acetilglucosamina (GlcNAc) (Yeul y Rayalu, 2013) ó  $\beta$  (1-4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa (Pillai *et al.*, 2009). Los científicos consideran a la quitina como un derivado de celulosa debido al hecho de que ambos polímeros comparten estructuras moleculares sorprendentemente similares. La diferencia es que la celulosa contiene grupos hidroxilo, mientras que la quitina contiene acetamidas (-NHCOCH<sub>3</sub>) en la posición C2 de los monómeros como se muestra en la figura 1 (Gonil y Sajomsang, 2012).

El quitosán es el derivado más importante de la quitina se le conoce también como quitina desacetilada, el cual es una modificación estructural de la quitina, a menudo esta desacetilación se realiza por hidrólisis alcalina (Gonil y Sajomsang, 2012). Durante este proceso el quitosán se obtiene mediante la eliminación de grupos acetilo (CH<sub>3</sub>-CO) de la quitina para que la molécula sea soluble en ácidos más diluidos (Yeul y Rayalu, 2013).

El quitosán está compuesto de N-acetil-D-glucosamina y unidades de D-glucosamina (Miranda y Lizárraga, 2012),  $\beta$  (1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa (Pillai *et al.*, 2009).

Normalmente, si el número de unidades GlcNAc es mayor que 50%, el biopolímero se denomina quitina. Por otro lado, el término quitosán se utiliza cuando el número de unidades GlcN es mayor que 50% (Gonil y Sajomsang, 2012).

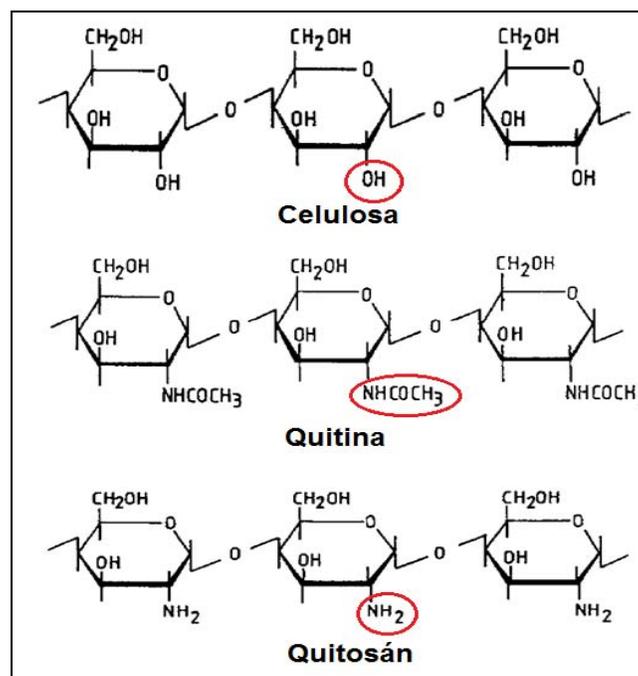


Figura 1. Estructura química de la celulosa, quitina y quitosán.  
Fuente: Ravindra *et al.*, 1998.

#### 1.1.4 Propiedades físicas y químicas

- ❖ La quitina, es un polisacárido lineal que imparte rigidez y resistencia mecánica a la pared celular de los hongos, levaduras y al exoesqueleto de un gran número de invertebrados (Ruiz, 1993; Gonil y Sajomsang, 2012).
- ❖ Ambos polisacáridos son incoloros a blancos, duros, e inelásticos, y son un polisacárido nitrogenado (Amar, 2011). El contenido de nitrógeno varía de 5 a 8% dependiendo de la extensión de la desacetilación (Majeti y Kumar, 2000).
- ❖ En la quitina su grado de desacetilación (DDA) en general oscilan entre 5-15% y en quitosán de 70-95%, mientras sea mayor el grado de acetilación (DA) de la quitina, menor será la solubilidad en disolventes comunes (Amar, 2011).
- ❖ El peso molecular promedio de la quitina es a partir de  $1.03 \times 10^6$  a  $2.5 \times 10^6$  Daltons pero por la conversión de quitina a quitosán por desacetilación se reduce a  $1.10^5$  a  $5 \times 10^5$  Da (Amar, 2011).
- ❖ En cuanto a la solubilidad la quitina es hidrófoba (insoluble en agua), así como en la mayoría de disolventes. En contraste el quitosán es soluble en ácidos orgánicos diluidos a pH bajo (Amar, 2011).
- ❖ Ambos polímeros tienen una alta reactividad química debido a que tienen grupos aminos e hidroxilos que pueden ser fácilmente sustituidos por otros grupos (Amar, 2011).
- ❖ La quitina puede fácilmente transformada en geles, perlas, polvos, fibras, membranas, algodón, esponjas, coloides y películas (Amar, 2011).
- ❖ La quitina y el quitosán son notablemente estables en soluciones alcalinas concentradas incluso a altas temperaturas (Amar, 2011).
- ❖ Tienen una buena actividad quelante debido a su alto contenido de polisacáridos básicos (Amar, 2011).

- ❖ Ambos son ecológicos, no tóxicos o alérgicos (Amar, 2011).
- ❖ No tienen propiedades antigénicas y por lo tanto son perfectamente compatibles no sólo con los animales, sino también con los tejidos vegetales (Amar, 2011).
- ❖ Existen tres formas naturales de la quitina:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (Ruiz, 1993).

### 1.1.5 Fuentes de obtención

Podemos encontrar una lista completa de los organismos que contienen quitina: hongos, algas, medusas, asquelmintos (gusanos cilíndricos), moluscos, exoesqueletos artrópodos, en la estructura externa de los insectos y algunos hongos. También se encuentra en la epidermis de los artrópodos y los cefalópodos (Filo: Mollusca) y en la cutícula epidérmica de los *Trigloides paralipophrys* vertebrados (peces) y en la pluma de calamar. Actualmente la mayor producción comercial de quitina se basa en la extracción desde el exoesqueleto de camarones, langostinos, cangrejos y kril (Miranda y Lizárraga, 2012).

En la tabla 1 se muestra el contenido de quitina en porcentaje de algunos de estos organismos.

**Tabla 1. Contenido de quitina de algunos organismos.**

Organismo	Peso (Quitina) %
<b>Crustáceos</b>	
<i>Cancer</i> (Cangrejo)	72.1 <sup>c</sup>
<i>Carcinus</i> (Cangrejo)	64.2 <sup>b</sup>
<i>Paralithodes</i> (Cangrejo rey)	35.0 <sup>b</sup>
Callinectes (Cangrejo azul)	14.0 <sup>a</sup>
Crangon y Pandalus (Camarones)	17-40
Camarones Alaska	28.0 <sup>d</sup>
<i>Nephro</i> (Langosta)	69.8 <sup>c</sup>
<i>Homarus</i> (Langosta)	60-75 <sup>c</sup>
<i>Lepas</i> (Percebes)	58.3 <sup>c</sup>
<b>Insectos</b>	
<i>Periplaneta</i> (Cucaracha)	2.0 <sup>d</sup>
<i>Blatella</i> (Cucaracha)	18.4 <sup>c</sup>
<i>Coleoptera</i> (Mariquita)	27-35 <sup>c</sup>
<i>Diptera</i>	54.8 <sup>c</sup>
<i>Pieris</i> (Mariposa)	64.0 <sup>c</sup>
<i>Bombyx</i> (Gusano de seda)	44.2 <sup>c</sup>
<i>Galleria</i> (Cera gusano)	33.7 <sup>c</sup>
<b>Molusco</b>	

Almeja	6.1
Ostras de concha	3.6
Pluma de calamar	41.0
Krill, conchas desproteinizadas	40.2
<b>Hongos</b>	
<i>Aspergillus</i>	42.0 <sup>e</sup>
<i>Penicillium notatum</i>	18.5 <sup>e</sup>
<i>Penicillium chrysogenum</i>	20.1 <sup>e</sup>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.9 <sup>e</sup>
<i>Mucor rouxii</i>	44.5
<i>Lactarius vellereus</i>	19.0
a. Comparado con el peso fresco del organismo b. Con respecto a el peso en seco del organismo c. Basado en la masa de la cutícula orgánica d. Comparado con la masa total de la cutícula e. Con relación a la masa seca de la pared celular.	

Fuente: Arbia *et al.*, 2013.

La principal fuente comercial del quitosán, es a partir de quitina desacetilada obtenida del camarón y concha de cangrejo. Otra fuente alternativa de quitosán son las paredes celulares de los hongos y los septos de *Ascomycetes*, *Zygomycetes*, *Basidiomycetes*, *Deuteromycetes* que principalmente contienen quitina (Miranda y Lizárraga, 2012).

### 1.1.6 Métodos de extracción

La extracción de quitina implica dos pasos, desmineralización y desproteización, que pueden llevarse a cabo por dos métodos, químico o biológico. El método químico requiere el uso de ácidos y bases, mientras que el método biológico implica microorganismos (Arbia *et al.*, 2013).

#### 1.1.6.1 Método químico

El método tradicional para la preparación comercial de la quitina de exoesqueleto de crustáceos, consta de dos pasos básicos: 1. La desproteización por tratamiento con álcali que consta en la separación de proteínas y 2. Desmineralización por tratamiento ácido a alta temperatura, seguido por una etapa de blanqueo con reactivos químicos para obtener un producto incoloro (Arbia *et al.*, 2013).

El orden de las dos etapas se puede invertir para los residuos de camarón que contiene grandes concentraciones de proteínas, que provienen principalmente del tejido esquelético

y en menor medida desde el tejido muscular restante. Este método permite también la eliminación casi completa de sales orgánicas (Arbia *et al.*, 2013).

#### 1.1.6.2 Método biológico

Se le considera una forma alternativa al uso del método químico.

El proceso de desproteínización se ha reportado para la producción de quitina, principalmente a partir de residuos de camarón. El uso de proteasas evita el tratamiento alcalino. Además de la aplicación de exoenzimas, se utilizan bacterias proteolíticas para la desproteínización de conchas desmineralizadas (Arbia *et al.*, 2013).

Se ha reportado, la utilización de la desmineralización biológica para la producción de quitina de los caparzones de crustáceos; usando, por ejemplo alcalasa, o por proceso microbiano que incluyen especies como *Lactobacillus pentosus* o por un probiótico (cuajada de leche) natural (Arbia *et al.*, 2013).

En estos procesos biológicos, la desmineralización y la desproteínización se producen simultáneamente sin embargo llegan a darse de forma incompleta (Arbia *et al.*, 2013).

#### 1.1.7 Quitosán como elicitor

Las plantas cuentan con una gran cantidad de mecanismos de defensa a nivel celular y molecular para combatir el ataque de organismos patógenos o condiciones medioambientales adversas (Lizárraga *et al.*, 2011).

Se ha establecido que la invasión a la planta por un determinado microorganismo da lugar a una estimulación de sus defensas mediante la síntesis de compuestos que inducen resistencia llamados inductores, los cuales son moléculas de origen biótico producidas por la acción de las enzimas hidrolasas del patógeno sobre el tejido vegetal. Estos compuestos desencadenan en las plantas una serie de mecanismos de defensa que provocan una resistencia sistémica ante el ataque de los patógenos. Dentro de estos mecanismos se incluye el incremento en la activación de enzimas, tales como la fenilalanina-amonio-liasa (PAL), la cual es clave en la síntesis de metabolitos de defensa importantes, donde se

destacan las fitoalexinas (antibióticos vegetales) que constituyen compuestos altamente tóxicos al patógeno (Rodríguez *et al.*, 2006). Sin embargo, algunos mecanismos también pueden ser estimulados por la adición de otras moléculas que favorecen el desarrollo de respuestas de defensa, tal es el caso de los “elicitors”, que son agentes inductores de mecanismos de defensa que promueven la percepción y transducción de señales biológicas para activar respuestas a nivel celular.

El quitosán es uno de los elicitors más importante dentro del grupo de los oligosacáridos, porque es un biopolímero que se encuentra naturalmente en el ecosistema (Lizárraga *et al.*, 2011).

Cuando se usa para mejorar defensas de las plantas, la quitina y el quitosán inducen respuestas de defensa del hospedero en monocotiledóneas y dicotiledóneas. Estas respuestas incluyen la lignificación, las variaciones de flujo de iones, la acidificación citoplasmática, despolarización de la membrana y la fosforilación de proteínas, activación de quitinasa, quitosanasas y glucanasa, la biosíntesis de fitoalexina, la generación de especies reactivas de oxígeno, la biosíntesis de ácido jasmónico, y la expresión de genes de respuesta y los cuales todos estos están relacionados con la defensa. Además, se ha informado de que el quitosán induce la formación calosa, inhibidores de proteinasa, y la biosíntesis de fitoalexina en muchas especies dicotiledóneas. La respuesta de inducir defensas de la quitina, del quitosán, y de los derivados de oligosacáridos varía con su grado de acetilación (El Hadrami *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2006). En cuanto a la aplicación del quitosán en maíz se han reportado diferentes efectos como por ejemplo la disminución favorable en la cantidad de hongos patógenos en las semillas almacenadas previamente recubiertas con el biopolímero, así como también un decremento en la cantidad de micotoxinas desarrolladas en el grano incluso bajo condiciones de alta humedad. También se ha reportado que la protección no solo se da en la semilla, sino también se da en las plántulas contra las enfermedades causadas por hongos patógenos. Se cree que el quitosán tiene la capacidad de inducir la acumulación masiva de sustancias fungitóxicas en el lugar de aplicación, y también actúa como una barrera para impedir el flujo de nutrientes al patógeno. Además, la aplicación de quitosán ha mostrado efectos positivos en la capacidad germinativa de las semillas y en el crecimiento de las raíces y hojas de las plantas (Lizárraga *et al.*, 2011).

### 1.1.8 Otras aplicaciones del quitosán

En la tabla 2, se muestra las diferentes aplicaciones del quitosán en distintas áreas.

**Tabla 2. Aplicaciones del quitosán.**

ÁREA	APLICACIÓN
<b>Alimentos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extensión de la vida útil</li> <li>• Bioconversión para la producción de productos alimenticios de valor añadido</li> <li>• Filtración y clarificación de jugos de frutas</li> <li>• Antioxidante</li> <li>• Hidrogeles de quitosán para la inmovilización celular (producción de ácido láctico) y para la encapsulación del pigmento (astaxantina) utilizado en la acuicultura para dar color típico salmón</li> <li>• Inhibición de crecimiento microbiano</li> <li>• Mejorar la emulsificación en la preparación de la mayonesa</li> <li>• Como agente de curado en embutidos (salchicha)</li> </ul>
<b>Agricultura</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inductor de mecanismos de defensas</li> <li>• Recubrimiento de semillas</li> <li>• Recubrimiento de la hoja</li> <li>• Fertilizante</li> <li>• Promotor del crecimiento de las plantas</li> <li>• Bioinsecticida</li> <li>• Bioplaguicida</li> <li>• Bionematicida</li> </ul>
<b>Biomédica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Actividad antitumoral</li> <li>• Piel artificial</li> <li>• Andamio para la regeneración del tejido</li> <li>• Hemostasia y curación de heridas</li> <li>• Prótesis de nervios periféricos</li> <li>• El control del colesterol de la sangre</li> <li>• Vehículo de administración de fármaco</li> </ul>
<b>Tratamiento de aguas residuales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eliminación y/o recuperación de iones metálicos de las aguas residuales, cobre, cromo, cadmio, plomo, níquel, mercurio, hierro, plata, zinc, cobalto y arsénico</li> <li>• Remoción y fijación de colorantes</li> <li>• Remoción y unión de metales pesados</li> <li>• Tratamiento de lodos y agente de deshidratación</li> <li>• Desnitrificación biológica</li> </ul>
<b>Biotecnología</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cromatografía de afinidad de quitina para adsorber selectivamente quitinasa a partir de un caldo de fermentación</li> <li>• Enzima y inmovilizador de células enteras</li> <li>• Producción de la quitina utilizando enzimas hidrolíticas comerciales</li> <li>• Inmovilización de microorganismos para la biorremediación de agua de mar contaminada con petróleo crudo</li> <li>• Soporte para biosensores</li> <li>• Bioseparación</li> </ul>
<b>Cosméticos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ingredientes para el cuidado del cabello y de la piel (crema hidratante)</li> </ul>

Fuente: Arbia *et al.*, 2013.

## 1.2 Maíz

### 1.2.1 Generalidades

El maíz palabra de origen prehispánico que significa “lo que sustenta la vida”. Es una forma doméstica de una cepa de teosinte (Benítez y Pfeiffer, 2006). Junto con el arroz y trigo es uno de los principales alimentos, piensos y cultivos industriales en todo el mundo (Paroda *et al.*, 2015). Su relevancia se debe a que suministra elementos nutritivos al hombre y a los animales, y es materia prima básica para la industria ya que de él se obtienen una gran cantidad de productos (Benítez y Pfeiffer, 2006).

Su origen data de 8,700 años antes de nuestra era (Ranere *et al.*, 2009). En México, centro de origen, domesticación y diversificación del maíz, existen 59 razas de acuerdo con la clasificación más reciente basada en características morfológicas e isoenzimáticas (Sánchez *et al.*, 2000) que representan un significativo porcentaje de las 220 a 300 razas de maíz existentes en el continente americano (Kato *et al.*, 2009).

Desde el punto de vista alimentario, político, económico y social, el maíz es el cultivo más importante del país (Fernández *et al.*, 2013). Participa con el 18% del valor de producción del sector agrícola y concentra el 33% de la superficie sembrada en el territorio nacional (Financiera rural, 2014). Basta con decir que el consumo *per cápita* de maíz en México es aproximadamente 10 veces mayor que el de Estados Unidos de América (Serna y Amaya, 2008).

De la superficie total sembrada con maíz, la mayor parte (80%) es de temporal o secano (Fernández *et al.*, 2013).

Las plantas de maíz pueden ser infestadas a lo largo de su ciclo de vida o en el almacenamiento por un cierto número de insectos, que son considerados uno de los más importantes factores de estrés biótico responsables por la pérdida de productividad de los cultivos (Ripusudan *et al.*, 2001); ya que pueden dañar sus diferentes partes y, de este modo, interferir con su desarrollo normal y reducir los rendimientos y la calidad del grano. Sin embargo, a pesar de que hay un gran número de especies de insectos que atacan a la planta de maíz, son relativamente pocos los que causan daños de importancia económica (Ripusudan *et al.*, 2001).

En América Central se estiman en 20-35% las pérdidas causadas por los insectos al maíz en el campo. La incidencia de estos insectos varía considerablemente y no hay claridad sobre la importancia de cada uno. La única excepción es *Spodoptera frugiperda* (Smith), la plaga más importante del maíz en el continente americano principalmente en América Latina; con centenares de investigaciones y cuantiosos datos sobre su biología, fisiología, ecología y control químico, cultural, biológico e integrado (Fernández, 2007).

### 1.2.2 Clasificación Taxonómica

En la tabla 3 se muestra la clasificación taxonómica de maíz:

**Tabla 3. Taxonomía del maíz.**

Reino	Plantae
División:	Espermatofitas o Fanerógamas
Subdivisión:	Angiosperma
Clase:	Monocotiledóneae
Subclase:	Glumiflorae
Orden:	Poales
Familia:	Poaceas ó Gramíneas (Gramineae)
Tribu:	Maydeae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Zea Mays L</i>

Fuente: CEDAF, 1998.

### 1.2.3 Morfología de la planta

La planta del maíz es de aspecto robusto parecida al de una caña (SIAP, 2015).

#### ❖ Tallo

Tiene un solo tallo de gran longitud, sin ramificaciones, que puede alcanzar hasta cuatro metros de altura. Al hacerle un corte presenta una médula esponjosa (SIAP, 2015).

#### ❖ Inflorescencia

El maíz es de inflorescencia monoica con inflorescencia masculina (espiguilla) y femenina (elote) separada dentro de la misma planta (CONACYT, 2015).

#### ❖ Hojas

Las hojas son largas, de gran tamaño, lanceoladas, alternas, paralelinervias. Se encuentran abrazadas al tallo y por el haz presenta vellosidades. Los extremos de las hojas son muy afilados y cortantes (CONACYT, 2015).

#### ❖ Raíces

Las raíces son fasciculadas, es decir, todas presentan más o menos el mismo grosor (SIAP, 2015) y su misión es la de aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos sobresalen unos nudos de las raíces a nivel del suelo y suele ocurrir en aquellas raíces secundarias o adventicias (CONACYT, 2015).

### 1.2.4 Fenología

El desarrollo del cultivo consiste en una sucesión obligatoria de etapas o fases dadas en un orden riguroso e irreversible. El ciclo de desarrollo va desde la germinación de la semilla hasta la floración y formación del fruto. Comprende dos etapas bien definidas: desarrollo vegetativo y desarrollo reproductivo (Fassio *et al.*, 1998).

Además, las etapas de crecimiento se pueden agrupar en cuatro grandes periodos:

- Crecimiento de las plántulas (etapas VE y V1)
- Crecimiento vegetativo (etapas V2, V3... Vn)

- Floración y fecundación (etapas VT, RO, y R1)
- Llenado de grano y madurez (etapas R2 a R6), tabla 4 (CONACYT, 2015).

En la tabla 4 se muestra una breve descripción del desarrollo de cada etapa.

**Tabla 4. Etapas de desarrollo de la planta de maíz.**

Etapa	DAS*	Características
<b>VE</b>	5	El coleoptilo emerge de la superficie del suelo
<b>V1</b>	9	Es visible el cuello de la primera hoja.
<b>V2</b>	12	Es visible el cuello de la segunda hoja.
<b>Vn</b>		Es visible el cuello de la hoja número "n". ("n" es igual al número definitivo de hojas que tiene la planta; "n" generalmente fluctúa entre 16 y 22, pero para la floración se habrán perdido las 4 a 5 hojas de más abajo.)
<b>VT</b>	55	Es completamente visible la última rama de la panícula.
<b>R0</b>	57	Antesis o floración masculina. El polen se comienza a arrojar
<b>R1</b>	59	Son visibles los estigmas.
<b>R2</b>	71	Etapa de ampolla. Los granos se llenan con un líquido claro y se puede ver el embrión.
<b>R3</b>	80	Etapa lechosa. Los granos se llenan con un líquido lechoso blanco.
<b>R4</b>	90	Etapa masosa. Los granos se llenan con una pasta blanca. El embrión tiene aproximadamente la mitad del ancho del grano.
<b>R5</b>	102	Etapa dentada. La parte superior de los granos se llena con almidón sólido y, cuando el genotipo es dentado, los granos adquieren la forma dentada. En los tipos tanto cristalinos como dentados es visible una "línea de leche" cuando se observa el grano desde el costado.
<b>R6</b>	112	Madurez fisiológica. Una capa negra es visible en la base del grano. La humedad del grano es generalmente de alrededor del 35%.
* DAS: número aproximado de días después de la siembra en tierras bajas tropicales, donde las temperaturas máximas y mínimas pueden ser de 33°C y 22°C, respectivamente. En los ambientes más fríos, se amplían estos tiempos.		

Fuente: CONACYT, 2015.

### 1.2.5 Estructura de la semilla

El grano individual del maíz es botánicamente una cariósida y está formada por cuatro estructuras principales (FAO, 1993):

- ❖ **Pericarpio:** Cáscara o salvado, se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente 87 por ciento. La función primordial de esta estructura es formar una red que proteja y contenga a las demás estructuras del grano (FAO, 1993).
- ❖ **Endospermo:** Provee los nutrientes para el germinado de la semilla. Esta estructura posee alto contenido de almidón (87 por ciento) y aproximadamente 8 por ciento de proteínas (FAO, 1993).
- ❖ **Germen:** Se le conoce también como embrión, es la estructura a partir de la cual se desarrollara una nueva planta (FAO, 1993).
- ❖ **Pirroliza:** Tejido inerte en que se unen el grano y el carozo, es de estructura cónica, (comúnmente conocido como olote) (FAO, 1993).

En la figura 2 se muestra las partes principales que conforman la semilla de maíz.

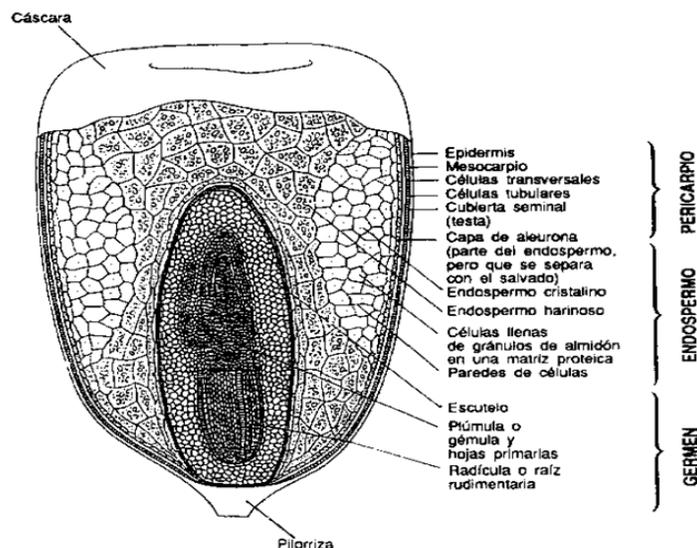


Figura 2. Estructura de la semilla de maíz.

Fuente: FAO, 1993.

### 1.2.6 Composición química

- ❖ **Almidón:** El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta 72-73% del peso del grano (Benítez y Pfeiffer, 2006).
- ❖ **Proteínas:** En las variedades comunes del maíz, el contenido de proteínas puede oscilar entre 8% y 11% del peso del grano y, en su mayor parte, se encuentra en el endospermo (Benítez y Pfeiffer, 2006).
- ❖ **Aceites y ácidos grasos:** El aceite del grano de maíz esta fundamentalmente en el germen y viene determinado generalmente con valores que van de 3 a 18% (Benítez y Pfeiffer, 2006).
- ❖ **Cenizas:** La concentración de cenizas en el grano de maíz es aproximadamente de 1.3%. El germen es relativamente rico en minerales con una valor medio de 11% y proporciona casi 78% de todos los minerales del grano (Benítez y Pfeiffer, 2006).
- ❖ **Vitaminas:** El maíz tiene vitaminas como la provitamina A o carotenoide, tiamina y riboflavina (Benítez y Pfeiffer, 2006).

