

UCLV
Universidad Central
"Marta Abreu" de Las Villas



FCA
Facultad de
Ciencias Agropecuarias

Departamento de Agronomía

TRABAJO DE DIPLOMA

Título **Abundancia y prevalencia de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. en agroecosistemas de *Zea mays* (L.) y su efecto sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith)**

Autores **Jorge Ariel Jiménez Martínez**

Tutores **Dr.C. Yordanys Ramos González**

Santa Clara, Junio, 2018

Copyright©UCLV

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y se encuentra depositado en los fondos de la Biblioteca Universitaria “Chiqui Gómez Lubian” subordinada a la Dirección de Información Científico Técnica de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su utilización bajo la licencia siguiente:

Atribución- No Comercial- Compartir Igual



Para cualquier información contacte con:

Dirección de Información Científico Técnica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP. 54 830
Teléfonos.: +53 01 42281503-1419

Pensamiento

"Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor,
la electricidad y la energía atómica: la voluntad".

Albert Einstein

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado quienes me enseñaron que con sacrificio y voluntad se logran las metas mis padres Irina L. Martínez García y Jorge Luis Jiménez.

Agradecimientos

No solo quiero agradecer a los que contribuyeron a la realización de este trabajo, sino los que me apoyaron durante estos cinco años.

En primer lugar, quiero agradecer a los que me brindaron todo su amor y me dieron aliento para llegar a la meta “mi familia”, mis abuelos Digna y Albe, mi tía Sarahí, mi prima Alegna, mi hermano Alejandro, mi papá Jorge Luis (Achi), mi novia Adriana y en especial a mi mamá Irina por ser la más exigente. Gracias por ser parte de mi vida.

También a los que considero mis padrinos a Alexis (El Bala), Edel y Yosbani, a; mis amigos José Lenier, Dayron y Carlos Alberto.

A quien me inspira a cumplir lo que me propongo, mi Tío Adonix.

Agradecer a los que estuvieron en la realización de este trabajo:

A mi tutor Dr. C Yordanys Ramos por darme la mano cuando lo necesité, estar presente en la realización de todos los experimentos, por su paciencia y dedicación minuciosa en esta tesis. También a la técnica del laboratorio de Fisiología Vegetal, Anisley por su ayuda.

A los trabajadores del CREE Abel Santamaría por proveer las larvas de *Galleria mellonella* para la realización de los experimentos; al Ing. René Cupull por su ayuda incondicional en los experimentos de laboratorio.

A todos, muchas gracias.

Resumen

Resumen

Con el propósito de determinar la abundancia y prevalencia de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp., así como su efecto sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), se realizó un inventario en agroecosistemas de *Zea mays* (L.) perteneciente a los municipios de Santa Clara y Encrucijada, Cuba. Los agroecosistemas se seleccionaron bajo el criterio de las actividades agrícolas que se realizan, por lo que se clasificaron en agroecológicos y convencionales. Los hongos entomopatógenos se aislaron del suelo mediante el uso de la técnica del insecto cebo, mientras su endofitismo en *Z. mays* se comprobó a través de la inoculación del tejido de la planta en medio de cultivo Sabouraud Dextrosa Agar con antibiótico. La efectividad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre *S. frugiperda* también se comprobó en condiciones de laboratorio. En los agroecosistemas con manejo agroecológico se obtuvo un mayor número de aislados de hongos entomopatógenos con respecto al convencional con un total de 78 y 45 aislados respectivamente. *Metarhizium* spp. mostró mayor prevalencia que *Beauveria* spp. en los agroecosistemas estudiados. Se evidenció que *B. bassiana* colonizó la raíz, tallo y hojas de *Z. mays* con un 44, 27,7 y 18,05 % respectivamente y además causó entre un 78 a 100 % de mortalidad sobre las larvas de *S. frugiperda*. Por su parte, *M. anisopliae* solo colonizó las raíces y provocó una mortalidad entre el 87 y 100 %. Este resultado indica el potencial de *B. bassiana* y *M. anisopliae* de colonizar el tejido de *Z. mays* y disminuir la incidencia de *S. frugiperda*.

Índice

Índice

1. Introducción.....	1
2. Revisión Bibliográfica.....	3
2.1. Importancia de <i>Zea mays</i> L.....	3
2.2. Principales plagas que afectan a <i>Zea mays</i>	4
2.3. Características biológicas de <i>Spodoptera frugiperda</i> y daños que ocasionan.....	5
2.3.1. Biología de <i>S. frugiperda</i>	5
2.3.2. Daños que ocasiona <i>S. frugiperda</i> a <i>Z. mays</i>	6
2.4. Principales medidas de control de <i>S. frugiperda</i>	7
2.4.1. Control Cultural	7
2.4.2. Control Químico	9
2.4.3. Control Biológico.....	10
2.5. Agroecosistemas y su influencia en el nivel poblacional de <i>S. frugiperda</i>	13
2.5.1. Agroecosistemas y sus características	14
3. Materiales y métodos.....	16
3.1. Abundancia y prevalencia de <i>Beauveria</i> spp. y <i>Metarhizium</i> spp. en agroecosistemas de <i>Zea mays</i>	16
3.1.1. Aislamiento de <i>Beauveria</i> spp. y <i>Metarhizium</i> spp.	16
3.2. Determinación del efecto endofítico de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en plantas de <i>Zea mays</i>	17
3.3. Efecto de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> sobre <i>S. frugiperda</i>	18