En la tabla 5 se muestra la composición química de la semilla de maíz:

**Tabla 5. Composición química de la semilla de maíz.**

<b>Componente químico</b>	<b>Pericarpio</b>	<b>Endospermo</b>	<b>Germen</b>
Proteínas	3,7	8,0	18,4
Extracto etéreo	1,0	0,8	33,2
Fibra cruda	86,7	2,7	8,8
Cenizas	0,8	0,3	10,5
Almidón	7,3	87,6	8,3
Azúcar	0,34	0,62	10,8

**Fuente: FAO, 1993.**

### 1.2.7 Tipos

En la siguiente lista se muestra los diferentes tipos de maíz con los que se elaboran diversos productos:

- Maíz dentado (*Z. mays indentata*).
- Maíz duro (*Z. mays indurata*).
- Maíz harinoso (*Z. mays amylaces*).
- Maíz ceroso (*Z. mays ceritina*).
- Maíz reventón (pop corn) (*Z. mays everata*).
- Maíz dulce (*Z. mays saccharata*).
- Maíz baby

(Silva, 2005; Ripusudan *et al.*, 2001)

### 1.2.8 Productos

En la tabla 6 se muestran los diversos productos que se obtienen de la planta y grano de maíz.

**Tabla 6. Productos obtenidos del maíz.**

Forraje nutritivo	Fructosa
Jarabe de maltosa	Gluten meal
Colorante de caramelo	Gluten feed
Maltodextrinas	Glucosa
Sémolas	Jarabes mezcla
Salvado	Harinas
Harina para alimentación animal	Germen
Almidones nativos y modificados	Aceite

**Fuente: INTA 2010.**

### 1.2.9 Principales plagas

Existe una diversidad de insectos-plagas que atacan el cultivo de maíz; así se tiene el grupo de las palomillas que, en su estado larvario, son conocidas como gusanos cortadores, soldados, eloteros, barrenadores, etc., y son los que más daños causan; luego están los escarabajos, que en general, son llamados gusanos de las raíces, gusanos de alambre, gallinas ciegas, barrenadores del grano y gorgojos. En orden de importancia, les sigue el grupo de insectos que actúan como vectores de virus, microplasma, bacterias y hongos que en algunas zonas del país pueden provocar la pérdida completa del cultivo (Deras, 2014; CESAPEG, 2007).

#### ❖ Gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*)

Es la plaga más voraz del cultivo de maíz ya que los gusanos se localizan en el cogollo de las plantas. El ataque temprano promueve un retraso del desarrollo, además de que causa daño a los tejidos que formarán la mazorca y por lo tanto afecta directamente al rendimiento; en algunos casos el ataque severo causa la muerte de la planta. En épocas de sequía, se llega a observar causando daños como gusano trozador, lo que llega a dificultar su control (CESAVEG, 2007). En la figura 3 se muestra a la larva adulta del gusano cogollero:



**Figura 3. Larva de gusano cogollero.**  
Fuente: CESAPEG, 2007.

#### ❖ Trips (*Frankliniella williamsi*)

Estos insectos empiezan a causar daños en cuanto la plántula de maíz se establece, pueden llegar a ser tan severos que la planta puede presentar el síntoma de falta de humedad. Al observar el punto de crecimiento de la planta se encuentra una gran cantidad de insectos

pequeños de color amarillo como se muestra en la figura 4, ahí se protegen en forma natural de la lluvia y de algunos depredadores (CESAVEG, 2007).



**Figura 4. Ninfa de trips.**  
Fuente: [www.taringa.net](http://www.taringa.net)

❖ **Gusano soldado (*Mythimna unipuncta* y *Spodoptera exigua*)**

Este gusano primero se alimenta de las hojas inferiores, dejando las del cogollo hasta el último y normalmente lo hace por la noche a diferencia del gusano cogollero, por lo que es difícil detectarlo. Cuando la infestación es fuerte pueden devorar las plantas hasta quedar solo rastrojo y migran como un ejército en busca de otras plantas. La primera generación de adultos ocurre en mayo o junio según el clima imperante (CESAVEG, 2007). En la figura 5 se muestra el daño que esta plaga provoca a la planta de maíz.



**Figura 5. Gusano soldado provocando daño.**  
Fuente: <http://www.cesavep.org/galerias.html>

❖ **Gusano trozador (*Agrotis* sp.)**

Estos gusanos son una plaga secundaria, aunque pueden convertirse en un problema regional durante periodos secos. Los gusanos son de color café oscuro con líneas oscuras a

lo largo del cuerpo y salen del suelo figura 6, desplazándose por la noche para alimentarse trozando la base del tallo (CESAVEG, 2007).



**Figura 6. Larva de trozador.**  
Fuente: CESAVEG, 2007.

❖ **Gusano elotero (*Heliothis zea*)**

El daño principal que ocasiona este insecto es la destrucción de los granos de la punta del elote como se muestra en la figura 7. El adulto de este gusano es una palomilla que pone hasta 3,000 huevecillos en los estigmas (pelos) del jilote (mazorca) de manera separada pues las larvas son caníbales. Esto ocurre de los 85 a 90 días después de la siembra, depende de la fecha de siembra realizada (CESAVEG, 2007).



**Figura 7. Larva de gusano elotero ocasionando daño a la mazorca.**  
Fuente: CESAVEG, 2007.

❖ **Barrenador del tallo (*Diatraea* sp.)**

El daño de esta plaga produce una reducción del paso de nutrientes y agua en la planta, ocasionando algunas veces la muerte de ésta. Las larvas penetran al tallo haciendo un túnel y dejando excremento fuera del tallo, lo que es una señal de que el insecto está presente atacando la planta. Cuando el temporal se interrumpe por espacio de tres semanas en el ciclo agrícola, el daño de esta plaga se puede observar más severo (CESAVEG, 2007). En

la figura 8 se muestra la larva de esta plaga, ocasionando daño en el tallo de la planta de maíz:



**Figura 8. Barrenador del tallo.**  
Fuente: Ripusudan, 2001.

❖ **Picudos (*Geraeus senilis*, *Nicentrites testaceipes*)**

El daño en el cultivo lo realiza el adulto con su aparato bucal masticador. Al inicio del ataque las plantas presentan puntos de color blanco, los cuales posteriormente se oscurecen. Las formas adultas de estos insectos figura 9, se presentan de julio a octubre, con las poblaciones más altas en agosto (CESAVEG, 2007).



**Figura 9. Adulto de picudo.**  
Fuente: CESAVEG, 2007.

❖ **Araña roja (*Oligonychus mexicanus* y *Tetranychus* sp.)**

El ciclo de vida de este ácaro tiene una duración de 15 días en climas cálidos y 29 en templados. En épocas de altas temperaturas y sequías prolongadas las poblaciones pueden ser abundantes; sin embargo, en condiciones de temporal, un periodo largo de lluvias es perjudicial para la población de ácaros. En campo se deben hacer inspecciones desde la

etapa de plántula hasta antes de la floración (CESAVEG, 2007). En la figura 10 se muestra el adulto de la araña roja ocasionando daño a la planta.



**Figura 10. Adulto de la araña roja.**  
Fuente: CESAVEG, 2007.

❖ **Gallina ciega (*Phyllophaga* sp, *Cyclocephala* sp, *Diplotaxis* sp, *Macroductylus* sp, y *Anomala* sp.)**

Las larvas (gusanos) se pueden diferenciar de otras ya que presentan una forma de “c” y son de color blanco cremoso, la cabeza es de color café, las patas son muy peludas y desarrolladas figura 11. Los adultos (escarabajos de color pardo rojizo) emergen del suelo tres días después de que se establece el temporal de lluvias y a los 25 días aproximadamente aparece el gusano de gallina ciega durando hasta 6 meses en esta fase de desarrollo. Para después pupar y formar una galería en el suelo como adulto (CESAVEG, 2007). Se alimentan de las raíces y base del tallo por lo que causan la marchitez y muerte de la planta (Deras, 2014).



**Figura 11. Larva de gallina ciega.**  
Fuente: <http://www.fumigana.com/gallina-ciega/>

❖ **Gusano alfilerillo (diabrotica) (*Diabrotica virgifera zae*)**

El daño principal lo realiza la larva al alimentarse de la raíz. Las plantas dañadas presentan síntomas de falta de agua aún cuando exista buena humedad en el suelo, además el daño disminuye la capacidad de anclaje y soporte de la planta lo que ocasiona que el tallo se desarrolla de manera deforme, formándose lo que se conoce como “cuello de ganso” (CESAVEG, 2007). En la figura 12 se muestra las larvas y adulto de esta plaga localizadas en el suelo.



**Figura 12. Larva y adulto de diabrotica.**  
Fuente: CESAVEG, 2007.

❖ **Gusano de alambre (*Agriotes* sp.)**

Este insecto provoca fallas en la germinación y un bajo número de plantas establecidas en la parcela. En estado larvario dura de 1 a 6 años, por lo que se encuentran traslapes de generaciones en la misma planta (CESAVEG, 2007). En la figura 13 se muestra la larva del insecto que muestra un color anaranjado y posteriormente en su estado adulto es de color negro.

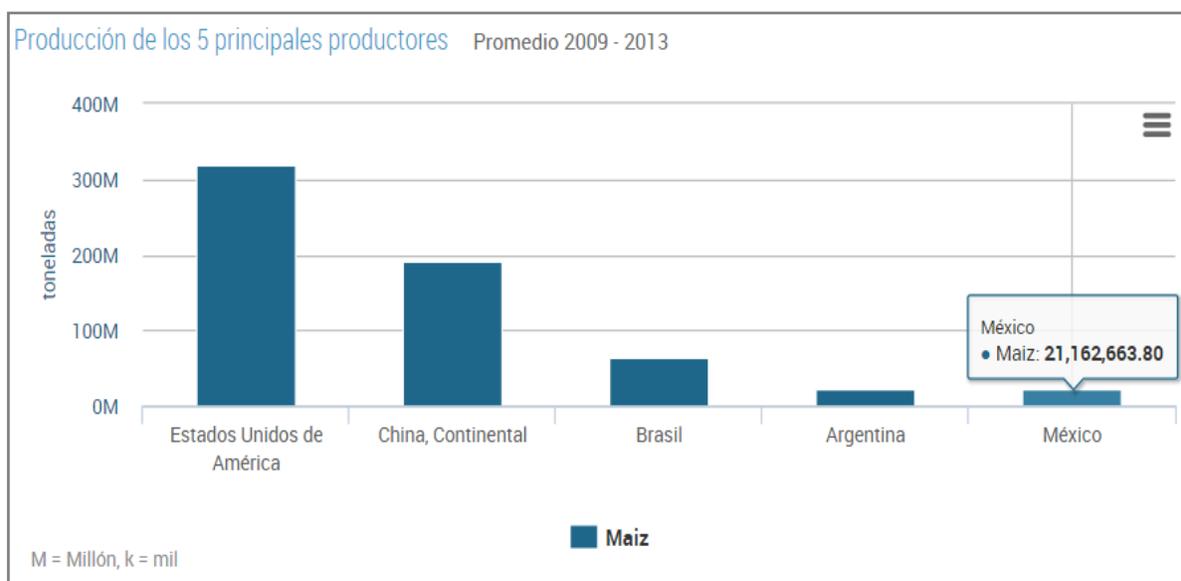


**Figura 13. Larva y adulto de gusano de alambre.**  
Fuente: CESAVEG, 2007.

### 1.2.10 Aspectos socioeconómicos

#### ❖ Producción mundial

En el mundo se cosechan cerca de 160 millones de hectáreas de maíz, siendo los EE.UU. los que tienen una mayor participación (21%), seguido de China (20%), Brasil (8%), India y Unión Europea (5% cada uno) y México (4%) (Secretaría de economía, 2012). En la figura 14 se muestra la producción mundial del maíz del 2009-2013, donde México ocupa el quinto lugar en producción. (FAOSTAT, 2015).



**Figura 14. Producción mundial del maíz.**  
Fuente: FAOSTAT, 2015.

#### ❖ Exportación e Importación

##### Exportación

Los principales países exportadores son Estados Unidos de América con el 15% de su producción; Argentina con el 77%, Ucrania exporta en promedio cerca de 42%, Brasil exporta 15% de su producción. En la tabla 7 se muestra los principales exportadores de maíz del 2006 al 2011, siendo el principal exportador Estados Unidos (Secretaría de Economía, 2012).

**Tabla 7. Principales países exportadores de maíz.**

(MILLONES DE TONELADAS) <sup>a/</sup>

P A I S	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12 (Proyectado Abril 12)
EE.UU.	54.2	60.7	47.8	49.7	45.3	43.5
ARGENTINA	15.7	15.7	8.5	17.0	15.2	14.0
UCRANIA	1.0	2.1	5.5	5.1	5.0	14.0
BRASIL	8.1	7.9	7.2	8.6	11.6	9.5
INDIA	0.6	5.1	2.6	1.9	3.4	2.4
SUDAFRICA	0.4	1.1	2.1	1.6	2.8	2.0
PARAGUAY	2.0	1.5	1.9	1.4	1.2	1.8
<b>SUBTOTAL</b>	<b>82.0</b>	<b>94.0</b>	<b>75.4</b>	<b>85.3</b>	<b>84.4</b>	<b>87.2</b>
OTROS PAISES	9.5	4.3	8.5	7.7	7.5	9.0
<b>TOTAL MUNDIAL</b>	<b>91.5</b>	<b>98.3</b>	<b>84.0</b>	<b>93.0</b>	<b>91.9</b>	<b>96.2</b>

a/ Cada periodo comprende de octubre de un año a septiembre del año siguiente.

**Fuente: Secretaría de economía, 2012.**

### Importación

Japón es el principal importador de maíz con un volumen de importación proyectado de 16.1 millones de toneladas (Secretaría de Economía, 2012).

Nuestro país ocupa el 2º lugar con el mayor volumen de importaciones del grano internacionalmente, importa entre 7 y 10 millones de toneladas (Financiera Rural, 2014).

Le siguen en importancia Corea, la Unión Europea, Egipto y Taiwán (Secretaría de Economía, 2012).

- **Producción nacional**

El maíz es el principal cultivo en México, participa con el 18% del valor de producción del sector agrícola (88 mil mdp en 2012 y 78 mil en 2013) y concentra el 33% de la superficie sembrada en el territorio nacional (7.5 millones de hectáreas) como se muestra en la tabla 8 donde se observa la superficie sembrada y cosechada en miles de hectáreas en los últimos 14 años. (Financiera Rural, 2014).

El rendimiento nacional alcanza en promedio las 3.2 ton/ha, siendo el rendimiento de temporal de 2.2 ton/ha y el de riego de 7.5 ton/ha. (Financiera Rural, 2014).

**Tabla 8. Producción de maíz en México.**

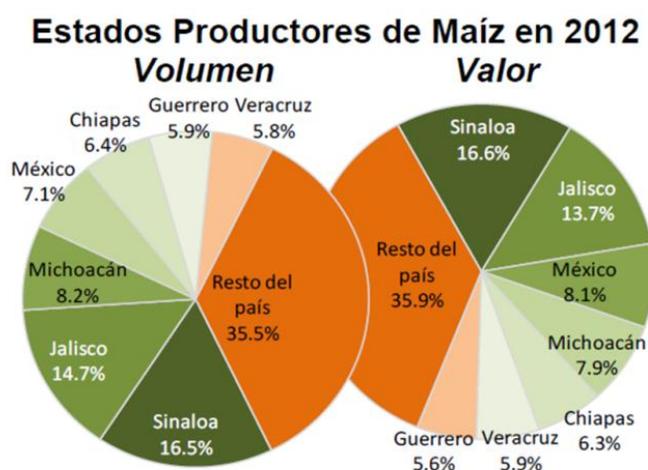
Año	Superficie (miles ha)		Volumen de producción (miles ton)	Rendimiento (ton/ha)	Precio medio rural (\$/ton)	Valor de producción (mdp)
	Sembrada	Cosechada				
2000	8,444.8	7,131.2	17,556.9	2.5	1,507.8	26,471.9
2001	8,396.9	7,810.8	20,134.3	2.6	1,451.1	29,216.4
2002	8,270.9	7,118.9	19,297.8	2.7	1,500.6	28,957.5
2003	8,126.8	7,520.9	20,701.4	2.8	1,618.0	33,495.1
2004	8,403.6	7,696.4	21,685.8	2.8	1,678.6	36,401.6
2005	7,978.6	6,605.6	19,338.7	2.9	1,577.9	30,515.1
2006	7,807.3	7,294.8	21,893.2	3.0	2,010.6	44,017.4
2007	8,117.4	7,333.3	23,512.8	3.2	2,442.0	57,417.9
2008	7,942.3	7,344.3	24,410.3	3.3	2,817.0	68,764.9
2009	7,726.1	6,223.0	20,142.8	3.2	2,802.1	56,441.2
2010	7,860.7	7,148.0	23,301.9	3.3	2,816.5	65,629.4
2011	7,750.3	6,069.1	17,635.4	2.9	4,077.8	71,913.9
2012	7,372.2	6,923.9	22,069.3	3.2	4,009.6	88,489.6
2013p	7,503.7	7,104.2	23,042.0	3.2	3,385.2	78,001.0
2014e	7,469.5	7,071.9	22,630.0	3.2	N/D	N/D

Fuente: SIAP - SAGARPA. /p Cifras preliminares /e Cifras estimadas

Fuente: Financiera Rural, 2014.

- **Principales Estados productores de maíz**

Todas las entidades del país presentan algún nivel de producción de maíz, sin embargo, siete entidades concentran el 64.5% del volumen de producción nacional. Sinaloa es el principal productor al concentrar el 16.5% del total. Le siguen en importancia Jalisco, Estado de México, Michoacán, Chiapas, Veracruz y Guerrero como se muestra en la figura 15 (Financiera Rural, 2014).



**Figura 15. Principales estados productores del maíz en México.**  
Fuente: SIAP-SAGARPA, 2015

### 1.3 Gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith)

#### 1.3.1 Generalidades

Es una especie originalmente del continente americano, que se distribuye en los trópicos y subtropicos (Murúa *et al.*, 2003). Su amplia distribución geográfica va desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina y Chile (Zenner *et al.*, 2005). Debido a la gran voracidad de sus larvas que son capaces de desplazarse importantes distancias cuando escasea el alimento, a la particularidad de formar grandes poblaciones y a la alta tasa de dispersión de los adultos, convierten a esta especie en una plaga extremadamente peligrosa, siendo una de las más destructivas del Continente Americano. Los ataques se producen con gran rapidez y con frecuencia sólo son detectados cuando ya hay daño irreparable en el cultivo (Murúa *et al.*, 2003).

*Spodoptera frugiperda*, es un insecto polífago, de la familia Noctuidae, que ocasiona numerosas pérdidas económicas en diversos cultivos: como maíz, sorgo, arroz, algodón, alfalfa, pastos, avena, caña de azúcar, cebolla, poroto, papa, sorgo, tomate y trigo entre otros (Nexticapan *et al.*, 2009 y Murúa *et al.*, 2003); esta característica, junto a su poder de aclimatación a diferentes condiciones, permite que su distribución geográfica sea amplia, pudiendo migrar a zonas más frías en verano (Murúa *et al.*, 2003).

Su hospedante preferencial es el maíz (*Zea mays* L) (Casmuz *et al.*, 2010). Ataca en todas las etapas de crecimiento de la planta, pudiendo provocar la destrucción completa de la planta (Nexticapan *et al.*, 2009). Ataca este cultivo con niveles de densidad variables, pero siempre poniendo en riesgo la productividad del mismo. Cuando afecta las plantas jóvenes, los daños pueden ser totales, mientras que si afecta las plantas en estados fenológicos avanzados, pueden reponerse de la defoliación llegando a una producción normal (Casmuz *et al.*, 2010). Con su daño directo al cogollo de la planta de maíz provoca pérdidas económicas debido a la reducción del rendimiento, pero también daña el tallo, espiga y elote (Cortez y Valenzuela, 2012) y en ocasiones con mayor incidencia que el mismo gusano elotero *Helicoverpa zea* (Cortez *et al.*, 2006).

En México el gusano cogollero es considerado una de las plagas más importantes debido a los daños que causa en diversas entidades del país donde las pérdidas pueden ser hasta del 100% (Bahena y Velázquez, 2012).

Los daños más serios corresponden a las zonas de temporal y subtropicales, pero su distribución es muy amplia, ocasionando daños en todas las zonas productoras de maíz en el país, inclusive hasta en el Distrito Federal donde existen zonas de sembradíos de maíz (SAGARPA-SENASICA-SEDEREC, 2009). Además afecta la productividad de las plantaciones y por ende la economía de muchos agricultores, no sólo por la pérdida de los cultivos sino también por la existencia de una constante relación entre el costo del control de la plaga y las pérdidas producidas por esta, por lo que es más difícil establecer los umbrales del nivel de daño económico (Chacón *et al.*, 2008).

### 1.3.2 Clasificación taxonómica

De acuerdo a Borro *et al.*, citado por Fernández (1995), la clasificación taxonómica del gusano cogollero se muestra en la tabla 9:

**Tabla 9. Taxonomía del gusano cogollero.**

Reino	Animal
Phylum	Artrópoda
Subphylum	Mandibulata
Clase	Insecta
Subclase	Endopterygota
División	Pterygota
Orden	Lepidoptera
Suborden	Frenatae
Súper familia	Noctuoidea
Familia	Noctuidae
Subfamilia	Amphipyridae
Tribu	Prodeniini
Genero	<i>Spodoptera</i>
especie	<i>Spodoptera frugiperda</i>

**Fuente: Fernández, 1995.**

El insecto fue descrito por primera vez en 1797 como *Phaleana frugiperda* por el Caballero James Edgard Smith en 1797. En 1852, Guenee coloca a *frugiperda* en el género *Laphygma*. Aunque se han propuesto varios otros nombres, *Laphygm frugiperda* y poco después fue aceptada hasta la revisión de Zimmerman (1958) sinonimizado *Laphygma* y *Spodoptera* (Peairs y Saunders, 1978).

### 1.3.3 Hábitos

*Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) también se le llega a conocer como “oruga militar tardía” ya que si el alimento se hace escaso, las larvas se trasladan a otros cultivos desplazándose en masa (como un “regimiento”) (Casmuz *et al.*, 2010). Es un insecto polífago que ocasiona numerosas pérdidas en diversos cultivos, al ser de origen tropical y subtropical, el insecto completa todos sus estados de desarrollo en forma continua a lo largo del año. En las zonas templadas y frías se comporta como una plaga estacional, no sobrevive los fríos invernales dado que carecen de mecanismos de diapausa. Las condiciones climáticas están significativamente relacionadas con los cambios poblacionales y la dispersión de *S. frugiperda* (Casmuz *et al.*, 2010). Esta especie, usualmente, migra todos los años hacia el norte del continente americano por lo que son comunes las explosiones poblacionales locales. Cuando esto ocurre, *S. frugiperda* puede cubrir su área común de distribución y también invadir zonas de transición. Se especula que esta migración le permitiría a la oruga evitar condiciones climáticas adversas para al desarrollo de las plantas hospederas y así escapar de los enemigos naturales (Casmuz *et al.*, 2010). En la fase adulta el gusano cogollero es una palomilla de hábitos nocturnos (Mena, 2009).

Cada hembra ovipone un promedio de  $1,044 \pm 391,8$  huevos a lo largo de su vida, agrupados en masas que promedian los 100 a 150 huevos cada una (Casmuz *et al.*, 2010). Los lugares en donde estos huevos son depositados no siempre corresponden a la planta que va a servir de alimento para las larvas, ya que cuando ocurren grandes explosiones poblacionales, pueden ser hallados en lugares tan diversos como postes de luz, paredes, alambrados, etc. Cuando se encuentra en los cultivos como el maíz, independientemente de su estado fenológico, son colocados sobre las hojas, en la parte media de la planta, preferentemente en el envés y/o en la zona basal de las mismas. Luego de emergidas, las

larvas permanecen agrupadas en la parte baja de las plantas, refugiadas entre las hojas. El primer alimento de las mismas es el corion de los huevos, después de lo cual, si el hospedero no es el adecuado, migran a través de un hilo de seda en busca de alimento. Las larvas más jóvenes comen durante el día mientras que en los últimos estadios son más activas de noche (Casmuz *et al.*, 2010).

Durante las primeras horas, los estadios larvarios jóvenes presentan una respuesta positiva a la luz y como resultado se mueven hacia la parte superior de la planta de maíz, donde pueden ser movidas por el viento a otras plantas. Por sí solas las larvas pueden dispersarse en un tiempo de dos horas cuando la temperatura alcanza 35°C (García y Tarango, 2009).

Para pupar, se entierran en el suelo, entre 3 y 5 cm de profundidad, donde forman una cámara pupal, en la cual permanecen por 10 días aproximadamente, para posteriormente emerger como adultos. Los adultos copulan y pueden oviponer en el mismo cultivo (Casmuz *et al.*, 2010).

#### 1.3.4 Ciclo de vida

El ciclo de vida se completa en aproximadamente 30 a 40 días durante el verano, pero 60 días en la primavera y el otoño, y de 80 a 90 días durante el invierno. El número de generaciones que se producen en una zona varía con la aparición de los adultos dispersantes (Capinera, 2014) y depende de la temperatura y humedad del lugar donde se encuentren (Casmuz *et al.*, 2010).

En la figura 16 se muestra un esquema del ciclo de vida del gusano cogollero, sus etapas, la duración en día de cada una de ellas y la duración completa del ciclo de vida.

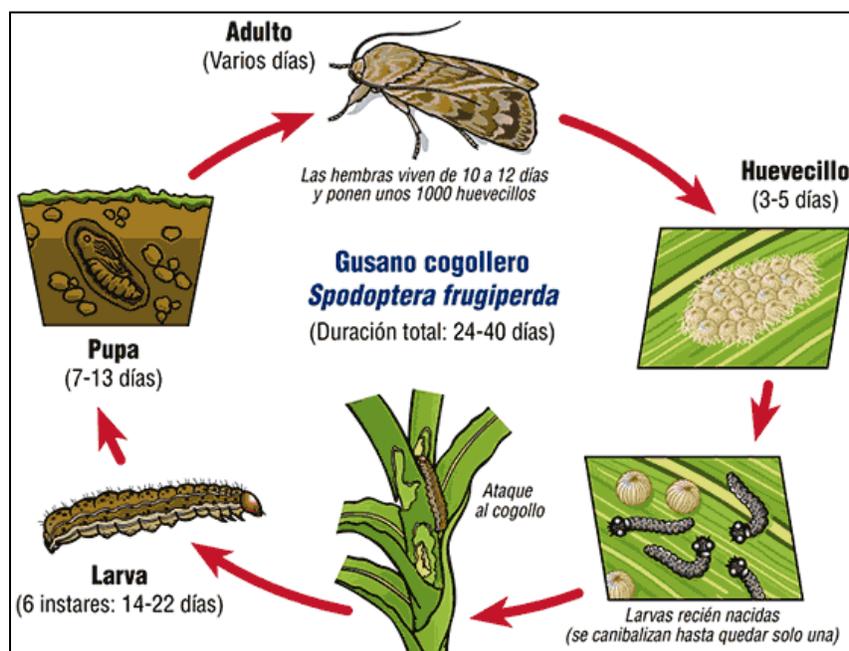


Figura 16. Ciclo de vida del gusano cogollero.

Fuente: [www.cordobatimes.com](http://www.cordobatimes.com)

### 1.3.5 Características morfológicas

- **Huevo**

Los huevos son de color blanco perla (García y Tarango, 2009) y tienen forma de cúpula figura 17. Cada huevo mide aproximadamente alrededor de 0.4mm de diámetro y 0.3mm de largo (Capinera, 2014). Individualmente son de forma globosa, con estrias radiales, conforme se aproxima la eclosión se tornan de color gris (Negrete y Morales, 2003).

El número de huevos por ovipostura varía considerablemente, pero a menudo es de 100 a 200, y la producción de huevos total por hembras es de 1500, con un máximo de más de 2000. Los huevos se depositan en grupos, pero la mayoría de los huevos se extiende sobre una sola capa unida al follaje. Las hembras también depositan una capa de escamas grisáceas (Capinera, 2014) y secreciones bucales de la palomilla (García y Tarango, 2009) teniendo un aspecto peludo o con moho. La duración de la etapa de huevo es sólo de dos a tres días durante los meses de verano (Capinera, 2014).



**Figura 17. Ovipostura de gusano cogollero.**  
Fuente: [www.agenciadenoticias.unal.edu.co](http://www.agenciadenoticias.unal.edu.co)

- **Larva**

Por lo general, son seis estadios en gusano cogollero.

Las larvas alcanzan longitudes de aproximadamente de 1.7, 3.5, 6.4, 10.0, 17.2, y 34.2 mm, respectivamente, durante estos estadios (Capinera, 2014).

Las larvas jóvenes son de color verdoso y la cabeza de color negro figura 18A (Capinera, 2014), conforme van creciendo van cambiando de color hasta ser dorsalmente sobre todo verde (Bahena y Velázquez, 2012) con tres rayas pálidas longitudinales (García y Tarango, 2009) como se muestra en la figura 18B y en el octavo segmento abdominal presentan cuatro puntos negros en forma de cuadrado (pináculos setíferos dorsales) (Bautista, 2013). En la parte frontal de la cabeza de la larva madura se distingue una "Y" blanca invertida (García y Tarango, 2009).

Las larvas poseen hábitos caníbales por lo que raramente se encuentran más de una larva por cogollo a partir de que se encuentran en el tercer instar, por lo que cuando inician su desarrollo es muy raro observar a más de una larva por planta (Bahena y Velázquez, 2012).

La Duración de la fase larvaria tiende a ser alrededor de 14 días durante el verano y 30 días durante el clima frío (Capinera, 2014).



Figura 18. Larvas de gusano cogollero. A, Larvas recién emergidas. B, Larvas de los últimos instares.  
Fotografía: Capinera, 2014.

- **Pupa**

La pupación tiene lugar normalmente en el suelo, a una profundidad de 2 a 8cm. La larva construye un capullo, de forma oval de 20 a 30mm de longitud y alrededor de 4.5mm de ancho, utilizando partículas del suelo junto con la seda que ellas producen. Si el suelo es demasiado duro, las larvas utilizan restos de hojas y otros materiales para formar un capullo en la superficie del suelo. La duración de la fase de pupa es de aproximadamente ocho a nueve días durante el verano, pero alcanza los 20 a 30 días durante el invierno. El estado de pupa de gusano cogollero no puede soportar períodos prolongados de tiempo frío (Capinera, 2014). En la figura 19 se muestra la pupa del gusano cogollero y junto a ella se observa la última muda de la larva.



Figura 19. Pupa de gusano cogollero.  
Fuente: Vladimir Savchuk.

- **Adulto**

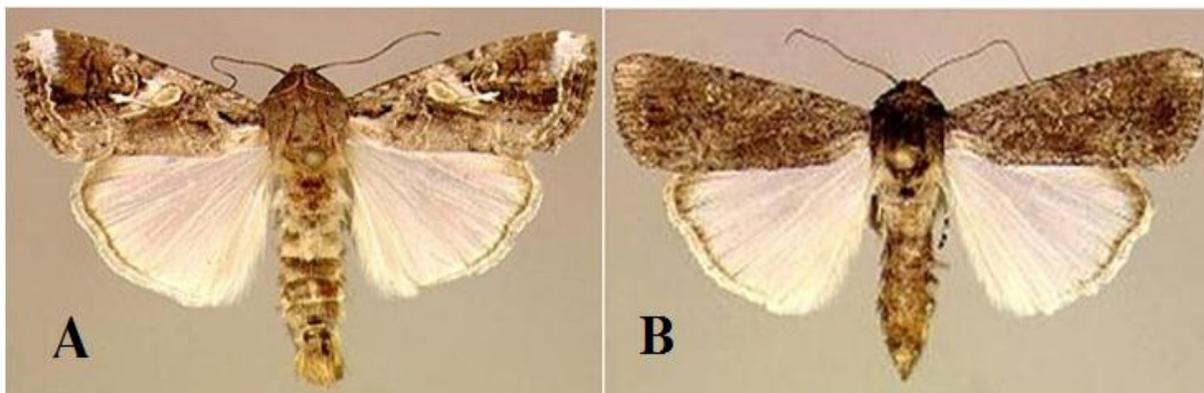
El adulto es una palomilla generalmente de color café grisáceo (García y Tarango, 2009) tienen una envergadura de 32 a 40mm (Capinera, 2014).

En la palomilla macho, las alas anteriores generalmente son grises y marrones, con manchas blancas triangulares en la punta y cerca del centro del ala, como se muestra en la figura 20A. Las alas anteriores de las hembras están menos marcadas, que van desde un color marrón grisáceo uniforme a un moteado de gris y marrón figura 20B. El ala posterior o trasera en ambos sexos son de color blanco plateado (Capinera, 2014).

En reposo doblan sus alas sobre el cuerpo, formando un ángulo agudo que permite la observación de una prominencia ubicada en el tórax (Negrete y Morales, 2003).

Los adultos son nocturnos, y son más activos durante climas cálidos y noches húmedas cuando son capaces de desplazarse a varios kilómetros de distancia, especialmente cuando soplan vientos fuertes, también son atraídos por la luz. Permanecen escondidos dentro de las hojarascas, entre las malezas, o en sitios sombreados durante el día (Negrete y Morales, 2003).

La hembra deposita normalmente la mayoría de sus huevos durante los primeros cuatro a cinco días de vida. La duración de la vida adulta se estima en un promedio de unos 10 días (Capinera, 2014).



**Figura 20. Adulto del gusano cogollero. A, Palomilla macho. B, Palomilla hembra.**

**Fuente: Bautista, 2013.**

### 1.3.6 Daño que ocasiona a la planta de maíz

El maíz es afectado en todos sus estados fenológicos, sin embargo, existe una marcada preferencia de las larvas por las plantas más jóvenes (Casmuz *et al.*, 2010).

El cogollero genera 4 formas de daño las cuales se presentan a continuación (Gutiérrez y Sosa, 2012):

- **Como raspador**

La larva de primer estadio (larvas recién nacidas) consume el tejido foliar por un lado, sin llegar a perforarlo (García y Tarango, 2009), dejando la capa de epidermis del lado opuesto intacta (Casmuz *et al.*, 2010), como se muestra en la figura 21.



**Figura 21. Daño a la planta de maíz por larvas recién emergidas de gusano cogollero.**

Fuente: [www.google.com.mx](http://www.google.com.mx)

- **Como cortador**

El daño de las larvas durante los primeros días de desarrollo de la planta puede ser de dos tipos: corta la planta cerca del suelo como se muestra en la figura 22B, ésta puede volver a crecer pero con un retraso en relación a otras. Cuando el maíz está pequeño y el gusano está grande puede cortar el tallo de la planta (Gutiérrez y Sosa, 2012) o la defolia parcial o totalmente como se muestra en la figura 22A. A medida que el cultivo va creciendo (de seis hojas en adelante), el daño se circunscribe al cogollo (Casmuz *et al.*, 2010).



Figura 22. A, Gusano cogollero trozando el tallo del maíz. B, Daño a la planta del maíz.

Fuente: [www.google.com.mx](http://www.google.com.mx)

- **Comiendo hojas**

A medida que el gusano crece, come toda la hoja como se muestra en figura 23. A partir del II o III estadio larval, comienzan a perforar las hojas. Cuando se alimentan en el punto de crecimiento del maíz (cogollo), producen un tipo de daño característico que consiste en una fila de perforaciones en las hojas. Las larvas más grandes (últimos estadios) causan una intensa defoliación y a menudo dejan solamente las nervaduras y los tallos (Casmuz *et al.*, 2010).



Figura 23. Daño en hojas de maíz y defoliación completa de la planta de maíz.

Fuente: [www.google.com.mx](http://www.google.com.mx)

- **Como cogollero**

Que generalmente es cuando el gusano se mete dentro el cogollo (Gutiérrez y Sosa, 2012). Los ataques más perjudiciales se tienen cuando son atacadas plántulas y plantas pequeñas hasta el primer mes, (a pesar de que los daños sean más evidentes mucho tiempo después), cuando las hojas que fueron dañadas en el cogollo están completamente expuestas. Las hojas dañadas presentan perforaciones y rasgaduras de gran tamaño (Bahena y Velázquez, 2012).

El síntoma clásico es el daño que la larva hace al cogollo del maíz, en el que se observa la defoliación y los excrementos de la plaga como se muestra en la figura 24 (Bahena y Velázquez, 2012).

Cuando comienzan a alimentarse del cogollo destruyen el potencial de crecimiento de la planta, quiebran las hojas y las plantas pierden su parte distal, reduciéndose así su capacidad fotosintética. En la última parte de etapa del cultivo, la larva puede causar daños a la panoja que se desarrolla dentro de la hoja bandera, pero su importancia es muy relativa. Una vez emergida la panoja, la larva ya no puede alimentarse del cogollo, recurre entonces a las espigas en desarrollo o a las hojas. El daño provocado en los estigmas reduce la polinización y produce una disminución de granos en la espiga. Las larvas también se alimentan de los granos, causando pérdidas directas en la mazorca (Casmuz *et al.*, 2010).



**Figura 24. Larva localizada en el cogollo de la planta de maíz.**

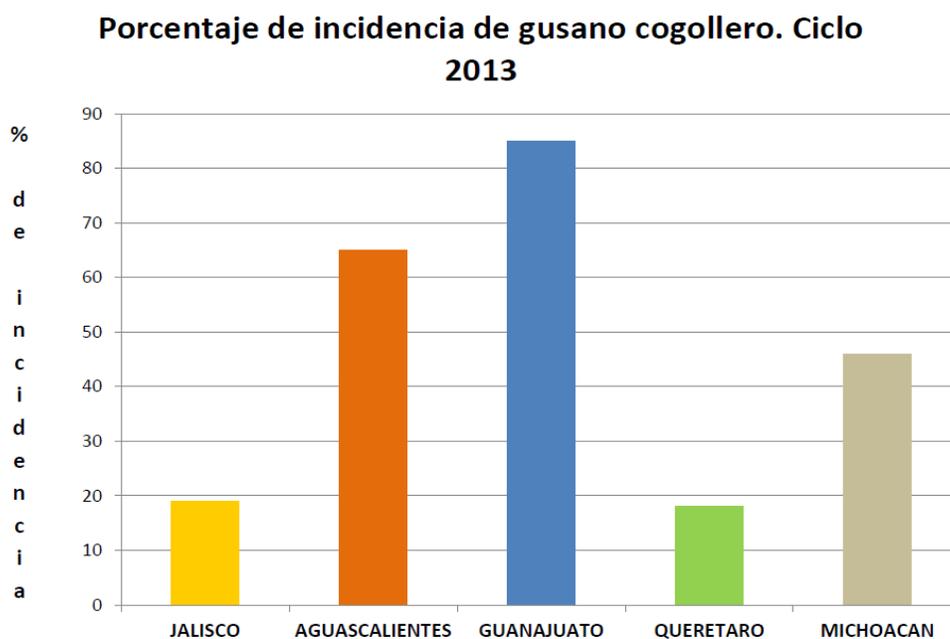
Fuente: [www.google.com.mx](http://www.google.com.mx)

### 1.3.7 Gusano cogollero en México

En México el gusano cogollero es considerado una de las plagas más importantes debido a los daños que causa y en diversas entidades del país se han registrado pérdidas que van desde el 13 hasta el 60% (SAGARPA-SENASICA-SEDEREC, 2009).

A partir del año 2008 se han incrementado los niveles de infestación de gusano cogollero, afectando principalmente maíz y sorgo. Se considera que probablemente ya haya desarrollado resistencia a insecticidas y debido al uso excesivo de plaguicidas ha habido intoxicaciones (SAGARPA-SENASICA-CESAVEG, 2013).

Los estados con mayor porcentaje de incidencia del gusano cogollero se muestran en la figura 25.



**Figura 25. Incidencia del gusano cogollero.**  
Fuente: SAGARPA-SENASICA-CESAVEG, 2013

De los cuales los estados con mayor superficie afectada son (SAGARPA-SENASICA-CESAVEG, 2013).:

- Guanajuato con 480,000 Hectáreas
- Querétaro con 237,031.45 hectáreas
- Aguascalientes con 99,434.5 hectáreas
- Michoacán con 29,984 hectáreas

### 1.3.8 Muestreo y métodos de control

En el manejo de las poblaciones de *Spodoptera* en maíz es necesario llevar registros permanentes sobre época de llegada de la plaga al cultivo, su incremento poblacional con relación al desarrollo de las plantas, grado de infestación o avance de "daño fresco" figura 26, frecuencia e intensidad de las lluvias, abundancia y actividad de la fauna benéfica. Todos estos registros de la situación de campo realizados una ó dos veces por semana permitirán conocer la dinámica de la plaga (García *et al.*, 1999).



**Figura 26. Daño fresco hecho por el gusano cogollero.**  
Fuente: García y Tarango, 2009

- **Muestreo del adulto (palomilla de gusano cogollero)**

Las poblaciones de la palomilla pueden ser muestreados con trampas de luz negra y trampas de feromonas; estas últimas son más eficientes. Las capturas no son necesariamente buenos indicadores de densidad, pero indican la presencia de polillas en un área (Capinera, 2014). Se colocan 10 trampas por predio sembrado y se revisan 2 veces por semana. Capturas superiores a 200 palomillas por trampa se relaciona con 60% o más de plantas con daño y 50 % o más de plantas con presencia de larvas. La trampa más común de feromonas utilizada es la de garrafa como se muestra en la figura 27 (García y Tarango, 2009).

Una vez que se detectan las palomillas es aconsejable buscar huevos y larvas (Capinera, 2014).



Figura 27. Trampa de feromonas.

Fuente: [www.google.com.mx](http://www.google.com.mx)

- **Muestro en plantas de maíz**

Es importante iniciar con los muestreos al menos 2 a 3 semanas después de la germinación de la planta de maíz a fin de detectar las masas de huevecillos o la presencia de larvas de los primeros estadios, preferentemente hasta antes del tercero. Cuando entre el 10 y 20% de las plantas muestreadas tienen larvas, se deben de tomar decisiones de aplicar algún tratamiento (Bahena y Velázquez, 2012).

La detección temprana de infestaciones de la plaga permitirá un control más efectivo y económico, ya que son los primeros estadios larvales los más sensibles a los insecticidas. Las larvas de mayor tamaño son difíciles de controlar por el hábito que tienen de protegerse con tapones de su excremento figura 28 (García y Tarango, 2009).

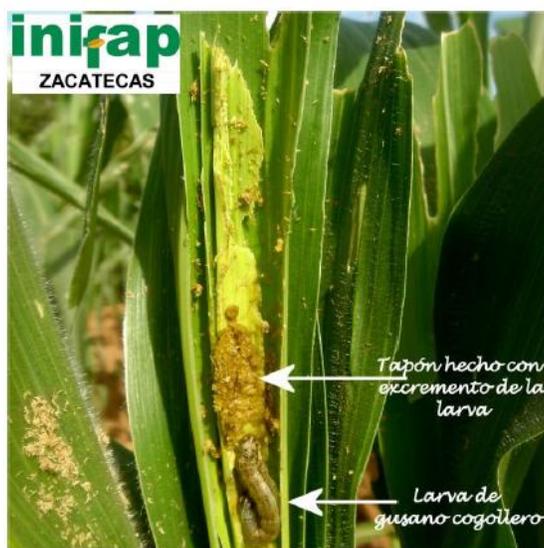


Figura 28. Tapón de excreta hecho por la larva en el cogollo de la planta de maíz.

Las medidas de control deben aplicarse cuando se detecte un 5% de masa de huevos o cuando el 25% de las plantas exhiban síntomas iniciales de daño (García y Tarango, 2009). Si el porcentaje de plantas con daño sobrepasa el 40% se acude al manejo microbiológico en las larvas como primera opción de control (García *et al.*, 1999).

Simultáneamente con el monitoreo de la plaga debe registrarse la abundancia y actividad de depredadores, parasitoides y entomopatógenos, estimando su población según el área o población de plantas examinadas. El incremento o descenso del “daño fresco” del cogollero de maíz será un índice de la efectividad o eficacia de cada una de las medidas o factores de regulación empleados (García *et al.*, 1999).

- **Control biológico natural**

Es la regulación de las poblaciones de la plaga por sus enemigos naturales sin la intervención del hombre (García y Tarango, 2009).

El gusano cogollero es una plaga con un gran número de enemigos naturales, los cuales pueden ser parasitoides, depredadores o entomopatogenos, en la tabla 10 se mencionan algunas de estas especies. Es importante cuantificar el efecto de los insectos benéficos nativos, conservarlos y fomentar su actividad, particularmente a través del uso de agroquímicos selectivos (García y Tarango, 2009).

**Tabla 10. Especies de insectos y de entomopatógenos mas comunes que atacan al gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*.**

Parasitoides	Depredadores	Entomopatógenos
<i>Telenomus sp.</i>	<i>Zelus spp.</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
<i>Trichogramma atopovirilla</i>	<i>Orius tristicolor</i>	Virus de la poliedrosis nuclear
<i>T.pretiosum</i>	<i>Cycloneda sanguinea</i>	<i>Nomuraea rileyi</i>
<i>T. exiguum</i>	<i>Hyppodamia convergens</i>	<i>Steinernema carpocapsae</i>
<i>Chelonus insularis</i>	<i>Coleomegilla maculata</i>	
<i>Meteorus laphygmae</i>	<i>Podisus sp.</i>	
<i>Apanteles sp.</i>		
<i>Eiphosoma sp.</i>		
<i>Winthemia sp.</i>		
<i>Sarcophaga sp.</i>		
<i>Archytas marmoratus</i>		

Fuente: García y Tarango, 2009.

Otro ejemplo de mortalidad de gusano cogollero es causada por la avispa *Chelonus spp.* llega a causar la mayor mortalidad de larvas, logrando porcentajes de 60% de parasitismo en la larva. El hongo *Nomuraea rileyi* conforme avanza el desarrollo del cultivo llega a ser causa principal de mortalidad natural en larvas, llegando a alcanzar un máximo de 30% (García y Tarango, 2009).

- **Control biológico inducido**

Se basa principalmente en liberaciones de parasitoides de huevos del gusano cogollero, y las avispas *Trichogramma* y *Telenomus* las más usadas. Las liberaciones de estos insectos deben realizarse desde el nacimiento de las plantas y por dos o tres semanas más, época en que ocurre la oviposición del insecto plaga (García y Tarango, 2009).

La dosis a liberar de cada parasitoide depende de la densidad de infestación de la plaga y puede variar de 33,000 a 100,000 adultos de *Telenomus* por hectárea, en una sola liberación o fracciones (según el ritmo de oviposición de *S. frugiperda*) o 250 pulgadas de *Trichogramma* fraccionadas en cuatro o cinco liberaciones (García y Tarango, 2009).

Los Baculovirus son virus entomopatógenos que se han aislado principalmente de insectos de orden Lepidóptera y son agentes importantes del control biológico. Una vez que el baculovirus es ingerido por el insecto, éste se sitúa en el intestino medio y debido a su pH alcalino se liberan las partículas virales, las cuales se dirigen hacia el núcleo celular en donde se replica el virus. En un inicio las larvas infectadas no presentan síntomas, posteriormente dejan de alimentarse, el integumento se torna blanco-grisáceo, se rompe y se observa un fluido blanco grisáceo; al morir la larva queda colgando de las propatas en un posición de “v” invertida, lo cual favorece la dispersión del virus en el ambiente. Otra alternativa de control biológico es el uso de la bacteria *Bacillus thuringiensis* o el hongo *Nomuraea rileyi*. Estos agentes de control pueden ser utilizados como un componente del Manejo Integrado de Plagas debido a que son selectivos a la plaga (García y Tarango, 2009).

- **Control físico**

Las lluvias continuas, (especialmente en las primeras tres semanas de sembrado el maíz, época en la cual ocurre la mayor oviposición y nacimiento de larvas), constituye en un

control físico de *Spodoptera* que ayuda a la reducción del daño fresco por alta mortalidad que causa en las larvas pequeñas, muchas de las cuales mueren por ahogamiento en el cogollo. Las larvas que logran escapar se exponen a la acción de parasitoides, depredadores y entomopatógenos. Otras actividades como el riego, especialmente cuando se hace por aspersión en horas de la noche, a la vez que interfiere la oviposición de las plaga, contribuye a la mortalidad de las larvas pequeñas. La recomendación generalizada que se da es la de realizar las siembras de maíz cuando comienza el tiempo de lluvias (García *et al.*, 1999).

- **Control químico**

Insecticidas biorracionales tales como los spinosines, *Bacillus thuringiensis* (Bt), reguladores del crecimiento de insectos (RCI), varían de acuerdo con su toxicidad y su impacto ecológico.

- ❖ Spinosines

Es un nuevo grupo de insecticidas, derivados de la bacteria del suelo *Sacharopolyspora spinosa*. Su modo de acción consiste en mimetizar la acetil colina, provocando un desorden en los impulsos nerviosos del insecto.

Los spinosines, a diferencia de los reguladores del crecimiento de insectos, poseen una selectividad muy variable; de manera particular los efectos adversos del spinosad son mayores en insectos parasitoides que en depredadores (García y Tarango, 2009).

- ❖ *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Los insecticidas a base de Bt son tóxicos para larvas de ciertos insectos, particularmente de lepidópteros. Es el entomopatógeno más utilizado como agente de control biológico, más de 90% del mercado de bioinsecticidas es de productos a base de esta bacteria. El Bt necesita ser ingerido para poder llevar a cabo su efecto tóxico, las larvas dejan de alimentarse, se presenta una parálisis del intestino, diarrea, parálisis total y finalmente la muerte (García y Tarango, 2009).

❖ Reguladores del crecimiento de insectos (RCI)

Los RCI son una alternativa eficaz para el control de las plagas, debido a que tienen una muy baja toxicidad a mamíferos y respetan la fauna insectil benéfica. La clase más nueva de este grupo de insecticidas la integran el tebufenocide, metoxifenocide, halofenocide y cromafenocide, pertenecientes al grupo de las hidrazinas. El metoxifenocide es específico para larvas de lepidópteros y ha mostrado buenos resultados para el control del gusano cogollero, su modo de acción es elevar el nivel de ecdisona en la hemolinfa, lo que provoca que la larva inicie la muda de forma prematura y desordenada. Las larvas afectadas permanecen apresadas entre la cutícula nueva defectuosa y la anterior. Al parecer los insectos afectados mueren en su intento de desprenderse de la capsula cefálica.

Debido a su especificidad los RCI no son tóxicos para otros órdenes de insecto (García y Tarango, 2009).

# **CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

## 2.1 Objetivo general y objetivos particulares

### Objetivo general.

Evaluar el efecto que tienen las plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con dos diferentes tipos de quitosán en contra del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) a través de la cuantificación del consumo de la planta y su efecto en la supervivencia de esta plaga, como una alternativa al uso de insecticidas químicos.

### Actividades preliminares

- Limpieza de gorgojo de frijol *Zabrotes subfaciatus* (Boheman).
- Extracción de quitina de insecto del gorgojo de frijol y su conversión a quitosán por el método químico.
- Obtención de quitosán de crustáceo.
- Siembra y riego de semillas de maíz en invernadero sin acondicionar.
- Colecta de larvas de gusano cogollero en cultivos de maíz.
- Cría del gusano cogollero en laboratorio.
- Preparación de soluciones de quitosán a diferentes concentraciones de dos diferentes fuentes (insecto y crustáceo).
- Acondicionamiento y siembras de semillas de maíz.

### Objetivo particular 1

Evaluar el daño de la planta del maíz procedente de semillas acondicionadas con quitosán, a través de la cuantificación del área de follaje consumido por el gusano cogollero.

- **Variable independiente:** QN de camarón, QN de insecto.
- **Variable dependiente:** Consumo de la planta de maíz.

- **Variable de Respuesta:** Daño en planta.

### Objetivo particular 2

Evaluar el efecto de las plantas procedentes de semilla de maíz acondicionadas con quitosán en el desarrollo del gusano cogollero a través de la duración en días de las etapas de larva, pupa, hasta la emergencia de la palomilla.

- **Variable independiente:** QN de camarón, QN de insecto.
- **Variable dependiente:** desarrollo de la etapa de larva, pupa, hasta la emergencia de la palomilla del gusano cogollero.
- **Variable de Respuesta:** efecto en el desarrollo de las etapas de larva, pupa, hasta la emergencia de la palomilla del gusano cogollero.

### Objetivo particular 3

Comparar el efecto de quitosán extraído de crustáceo contra el efecto de quitosán extraído de insecto, sobre el consumo foliar de las plantas de maíz hecho por el gusano y sobre el desarrollo de las etapas de larva, pupa, hasta la emergencia de la palomilla.

- **Variable independiente:** QN de camarón, QN de insecto.
- **Variable dependiente:** Consumo de la planta de maíz y desarrollo de las etapas de larva pupa, hasta la emergencia de la palomilla del gusano cogollero.
- **Variable de Respuesta:** Diferencia en el uso de QN de camarón con el QN de insecto a diferentes concentraciones.

En la figura 29 se muestra el cuadro metodológico, donde se describe la secuencia de pasos en cómo se realizó esta experimentación.