3.3.1. Inoculación de los biopreparados	19
3.4. Análisis estadísticos.....	20
4. Resultados y Discusión	22
4.1 Abundancia y prevalencia de <i>Beauveria</i> spp. y <i>Metarhizium</i> spp. en agroecosistemas de <i>Zea mays</i>	22
4.2. Determinación del efecto endofítico de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en plantas de <i>Zea mays</i>	27
4.3. Efecto de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> sobre <i>S. frugiperda</i>	32
5. Conclusiones.....	39
6. Recomendaciones.....	40
7. Referencias bibliográficas.....	
8. Anexos	

Introducción

1. Introducción

El maíz (*Zea mays* L.) es la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. Su origen y evolución es un misterio, porque ha llegado a nosotros altamente evolucionado sin que se conozcan formas intermedias. Es un cereal nativo de América, cuyo centro original de domesticación fue Mesoamérica, desde donde se difundió hacia todo el continente Americano (Ribeiro, 2004). Constituye el tercer cultivo alimenticio en orden de importancia a nivel mundial después del trigo (*Triticum aestivum* L.) y el arroz (*Oryza sativa* L.). Actualmente se cultiva en más de 165 países y se estima que el área sembrada es de 188 millones de hectáreas con un rendimiento promedio de 5,6 t ha⁻¹ (FAO, 2016).

En Cuba se cultivan más de 170 mil hectáreas con un rendimiento promedio de 2,3 t ha⁻¹ (ONEI, 2016). Una de las causas de los bajos rendimientos lo constituye los insectos plagas asociados a este cultivo.

La principal plaga que afecta este cultivo en Cuba es *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), causando daños de 58 % durante su desarrollo fenológico, lo que incide sobre los rendimientos de esta planta (Fernández, 2001). El control de este insecto plaga se torna cada vez más difícil con el actual aumento de las temperaturas medias diarias lo que hacen que esta plaga acelere su ciclo de vida y el control sea más costoso (García *et al.*, 2011).

Los hongos entomopatógenos, son una alternativa ideal para el control biológico de plagas, ya que estos pueden infestar cualquiera de los estadios de vida de sus hospedantes. Estos microorganismos, se multiplican en los cadáveres de los insectos y crean una fuente de inóculo que se dispersa por diferentes vías e infesta nuevas poblaciones. Además, las especies nativas de estos hongos, tienen una ventaja sobre otros enemigos naturales exóticos, que es la de estar adaptados al hábitat de las plagas y tener menos riesgos de afectar otros organismos dentro de la comunidad (Johny *et al.*, 2012). Estos hongos se encuentran en diversos hábitats, principalmente en la rizosfera colonizando raíces de plantas (Guesmi-Jouini *et al.*, 2013) y también se han encontrado colonizando el tejido endofítico de muchas plantas de interés económico (Vega, 2008).

Los hongos *Beauveria bassiana* (Bal.) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin presentan un amplio espectro de huéspedes, una gran distribución geográfica y constituye un alto potencial para el control de especies del orden *Lepidoptera*; por estas razones es importante coleccionar, purificar y conservar el germoplasma fúngico de la mayor cantidad de sitios y especies (De Faria y Wraight, 2007).

En Cuba se desconoce la abundancia y prevalencia de estos hongos entomopatógenos distribuidos en diferentes agroecosistemas de *Z. mays*. Además, se carece de información y resultados actuales que reporten que *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. puedan colonizar el tejido endofítico de esta planta y actuar como controladores biológicos de *S. frugiperda*. Teniendo en cuenta esta problemática se propone la siguiente hipótesis, objetivo general y objetivos específicos.

Hipótesis

El conocimiento de la ecología de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. en agroecosistemas de *Z. mays*, su capacidad de actuar como endófito, así como su efecto sobre *S. frugiperda*, pueden ser elementos de interés para el control de esta plaga.

Objetivo general

Evaluar aspectos ecológicos de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. en agroecosistemas de *Z. mays*, así como su capacidad de actuar como endófito y su efecto sobre *S. frugiperda*.

Objetivos específicos

1. Evaluar la abundancia y prevalencia de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. en agroecosistemas de *Z. mays*.
2. Determinar si *B. bassiana* y *M. anisopliae* son endófitos en *Z. mays*.
3. Evaluar el efecto de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre *S. frugiperda*.

Revisión Bibliográfica

2. Revisión Bibliográfica

2.1. Importancia de *Zea mays* L.

El maíz está ampliamente distribuido en todo el mundo, ya que se puede cultivar en diversos agroecosistemas, incluidos los trópicos, subtrópicos y regiones templadas. Crece hasta 50° N y S desde el ecuador y a más de 3000 m por encima del nivel del mar. Es un alimento básico para la dieta de la mayoría de los países de América Latina, África y Asia. Además de su alta productividad, presenta una gran diversidad genética con genotipos silvestres y cultivados, lo que lo posiciona en uno de los cultivos más importantes para enfrentar la hambruna mundial (Parihar *et al.*, 2016).