## 2.2 Cuadro metodológico

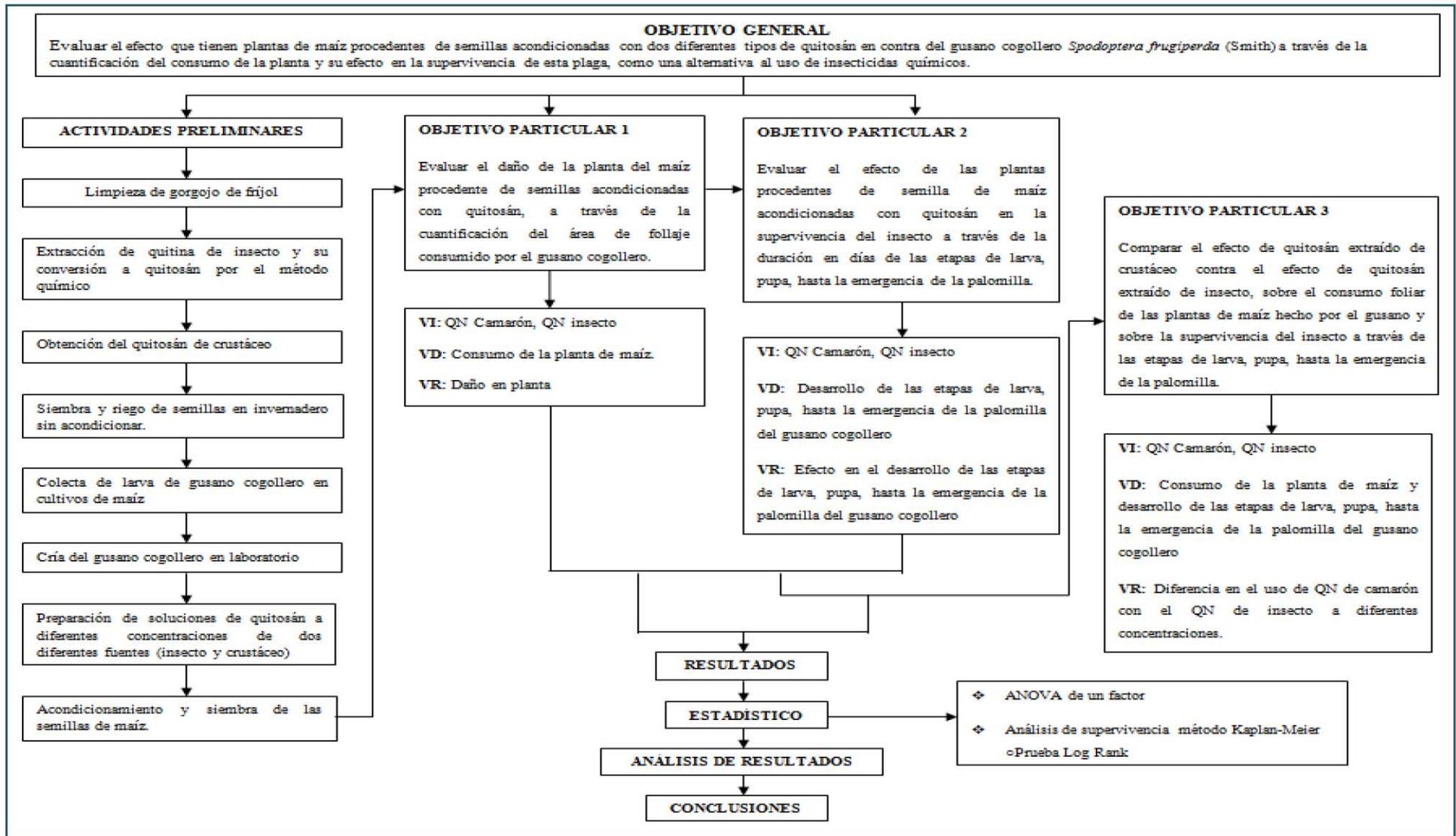


Figura 29. Cuadro metodológico.

En la figura 30 se muestra un esquema sencillo que permite ejemplificar de manera fácil la realización de la experimentación con los gusanos, el cual consistió en 4 repeticiones del acondicionamiento de la semilla de maíz por cada concentración de cada tipo de quitosán, cabe mencionar que en cada repetición se evaluó el consumo del follaje de la planta de maíz hecho por el gusano cogollero y a su vez la supervivencia del insecto al consumir el follaje.

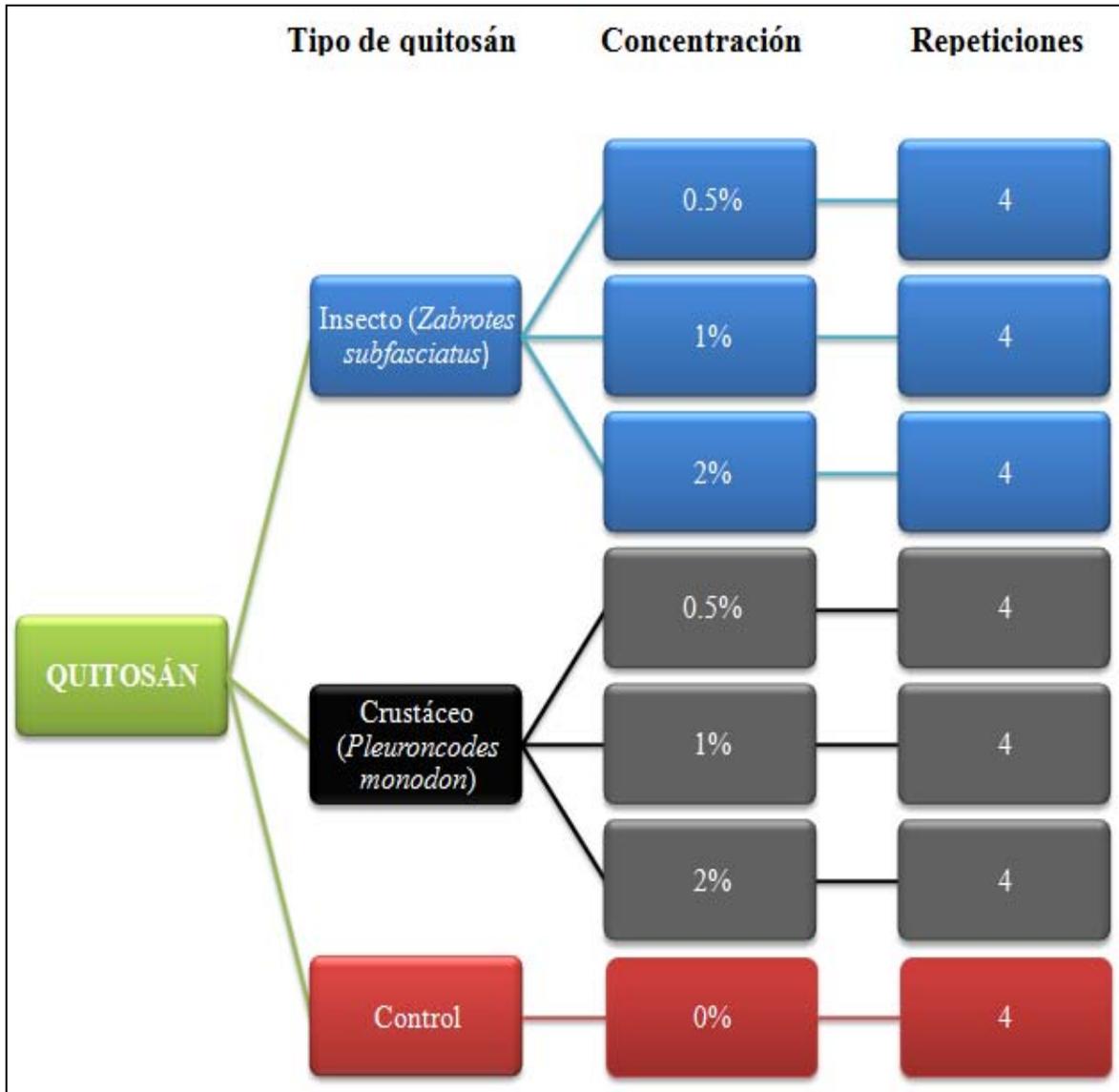


Figura 30. Esquema de planteamiento de los acondicionamientos de la semilla de maíz.

## 2.3 Materiales y métodos

El presente trabajo de tesis se realizó en el Laboratorio de Biotecnología ubicado en el Área de Posgrado e Investigación de la FES-Cuautitlán Campo 1 y en el Laboratorio de Entomología ubicado en la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) en el Centro de Asimilación Tecnológica (CAT) de la FES-Cuautitlán ambos de la Universidad Nacional Autónoma de México.

### 2.3.1 Actividades preliminares

#### 2.3.1.1 Limpieza de gorgojo de frijol

#### Material biológico

- Gorgojo de frijol muerto *Zabrotes subfasciatus* (Boheman).

#### Equipos

- Estufa Quincy Lab Modelo 30-GC

El gorgojo de frijol muerto utilizado para esta actividad fue de una colonia ya existente de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) proporcionado por el Laboratorio de Entomología ubicado en la Unidad de Granos y Semillas en el Centro de Asimilación Tecnológica de la FES-Cuautitlán de la UNAM.

Para la cría del *Zabrotes subfasciatus* en frascos de vidrio de 1L con 500g de frijol se colocaron los gorgojos de distintas edades hembras y machos. Los frascos se llevaron a un cuarto de incubación para su proliferación a una humedad relativa de  $70 \pm 5\%$  a una temperatura de 27°C. Posteriormente para la recuperación del gorgojo muerto del frijol se utilizaron tamices del No. 5, separando los gorgojos muertos y colocándolos en bolsas de plástico y llevados a refrigeración.

### Limpieza del gorgojo

El gorgojo se colocó en recipientes de plástico grandes y se lavaron con agua corriente como se observa en la figura 31A, dejándolos reposar durante 1 minuto para que la materia extraña se precipitara en el fondo de los recipientes y el gorgojo flotará, permitiendo la separación de ambos. Con ayuda de tamices de ½” se cambiaron a agua limpia repitiendo el mismo proceso hasta dejar de ver la presencia de materia extraña como se observa en la figura 31B. Una vez teniendo el gorgojo limpio se realizó una última lavada con agua destilada.

Posteriormente el gorgojo mojado se colocó en vidrios de reloj grandes y se llevó a la estufa de secado a una temperatura de 50°C durante 24 horas figura 31C.

Para la conservación del gorgojo limpio y seco se colocó en bolsas de plástico y se introdujo en refrigeración.



Figura 31. Limpieza del gorgojo de frijol. A, Lavado del gorgojo con agua corriente. B, Gorgojo limpio. C, Gorgojo seco.

#### *2.3.1.2 Extracción de quitina de insecto del gorgojo de frijol y su conversión a quitosán por el método químico*

### Material biológico

- Gorgojo de frijol limpio

### Equipos

- Estufa de secado marca Quincy Lab Modelo 30-GC
- Termoagitadora marca Thermo Scientific.

Para la extracción de quitina de insecto se utilizó una modificación al tratamiento químico propuesto por Shaofang, *et al.*, 2012.

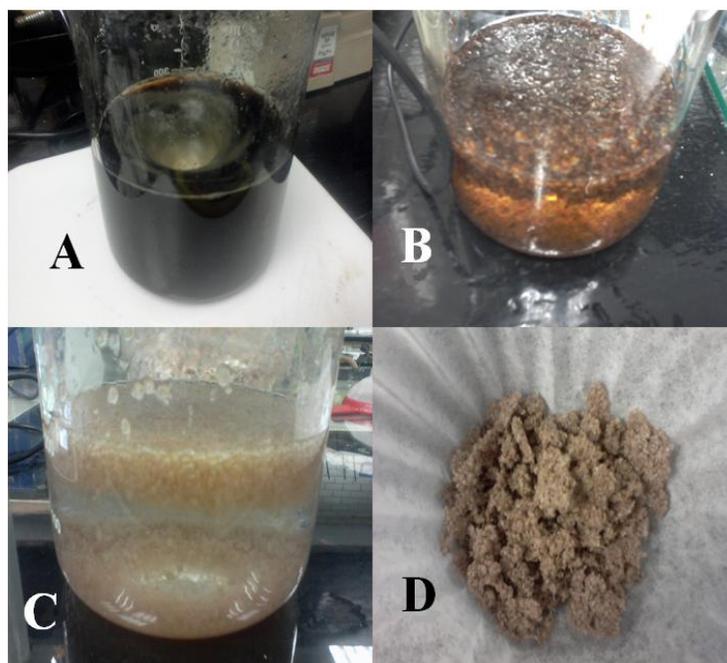
Se realizaron 9 extracciones de quitina; por cada extracción de quitina de insecto se utilizaron 10 gramos de gorgojo.

En cada extracción se realizaron 3 desproteinizaciones usando un tratamiento alcalino con hidróxido de sodio (NaOH) a una temperatura de 80°C.

Para la despigmentación se utilizó permanganato de potasio.

Para la obtención del quitosán se realizó un tratamiento de desacetilación con hidróxido de sodio (NaOH) a 80°C.

En la figura 32 se muestra el procedimiento a seguir para la extracción de quitina de insecto y su transformación a quitosán.



**Figura 32. Extracción del quitosán de insecto. A, Desproteinización. B, Despigmentación. C, Quitina de insecto. D, Quitosán de insecto.**

### 2.3.1.3 Obtención de quitosán de crustáceo

Este quitosán fue proporcionado por el laboratorio de Biotecnología ubicado en el Área de Posgrado e Investigación de la FES-Cuautitlán de la UNAM figura 33.

Se extrajo del crustáceo *Pleuroncodes monodon* por tratamiento químico.



Figura 33. Quitosán de crustáceo.

### 2.3.1.4 Siembra y riego de semillas en invernadero sin acondicionar

La semilla utilizada para esta experimentación fue un híbrido Asgrow con ficha de identificación: parcela 28 B03G3HTE, Celaya Guanajuato, con un porcentaje de germinación del 95%, proporcionado por el Laboratorio de Almacenamiento ubicado en el Centro de Asimilación Tecnológica (CAT) de la FES Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México.

#### Material

- Vasos de unicel de 10 oz. y 1L
- Tierra de vivero preparada

Para la siembra de maíz se seleccionaron semillas de un mismo tamaño y sin ningún tipo de daño como se muestra en la figura 34A.

En la base de vasos de unicel se realizaron pequeños orificios para la salida del agua en el momento del riego. Se llenaron  $\frac{3}{4}$  partes del vaso con tierra y posteriormente se realizó un hueco en la tierra de aproximadamente de 3cm de profundidad figura 34B, donde se colocaron 3 semillas de maíz para los vasos de unicel pequeños y 5 semillas de maíz para los vasos de 1L, se cubrieron con la tierra y se llenó el resto del vaso figura 34C. Se etiquetaron con la fecha de siembra y se llevaron hacia el invernadero donde desarrollaron su crecimiento.

El riego fue de cada 2 días como se muestra en la figura 34D

Cada tercer día se realizó la siembra de semilla sin acondicionar.

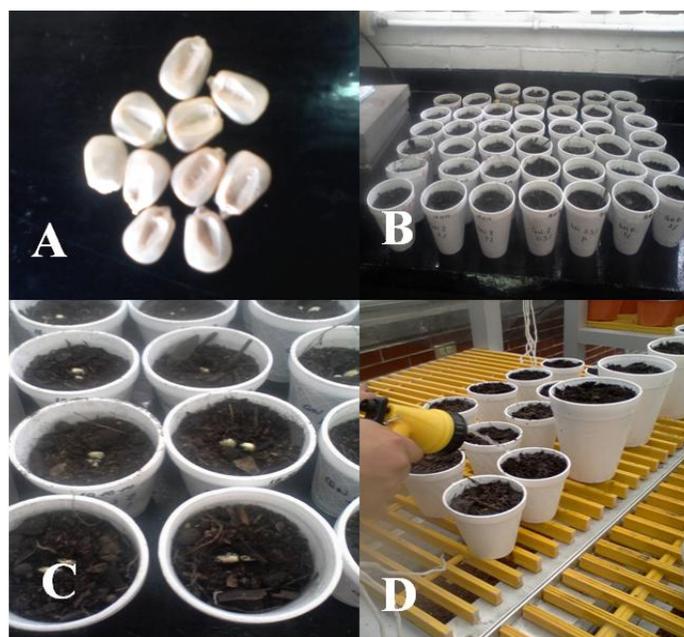


Figura 34. A, Selección de semillas de maíz. B, Colocación de tierra en vasos de unicel. C, Colocación de las semillas. D, Riego de las semillas en invernadero.

#### 2.3.1.5 *Colecta de larva de gusano cogollero en cultivos de maíz*

##### Equipos

- Jaula de apareamiento

Se recolectaron larvas de gusano cogollero de los cultivos de maíz del Rancho González Blanco (GB) de Querétaro, perteneciente a la UNAM.

Para encontrar la larva se buscó la presencia de daño en la planta de maíz, como perforaciones en las hojas, ruptura de la hoja y rastro hecho por el gusano, como tapones de excreta en el cogollo de la planta de maíz y la presencia de este gusano en esta parte de la planta figura 35B.

Las larvas recolectadas se colocaron en botellas pequeñas de plástico previamente acondicionadas con agujeros para facilitar la respiración como se muestra en la figura 35A, se colocó una larva por botella para evitar el canibalismo y para su traslado se cubrió la boca de la botella con un trozo de tela ajustado con una liga para evitar el escape de las larvas.

En las figuras 35C, 35D Y 35E se muestra las diferentes larvas recolectadas en los sembradíos de maíz



**Figura 35. A, Botellas de plástico para la colecta del gusano cogollero. B, Daño en la planta y presencia del gusano cogollero en cogollo del maíz. C, D y E, Diferentes larvas recolectadas.**

Después del traslado se les dejó en las mismas botellas proporcionándoles hojas tiernas de maíz como alimento durante su último estadio larval como se muestra en la figura 36A, así mismo también se le agregó pequeñas gotas de agua con un gotero dentro de las botellas para evitar la pérdida de humedad y se realizó limpieza diaria de la botellas.

Las larvas que pasaron a estado de pupa se sacaron de la botella evitando hacerle el menor daño posible y se trasladaron hacia la jaula de apareamiento previamente acondicionada (ver anexo 1) figura 36B. Se mantuvo en observación a la emergencia de los adultos (palomilla) del gusano figura 36C y 36D.

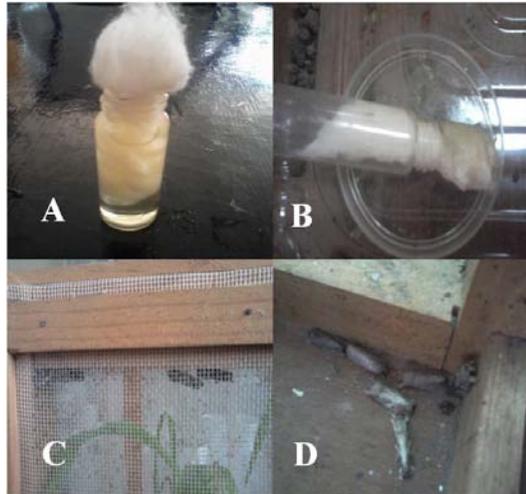


**Figura 36. A, Alimentación del gusano cogollero en su último estadio larval. B, Jaula de apareamiento acondicionada. C y D, Pupas de gusano cogollero colocadas en macetas dentro de la jaula de apareamiento.**

Los adultos que se desarrollaron de las larvas y emergieron se transfirieron a las jaulas de apareamiento proporcionándoles miel diluida con agua sobre un algodón como alimento, cambiándolo cada segundo día para evitar la proliferación de hongos como se muestra en la figura 37A y 37B.

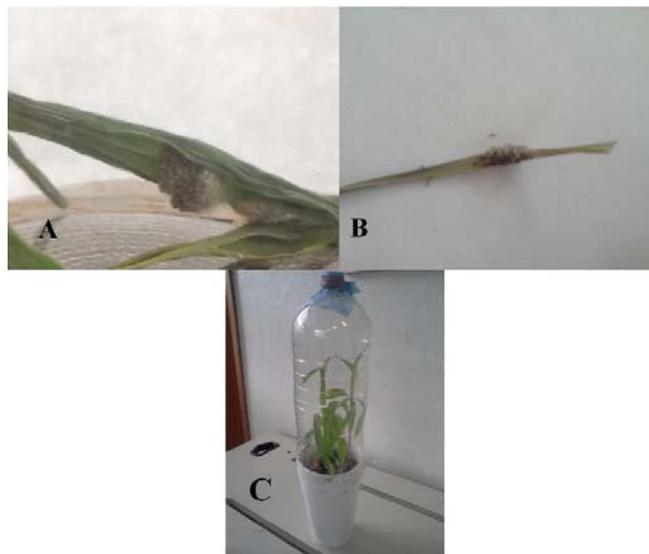
El interior de las jaulas fueron revisadas periódicamente para determinar las oviposiciones (oviposturas).

En las figuras 37C y 37D se muestra las diversas palomillas de gusano cogollero.



**Figura 37. Palomilla de *Spodoptera frugiperda*. A, Preparación de alimento para las palomillas. B, Cambio del algodón con miel. C, Palomillas de gusano cogollero dentro de la jaula de apareamiento. D, Palomillas escondidas en una esquina de la jaula de apareamiento durante el día.**

Para conocer cuanto tardaban en eclosionar los huevecillos, la primera oviposición encontrada se aisló en una nueva planta y se mantuvo dentro de un dispositivo elaborado por una botella de plástico transparente como se muestra en la figura 38C, el cual también sirvió para observar los cambios de color en la ovipostura, como se muestra en las figuras 38A y 38B donde se observa el cambio de color de blanco a grisáceo de la ovipostura, que indica que los huevecillos están por eclosionar.



**Figura 38. A, Huevecillos de gusano cogollero. B, Primera oviposición. C, Dispositivo para la observación de la primera oviposición.**

El resto de las oviposiciones se mantuvieron en su lugar y en observación a las espera de la eclosión y emergencia de las larvas. En la figura 39 se muestra las diferentes oviposiciones de la palomilla del gusano cogollero.



**Figura 39.** Diferentes oviposiciones encontradas en el haz y envés de la hoja de maíz.

#### **2.3.1.6** *Cría del gusano cogollero en laboratorio*

##### **Materiales**

- 100 frascos de vidrio de 50mL con tapa perforada con malla
- 25 frascos de vidrio de 250mL
- 3 frasco de vidrio de 1L

##### **Equipo**

- 2 jaulas de apareamiento

Para la alimentación de las larvas se utilizó verdolaga (*Portulaca oleracea*) (Méndez, 2009) figura 40.

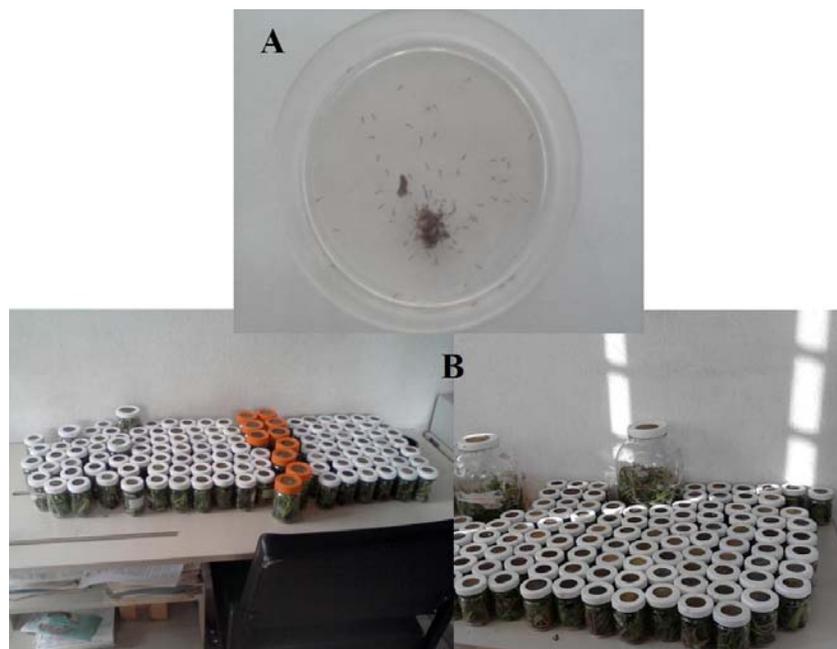


**Figura 40.** Verdolaga (*Portulaca oleracea*).

Las larvas recién emergidas fueron colocadas, con ayuda de un pincel, en los frascos de vidrio previamente acondicionados con verdolaga fresca. En cada frasco de vidrio de 50mL se colocaron 10 larvas y en cada frasco de vidrio de 250mL, se colocaron 20 larvas.

Para evitar la salida de las larvas pequeñas de los frascos, en la malla de la tapa se colocó papel filtro, que posteriormente se retiró conforme crecían las larvas

En la figura 41A se muestra la eclosión de las larvas de gusano cogollero y en la figura 41B se muestra la colonia de gusano cogollero en los frascos de vidrio con verdolaga.

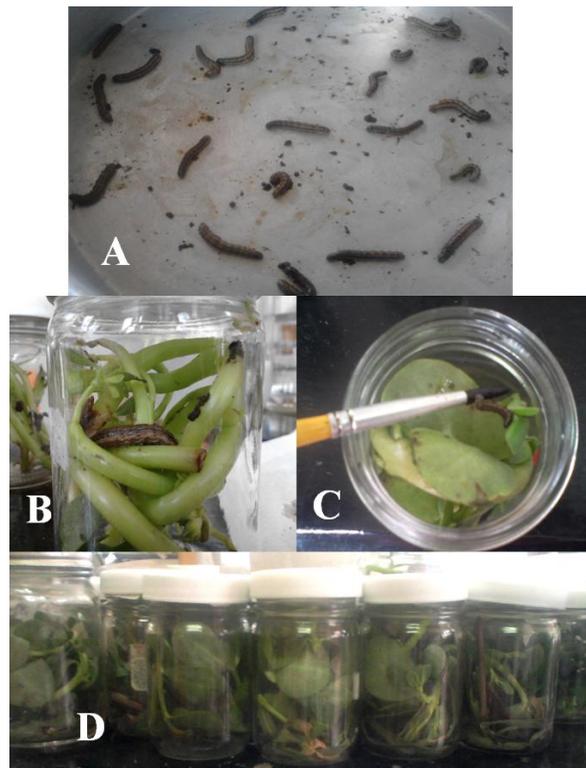


**Figura 41.** A, Emergencia de larvas. B, Larvas colocadas en los frascos de vidrio con verdolaga fresca.

Se realizó la limpieza de los frascos cada tercer día al principio y cada dos días conforme iban desarrollándose las larvas. Así mismo se cambiaron los frascos a los que se les observaba agua en su interior para evitar el ahogamiento de las larvas y se colocó verdolaga fresca. En la figura 42 se puede observar los pasos a seguir de la limpieza de la colonia de gusano cogollero.

Durante el desarrollo de las larvas, se fueron distribuyendo en los frascos de acuerdo a su tamaño:

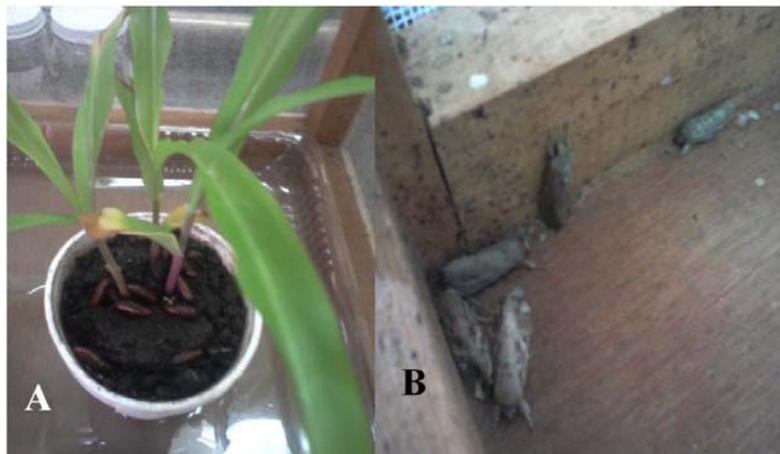
- frascos pequeños 1 larva grande
- frascos medianos de 2 a 5 larvas medianas
- frascos de 1L larvas pequeñas



**Figura 42.** A, Selección de las larvas para los frascos. B, Colocación de larva grande en frasco pequeño. C, Larva mediana. D, Frascos donde se observa presencia de agua en el fondo.

Las larvas que pasaron a estado de pupa se colocaron en las jaulas de apareamiento acondicionadas con plantas de maíz en macetas figura 43A. Se mantuvieron en observación a la espera de la emergencia de los adultos figura 43B.

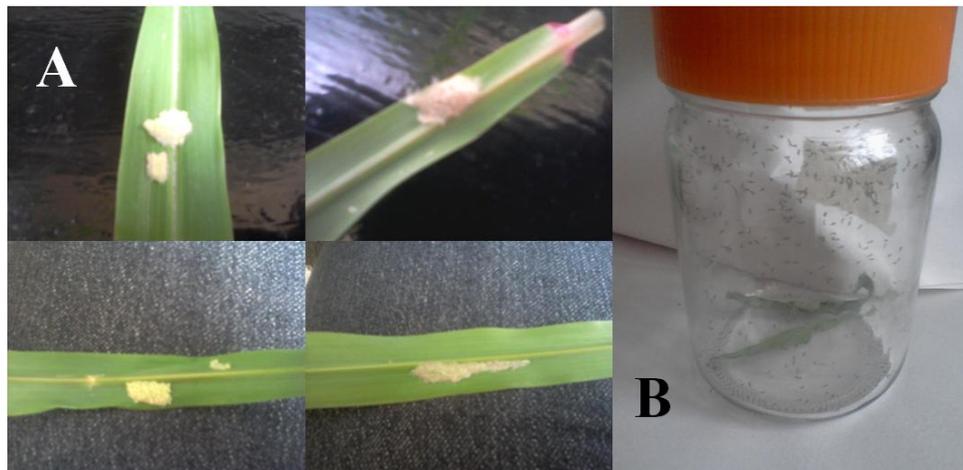
Una vez que comenzaron a emerger los adultos dentro de las jaulas de apareamiento se colocó en una caja petri algodón con miel diluida para su alimentación. Se mantuvo en observación a la espera de oviposiciones.



**Figura 43. A, Pupas en jaulas de apareamiento. B, Palomillas recién emergidas dentro de la jaula de apareamiento**

Las oviposiciones encontradas en las plantas y en los vasos de unicel se recortaban y se colocaban en frascos de vidrio con tapa perforada cubierta con papel filtro figuras 44A y 44B. Se mantuvo en observación a la espera de la eclosión y emergencia de la siguiente generación de larvas.

A la esta generación de larvas se le realizó el mismo procedimiento de cría.



**Figura 44. A, Oviposiciones encontradas. B, Eclosión de los huevecillos y emergencia de las larvas.**

### 2.3.1.7 Preparación de soluciones de quitosán a diferentes concentraciones de dos diferentes fuentes (insecto y crustáceo)

Para la caracterización previa del quitosán de insecto se realizaron las pruebas de grado de desacetilación por el método de titulación potenciométrica y peso molecular por el método de viscosimetría capilar (Hidalgo y Miranda, 2013). En la figura 45A y 45B se muestran los equipos utilizados para la caracterización del quitosán extraído de insecto.

Las soluciones de quitosán fueron elaboradas y proporcionadas por el laboratorio de Biotecnología ubicado en el área de Posgrado e Investigación de la FES-Cuautitlán de la UNAM.

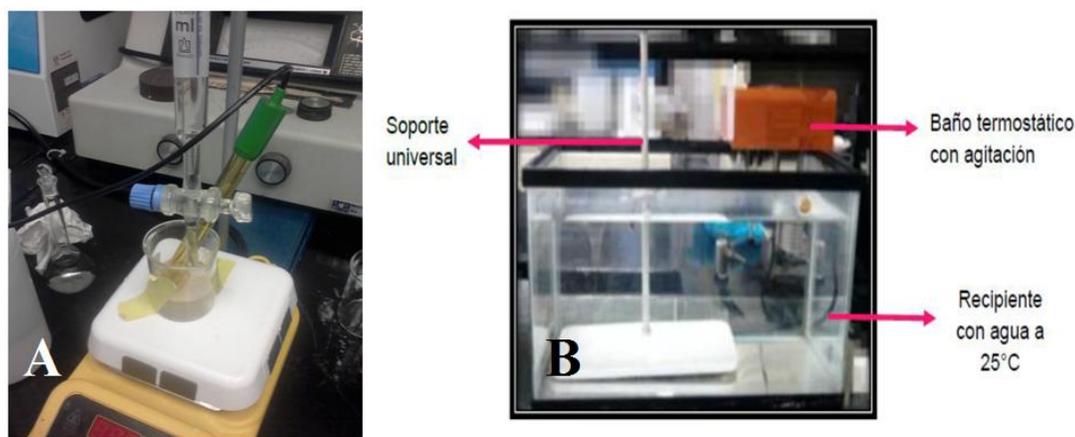


Figura 45. A, Grado de desacetilación. B, Equipo para prueba de viscosimetría capilar.

### 2.3.1.8 Acondicionamiento y siembra de semillas de maíz

#### Materiales

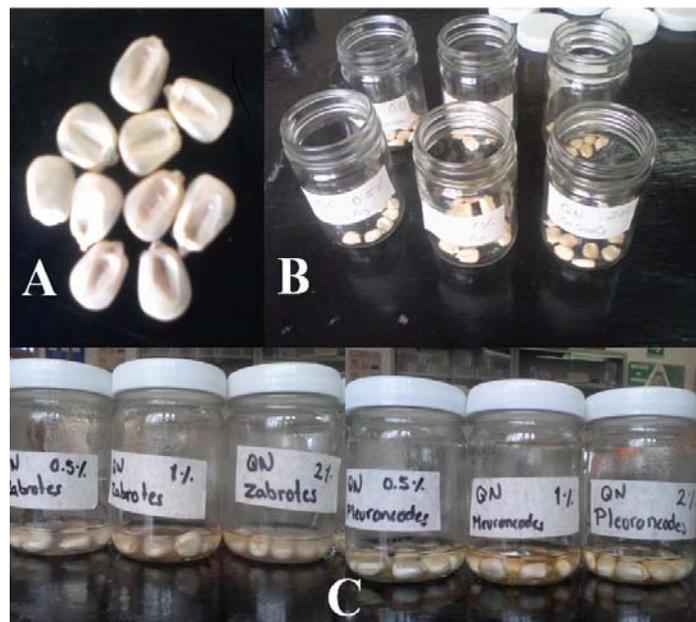
- Semilla de maíz híbrido Asgrow Parcela 28 B03G3HTE Celaya Guanajuato
- 6 frascos de vidrio de 50mL con tapa
- Tierra de vivero preparada

## Reactivos

- Concentraciones de quitosán de crustáceo (*Pleurocodes monodon*) 0.5%, 1% y 2%.
- Concentraciones de quitosán de insecto (*Zabrotes subfasciatus*) 0.5%, 1% y 2%.

Para el acondicionamiento de las semillas de maíz se seleccionaron aquellas semillas que tuvieran el mismo tamaño y sin ningún tipo de daño figura 45A.

Por cada concentración se acondicionaron 10 semillas figura 46A. En cada frasco previamente lavado y etiquetado con el tipo de quitosán y concentración se colocaron las 10 semillas cubriéndolas por completo con el respectivo tipo de quitosán y su respectiva concentración como se muestra en la figura 46B. Se cerraron los frascos con las tapas y se dejaron en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente como se muestra en la figura 46C.



**Figura 46. A, Selección de semilla de maíz. B, Colocación de las semillas en los frascos por concentración. C, Reposo**

Para la siembra de las semillas acondicionadas se realizó el mismo procedimiento de preparación de la tierra en los vasos de unicel. Cada vaso fue etiquetado con tipo de quitosán, concentración y fecha de siembra.

Pasado el tiempo de reposo de acondicionamiento de las semillas de maíz, se procedió a la siembra de las mismas con ayuda de las pinzas, lavándolas después de utilizarlas para cada concentración para evitar combinar los quitosanos figura 47A.

Se sembraron 2 semillas de cada acondicionamiento por vaso, incluyendo un control, se llevaron al invernadero cuya temperatura fue de 20° a 40°C y se regaron con agua corriente cada dos días figura 47B

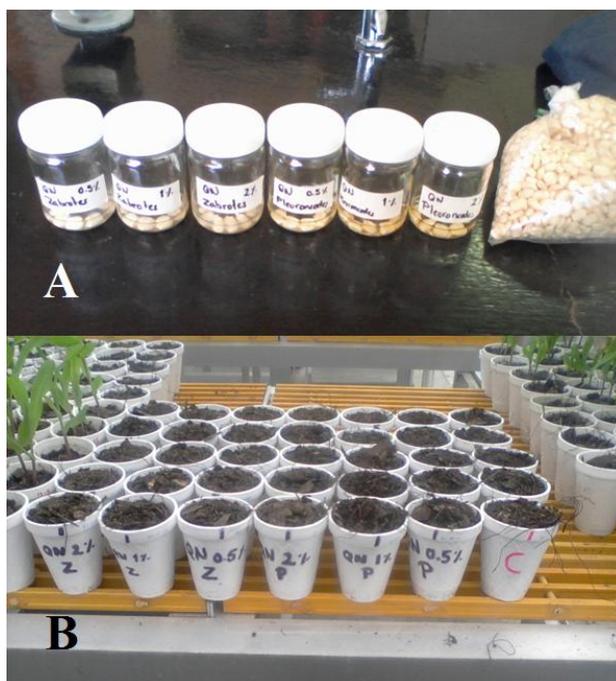


Figura 47. A, Acondicionamientos y control. B, Acondicionamiento y control en invernadero.

En la tabla 11 se muestran las fechas de acondicionamiento de las semillas de maíz y la fecha de siembra.

En la figura 48 se muestra la forma de riego de las plantas de maíz.

**Tabla 11. Fechas de acondicionamiento y siembra de semillas de maíz.**

Acondicionamiento	Fecha de acondicionamiento	Fecha de siembra
1	18-septiembre-2014	19-septiembre-2014
2	22-septiembre-2014	23-septiembre-2014
3	25-septiembre-2014	26-septiembre-2014
4	29-septiembre-2014	30-septiembre-2014

5	01-octubre-2014	02-octubre-2014
6	02-octubre-2014	03-octubre-2014
7	06-octubre-2014	07-octubre-2014
8	08-octubre-2014	09-octubre-2014
9	09-octubre-2014	10-octubre-2014
10	13-octubre-2014	14-octubre-2014
11	15-octubre-2014	16-octubre-2014
12	17-octubre-2014	18-octubre-2014
13	20-octubre-2014	21-octubre-2014
14	22-octubre-2014	23-octubre-2014
15	23-octubre-2014	24-octubre-2014
16	26-octubre-2014	27-octubre-2014
17	29-octubre-2014	30-octubre-2014
18	31-octubre-2014	01-noviembre-2014
19	03-noviembre-2014	04-noviembre-2014
20	04-noviembre-2014	05-noviembre-2014
21	06-noviembre-2014	07-noviembre-2014
22	09-noviembre-2014	10-noviembre-2014
23	19-noviembre-2014	20-noviembre-2014
24	20-noviembre-2014	21-noviembre-2014
25	24-noviembre-2014	25-noviembre-2014



**Figura 48. Riego de plantas de semillas acondicionadas.**

### 2.3.2 Colocación de las larvas de *Spodoptera frugiperda* en las hojas de las plantas de semillas acondicionadas con quitosán y en el control.

#### Material biológico

- 28 larvas de gusano cogollero recién emergidas
- Plantas de maíz de semillas acondicionadas con quitosán de insecto y de crustáceo a concentraciones de 0.5%, 1% y 2% y plantas de maíz de semillas sin acondicionar.

#### Material

- 28 cajas petri de (90 x 10mm)
- 1 hoja milimétrica
- Plumones azul, negro, rojo

#### Equipo

- Diafanoscopio, marca LUXO KFM MARGNIFIER/ LOI/ PE 120V, 22W, 69HZ

#### 2.3.2.1 Elección de plantas de maíz

Las plantas de semillas acondicionadas se dejaron crecer hasta la edad de entre 4 y 5 semanas para la experimentación figura 49A. Para la elección de plantas se comenzó por la segunda fecha de siembra. De cada concentración se seleccionaron de 2 a 3 vasos donde cada planta tuviera ya las segundas hojas, se regaron antes de emplearlas para la experimentación figura 49B.



Figura 49. A, Plantas de maíz de 4 semanas de edad. B, Selección de plantas de maíz.

### 2.3.2.2 Preparación del gusano cogollero

Se utilizó la segunda generación de larvas de la colonia de gusano cogollero que se obtuvo de la siguiente forma, se tomó una ovipostura al azar figura 50A y se colocó en un frasco como ya antes se había mencionado en la cría de la colonia, manteniéndola en observación hasta la eclosión de las larvas. En la figura 50B se muestra el frasco con las larvas del primer instar y que se utilizaron para la experimentación.

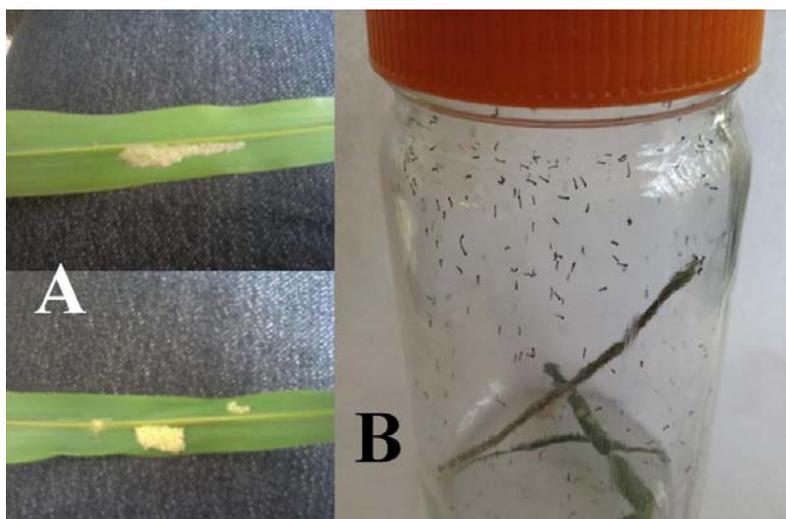


Figura 50. A, Selección de ovipostura al azar. B, Segunda generación de larvas.

### 2.3.2.3 Colocación de las plantas de semillas acondicionadas y la larva en dispositivos

Los dispositivos utilizados para esta parte de la experimentación consto de cajas petri (Borror *et al.*, 1976) las cuales se etiquetaron con tipo de quitosán, concentración, número de repetición y fecha del inicio de la experimentación.

Cada concentración se etiquetó con un color diferente:

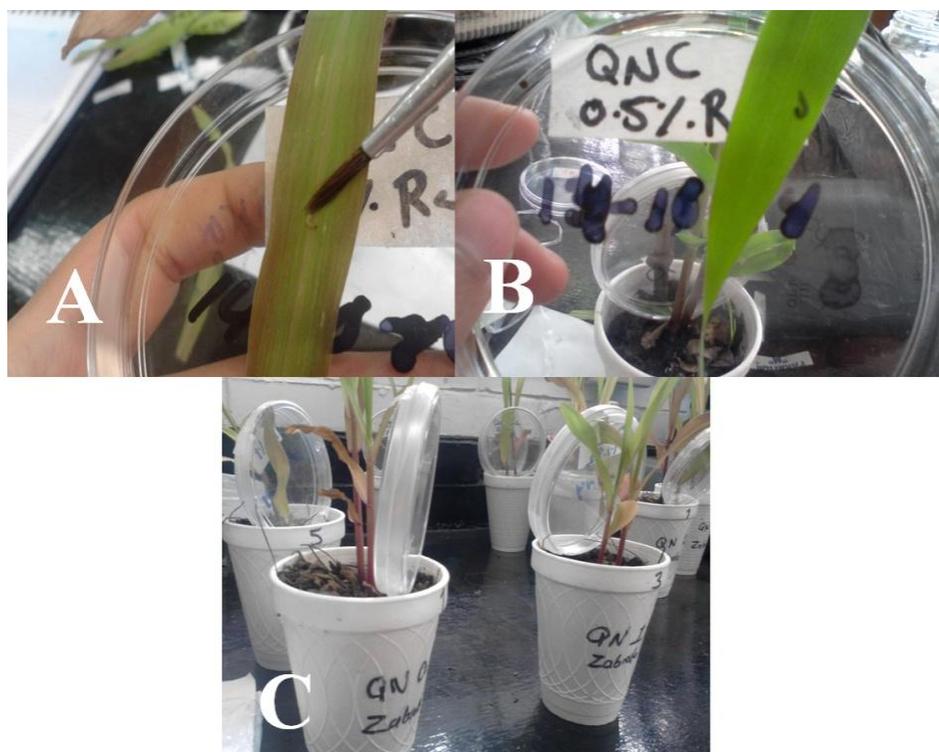
- Rojo para el control (semillas sin acondicionar)
- Azul para las concentraciones de quitosán de *Zabrotes* (insecto)

- Negro para las concentraciones de quitosán de *Pleuroncodes* (crustáceos)

Una vez emergidas las larvas de gusano cogollero se colocaron las larvas de la siguiente manera.

Se colocó la segunda hoja de la planta de maíz sobre la base de la caja de petri, con un pincel de cerdas pequeñas se tomó una larva y se colocó sobre esta hoja como se observa en la figura 51A y 52B. Se cerró la caja y se selló con parafilm evitando romper la hoja y separarla del tallo, se acomodó el dispositivo de tal modo que quedara de forma paralela a la planta de maíz como se muestra en la figura 51C.

Este procedimiento se realizó cuatro veces por cada concentración de quitosán incluyendo el control.



**Figura 51. A, Colocación de la larva en la segunda hoja. B, Sellado del dispositivo. C, Colocación del dispositivo de forma paralela.**

En figura 52 se observa todas las unidades experimentales.



Figura 52. Unidades experimentales de cada acondicionamiento de semilla de maíz

### 2.3.3 Cuantificación del área de follaje consumida por el gusano cogollero

Para la cuantificación del área consumida se cortó la hoja de la planta donde se montó el dispositivo y se retiró el parafilm para abrirlo, no sin antes tener la localización de la larva como se muestra en la figura 53 y colocándola en un recipiente seguro para evitar su escape, se sacó la hoja “dañada” de maíz y se etiquetó con plumón de tinta permanente de acuerdo al color correspondiente del etiquetado del dispositivo.

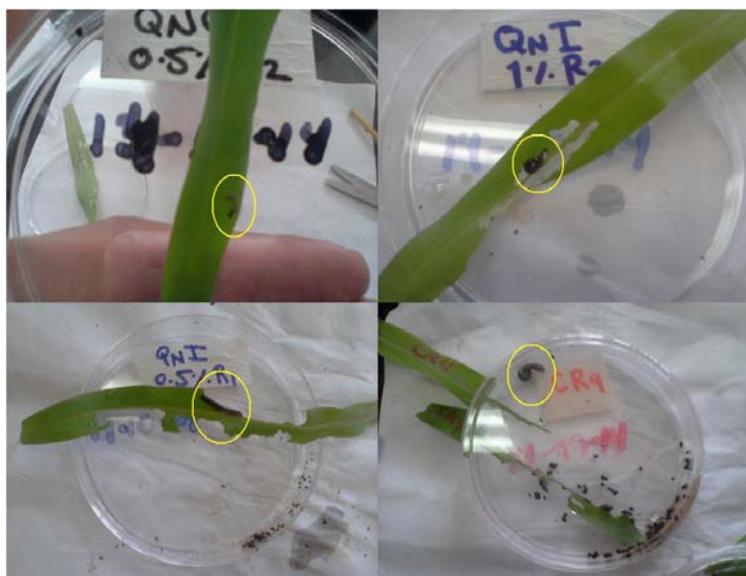


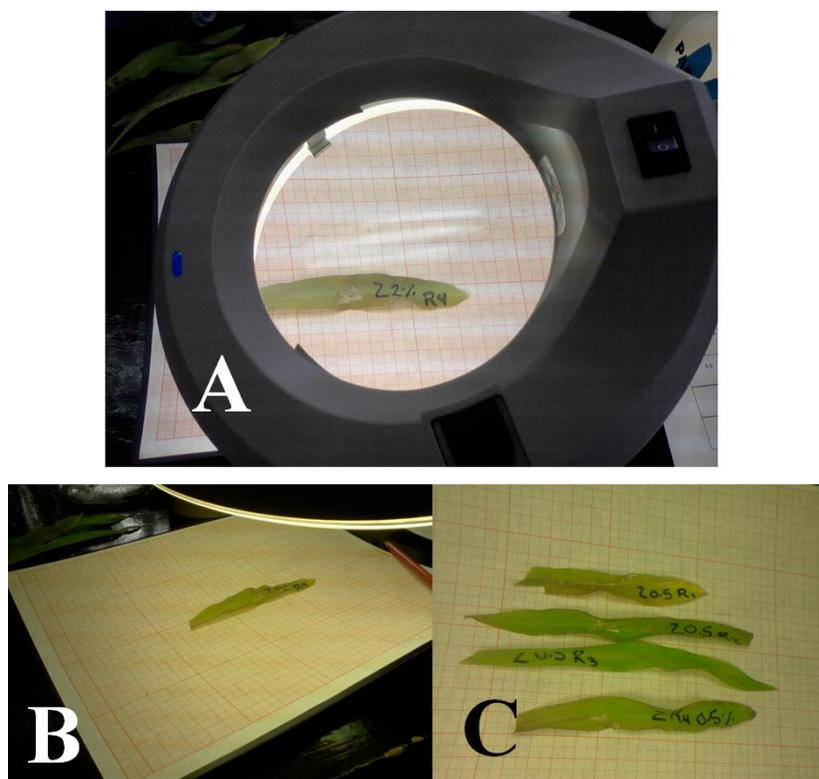
Figura 53. Localización de la larva.

Se limpió el dispositivo y se colocó la larva en la siguiente hoja previamente seleccionada de acuerdo al procedimiento ya descrito anteriormente.

Este procedimiento se realizó para cada una de las concentraciones de los diferentes tipos de quitosán cada dos días durante todo el desarrollo de la larva.

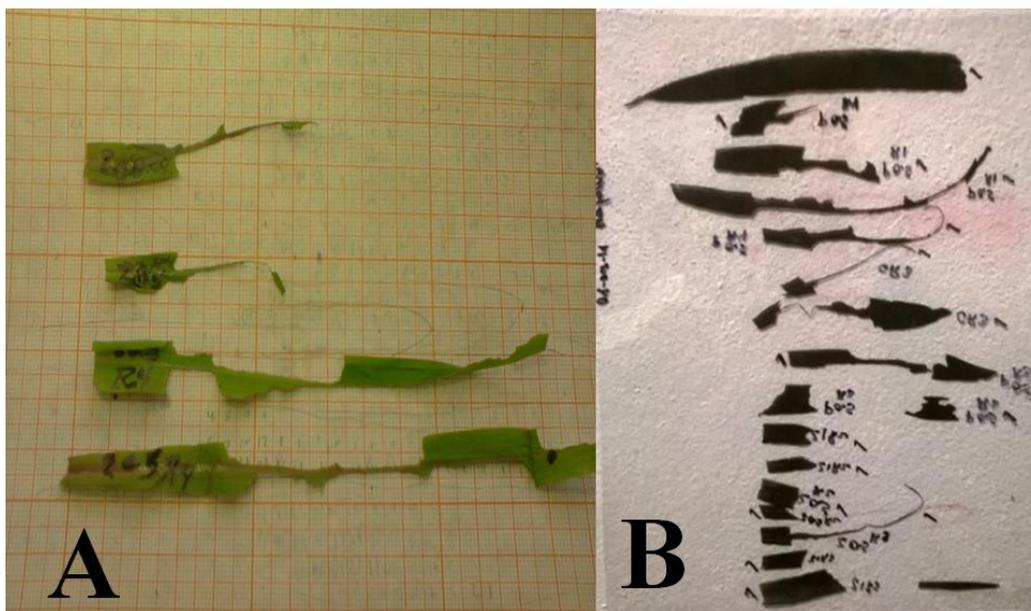
Al observar el crecimiento de la larva y de acuerdo a su cantidad de consumo se fueron colocando dos hojas por dispositivo y en las últimas etapas larvales donde su consumo es mucho mayor se colocaron 3 hojas por dispositivo, siempre etiquetando cada hoja de acuerdo al color correspondiente del dispositivo al realizar el conteo figura 54C.

Para la cuantificación del consumo, cada hoja de maíz se colocó sobre la hoja de papel milimétrico figura 54B y con ayuda del diafanoscopio se contó cada cuadro donde se observa el área consumida figura 54A.