La importancia de este cereal se debe fundamentalmente a su amplia distribución geográfica, a las grandes posibilidades que tiene como alimento humano y animal. Además, constituye un componente esencial en los procesos industriales (Pecina *et al.*, 2011).

También se habla de la importancia del maíz en la alimentación humana debido a la reserva energética del grano. Este contiene aproximadamente 90 % de almidón, 9 % de proteína y pequeñas cantidades de aceites y minerales. Las bajas concentraciones de proteínas y la calidad de estas se halla limitada por la deficiencia de dos aminoácidos esenciales: lisina y triptófano (Gallardo, 2016).

Este cultivo también es utilizado en la medicina popular contra la hepatitis, la hipertensión, la diabetes, la menorragia, los padecimientos renales, los cálculos, el reumatismo, las verrugas, los tumores y otros padecimientos, en forma de cataplasmas, cocciones, ungüentos y emplastos. La infusión de los denominados pelos del elote, como también es conocido, esos filamentos que crecen al extremo de la mazorca, es un excelente diurético y se usa en caso de trastornos renales.

El grano de maíz es el concentrado energético por excelencia para la producción animal. La avicultura, la producción de cerdos y la de ganado bovino de carne y leche se sostienen en gran medida con este cereal. Sin embargo, cada vez más los mercados internacionales exigen que se profundice

el destino del maíz para el consumo humano y últimamente se busca diversificar su industrialización para otros usos, básicamente para biocombustible (etanol a partir del almidón) (Raju *et al.*, 2017).

2.2. Principales plagas que afectan a *Zea mays*

El maíz es infestado a lo largo de su ciclo biológico por una amplia gama de insectos que pueden dañar los diferentes órganos (Nexticapán *et al.*, 2009), alterando los procesos de germinación, emergencia, crecimiento y desarrollo vegetativo, así como los procesos reproductivos. Lo que provoca reducciones importantes en el rendimiento y afectan la calidad del grano. Estas pérdidas representan alrededor del 30 % del total de la producción (Valdez *et al.*, 2012).

Los insectos plagas dañan a la planta de diversas formas; de manera directa cuando consumen sus órganos parcial o totalmente. Esto ocasiona una reducción en el contenido de clorofila, afectando la actividad fotosintética de las plantas y destruyendo los tejidos de almacenamiento (Delgado *et al.*, 2016). El transporte de agua y fotosintatos a través de la planta es alterado cuando el ataque de los insectos daña los tejidos conductores (Barros *et al.*, 2011); cuando se dañan las inflorescencias se disminuye la producción de polen, la cantidad y viabilidad de flores femeninas, afectando los procesos de polinización y fecundación (Brewbaker, 2015). Por último, el daño en la mazorca afecta los procesos relacionados con la acumulación de biomasa en el grano (Soengas *et al.*, 2000).

Por otra parte, existen daños indirectos que pueden ser de gran consideración y son transmitido por las plagas o estas facilitan la propagación como los virus, fitoplasmas, bacterias y hongos que causan enfermedades al maíz, como el mosaico severo, el enanismo arbustivo, la marchitez de Stewart y el bandeado foliar (Arrieta *et al.*, 2007); también pueden causar contaminación o pérdida del valor de la cosecha debido a la presencia de los insectos, sus restos o residuos alimenticios.

Andrews *et al.* (1989) listó 84 especies o complejos de especies como plagas reales o potenciales en América Latina; y de ellas consideró sólo seis como importantes y 52 como plagas ocasionales.

Según Bruner *et al.* (1975) citado por García (2015), describen entre los principales insectos que atacan al maíz en Cuba a: *S. frugiperda* (J.E. Smith.) (Lepidoptera: Noctuidae), *Helicoverpa zea* (Boddie.) (Lepidoptera: Noctuidae), *Diatraea lineolata* (Walk.) (Lepidoptera: Pyralidae). Además, Schmitterer (1990), incluye a *Peregrinus maidis* (Ashmead.) (Hemiptera: Delphacidae).

P. maidis provoca daños directos e indirectos, causa amarillamiento y enanismo arbustivo y transmite enfermedades virales incapacitando a la planta para la producción, con afectación al rendimiento que puede llegar a un 50 % (González, 2009 citado por García, 2015).

En el caso de *H. zea*, el insecto daña los granos del ápice de la mazorca y propicia la entrada de otros insectos plaga (gorgojos). Se reportan infestaciones de hasta el 60 %, con pérdidas del 10 al 15 % (Tejada *et al.*, 2008). Mientras que *D. lineolata* barrena el tallo de la planta y provoca entre el 8 y 20 % de pérdidas en la producción (Lannone, 2000 citado por García, 2015). No obstante, *S. frugiperda* se considera la plaga más importante del maíz en toda Mesoamérica (Blanco *et al.*, 2014).

2.3. Características biológicas de *S. frugiperda* y daños que ocasionan

2.3.1. Biología de *S. frugiperda*

Los huevecillos son grisáceos, semiglobulares, algo afilados en sus polos. En cuanto a las larvas recién emergidas tiene su cuerpo blanquecino vidrioso, pero la cabeza y el dorso del primer segmento torácico es negro intenso. Las larvas de los estadios II, III y IV son pardos grisáceo en el dorso y verde en el lado ventral. Sobre el dorso y la parte superior de los costados tienen tres líneas blancas cada una con una hilera de pelos blancos amarillentos que se disponen longitudinalmente. En cada segmento del cuerpo aparecen cuatro manchas negras que vistas desde arriba ofrecen la forma de un trapecio isósceles. Además, posee una "Y" invertida de color blanco en la parte frontal de la cabeza. La pupa es de color pardo rojizo y tiene una longitud de 17 a 20 mm (Ángulo, 2000).

S. frugiperda presenta dimorfismo sexual, las características distintivas del macho son: expansión alar de 32 a 35 mm; longitud corporal de 20 a 30 mm;

siendo las alas anteriores pardo-grisáceas con algunas pequeñas manchas violáceas con diferente tonalidad. En la región apical de estas se encuentra una mancha blanquecina notoria y orbicular con pequeñas manchas diagonales. Además, posee una bifurcación poco visible que se extiende a través de la vena costal bajo la mancha reniforme. La línea subterminal parte del margen la cual tiene contrastes gris-pardo y gris-azulado. Las alas posteriores no presentan tintes ni venación coloreada, siendo más bien blanquecinas, las hembras tienen una expansión alar que va de los 25 a 40 mm. La mancha orbicular es poco visible mientras que la línea postmedial doble se puede observar con facilidad (Ortiz, 2010).

2.3.2. Daños que ocasiona *S. frugiperda* a *Z. mays*

La infestación de la plaga comienza en el mismo momento en que germinan las plantas de maíz, aunque el pico de afectación se alcanza entre los 45 y 55 días posterior a la germinación (Rojas, 2000). Las larvas de *S. frugiperda* presentan su mayor actividad en horas de la noche aunque también se ha detectado su actividad alimenticia en horas de la mañana. Estas atacan a la planta de maíz actuando como cortadoras, defoliadoras y cogolleras según el momento de su desarrollo, y producen daños directos cuando se alimentan de los granos de la espiga (Willink *et al.*, 1993).

Esta plaga presenta de seis a ocho instares. Durante los dos primeros, las larvas roen la epidermis de las hojas, por lo que ocasionan manchas translúcidas en las mismas. Las larvas en sus primeros instares se alimentan de la superficie inferior de las hojas tiernas y causa un manchado característico, como en ventanas. Los ataques severos de las larvas de estos estadios destruyen la yema apical de las plántulas de maíz y como consecuencia pueden detener su crecimiento e incluso matar las plántulas por defoliación (García *et al.*, 2010). A partir del tercer instar, consumen toda la lámina foliar y ocasiona orificios alargados e irregulares en el follaje, luego migran hacia el cogollo, donde encuentran protección. Por otra parte, en el tercer instar, tienen hábitos caníbales, razón por la cual se encuentra una sola por cogollo. El mayor consumo, 80 % de la ingesta, lo realizan en los dos

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

Durante las etapas de crecimiento vegetativo del cultivo, las larvas consumen principalmente las hojas e indirectamente afectan el rendimiento del mismo, lo que puede reducir la mayoría del área fotosintética de la planta. De seis hojas en adelante, el daño generalmente se circunscribe al cogollo. En sus últimos estadios, las larvas se alimenta de las hojas enrolladas del cogollo, donde produce perforaciones transversales que debilitan y quiebran las hojas perdiendo su parte distal, reduciendo en consecuencia la capacidad fotosintética de la planta. En la última etapa del ciclo del cultivo, estas pueden causar daños a la panoja que se desarrolla dentro de la hoja bandera, pero su importancia es relativa ya que generalmente no se pierde toda la panoja, y el polen puede ser producido por la misma o por plantas vecinas. Una vez emergida la panoja, la larva recurre a las espigas en desarrollo o a las hojas. El daño realizado en los estigmas reduce la polinización y produce una disminución de granos por espiga, lo que influye directamente sobre el rendimiento, ya que el área foliar en la época de formación de estigmas y llenado de grano está correlacionado directamente con el rendimiento final (Merege, 2001).

2.4. Principales medidas de control de *S. frugiperda*

Para el manejo de esta plaga, los agricultores usan una gama de tácticas de gestión, incluida la resistencia de la planta huésped, aplicaciones de insecticidas y uso de medidas de control biológico (Cisneros *et al.*, 2002).

2.4.1. Control Cultural

Las medidas agrotécnicas constituyen un factor fundamental para el control cultural de los insectos plagas. En este sentido, se recomienda sembrar en época óptima, eliminar las arvenses hospedantes, evitar la colindancia con campos de más de 15 días de diferencia en edad y con áreas de cultivos hospedantes. Se debe mantener una adecuada fertilización y humedad del suelo, así como la eliminación de residuos de cosechas y de aquellas plantas que surjan de los granos dispersos en el área (Martínez *et al.*, 2007).

Se ha estimado que alrededor del 90 % de los artrópodos que dañan las plantas, pasan al menos parte de su ciclo de vida en el suelo (Gaugler, 1988; Klingen y Haukeland, 2006). Por lo que la preparación del terreno y la eliminación de arvenses tiene una contribución importante en la reducción de las poblaciones de plagas, las pupas que permanecen en el suelo pueden ser controladas con esta actividad exponiéndolas a depredadores y a condiciones adversas, así como, evitar la posibilidad de que la plaga encuentre hospederos alternos que hacen más difícil el combate de ésta por mantener un reservorio de la misma (Rodríguez, 2015).