**Figura 54.** A, Conteo del consumo hecho por el gusano cogollero. B, Colocación y acomodo de la hoja de maíz sobre la hoja milimétrica. C, Conteo realizado para las cuatro repeticiones de cada concentración de cada quitosán.

Para el conteo de las hojas de maíz donde el gusano consumió la mayor parte del área o consumió la totalidad de la hoja de maíz figura 55A, estas hojas se fotocopiaron en hojas de acetato como se muestra en la figura 55B, para evitar romper los restos de hoja y obtener un conteo más preciso colocando el acetato fotocopiado sobre el papel milimétrico y realizar el conteo. Así mismo también se fotocopiaron hojas de maíz que fueran similares al tamaño de las hojas consumidas por completo y así colocar la hoja consumida sobre la fotocopia y realizar el conteo sobre el papel milimétrico.



**Figura 55. A, Hojas de maíz consumidas por completo por el gusano cogollero. B, Hojas de maíz fotocopiadas.**

En la figura 56 se observa el formato donde se anotaron los resultados del consumo de cada repetición por cada concentración de los tipos de quitosán (insecto y crustáceo).

**Daño causado por gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith)** **R= repeticiones**

**Fecha de acondicionamiento:**

**Fecha de toma de medida de daño:**

<b>CONTROL</b>	<b>REPETICIONES (mm<sup>2</sup>)</b>
	R1=
	R2=
	R3=
	R4=

Concentraciones %	Quitosán crustáceo <i>Pleuroncodes monodon</i> (mm <sup>2</sup> )	Observaciones	Quitosán insecto <i>Zabrotes subfasciatus</i> (mm <sup>2</sup> )	Observaciones
<b>0.5</b>	R1=		R1=	
	R2=		R2=	
	R3=		R3=	
	R4=		R4=	
<b>1</b>	R1=		R1=	
	R2=		R2=	
	R3=		R3=	
	R4=		R4=	
<b>2</b>	R1=		R1=	
	R2=		R2=	
	R3=		R3=	
	R4=		R4=	

Figura 56. Formato para el consumo de hoja de maíz hecho por el gusano cogollero.

### 2.3.4 Evaluación del desarrollo del gusano cogollero de maíz

Para la evaluación del desarrollo del gusano cogollero se registró la fecha de comienzo de las etapas de larva, prepupa, pupa, hasta la emergencia de la palomilla.

Para la etapa de larva figura 57, se registró desde el día de la emergencia de la larva que se colocó sobre las plantas de maíz, hasta el día en que la larva dejó de consumir el follaje y se quedó inmóvil, dato que se registró como el comienzo de la etapa prepupa figura 58 y que se registró hasta que se observó la pupa ya formada por completo figura 59. Esta última etapa de desarrollo se registró hasta la fecha de emergencia del adulto del gusano cogollero conocido como palomilla figura 60.

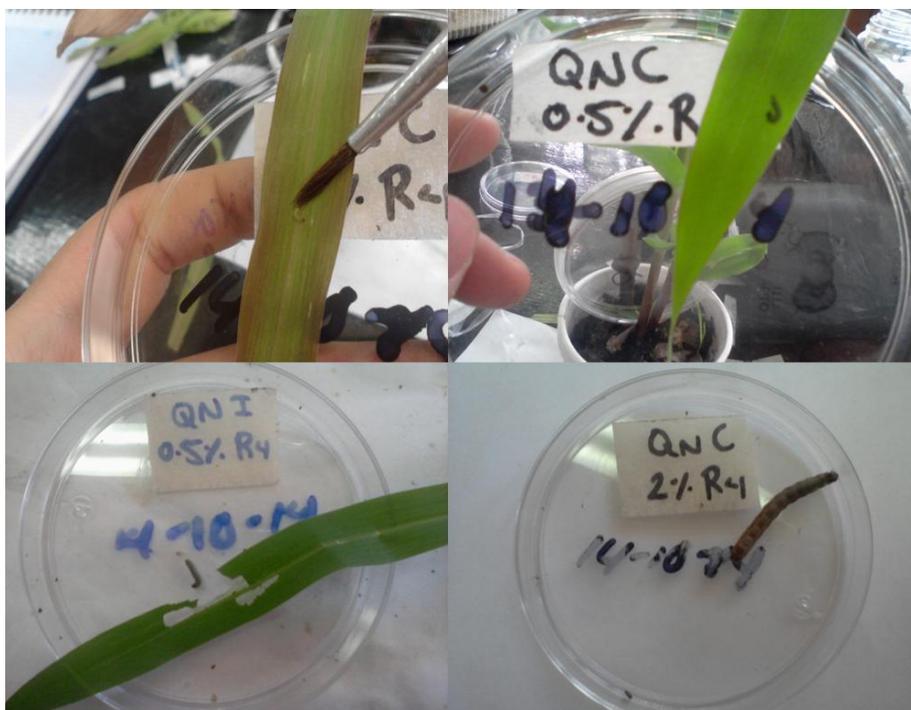


Figura 57. Etapa larva.



Figura 58. Etapa prepupa.



Figura 59. Etapa pupa. Pupa recién formada.



**Figura 60. Emergencia de la palomilla.**

El registro en días de cada una de las etapas para las 28 larvas de gusano cogollero se tomó en el formato figura 61.

E T A P A S E N D Í A S				
	Larva (L)	Prepupa (Pp)	Pupa (P)	Emergencia (E)
Control				
CR1				
CR2				
CR3				
CR4				
<b>Pleuroncodes 0.5%</b>				
P0.5%R1				
P0.5%R2				
P0.5%R3				
P0.5%R4				
<b>Pleuroncodes 1%</b>				
P1%R1				
P1%R2				
P1%R3				
P1%R4				
<b>Pleuroncodes 2%</b>				
P2%R1				
P2%R2				
P2%R3				
P2%R4				
<b>Zabrotes 0.5%</b>				
Z0.5%R1				
Z0.5%R2				
Z0.5%R3				
Z0.5%R4				
<b>Zabrotes 1%</b>				
Z1%R1				
Z1%R2				
Z1%R3				
Z1%R4				
<b>Zabrotes 2%</b>				
Z2%R1				
Z2%R2				
Z2%R3				
Z2%R4				

Figura 61. Formato para el desarrollo del insecto.

# **CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### 3.1 Actividades preliminares

#### 3.1.1 Limpieza del gorgojo de frijol

Se obtuvo un total de 87.7 gramos de gorgojo de frijol muerto limpio y seco figura 62.



Figura 62. Gorgojo de frijol *Zabrotes subfasciatus* (Boheman).

#### 3.1.2 Extracción de quitina de insecto (*Zabrotes subfasciatus* Boheman) y su conversión a quitosán por el método químico

De las 10 extracciones que se realizaron para la obtención de quitina de insecto se obtuvo un total de 11.4g (13%) de quitina de insecto.

De efluentes se obtuvo: 48.9g (55.7%) de proteína extraída de insecto y el resto 27.4g (31.24%) fue de otros compuestos eliminados durante el proceso químico de extracción, todo esto obtenido de un total de 87.7g (100%) de gorgojo de frijol.

Para la obtención de quitosán de insecto por el método de desacetilación se utilizaron 10.4g de quitina obteniendo un total de 7.2g (69.23%) de quitosán de insecto utilizado para la experimentación.

En la figura 63A se muestra la quitina extraída de los gorgojos de frijol muerto y en la figura 63B se muestra la proteína extraída del gorgojo de frijol.



Figura 63. A, Quitina de insecto. B, Proteína de insecto.

### 3.1.3 Obtención de quitosán de crustáceo

La fuente principal de obtención de este quitosán fue a partir de exoesqueletos del crustáceo langostino (*Pleuroncodes monodon*) figura 64 y fue proporcionado por la Dra. Patricia Miranda. Este quitosán tuvo un peso molecular de 2000 Da.



Figura 64. Langostino *Pleuroncodes monodon*.  
Fuente: Viz & Seizoen.

### 3.1.4 Siembra y riego de semillas en invernadero sin acondicionar

Durante la experimentación se obtuvo las suficientes plantas de maíz sin acondicionar para la preservación de la colonia de gusano cogollero figura 65.



**Figura 65. Plantas de maíz de semillas sin acondicionar en invernadero.**

### 3.1.5 Colecta de larva de gusano cogollero en cultivos de maíz

De las 28 larvas recolectadas de los últimos estadios larvales, durante su desarrollo final de larva murieron 5, desarrollándose 23 pupas en total, de las cuales emergieron 19 palomillas tanto hembras como machos. Obteniéndose la primera oviposición a los 5 días de la primera emergencia de las palomillas, pudiéndose así establecer la colonia del gusano cogollero.

En la figura 66 se muestra las diferentes larvas recolectadas en los sembradíos de maíz.



Figura 66. Larvas de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) recolectadas.

### 3.1.6 Cría del gusano cogollero en laboratorio

De los 28 gusanos cogolleros recolectados en el sembradío de maíz se lograron reproducir a nivel laboratorio 4 generaciones del insecto *Spodoptera frugiperda* figura 67.



Figura 67. Colonia de gusano cogollero.

### 3.1.7 Preparación de soluciones de quitosán a diferentes concentraciones de dos diferentes fuentes (insecto y crustáceo)

En la tabla 12 se muestran los valores obtenidos de la caracterización del quitosán de insecto y las concentraciones a las que fueron preparadas las soluciones para la experimentación.

**Tabla 12. Características y concentraciones de quitosanos.**

Tipo de quitosán	Características	Concentraciones
Crustáceo <i>Pleuroncodes monodon</i>	PM: 2000 Da Grado de desacetilación: El bajo PM no permite realizar el análisis	0.5% 1% 2%
Insecto <i>Zabrotes subfasciatus</i> <i>Boheman</i>	PM: 29,6 KDa Grado de desacetilación: 86%	0.5% 1% 2%

### 3.1.8 Acondicionamiento y siembra de semillas de maíz

Se realizaron un total de 25 acondicionamientos de semillas de maíz figura 68.



**Figura 68. Acondicionamientos de semillas de maíz.**

Durante el crecimiento de las plantas de maíz de semillas acondicionadas se pudo observar que en algunos acondicionamientos el crecimiento era más acelerado y en otros el crecimiento era muy lento.

En la figura 69 se muestran diferentes fechas de siembras de plantas de maíz donde se puede observar que la plantas de semillas acondicionadas con quitosán de insecto de *Zabrotes* 1% señaladas con flechas amarillas su crecimiento fue lento.

Las fechas en color azul señalan las plantas de semillas acondicionadas con quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* al 0.5% en el cual se observa que en estas plantas su crecimiento fue más rápido, ambas concentraciones se ven diferentes que el control que se encuentra señalado con una flecha en color rosa.

Posiblemente el quitosán tenga un efecto en el crecimiento de las plantas de maíz



**Figura 69. Diferencia en el crecimiento de las plantas de maíz de semillas acondicionadas. Flechas amarillas: plantas de crecimiento lento. Flechas azules: crecimiento acelerado. Flechas rosas: control.**

### 3.2 Objetivo particular 1

**Daño de la planta del maíz procedente de semillas acondicionadas con quitosán, a través de la cuantificación del área de follaje consumido por el gusano cogollero.**

En la figura 70 se muestra que las plantas de semillas acondicionadas con quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* al 2% y 1%, presentan una media de consumo foliar de 167.55 cm<sup>2</sup> y 197.01 cm<sup>2</sup> respectivamente y las plantas de semilla acondicionadas con quitosán de insecto *Zabrotes* al 2% y 1% presentan una media de consumo foliar de 190.60 cm<sup>2</sup> y 200.70cm<sup>2</sup> respectivamente, estos cuatro acondicionamientos presentan un consumo foliar significativamente menor a la media de las plantas control cuyas semillas no fueron acondicionadas obteniendo un consumo promedio de 227.44cm<sup>2</sup>.

Se observa también, que las concentraciones al 0.5% de ambos tipos de quitosán, presentan medias de consumo foliar de 216.86cm<sup>2</sup> para quitosán de crustáceo *Pleuroncodes*, y 217.59cm<sup>2</sup> para quitosán de insecto *Zabrotes*, las cuales no son significativamente diferentes a la media del consumo control, ya que presentan casi la misma cantidad de follaje consumido por las larvas, sin embargo, estas concentraciones solo presentan diferencia significativa con los consumos foliares de los acondicionamientos de quitosán de insecto *Zabrotes* al 1% y quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* al 2%.

Los resultados del análisis estadístico para el consumo (ver anexo 2) muestran que las concentraciones de quitosán de insecto *Zabrotes* al 2% y 1% y las concentraciones de quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* 2% y 1% se presume o se sugiere una posible inducción de mecanismos de defensa en la planta de maíz contra el ataque del gusano cogollero, con lo que disminuyó su consumo foliar. Sin embargo, el acondicionamiento que tuvo un mayor efecto fue el quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* al 2%. En la tabla 13 y figura 71, se muestra el porcentaje de disminución de consumo de follaje que cada acondicionamiento obtuvo, y para el acondicionamiento antes mencionado se observa que el consumo hecho por las larvas disminuyó en un 26.34% teniendo el mayor porcentaje de disminución, deduciendo que, al acondicionar las semillas de maíz con este quitosán de crustáceo de bajo peso molecular y alta concentración, puede entrar de manera más fácil al

interior de las células de la semilla de maíz, y al ser de alta concentración una mayor cantidad de moléculas de quitosán entran, desencadenando posiblemente señales biológicas en la semilla y a su vez durante todo el crecimiento de la planta activando una respuesta a nivel celular en el momento del ataque. Tales respuestas podrían ser la síntesis de fitoalexinas que sirve como un antibiótico vegetal, activación de quitinasas y quitosanasas, enzimas y entre otras sustancias que probablemente, estos sean los mecanismos de defensa que actúan en la planta y que permiten protegerla contra el ataque del gusano cogollero, evitando un mayor daño, una defoliación severa o daño a la planta en general.

**Tabla 13. Porcentaje de disminución del consumo total promedio del follaje de plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con diferente concentración de quitosán, hecho por el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*.**

Acondicionamiento (% Quitosán)	mm <sup>2</sup>	cm <sup>2</sup>	% de consumo de follaje	% de disminución de consumo de follaje
<b><i>Pleuroncodes</i> 2%</b>	16755.0233	167.55	73.66	26.34
<b><i>Zabrotes</i> 2%</b>	19060.6667	190.60	83.80	16.20
<b><i>Pleuroncodes</i> 1%</b>	19701.2863	197.01	86.62	13.39
<b><i>Zabrotes</i> 1%</b>	20070.7500	200.70	88.24	11.76
<b><i>Pleuroncodes</i> 0.5%</b>	21686.4333	216.86	95.34	4.66
<b><i>Zabrotes</i> 0.5%</b>	21759.9662	217.59	95.67	4.33
<b>Control</b>	22744.7833	227.44	100	0

En contraparte, las plantas de semillas acondicionadas con quitosán que no causaron un efecto significativo, fueron aquellas en las que no disminuyó su consumo o sólo disminuyó de manera casi nula, siendo las de menor concentración de 0.5% de ambos tipos de quitosán (crustáceo y de insecto) ya que su porcentaje de disminución fue menor al 5% en ambos casos como se observa en la tabla 13 y figura 71, estas concentraciones posiblemente no activaron mecanismos de defensa en la planta o si activaron pero no la suficiente cantidad requerida para proteger a la planta del consumo foliar hecho por el gusano cogollero.

La concentración de quitosán es un factor importante al igual que el peso molecular en el acondicionamiento de las semillas de maíz, ya que se cree que posiblemente esto permite a la planta activar mecanismos de defensa que la ayuden a protegerse del ataque de esta plaga.

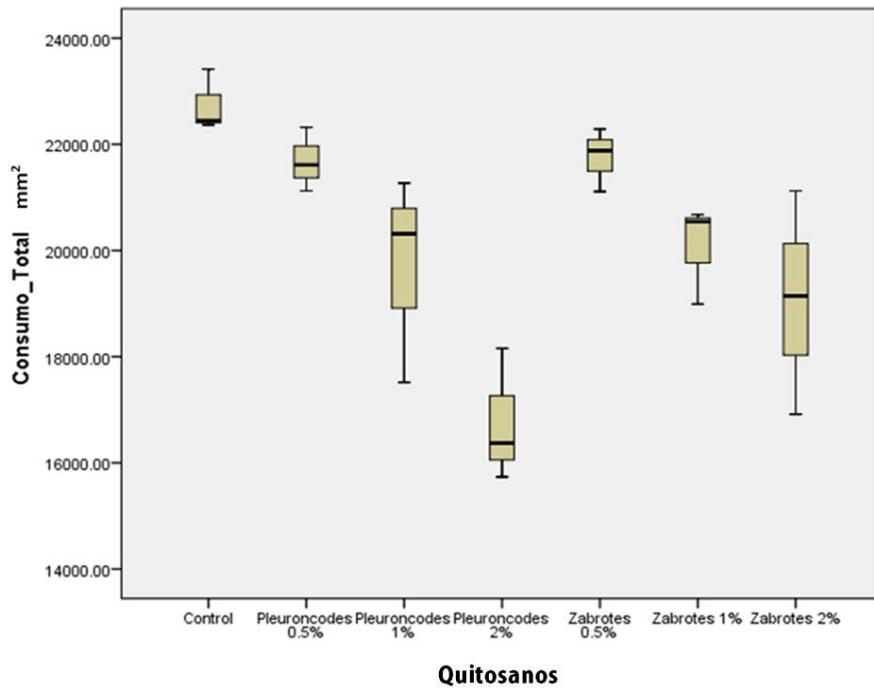


Figura 70. Consumo total promedio del follaje de plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con diferente concentración de quitosán realizado por el gusano cogollero *Spodoptera frugiperá*.

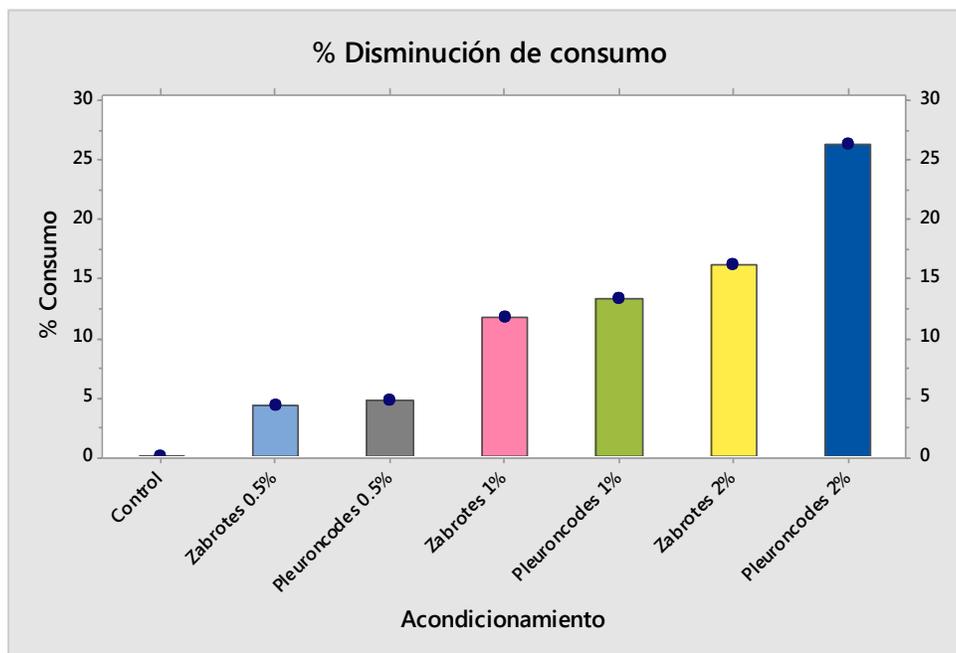


Figura 71. Porcentaje de disminución de consumo del follaje de plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con diferente concentración de quitosán.

### 3.3 Objetivo particular 2

**Efecto de las plantas procedentes de semilla de maíz acondicionadas con quitosán en la supervivencia del insecto a través de la duración en días de las etapas de larva, pupa, hasta la emergencia de la palomilla.**

En la tabla 14, se presentan los estadísticos descriptivos de los datos para la evaluación del desarrollo del insecto en función de días, el cual se realizó para cada una de las etapas del ciclo de vida: larva, pupa, hasta la emergencia de la palomilla del gusano cogollero y, se agregó la evaluación de una etapa llamada prepupa. Se muestra que para cada uno de los estados de desarrollo no existe diferencia significativa en su desarrollo en días, esto indica que, para este análisis (ANOVA), las larvas que consumieron las plantas de semillas acondicionadas con los dos tipos de quitosán a diferentes concentraciones cada una, no sufrieron un efecto en su desarrollo de larva ni en sus etapas subsecuentes, sin embargo, en la etapa pupa de la larva el acondicionamiento de semillas - plantas con quitosán de insecto *Zabrotes* 1% presenta mortalidad, el cual posiblemente su efecto pudiera ser mínimo pero no significativo.

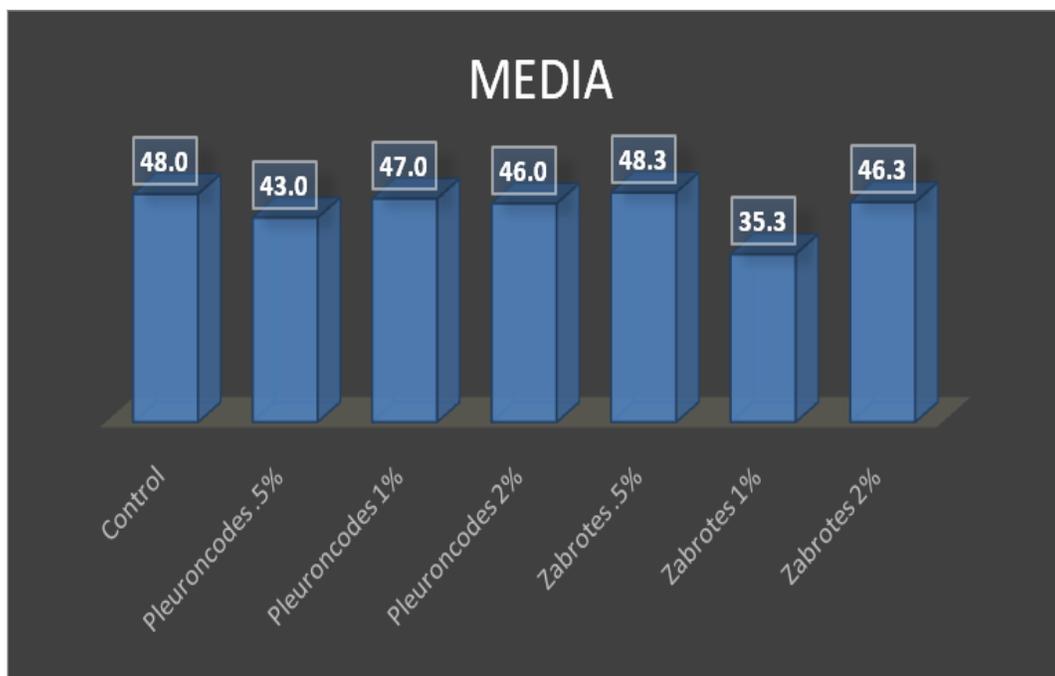
**Tabla 14. Desarrollo en días de cada una de las etapas del gusano cogollero, *S. frugiperda*.**

Etapa	Tratamientos	N	Media	Desviación Estandar	Mediana	Mínimo	Máximo	Muerte de Larva
Desarrollo de Larva	Control	3	28.0	0.0	28	28	28	0%
	Pleuroncodes .5%	4	27.3	1.5	27	26	29	0%
	Pleuroncodes 1%	4	27.0	1.4	26.5	26	29	0%
	Pleuroncodes 2%	3	25.7	1.2	25	25	27	0%
	Zabrotes .5%	3	27.0	1.0	27	26	28	0%
	Zabrotes 1%	3	28.7	0.6	29	28	29	0%
	Zabrotes 2%	4	26.5	0.6	26.5	26	27	0%
Desarrollo de Prepupa	Control	3	2.0	0.0	2	2	2	0%
	Pleuroncodes .5%	4	2.5	0.6	2.5	2	3	0%
	Pleuroncodes 1%	4	2.5	0.6	2.5	2	3	0%
	Pleuroncodes 2%	3	2.0	1.0	2	1	3	0%
	Zabrotes .5%	3	3.0	0.0	3	3	3	0%
	Zabrotes 1%	3	1.7	1.2	1	1	3	0%
	Zabrotes 2%	4	2.5	0.6	2.5	2	3	0%
Desarrollo de Pupa	Control	3	17.3	1.2	18	16	18	0%
	Pleuroncodes .5%	3	17.7	1.5	18	16	19	25%
	Pleuroncodes 1%	4	17.5	2.4	18.5	14	19	0%
	Pleuroncodes 2%	3	15.7	0.6	16	15	16	0%
	Zabrotes .5%	3	18.3	1.2	19	17	19	0%
	Zabrotes 1%	1	15.0		15	15	15	66%
	Zabrotes 2%	4	17.8	1.0	17.5	17	19	0%

Por lo tanto al no existir diferencia significativa en cada etapa se decide realizar un análisis de supervivencia; el cual consiste en estudiar el tiempo transcurrido entre el inicio del seguimiento (fecha de inicio del nacimiento de las larvas y que se comenzaron a alimentar con el follaje de plantas de semillas acondicionadas, mas el control) y el momento en el que se produce el evento terminal (emergencia de la palomilla o muerte del insecto) es decir que para este caso se tomaron los días totales del desarrollo del insecto (la suma de los días de cada una de las etapas) y esto con el objetivo de pronosticar la probabilidad de que el evento suceda en un momento dado del tiempo. Por tanto la variable objetivo en un análisis

de supervivencia no es si se produce o no el evento, sino el tiempo transcurrido hasta la aparición del evento, es decir el tiempo de espera o supervivencia; este análisis de supervivencia se realizó con el método Kaplan-Meir (ver anexo 3).

En la figura 72, se muestran las medias de los resultados obtenidos del análisis, donde se observa, que los tiempos menores de supervivencia del insecto corresponden a aquellas larvas que consumieron las plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con quitosán de insecto *Zabrotes* al 1% con una duración total de 35 días de supervivencia en comparación a el control con 48 días cuyas larvas fueron las que consumieron las plantas de semillas sin acondicionar.



**Figura 72. Supervivencia total promedio en días del insecto: gusano cogollero.**

El acondicionamiento anteriormente mencionado, tuvo los menores días de supervivencia debido a que las larvas que consumieron este follaje de semillas acondicionadas con este quitosán se cree que posiblemente se vieron afectadas en la etapa pupa, ya que, dos de ellas no terminaron su desarrollo a palomilla muriendo en esta etapa, presentando una de ellas deformidad en su cuerpo como se observa en la figura 73.



**Figura 73. Deformación de la etapa pupa de las larvas que consumieron el follaje de plantas de semillas acondicionadas con quitosán de insecto al 1%.**

Probablemente en este acondicionamiento con quitosán proveniente de *Zabrotes* 1% al ser derivado de un insecto, al consumir la larva estas plantas de maíz con este acondicionamiento, se presume que posiblemente consumen también de manera indirecta las sustancias que producen el quitosán en las plantas, como por ejemplo las quitinasas que pudieran afectar al insecto.

Las quitinasas de la planta pueden tener como blanco la membrana del intestino medio del insecto en vez de la quitina de su exoesqueleto. Un ataque enzimático en la membrana del intestino medio podría resultar en una abrasión severa y fatal desintegramiento del revestimiento intestinal y provocando la muerte del insecto (Lizárraga, 2014).

En relación con los demás acondicionamientos las larvas que consumieron plantas de semillas acondicionadas con quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* 0.5%, 1% y 2% y quitosán de insecto *Zabrotes* 0.5% y 2% no mostraron disminución en sus días de supervivencia menores a 40 días, ya que presentan casi los mismos días que el control. Por consiguiente las larvas que consumieron estas plantas de maíz de semillas acondicionadas no tuvieron efecto en el desarrollo del insecto, ya que probablemente estas larvas pudieran desechar o sintetizar de manera normal el quitosán que entraba en su cuerpo.

### 3.4 Objetivo particular 3

**Comparación del efecto de quitosán extraído de crustáceo contra el efecto de quitosán extraído de insecto, sobre el consumo foliar de las plantas de maíz hecho por el gusano y sobre la supervivencia del insecto a través de las etapas de larva, pupa, hasta la emergencia de la palomilla.**

De acuerdo a los resultados ya obtenidos

#### ❖ Para el consumo foliar

En la figura 74 se muestra que:

- La media del consumo de follaje de las plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con quitosán de insecto *Zabrotes* al 0.5% ( $217.59\text{cm}^2$ ), con la media del consumo de follaje de las plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con quitosán de crustáceo *Pleuroncondes* al 0.5% ( $216.86\text{cm}^2$ ), no muestra diferencia significativa entre ellas, ni con la media del consumo del follaje control ( $227.44\text{cm}^2$ ) que fueron las plantas de maíz de semillas no acondicionadas. En la figura 75, se muestra los porcentajes de disminución de consumo de follaje, por concentración de los acondicionamientos y se observa en color amarillo que para esta concentración de los dos tipos de quitosán son menores al 5%.

En estos acondicionamientos no hubo ningún efecto en la disminución del consumo ya que debido a la baja concentración, posiblemente no permite activar mecanismos de defensa en la planta necesarios para la protección de la misma que la ayuden contra el ataque del gusano cogollero.

- La media del consumo de follaje de las plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con quitosán de insecto *Zabrotes* 1% ( $200.70\text{cm}^2$ ), con la media del consumo de follaje de las plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* 1% ( $197.01\text{cm}^2$ ), no muestran diferencia significativa entre ellas ya que ambas medias presentan casi la misma cantidad de follaje consumido por el gusano cogollero, sin embargo, si presenta diferencia

significativa con el consumo de follaje de las plantas control (227.44cm<sup>2</sup>). De igual manera en la figura 75 se muestra el porcentaje de disminución de estos dos acondicionamientos en color azul, 11.76% para quitosán de insecto *Zabrotes* 1% y 13.39% para quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* 1% en comparación del control. Por lo tanto la concentración de 1% para ambos tipos de quitosán se cree que posiblemente debido a un aumento en la concentración activa o comienza a activar mecanismos de defensa en la planta de maíz. Por otro lado en cuanto a la diferencia de un quitosán y otro se muestra que el consumo de las plantas de semillas acondicionadas con el quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* muestra una mayor media que la del quitosán de insecto *Zabrotes* y por lo tanto un mayor porcentaje de disminución de consumo del follaje por el gusano cogollero, y de igual manera como ya antes se ha mencionado probablemente al tener un peso molecular menor entra con mayor facilidad a las células de la semillas de maíz, produciendo la activación de manera más fácil y en mayor cantidad los mecanismos de defensa, pero no lo suficiente como para marcar una diferencia significativa con el consumo de las plantas de semillas acondicionadas con quitosán de insecto *Zabrotes*.

- La media del consumo de follaje de las plantas de maíz procedentes de semillas acondicionadas con quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* 2% muestra una mayor diferencia significativa con la media del consumo de follaje de las plantas de semillas acondicionadas con quitosán de insecto de *Zabrotes* 2%, es decir el quitosán de crustáceo disminuye en mayor cantidad el consumo del follaje a comparación del quitosán de insecto. Por otro lado ambos acondicionamientos muestran considerablemente diferencia significativa con la media de consumo de follaje de las plantas de semillas no acondicionadas. En la figura 75, de igual manera se muestra el porcentaje de disminución de consumo de estos acondicionamientos en color lila, donde para el acondicionamiento de quitosán de insecto *Zabrotes* 2% las larvas dejaron de consumir el follaje en un 16% y para el acondicionamiento de quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* al 2% las larvas dejaron de consumir en un 26.34% en comparación del consumo de follaje control. Esto indica que estos acondicionamientos muestran un mayor efecto ya que posiblemente

activan en la planta de maíz mecanismos de defensa para la protección de la misma contra el gusano cogollero ya que a una mayor concentración existe una mejor y fácil respuesta y, a una mayor concentración y a un bajo peso molecular como el quitosán de crustáceo *Pleuroncodes* 2% produce un mayor efecto en el consumo de estas plantas de semillas acondicionadas.

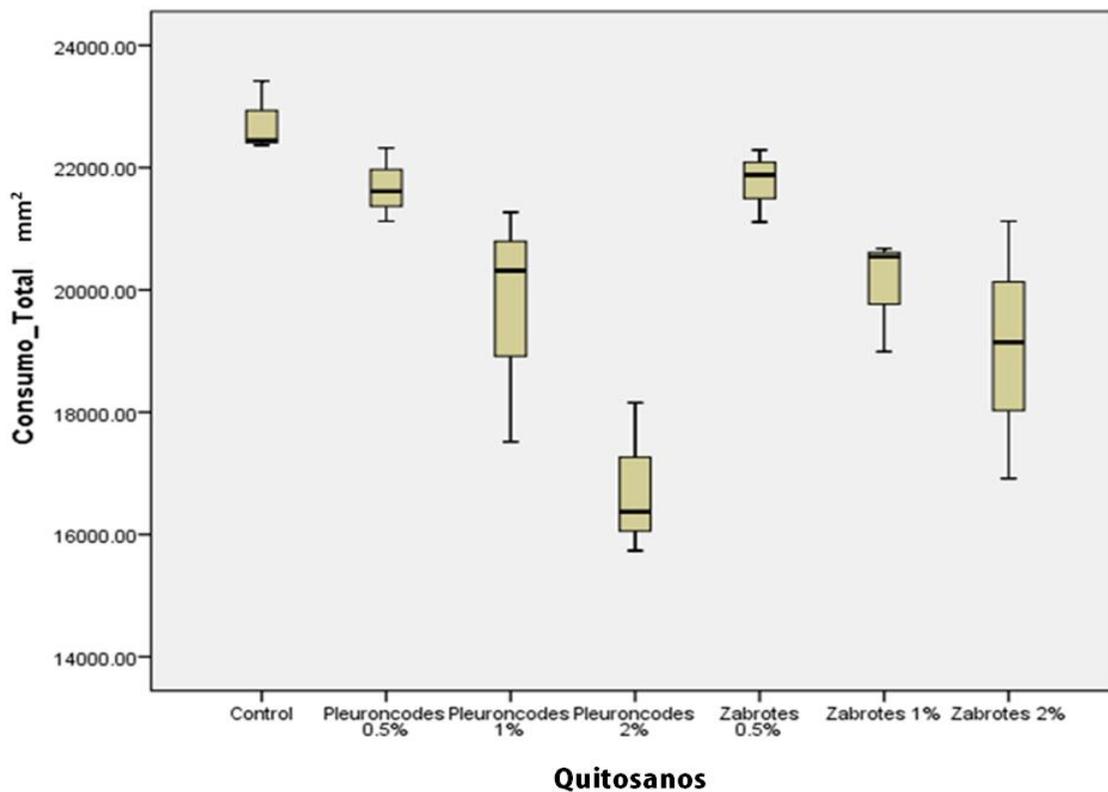
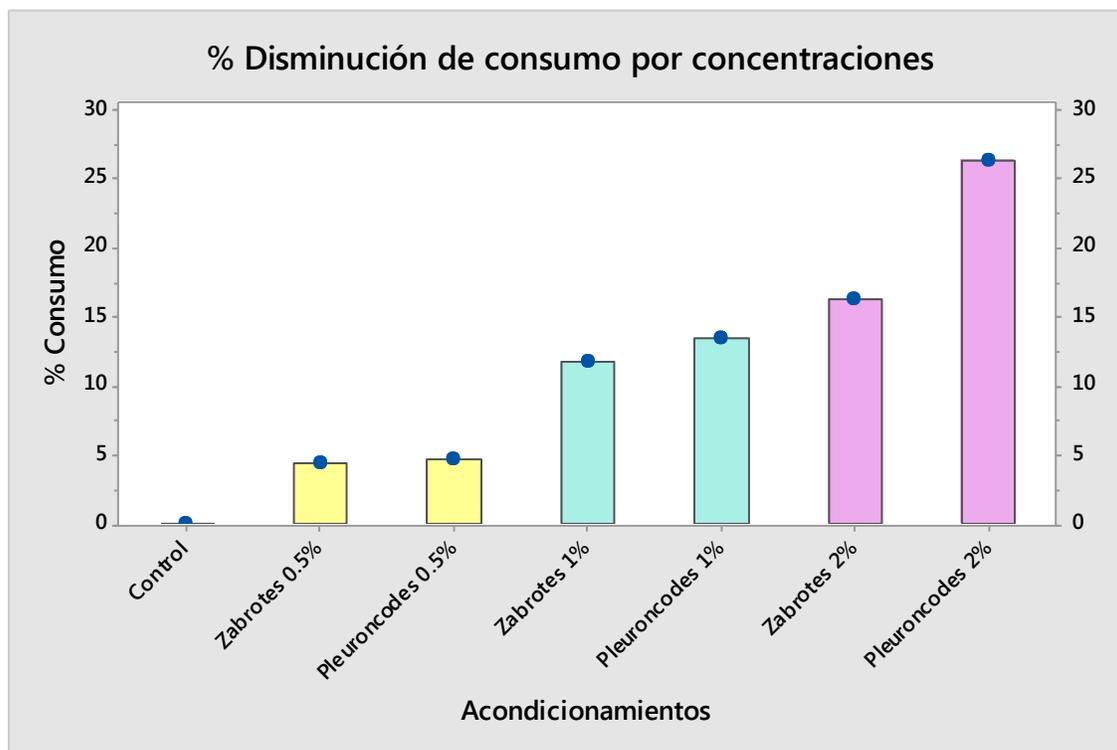


Figura 74. Comparación del efecto del consumo del follaje de plantas de maíz de semillas acondicionadas con diferentes concentraciones de dos tipos de quitosán (insecto y crustáceo) hecho por el gusano cogollero.



**Figura 75.** Comparación por concentraciones del porcentaje de disminución del consumo del follaje de las plantas de maíz de semillas acondicionadas con dos tipos de quitosán (insecto y crustáceo).

#### ❖ Para la supervivencia del insecto

La figura 76 y figura 77 muestran el resultado del análisis de supervivencia del insecto utilizando el método Log Rank que sirve para identificar relación entre los acondicionamientos y el tiempo de vida (ver anexo 3).

En la primera figura 76, se muestra la supervivencia en días del gusano cogollero alimentándose de plantas provenientes de semillas acondicionadas con los dos tipos de quitosán (insecto y crustáceo) a sus diferentes concentraciones cada uno (0.5%, 1%, y 2%) y el control, donde se observa que el único acondicionamiento que muestra diferencia significativa es el de quitosán de insecto *Zabrotos* 1% ya que no se cruza con ninguna otra línea de los otros acondicionamientos ni con el control, presentando los menores día de supervivencia; en cambio los demás acondicionamientos no presentan diferencia significativa entre ellos incluyendo el control, por lo tanto estos

acondicionamientos no causan efecto en el desarrollo del ciclo de vida del insecto gusano cogollero ya que las líneas se cruzan unas con otras.

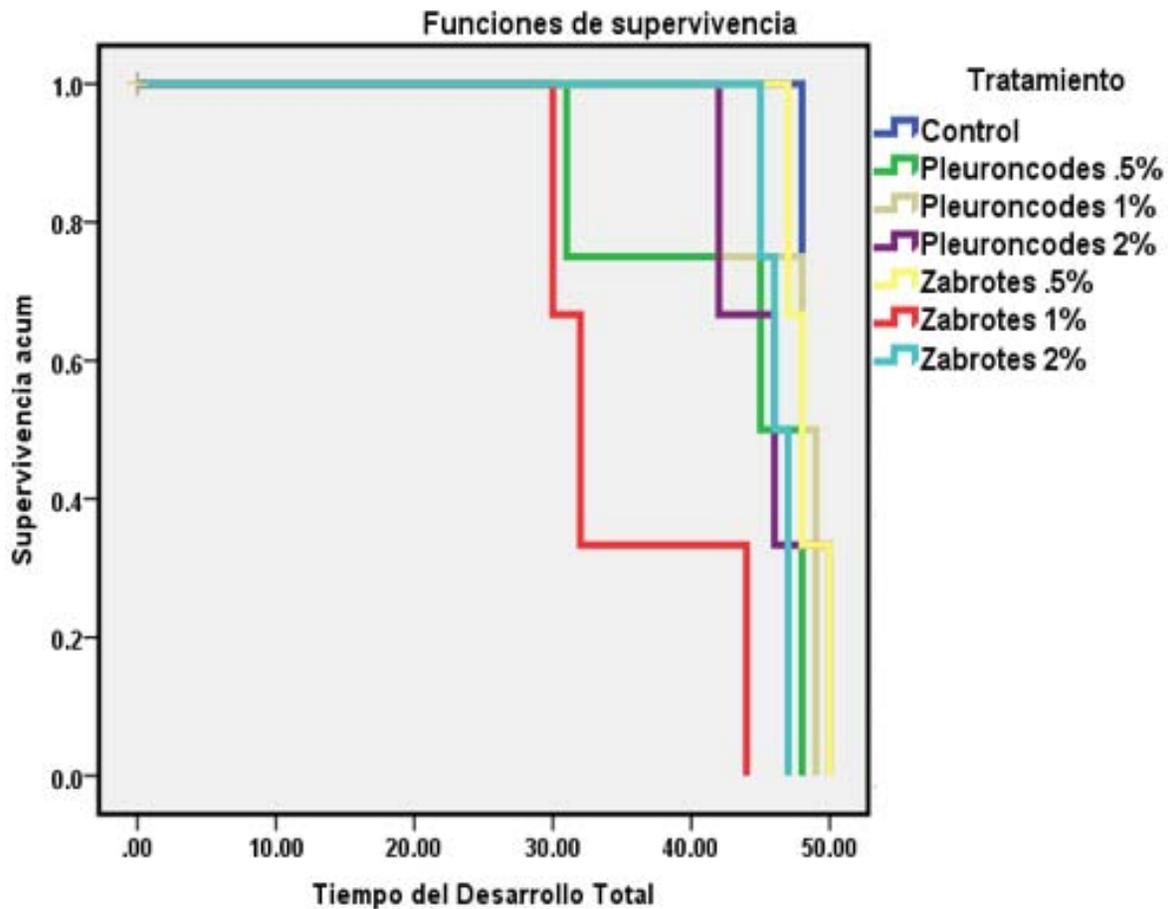


Figura 76. Comparación de la supervivencia en días del desarrollo total del insecto gusano cogollero de los diferentes acondicionamientos de quitosán.

En la figura 77, se muestra que al igual que el método Kaplan-Meier, el ciclo de vida del insecto cuyas larvas consumieron las plantas procedentes de semillas acondicionadas con quitosán de insecto *Zabrotes* al 1% a 35 días al presentar mortalidad en la etapa de pupa, en comparación del control (48 días) cuyas larvas consumieron las plantas de semillas sin acondicionar y las cuales desarrollaron todas sus etapas.

Como ya se había mencionado en los resultados anteriores se cree que posiblemente este tipo de quitosán de insecto *Zabrotes* 1% causa un mayor efecto de disminución en el ciclo de vida del insecto causándole un daño en su proceso de transformación.

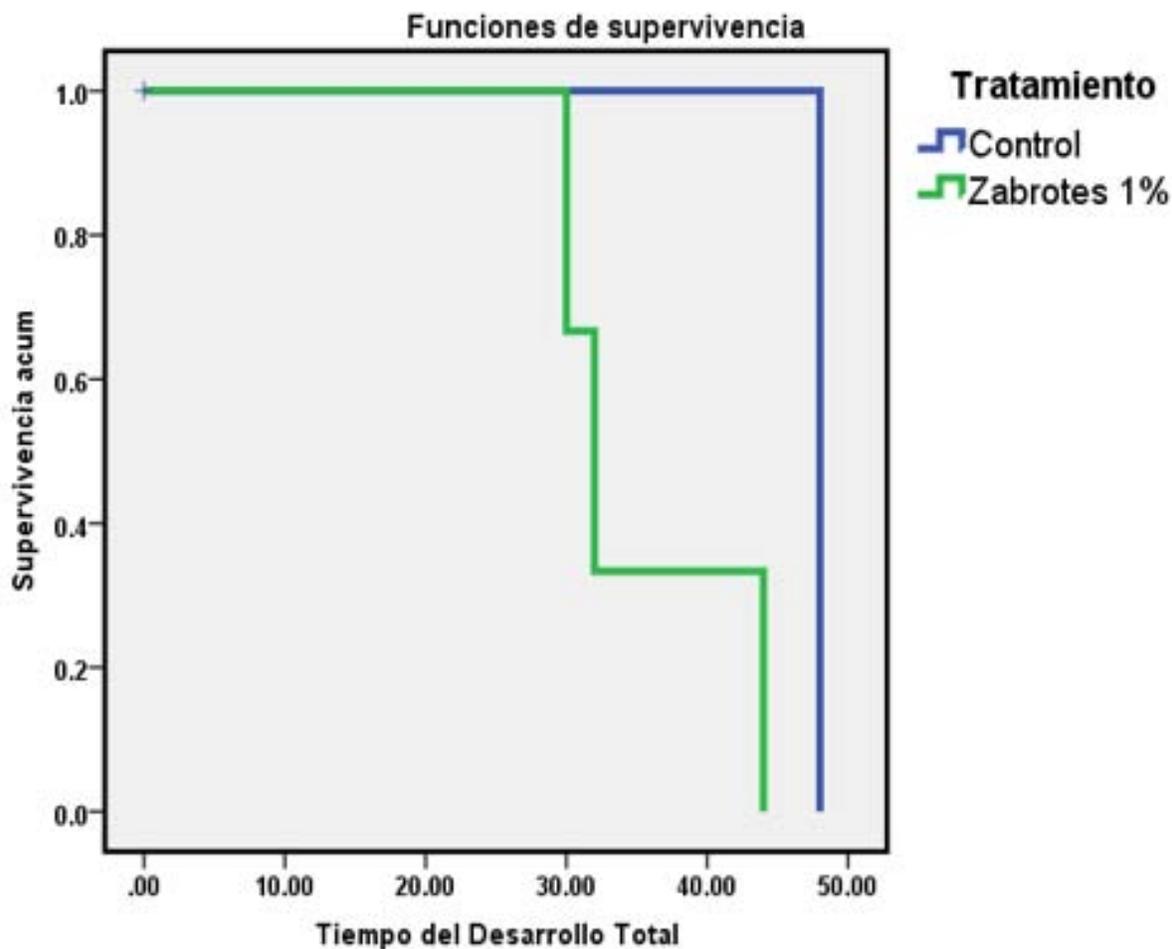


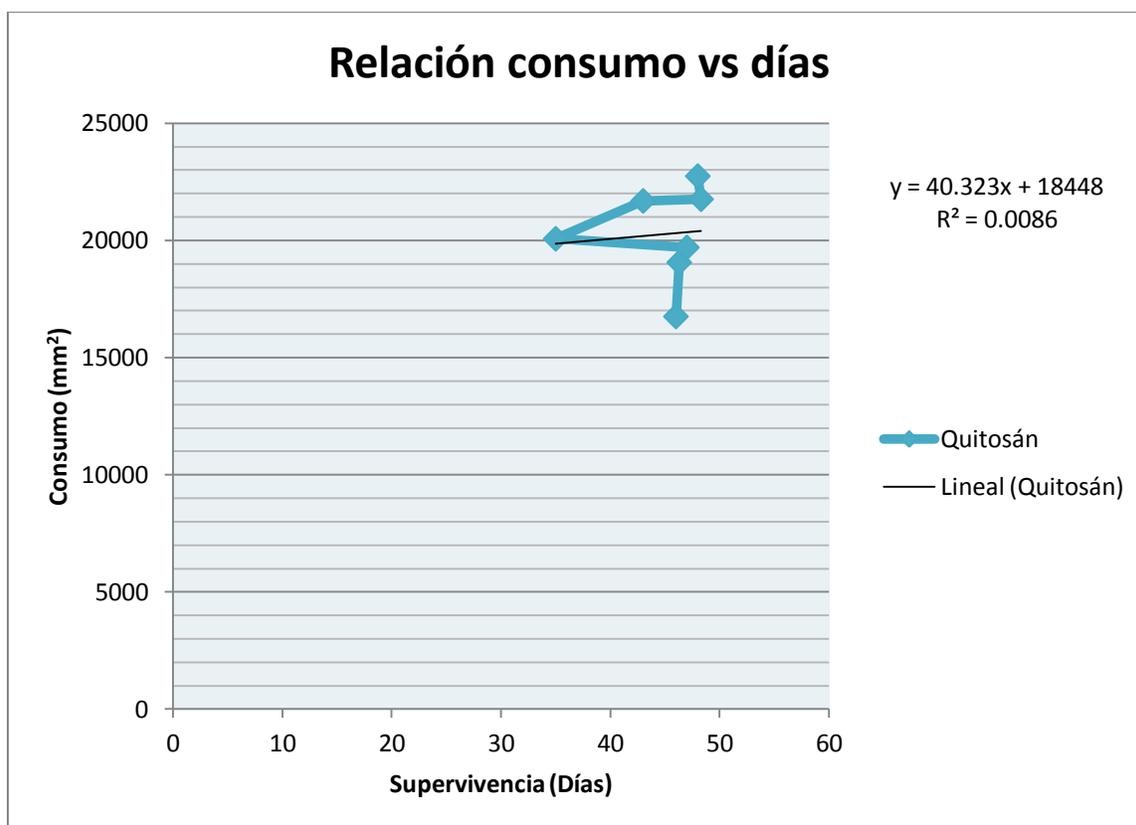
Figura 77. Comparación de la supervivencia en días del insecto gusano cogollero: control vs acondicionamiento de quitosán 1%.

### 3.4.1 Relación consumo vs días

En la figura 78 se puede observar que no existe relación entre el consumo de las plantas procedentes de semillas acondicionadas con estos tipos de quitosán y la supervivencia del insecto que comió estas plantas de semillas acondicionadas, es decir estas dos variables (consumo y supervivencia) no se vieron afectados una por la otra gráficamente, sin embargo, en los resultados anteriores se puede observar que el único acondicionamiento que posiblemente tenga una relación es el de quitosán de insecto *Zabrotes* 1%, en el cual disminuyó ambos parámetros tanto en el consumo de estas plantas de semillas

acondicionadas como en la supervivencia del insecto pero solo en comparación con el control.

Probablemente este tipo de quitosán de procedencia de insecto guarde de manera mínima esta relación ya que activa mecanismos de defensa en la planta de maíz y afecta el desarrollo en el ciclo de vida del gusano cogollero produciendo algunas sustancias acumulativas en él que no pueda eliminar.



**Figura 78. Relación consumo total del follaje de plantas de semillas acondicionadas con diferentes concentraciones de dos tipos de quitosán vs supervivencia total en días del insecto: gusano cogollero.**

Estudios realizados sobre el uso del quitosán como compuestos biológicamente activos contra algunas plagas económicas, han utilizando quitosán con diferentes pesos moleculares y los combinaciones de quitosán con metales sobre dieta artificial, los cuales han mostrado buena actividad contra larvas de gusano de la hoja del algodón *Spodoptera littoralis*, deteniendo la alimentación de esta larva a los 3 días y en algunos caso mortalidad y por ende los resultados sugieren que algunos de estos compuestos tienen el potencial de

convertirse en alternativas para la protección de las plantas en lugar de algunos pesticidas dañinos. Además, se menciona en este estudio que pueden ser la introducción de un modo de acción sobre los insectos, por lo que el desarrollo de la resistencia a estos compuestos no es probable que suceda (Badawy y El-Aswad, 2012).

De igual manera en este trabajo de tesis se utilizan quitosán de bajo peso molecular y alta concentración que han dado efecto contra este tipo de plagas en este caso el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*, siendo posiblemente el quitosán de bajo peso molecular de crustáceo una alternativa al uso de insecticida químico.

# CONCLUSIONES

Los acondicionamientos que causaron un mayor efecto en la planta de maíz contra el ataque del gusano cogollero fueron 2:

El primer acondicionamiento que causo efecto fue en las plantas de maíz cuyas semillas fueron acondicionadas con quitosán de crustáceo (*Pleuroncodes monodon*) de bajo peso molecular y de concentración alta de 2% el cual disminuyo el parámetro de consumo evaluado en el objetivo 1.

El segundo acondicionamiento que causo efecto fue en las plantas de maíz cuyas semillas fueron acondicionadas con quitosán de insecto (*Zabrotes subfasciatus*) al 1% el cual disminuyo el parámetro de supervivencia o ciclo de vida evaluado en el objetivo 2.