Otra alternativa de los agricultores es el uso de bioinsecticidas a partir de extracto vegetal, el árbol de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ha sido utilizado en numerosas partes del mundo para el control de plagas. Diversos estudios indican que esta especie posee un compuesto llamado "Azadiractina" que se encuentra en las diversas partes de la planta, pero son los frutos los que poseen la mayor concentración y es limitada debido a la baja disponibilidad del fruto durante todo el año (Gutiérrez *et al.*, 2010).

Los transgénicos son una alternativa que favorece el manejo de insectos plagas (Oliveira *et al.*, 2015). Las empresas han desarrollado cultivares de maíz transgénico con la finalidad de agilizar y enfatizar el control de plagas y de esta manera, aumentar la rentabilidad del cultivo. Algunos transgénicos como el (Bt), contienen el gen de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* (Berl.), por lo que esta produce proteínas insecticidas durante su esporulación (genes Cry I) altamente específicas para lepidópteros (Dos Santos *et al.*, 2009). Aunque *S. frugiperda* ha mostrado resistencia a esta estrategia, sugiere sembrar como refugio, el 10 y 40% de maíz no transgénico buscando disminuir la presión de selección y que los lepidópteros resistentes se crucen con los susceptibles, retrasando la aparición de poblaciones resistentes. Si menos individuos sobreviven, la nueva generación tendrá mayores posibilidades de heredar los genes de resistencia. Sin embargo, la utilización de cultivares transgénicos ha provocado controversia, ya que se han observado efectos negativos en la salud de roedores al ser alimentados con maíz transgénico (Séralini, *et al.*, 2014), lo anterior muestra la posibilidad de riesgos potenciales para la salud humana.

Las condiciones de humedad y temperatura relativas estables, así como la protección del suelo contra la luz ultravioleta, favorecen la infección de los insectos por hongos entomopatógenos y los convierten en un grupo con alto potencial como agentes de control microbiano de plagas (Hernández-Velázquez *et al.* 2011). Los hongos de las especies *B. bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., son los de mayor importancia para el control de lepidópteros (Thomazoni *et al.*, 2009).

Los insectos que hayan muerto en el suelo como resultado de una micosis, son fuente de inóculo y sus esporas son diseminadas con ayuda de factores bióticos y abióticos. Es por esto, que la presencia, abundancia y patogenicidad de los hongos entomopatógenos está condicionada por los factores ambientales, así como las prácticas agrícolas producidas por la actividad humana (Tkaczuk *et al.*, 2014).

2.4.2. Control Químico

Una de las estrategias de control más utilizada, es el uso de insecticidas químicos, debido a que son de acción rápida, eficaces, de fácil manejo y aplicación. La mayoría son de amplio espectro, aunque algunos son específicos y selectivos, en algunos casos se utilizan insecticidas químicos porque no existen otras opciones viables de control y manejo de plagas. Sin embargo, tiene sus desventajas, entre las que se encuentra el aumento del costo de la producción (Altieri y Nicholls, 2006). Además, el uso indiscriminado de estos productos, sobre todo los de amplio espectro, pueden tener un impacto letal o subletal en organismos que no son su objetivo, considerados benéficos. Entre estos se incluyen los descomponedores de la materia orgánica del suelo, polinizadores de plantas y depredadores de plagas. Cabe resaltar que la alta residualidad del ingrediente activo y los residuos generados por la utilización los insecticidas químicos, provocan contaminación de suelo, agua y aire.

S. frugiperda es la principal plaga que ataca a *Z. mays* y son frecuentes e importantes los daños que causa a este cultivo (Alatorre-Rosas *et al.*, 2014) por lo que para controlarla se ha tenido que recurrir al uso de insecticidas químicos

sintéticos tales como los compuestos organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides y neonicotinoides, los cuales han sido exitosos en el control de esta plaga, minimizando las pérdidas en cosechas (González *et al.*, 2014).

Al momento de la aplicación de los insecticidas, las larvas no deben de pasar del cuarto instar cuando miden alrededor de 1,5 cm ya que a partir de ese momento se protegen de los insecticidas debajo de su propio excremento dentro del cogollo de la planta. Si las larvas ya están alojadas en el cogollo, se requerirán volúmenes de mojado más altos para intentar llegar al objetivo.

Sin embargo, como consecuencia de su uso inadecuado e indiscriminado, han aparecido problemas de resistencia de este insecto hacia estos productos, causando además efectos indeseables en el medio ambiente y en la salud del ser humano (Devine *et al.*, 2008).

El éxito del control de *S. frugiperda* por lo general requiere de un uso de insecticidas en un rango superior de su etiquetado (Adamczyk y Sumerford, 2000). Sin embargo, una vez que *S. frugiperda* se establece en un campo, dos aplicaciones son a menudo necesario para lograr un control exitoso (Cook *et al.*, 2004). No obstante, es de conocimiento que este lepidóptero ha desarrollado resistencia a varias clases de insecticidas, incluyendo piretroides (cipermetrina, fenvalerato, fluvalinato y permetrina), organofosforados (clorpirifos, metilparatión, diazinón, malatión y triclorfón) y carbamatos (metomilo, carbarilo y tiodicarb) (Whalon *et al.*, 2008).

Además, cuando el control químico es empleado de forma continua y se emplea de forma incorrecta, hay gran riesgo de contaminación a los trabajadores y al medio ambiente. Estas malas prácticas causan efectos negativos sobre las poblaciones de enemigos naturales y principalmente, la selección de poblaciones resistentes (Dourado, 2009).

2.4.3. Control Biológico

Como parte sustancial del Manejo Integrado de Plagas (MIP), la conservación biológica y el control biológico tiene el potencial de reducir los brotes de plagas

sin grandes costos económicos y de una manera ambientalmente sana con ayuda de los enemigos naturales disponibles localmente (Barbosa, 1998).

Según De Bach (1994) la producción se puede realizar en tres formas o estrategias, como la introducción de enemigos naturales específicos desde las áreas de origen de las plagas, mediante la reproducción masiva de especies eficientes para aplicar o liberar en los campos y por medio de la conservación de los enemigos naturales que habitan en los agroecosistemas.

En algunas ocasiones los enemigos naturales nativos o exóticos se establecen, pero sus números son insuficientes para reducir la plaga hasta niveles poblacionales por debajo del umbral económico. Por esta razón, los enemigos naturales pueden incrementarse mediante la cría en el laboratorio para su posterior liberación ya sea ocasional o repetida. Este método se conoce generalmente como control aumentativo de enemigos naturales (Ridgway y Vinson, 1977).

El control biológico generalmente tiene efectos más específicos que el control químico y solo el microorganismo patógeno o la plaga clave se ve negativamente afectada, respetando a otros microorganismos beneficiosos y fauna insectil útil. El control biológico puede ser más seguro para los seres humanos, las cosechas y el medio ambiente. Este tiene además, el potencial de ser más estable y perdurar por un mayor período de tiempo que otros métodos de control, siendo totalmente compatible con los conceptos y objetivos del control integrado y una agricultura sostenible (Rubio y Fereres, 2005). El suelo provee un hábitat para una gran diversidad de microorganismos que incluye varias especies de microorganismos entomopatógenos (Keller y Zimmerman, 1989). La abundancia y la diversidad de los hongos entomopatógenos en suelo ha sido estudiada ampliamente en regiones tropicales y templadas y han revelado su eficiencia en el control de insectos plagas (Cerero *et al.*, 1997).

2.4.3.1. Generalidades de los hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son organismos fúngicos que tienen la capacidad de infectar y causar enfermedades en los artrópodos. Se estima que el reino Fungi contiene más de 5,1 millones de especies (O'Brien *et al.*, 2008), de esas, 750-1000 especies son patógenas para los insectos (Vega *et al.*, 2012).

La mayoría de las especies de hongos entomopatógenos se encuentran en la división Ascomycota. Los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*, se han estudiado extensamente y algunos se han desarrollado como bioplaguicidas (Gilbert y Gill, 2010).

Agostino Bassi observó por primera vez un hongo blanco de la muscardina en el gusano de seda, y lo llamó *B. bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) (Bassi, 1835). Eli Metchnikoff encontró un hongo verde de la muscardina en un abejorro de trigo y más tarde fue nombrado como *M. anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) (Metchnikoff, 1879; Sorokin, 1883).

La principal vía de entrada de los hongos entomopatógenos es a través de la cutícula del insecto, de las heridas o la tráquea. Para penetrar en las endocutículas, los hongos entomopatógenos segregan enzimas que las degradan tales como: lipasas, proteasas, aminopeptidasas, quitinasas y otras (Skinner *et al.*, 2014).

B. bassiana y *M. anisopliae* se consideran una de las mejores alternativas para la reducción de los plaguicidas sintéticos. Su uso como insecticidas microbianos requiere de la aplicación de grandes cantidades de conidios, de ahí que unas de las principales limitantes a resolver es la reproducción masiva de los mismos (Pérez, 2008).

Ambos géneros tienen la capacidad de colonizar plantas endofíticamente y como un endófito, *B. bassiana* y *M. anisopliae* pueden desempeñar un papel en la protección de las plantas de la herbivoría y las enfermedades (Parsa *et al.*, 2013).

2.4.3.2. Actividad endofítica de los hongos entomopatógenos

El término " endófito o endofítico " fue acuñado por De Bary (1884) y se usa para definir aquellos hongos o bacterias que se desarrollan de forma asintomática en el interior de los tejidos vegetales.

Los hongos endofitos, viven dentro de los tejidos vegetales, y aunque han sido poco explorado, constituyen una amplia dimensión en la diversidad fúngica (Arnold *et al.*, 2007). El hábito endofítico de los hongos puede proporcionar beneficios tanto a plantas como a los mismos hongos. El hongo se beneficia a través de la protección contra el estrés ambiental, adquiriendo nutrientes de la planta colonizada, mientras que la planta puede beneficiarse a través de la reducción del daño causado por insectos herbívoros o enfermedades (Clement *et al.*, 2011).