Para el objetivo 3 los acondicionamientos fueron comparados conforme a la misma concentración pero de diferente tipo de quitosán obteniendo de igual manera que, los quitosanos con mayor efecto fueron el de crustáceo *Pleuroncodes monodon* al 2% y el de insecto *Zabrotes subfasciatus* al 1%

Se cree que el quitosán en concentraciones altas y de bajo peso molecular puede activar algunos mecanismos de defensas en las planta y aunque no se sabe el mecanismo de acción se sugiere que estos quitosanos inducen a la formación de sustancias en la planta, como la generación de quitinasas, quitosanasas y glucanasa, especies reactivas de oxígeno (ROS) entre otras, que ayudan a la planta de maíz a protegerse contra el ataque de este tipo de plagas y aunque no se presenta mortalidad en las larvas, si en la etapa de pupa, además se disminuye su consumo de la planta, protegiéndola de una severa defoliación y daño irreparable.

Este proyecto de tesis es una iniciativa de investigación, para que con estos tipos y pesos moleculares de quitosán sea una alternativa al uso de insecticidas químicos disminuyendo su uso que pueden provocar intoxicación en humanos y animales y que contribuyen a la contaminación ambiental.

## RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar análisis químicos o moleculares, que permitan identificar los posibles tipos de mecanismos de defensa que se activa en la planta de maíz, estos análisis podrían realizarse en el momento del ataque o después del ataque del gusano cogollero.
- ❖ Se podría realizar una segunda experimentación solo con los quitosanos que tuvieron mayor efecto en los parámetros de consumo y supervivencia.
- ❖ Para poder realizar un análisis ANOVA en la supervivencia del insecto es necesario utilizar un mayor número de unidades experimentales (repeticiones) por cada acondicionamiento, para poder obtener una diferencia significativa en cada etapa del insecto, además de que, se evita una desviación alta en los resultados debido a la mortalidad infantil de las larvas recién nacidas.
- ❖ Es necesario e importante que se acondicione a la colonia de gusano cogollero en épocas de frío ya que al no ser una plaga de este clima puede verse afectada en alguna de sus etapas o mortalidad de la colonia.
- ❖ Realizar pruebas de germinación y vigor a las plantas de maíz de semillas acondicionadas ya que se observó que el crecimiento fue diferente en algunos acondicionamientos.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Amar, C. A. (2011). Chitin and Chitosan: Marine Biopolymers with Unique Properties and Versatile Applications Global. *Journal of Biotechnology & Biochemistry*, Vol. 6, No. 3: 149-153pp.
2. Arbia, W., Arbia, L., Adour, L., Amrane, A. (2013). Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods—A Review. *Food Technology and Biotechnology*, Vol. 51, No. 1: 12–25pp.
3. Asturias, M. A. (2004). Maíz de Alimento Sagrado a Negocio del Hombre. Quito, Ecuador: *HIVOS*. 111pp.
4. Badawy, M. E. y El-Aswad, A. F. (2012). Insecticidal Activity of Chitosans of Different Molecular Weights and Chitosan-metal Complexes Against Cotton Leafworm *Spodoptera littoralis* and Oleander Aphid *Aphis nerii*. *Plant Protection Science*, Vol. 48, No. 3: 131–141pp.
5. Bahena, J. F. y Velázquez J. G. (2012). Manejo Agroecológico de Plagas en maíz para una Agricultura de Conservación en el Valle Morelia-Queréndaro. INIFAP. CIRPAC. Campo Experimental Uruapan. Folleto Técnico Núm. 27. Uruapan, Michoacán, México. 81pp.
6. Bautista, M. N. (2013) Gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*. Colegio de postgraduados. Disponible en <http://www.colpos.mx/entomologia/plagas4.htm> Consultado en mayo 2014.
7. Bellon, J. M., (2015). Análisis de supervivencia (II). Epidemiología molecular de enfermedades infecciosas. Disponible en <http://epidemiologiamolecular.com/analisis-supervivencia-ii/> consultado junio 2015.
8. Benítez, C. C. G. y Pfeiffer, P. H. (2006). El maíz origen, composición química y morfología. *Revista Materiales Avanzados*. Vol. 7. 15-20pp.

9. Borror, D. J., DeLong, D. M., Triplehorn, C. A. (1976). *An introduction to the study of insects* (4th ed.). USA: Holt Rinchart and Winston 852pp.
10. Capinera, J. L., (2014). Fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Featured Creatures. Entomology & Nematology. Universidad de florida. Disponible en [http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/fall\\_armyworm.htm#top](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/fall_armyworm.htm#top) consultado en mayo 2015.
11. Carrillo, S. K. D. (2011). Prueba post-hoc. Aprende en línea. Plataforma académica para pregrado y posgrado. Universidad de Antioquia Medellin Colombia. Disponible en <http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/mod/forum/discuss.php?d=36965> Consultado en Junio 2015.
12. Casmuz, A., Juárez, M. L., Socías, M. G., Murúa, M. G., Prieto, S. (2010). Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, Vol. 69, No. 3-4: 209-231pp.
13. CEDAF, (1998). Guía técnica No.33 Cultivo de maíz. Centro para el desarrollo agropecuario y forestal INC. (CEDAF). Republica Dominicana 44pp.
14. Chacón, C. Y., Garita R. C., Vaglio, C. C., (2008). Desarrollo de una metodología de crianza en laboratorio del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith) como hospedante de insectos biocontroladores de interés agrícola. Proyecto de investigación estudiantil. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 51pp.
15. CESAPEG (2007). Campaña de manejo fitosanitario de cultivos básicos. Maíz. Comité Estatal de Sanidad Vegetal, Guanajuato CESAPEG. Folleto No. 7. México.
16. CONACYT (2015) Maíz. Consejo nacional de ciencia y tecnología. Disponible en <http://www.conacyt.gob.mx/cibogem/index.php/maiz> Consultado Abril 2015. Costa Rica.

17. Cortez, M. E. y Macías, C. J., (2006). Recomendaciones para el manejo de las plagas insectiles del Maíz en Sinaloa. INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Valle del Fuerte. Folleto Técnico No. 26. Los Mochis, Sinaloa, México. 30pp.
18. Cortez, M. E. y Valenzuela, E. F. A., (2012). Efectividad de insecticidas novedosos al 100% y 50% de la dosis sobre gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) en maíz. *Revista agrícola. TecnoAgro*. 11pp
19. Deras, F. H. (2014). Guía técnica: El cultivo de maíz. Centro nacional de tecnología agropecuaria y forestal: Enrique Álvarez Córdova. Editorial CENTA. 40pp. El Salvador.
20. El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., Daayf, F. (2010). Chitosan in Plant Protection. *Journal Marine Drugs*. Vol.8, 968-987pp.
21. Escobar, S. D. M., Urrea, Llano Carlos Alberto, Gutiérrez Guerra Mariana, Zapata Ocampo Paola Andrea, (2011). Producción de matrices de quitosano extraído de crustáceos *Revista Ingeniería Biomédica*. Vol. 5, No. 9: 20-25pp.
22. FAO (1993). El maíz en la nutrición humana. Departamento de Agricultura, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma Italia. <http://www.fao.org/docrep/t0395s/t0395s00.htm>. Consulta Marzo 2015
23. FAOSTAT (2015). Statistics Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S> julio 2015 Consultado en Julio 2015.
24. Fassio, Alberto., Carriquir, A. I., Tojo, C., Romero, R. (1998). MAÍZ: Aspectos sobre fenología. Serie Técnica N° 101 Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria INIA Montevideo Uruguay. 51pp.
25. Fernández, R. C. (1995). Control biológico del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* J.E Smith) mediante *Trichogramma SP.* Y *Bacillus Struringiensis* Berliner. Tesis Profesional de Licenciatura, Villaflores, Chiapas, México, 3-7pp.

26. Fernández, S. R., Morales, C. L. A., Gálvez, M. A. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana* Vol. 36, Suplemento 3-A: 275 – 283pp.
27. Fernández, T. J. L. (2007). Relaciones de asociación entre insectos plagas del maíz y su incidencia en las afectaciones ocasionadas al cultivo en la provincia de Granma, Cuba Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa, Vol.1 No. 40: 539-541pp.
28. Financiera rural (2014). Panorama del Maíz. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnologías de la Información. Financiera Nacional de desarrollo. Agropecuario, rural, forestal y pesquero. Secretaria de hacienda y crédito público. 2pp.
29. García, N. G., Tarango, R. S. H. (2009). Manejo biorracional del gusano cogollero del maíz Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Folleto técnico No.30. 34 pp. Chihuahua, México.
30. García, R. F., Mosquera, A. T., Vargas, S. C. A., Rojas, A. L. (1999). Manejo integrado del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Boletín técnico No.7. Corporación colombiana de investigación agropecuaria (CORPOICA). 18pp. Colombia.
31. Gonil, P. y Sajomsang, W. (2012). Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 51. 514–522pp.
32. Gutiérrez, G. A. y Sosa, D. (2012). Gusano cogollero del maíz. Hoja Volante No.40. Centro de Investigación Agrícola Tropical. Bolivia. 1pp.
33. Hidalgo, J.L. y Miranda, S.P. (2013). . Manual de caracterización del quitosán: Grado de desacetilación y peso molecular. Cuautitlán Izcalli. Universidad Nacional Autónoma de México. 38pp.

34. Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A., Bye, R. A. (2009). Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad. Editorial Impresora Apolo, S.A. de C.V. D.F., México. 116pp.
35. INTA (2010) Maíz cadena de valor agregado. Actualización Técnica N° 54. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. 34pp. Argentina.
36. Lizárraga, P. E. G., Torres, P. I., Moreno, M. E., Miranda, C. S. P. (2011). Protección contra estrés biótico inducida por quitosán en plántulas de maíz (*Zea mays* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.2 Núm.6. 813-827pp.
37. Lizárraga, P. E. G., (2014). Estudio de la respuesta de defensa inducida por estrés de tipo biótico, abiótico y elicitores en plántulas de maíz para consumo animal. Tesis para obtener Doctorado en Ciencias. UNAM. Cuautitlán Izcalli. México. 158pp.
38. Majeti, N.V. y Kumar, R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*. Vol.46 1–27pp.
39. Marmol, Z., Páez, G., Rincón, M., Araujo, K., Aiello, C. (2011). Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URU*, Vol.1.53-58pp.
40. Mena, C. J. (2009). Una estrategia de manejo para el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 4pp. Disponible en [http://www.inifap-nortecentro.gob.mx/files/noticias/gusano\\_cogollero.pdf](http://www.inifap-nortecentro.gob.mx/files/noticias/gusano_cogollero.pdf) Consultado junio 2014
41. Méndez, B. A. (2009). Influencia alimentaria en la fecundidad de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) en condiciones artificiales. *Revista Anales de Biología* Vol.31: 105-108pp.
42. Miranda, C. S. P. y Lizárraga, P. E. G. (2012). Is Chitosan a new panacea? Areas of Application In: the Complex world of polysaccharides, Nedra Karunaratn, D., Rijeka, Intech. Cap 1. 3-46pp.

43. Murúa M. G., Virla E. G., Defagó V. (2003). Evaluation of four artificial diets for the rearing of *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) dedicated to maintain experimental populations of parasitoids Hymenoptera. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*. Num.29: 43-51pp.
44. Negrete, B. F., Morales, A. J. (2003). El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*, Smith). Cartilla ilustrada No.3 Corporación colombiana de investigación agropecuaria (CORPOICA). 26pp.
45. Nexticapan, G. A., Magdub, M. A., Vergara, Y. S., Martín, M. R., Larqué, S. A. (2009). Fluctuación poblacional y daños causados por gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* JE Smith) En maíz cultivado en el sistema de producción continua afectado por el huracán Isidoro. *Revista Universidad y Ciencia*, vol. 25, 3: 273-277pp.
46. Paroda, R., Prasanna, B.M., Dasgupta, S. B. M., Jat, M. L. (2015). *12th Asian Maize Conference and Expert Consultation on Maize for Food, Feed, Nutrition and Environmental Security: Proceedings*. Bangkok, Thailand, 81pp.
47. Paulino, A. T., Simionato, J. I., García, J. C., Nozaki, J. (2006). Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides. *Carbohydrate Polymers*, 64: 98–103pp.
48. Peairs, F.B., Saunders, J. L. (1978). The Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) A Review. 93-104 p.p. Disponible en <http://revistas.zamorano.edu/index.php/CEIBA/article/viewFile/77/77> Consultado en Abril 2015.
49. Pérez, A. M., Navarro, H., Miranda, E. (2013). Residuos de plaguicidas en hortalizas: problemática y riesgos en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29: 45-64pp.

50. Pillai, C. K. S., Paul, W., Sharma, P. C. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*. 34: 641–678pp.
51. Ramírez, M. Á., Rodríguez, A. T., Alfonso, L., Peniche, Carlos. (2010). La quitina y sus derivados, biopolímeros con potencialidades de aplicación agrícola. *Biotecnología Aplicada*. Vol.27,4: 262-269pp.
52. Ranere, A., Piperno, D., Holst, I., Dickau, I., Iriarte, J. (2009). The cultural and chronological context of early Holocene maize and squash domestication in the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States America*. Vol. 106 (13): 5014–5018pp.
53. Ravindra, R., Kameswara R., Krovvidi, A., Khan, A. (1998). Solubility parameter of chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers*. Vol 36: 121-127pp.
54. Ripusudan, L. P., Granados, G., Renée, L. H., Violic, A. D. (2001). El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación Roma. Deposito de documentos de la FAO. 392pp.
55. Rodríguez, P. A. T., Ramírez, A. M. Á., Cárdenas, T. R. M., Falcón, R. A., Bautista, B. S. (2006). Efecto de la Quitosana en la Inducción de la Actividad de Enzimas Relacionadas con la Defensa y Protección de Plántulas de Arroz (*Oryza sativa L.*) contra *Pyricularia grisea Sacc.* *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol. 24 (1):1-7pp.
56. Ruiz, H. J. (1993). La quitina. *Investigación y ciencia* N° 202, 42-49pp..
57. SAGARPA-SENASICA-SEDEREC. (2009). Programa de trabajo de la campaña manejo fitosanitario de maíz a operar con recursos del componente sanidad e inocuidad del programa de soporte 24pp.
58. SAGARPA-SENASICA-CESAVEG (2013). Reunión para el análisis de la problemática de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*): Situación actual de la

presencia del gusano cogollero (*S. frugiperda*) en el bajo mexicano  
<http://www.cesaveg.org.mx/>

59. Sánchez, J. J., Goodman, M. M., Stuber, C. W. (2000). Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* Vol. 54: 43-59pp.
60. Secretaría de economía. (2012). Análisis de la cadena de valor maíz-tortilla: situación actual y factores de competencia local. Dirección general de industrias básicas. 35pp.
61. Serna, S. S. O., Amaya, G. C. A. (2008) El papel de la tortilla nixtamalizada en la nutrición y la alimentación. *In: Nixtamalización del Maíz a la Tortilla. Aspectos Nutrimientales y Toxicológicos*. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. 105-151pp.
62. SIAP (2015) Maíz grano. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/maiz-grano> Consultado en Abril 2015.
63. SIAP-SAGARPA (2015). Producción Agrícola por cultivo. Servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP). Disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> Consultado en Mayo de 2015.
64. Shaofang, L., Jie, S., Lina, Yu., Chushu, Z., Jie, B., Feng, Z., Mingjing, Q., Chen, J., Qingli, Y. (2012). Extraction and Characterization of Chitin from the Beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. ISSN 1420-3049. *Molecules* 17: 4604-4611pp.
65. Silva, C. C. A. (2005). Maíz Genéticamente Modificado. Publicación de AGRO-BIO Bogotá, Colombia. 60pp.
66. UNED (2011). Diseños de investigación y análisis de datos. Universidad Nacional de Educación a Distancia. 31pp. Disponible en <http://www.psicocode.com/resumenes/tema5disenos.pdf> Consultado en Junio 2015.

67. Yeul, V. S., Rayalu, S. S. (2013). Unprecedented Chitin and Chitosan: A Chemical Overview. *Journal Polym Environ* 21:606–614pp.
68. Zenner de, P. I., Álvarez, R. J.A., Mejía, C. R., Bayona, R. M.A., (2005). Influencia de la toxina Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* Sobre el desarrollo del cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH). *Actualidad & Divulgación Científica*. Vol 8. No 2: 129-139pp.

#### **Referencias electrónicas consultadas**

69. [www.agenciadenoticias.unal.edu.co](http://www.agenciadenoticias.unal.edu.co)
70. [www.cesavep.org/galerias.html](http://www.cesavep.org/galerias.html)
71. [www.cordobatimes.com/el-campo/2013/12/04/oruga-militar-tardia-un-bicho-muy-peligroso-en-maiz/](http://www.cordobatimes.com/el-campo/2013/12/04/oruga-militar-tardia-un-bicho-muy-peligroso-en-maiz/)
72. [www.google.com.mx](http://www.google.com.mx)
73. [www.fumigana.com/gallina-ciega/](http://www.fumigana.com/gallina-ciega/)
74. [www.taringa.net/comunidades/cannabis/6082445/Aporte-Como-eliminar-los-Trips.html](http://www.taringa.net/comunidades/cannabis/6082445/Aporte-Como-eliminar-los-Trips.html)

## ANEXOS

### Anexo 1

#### ❖ Descripción y Acondicionamiento de la Jaula de apareamiento

La jaula consta de un cubo de 38 x 40 cada cara, elaborada de madera y cerrada por malla de plástico de orificio pequeño, la puerta consta de un vidrio de medida de 30 x 40.

Para el acondicionamiento de la jaula se colocó un recipiente de plástico dentro, que se utilizó para la recolecta de agua durante el riego de las macetas de maíz colocadas dentro de la jaula.

En las dos jaulas que se ocuparon se colocaron en cada una de ellas de 4 a 6 macetas de maíz, 4 de vaso grande y 2 de vaso pequeño las cuales se regaban cada 2 días. Este riego se realizaba hasta que se observaba la emergencia de las palomillas ya que no se abría más la puerta para evitar el escape de las mismas.

Una vez que se observaba la acumulación de agua dentro del recipiente de plástico, se sacaban las macetas y se retiraba el recipiente, así mismo se realizaba limpieza de la jaula. De igual manera esta limpieza se realizaba hasta la emergencia de las palomillas.

Una vez terminado la etapa de las palomillas se realizaba limpieza general a la jaula.

En la figura 79 se muestra las jaulas de apareamiento acondicionadas.



**Figura 79. Jaula de apareamiento acondicionada.**

## Anexo 2

### ❖ Análisis estadístico para el Consumo

Para la cuantificación del daño de la planta del maíz de semillas acondicionadas con quitosán causado por el gusano cogollero se le denominó como consumo de planta, a los datos obtenidos se les realizó: Media, Intervalo de Confianza para la media al 95%, Mediana, Desviación Estándar, y valores mínimos y máximos para cada grupo respecto a la variable dependiente “consumo total”, variable que está dada en mm<sup>2</sup>.

**Tabla 15. Análisis estadístico del consumo hecho por el gusano cogollero.**

Consumo Total	Estadístico						
	Grupo	Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mediana	Desv. Est.	Mínimo
Límite inferior			Límite superior				
Control	22744.8	21295.1	24194.5	22449.5	583.6	22367.9	23417.0
Pleuroncodes 0.5%	21686.4	20190.7	23182.2	21612.0	602.1	21125.0	22322.3
Pleuroncodes 1%	19701.3	14853.5	24549.1	20315.8	1951.5	17516.5	21271.6
Pleuroncodes 2%	18156.8	9075.4	27238.1	16372.7	3655.7	15735.6	22362.0
Zabrotes 0.5%	21760.0	20271.3	23248.6	21880.8	599.3	21109.5	22289.6
Zabrotes 1%	20070.8	17744.2	22397.3	20544.3	936.5	18992.0	20676.0
Zabrotes 2%	19060.7	13829.7	24291.6	19144.0	2105.7	16914.5	21123.5

Al cumplir con los supuestos de normalidad, varianza constante y mediciones independientes entre sí tabla 15, se optó por realizar la prueba ANOVA de un Factor para identificar si el factor “Grupo” (diferentes tipos de quitosán a diferentes concentraciones), provoca un efecto significativo en el Consumo Total.

**Tabla 16. Análisis ANOVA de un factor del consumo total hecho por el gusano cogollero.**

ANOVA de un factor					
Consumo_Total1					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	73589282.358	6	12264880.393	7.302	<b>.001</b>
Intra-grupos	23513958.660	14	1679568.476		
Total	97103241.018	20			

En la tabla 16, podemos identificar que la Prueba Anova de un Factor arrojó un valor p estadísticamente significativo (Valor  $p = .001$ ). Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, lo que nos indica que por lo menos existe efecto en un acondicionamiento sobre el consumo del gusano cogollero y fue necesario ir a detalle y ver cuales acondicionamientos son diferentes, realizando una comparación post hoc con el método Scheffé.

La prueba post hoc también llamada a posteriori o comparaciones no planificadas son aquellas que se deciden después de obtener los resultados del análisis de varianza rechazando la hipótesis nula e identifica subconjuntos homogéneos de medias que no se diferencian entre sí (Carrillo, 2011 y UNED, 2011).

El método Scheffé se aplica para hacer comparaciones múltiples de las medias de grupos. Su uso está relacionado con la prueba del análisis de la varianza, y se incluye dentro de las llamadas pruebas de comparaciones múltiples.

La prueba del análisis de la varianza contrasta la hipótesis de igualdad de medias de dos o más grupos. Si el resultado se considera estadísticamente significativo, lo que se puede afirmar es que al menos la media de uno de los grupos es distinta a las restantes, o bien que hay otras medias diferentes entre sí.

La prueba de Scheffé se realiza comparando todos los posibles pares de medias, pero usando como error típico el valor de la varianza residual o intragrupos obtenida en el análisis de la varianza (Carrillo, 2011).

La tabla 17 muestra la comparación post hoc con el método Scheffé la cual nos arroja que la media del acondicionamiento de la semilla con quitosán de *Pleuroncodes* (crustáceos) al 2% es la única que muestra diferencia con el control, con *Pleuroncodes* (crustáceos) al 0.5% y con *Zabrotes* (insecto) al 0.5%

**Tabla 17. Análisis post hoc con el método Schaffé.**

(I) Grupo		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Pleuroncodes 2%	Control	-5989.76000*	1058.16460	.005	-10363.7517	-1615.7683
	Pleuroncodes 0.5%	-4931.41000*	1058.16460	.022	-9305.4017	-557.4183
	Pleuroncodes 1%	-2946.26000	1058.16460	.323	-7320.2517	1427.7317
	Zabrotes 0.5%	-5004.94333*	1058.16460	.020	-9378.9350	-630.9517
	Zabrotes 1%	-3315.72667	1058.16460	.209	-7689.7183	1058.2650
	Zabrotes 2%	-2305.64333	1058.16460	.592	-6679.6350	2068.3483

En la tabla 18 se muestra los subconjuntos que no tienen diferencia significativa con *Pleuroncodes* al 2% (*Zabrotes* 2%, *Pleuroncodes* 1%, *Zabrotes* 1%). También se muestra y se identifica el orden de los grupos de menor a mayor respecto al consumo total siendo el acondicionamiento de quitosán de crustáceos *Pleuroncodes* 2% con un total de 16755.0233 mm<sup>2</sup> el que tuvo menor consumo hecho por el gusano cogollero y el de mayor consumo fue el control con un total de 22744.7833mm<sup>2</sup>.

**Tabla 18. Tabla de subconjuntos del consumo total y orden de consumo de los acondicionamientos.**

Consumo_Total1				Orden de los acondicionamientos de menor a mayor consumo
Scheffé <sup>a</sup>				
Grupo	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	
Pleuroncodes 2%	3	16755.0233		Pleuroncodes 2%
Zabrotes 2%	3	19060.6667	19060.6667	Zabrotes 2%
Pleuroncodes 1%	3	19701.2833	19701.2833	Pleuroncodes 1%
Zabrotes 1%	3	20070.7500	20070.7500	Zabrotes 1%
Pleuroncodes 0.5%	3		21686.4333	Pleuroncodes 0.5%
Zabrotes 0.5%	3		21759.9667	Zabrotes 0.5%
Control	3		22744.7833	Control
Sig.		.209	.131	

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

**Anexo 3**

❖ **Análisis estadístico para la supervivencia del insecto**

El análisis de supervivencia se realizó mediante el método de Kaplan-Meier, procedimiento estadístico no paramétrico. Se usa para estudiar y comparar tasas de supervivencia bajo diferentes tratamientos en este caso acondicionamientos.

**Tabla 19. Análisis de supervivencia método Kaplan-Meier.**

Tratamiento	Media				Mediana			
	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%		Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
Control	48.0	0.0	48.0	48.0	48.0			
Pleuroncodes 0.5%	43.0	4.1	35.0	51.0	45.0	5.7	33.9	56.1
Pleuroncodes 1%	47.0	1.7	43.7	50.3	48.0	2.3	43.4	52.6
Pleuroncodes 2%	46.0	2.3	41.5	50.5	46.0	3.3	39.6	52.4
Zabrotes 0.5%	48.3	0.9	46.6	50.1	48.0	0.8	46.4	49.6
Zabrotes 1%	<b>35.3</b>	4.4	26.8	43.9	<b>32.0</b>	1.6	28.8	35.2
Zabrotes 2%	46.3	0.5	45.3	47.2	46.0	0.7	44.7	47.3
Global	44.9	1.2	42.6	47.2	47.0	0.5	46.0	48.0

Se puede observar que tanto la media como la mediana del tratamiento *Zabrotes* al 1% (quitosán de insecto) se obtuvieron los valores más bajos. Una media de **35.3** días y una mediana **32** días de supervivencia tabla 19.

**Análisis estadístico para la comparación de quitosanos en la supervivencia del insecto**

❖ Para el desarrollo del insecto

Se utilizó la prueba Log Rank para identificar relación entre los acondicionamientos y el tiempo de vida.

Al igual que la prueba de Kaplan-Meier la prueba log Rank da a conocer la supervivencia, sin embargo, esta prueba consiste en comparar el número de fallecimientos observados en cada uno de los grupos con el número de fallecimientos esperados en el caso de que la

mortalidad fuera la misma en todos los grupos (hipótesis nula) en este caso la supervivencia. Si las diferencias son mucho mayores de lo esperado, entonces rechazaríamos la hipótesis nula (Bellon, 2015).

Al obtener un valor  $p = .003$ , rechazamos la hipótesis nula concluyendo que el tipo de tratamiento influye en el tiempo de sobrevivencia de los sujetos (Larvas) tabla 20.

**Tabla 20. Prueba Log Rank.  
Comparaciones globales**

	<b>Chi-cuadrado</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
<b>Log Rank (Mantel-Cox)</b>	20.210	6	<b>.003</b>