La colonización endofítica puede ser sistémica (Gurulingappa *et al.*, 2010), localizada en una parte específica de la planta (Yan *et al.*, 2015) o distribuida en los diferentes órganos de las plantas (Behie *et al.*, 2015). Los hongos endofitos simbióticos foliares confieren resistencia ante la incidencia de plagas en cultivos de importancia económica o en pastos naturales, por la producción de alcaloides. Sin embargo, se ha demostrado que los entomopatógenos fúngicos se presentan como endofitos, tanto de forma natural como en respuesta a diversos métodos de inoculación (Vega., 2008).

2.5. Agroecosistemas y su influencia en el nivel poblacional de *S. frugiperda*

Los agroecosistemas, son originados por la acción del hombre sobre el entorno natural con el fin de obtener plantas y animales para el consumo directo o indirecto del hombre (Sarandón, 2014). Todos los agroecosistemas son dinámicos y sometidos a diferentes niveles de manejo, de tal manera que los arreglos de cultivos, en tiempo y espacio, están continuamente cambiando de acuerdo con los factores biológicos, culturales, socioeconómicos y medioambientales. Tales variaciones determinan el grado de heterogeneidad espacial y temporal característico de las regiones agrícolas, las cuales pueden

o no favorecer la protección de las plagas en un agroecosistema particular (Altieri y Nicholls, 2009).

2.5.1. Agroecosistemas y sus características

2.5.1.1. Agroecosistemas convencionales

El modelo agrícola convencional tiene como base seis técnicas fundamentales, estas están determinadas por: la labranza intensiva, monocultivos, irrigación, aplicación de fertilizantes inorgánicos, control químico de plagas y manipulación genética de los cultivos (Gliessman, 1998, Altieri, 1999).

Estas prácticas de manejo convencional, ya que se desvinculan del medio natural, consume energía no renovable (combustibles fósiles), tiende al monocultivo, simplifica la diversidad biológica, utiliza tecnología basada en los insumos químicos, lo que la convierte en una actividad desequilibrada, dependiente y muy contaminante (Segrelles, 2005). Actualmente, este modelo es insostenible, muchos de los productos están para suplir las necesidades de los cultivos de forma inmediata (Gliessman, 2002), como los fertilizantes nitrogenados sintéticos que tras aplicaciones excesivas traen consigo la baja resistencia de las plantas a las plagas (Altieri y Nicholls, 2013).

Otras de las tácticas que favorece el umbral de plagas son los monocultivos, estos son ambientes poco favorables para los enemigos naturales debido a los altos niveles de perturbación y a la falta de infraestructura ecológica (Landis *et al.*, 2000). La afectación de *S. frugiperda* en los monocultivos es favorecida ya que no existe presencia de organismos que regulan su población como parasitoides o depredadores (García *et al.*, 2013).

Sin embargo, la agricultura convencional ha demostrado su capacidad de producción y rentabilidad a corto plazo, aunque los recursos suelo, agua y diversidad genética han sido sobre utilizados (Gliessman, 2002).

2.5.1.2. Agroecosistemas agroecológicos

Los agroecosistemas ecológicos o agroecológicos van encaminados a favorecer procesos naturales e interacciones biológicas que optimizan sinergia

de tal modo que la agrobiodiversidad sea capaz de subsidiar por si misma procesos claves tales como la acumulación de materia orgánica, fertilidad del suelo, mecanismos de regulación biótica de plagas y la productividad de los cultivos (Gliessman, 1998). Estos sustentan a una restauración de la biodiversidad funcional que reactiva el control biológico, el cual se complementa con alternativas ecológicamente compatibles como pueden ser las asociaciones y rotaciones del cultivo, uso de cultivares nativos o resistentes, manejo de arvenses, prácticas culturales, trampas, insecticidas biológicos, entre otros.

En cuanto a la fertilidad del suelo, solo permite el uso de fertilizantes orgánicos y a su vez estos deben ser usados con el fin de nutrir la planta, reponer los nutrientes del suelo y mejorar los niveles de vida de los diferentes organismos que viven en el (Clavijo, 2006).

Materiales y métodos

3. Materiales y métodos

Con el objetivo de determinar la abundancia y prevalencia de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. se realizaron muestreos en 12 agroecosistemas de *Z. mays* (seis con manejo agroecológico y seis manejo convencional), localizados en los municipios de Santa Clara y Encrucijada, Cuba. En cada municipio se evaluaron tres agroecosistemas con manejo agroecológico y tres con manejo convencional. Para esto, se establecieron cinco puntos en cada agroecosistema (Klingen *et al.*, 2002; Clifton *et al.*, 2015) a una distancia de 20 m cada uno. Los agroecosistemas con manejo agroecológico se seleccionaron bajo el criterio de la reducción de las aplicaciones de productos químicos, el uso de fertilizantes orgánicos y el uso del laboreo mínimo. Por otra parte, los agroecosistemas convencionales estuvieron sujetos a la aplicación de fertilizantes y plaguicidas químicos normados por el Ministerio de la Agricultura (MINAG), así como el uso del laboreo tradicional del suelo con maquinarias pesadas (Ramos *et al.*, 2017) (Anexo 1).

El suelo se colectó con una pala de jardín a 15 cm de profundidad después de separar los restos de la vegetación, las piedras y los tocones existentes. La pala fue desinfectada después de cada colecta con etanol 70 % para evitar la introducción de esporas de diferentes hongos de un campo a otro o evitar la contaminación entre los puntos de un mismo campo (Klingen *et al.*, 2002). El suelo colectado se introdujo en bolsas de polietileno (1 kg de capacidad) y se tamizó (tamiz de 5 mm), hasta su posterior utilización.

3.1. Abundancia y prevalencia de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. en agroecosistemas de *Zea mays*

3.1.1. Aislamiento de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp.

Las muestras de suelo (1 kg) que fueron colectadas en los diferentes agroecosistemas de *Z. mays* pertenecían al tipo Pardo mullido medianamente lavado (Hernández *et al.*, 2015). Estas se sometieron a un secado a la sombra (Zimmermann, 1998) y posteriormente se introdujeron en frascos plásticos (500

mL) a los cuales se le adicionó 100 mL de agua destilada estéril para mantener la humedad del suelo.

Cinco larvas de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), con cinco semanas de edad, se utilizaron como insectos cebo en cada uno de los frascos. Las larvas fueron suministradas por el Centro de Reproducción de Entomófagos y Etomopatógenos (CREE) perteneciente a la Empresa Azucarera “Abel Santamaría” del municipio de Encrucijada, Cuba. Para evitar que las larvas pasaran al estadio de pupa, estas se sometieron a un estrés térmico según Woodring y Kaya (1988). El aislamiento de *Beauveria* spp. con el insecto cebo se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Klingen *et al.* (2002). Para esto se le abrieron 20 orificios (0,5 mm) a la tapa de los frascos para favorecer la aireación. Los frascos fueron invertidos cada segundo día para facilitar el contacto de las larvas con el suelo, mientras que las observaciones y la detección de los cadáveres se realizaron a los 5, 10, 15 y 20 días posteriores a la incubación. Estos se lavaron con agua destilada estéril y se colocaron en placas de Petri (0,5x9 cm) con un papel de filtro húmedo e incubados a 25±1 °C hasta la esporulación de los hongos. Las esporas de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. se aislaron de los cadáveres y se inocularon en un medio de cultivo de SDA (del inglés Saboraud Dextrose Agar) con Sulfato de Estreptomina (0,05%) y Cloranfenicol (0,04%) como antibióticos (Akuste *et al.*, 2013).

3.2. Determinación del efecto endofítico de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas de *Zea mays*

El experimento se realizó bajo condiciones semicontroladas y se sembró el cultivar comercial de *Z. mays*, “P 78-45”. El suelo colectado para la siembra fue Pardo mullido medianamente lavado (Hernández *et al.*, 2015), el cual fue esterilizado tres veces en una estufa eléctrica a 120 °C por 1 h. Para comprobar la calidad de la esterilización, se realizaron diluciones del suelo y se inocularon en un medio de cultivo selectivo de SDAY (del inglés Saboraud Dextrose Agar Yeast) sin antibióticos. El suelo se colocó en bolsas de polietileno (500 g de capacidad). El mismo se inoculó con 10 mL de cada uno

de los hongos entomopatógenos (*B. bassiana* y *M. anisopliae*) a una concentración de 1×10^8 conidios mL^{-1} y se incubaron en la cámara climática a 27 °C en completa oscuridad. Posterior a los siete días de inoculación se procedió a la siembra de *Z. mays*. La cepa de *B. bassiana* “Bb-18” fue suministrada por el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Santa Clara, mientras que la de *M. anisopliae* “Ma-18” fue suministrada por el Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) de La Sierpe, Sancti Spíritus.

Cuando se visualizó la segunda hoja (fase fenológica V2) (Ritchie y Hanway, 1982) (Anexo 2) estas fueron extraídas y llevadas al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias perteneciente a la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV) para su posterior procesamiento.

Las raíces, tallos y hojas de *Z. mays* colectadas, se sometieron a un proceso de desinfección según Akuste *et al.* (2013). La efectividad de este proceso se comprobó según Parsa *et al.* (2013). Una vez concluida la desinfección, las hojas y tallos se cortaron asépticamente en seis piezas dentro de un flujo laminar (Faster Bio, Italia) y se inocularon en placas de Petri (0,5x9 cm) con un medio de cultivo PDA con Sulfato de Estreptomicina (0,05 %) y Cloranfenicol (0,04 %) como antibióticos. Las placas con el material vegetal se incubaron en una cámara climática a 25 ± 1 °C, en completa oscuridad (Akuste *et al.*, 2013) para propiciar la germinación de *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Para la obtención de colonias puras se inocularon una sola espora de cada hongo entomopatógeno. La inoculación y la posterior incubación de las esporas, se realizó bajo las mismas condiciones descritas anteriormente.

3.3. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre *S. frugiperda*

Para evaluar el efecto de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre *S. frugiperda*, se realizaron experimentos en condiciones controladas. En este sentido, se seleccionaron las cepas comerciales de *B. bassiana* y de *M. anisopliae*

descritas en el acápite 3.2. El insecticida químico. Muralla Delta 19 OD (Imidacloprid+Deltametrina) fue suministrado por la Empresa Agropecuaria “Emilio Córdova” del municipio de Encrucijada y se aplicó a razón de 0,75 mL del producto comercial (PC) por litro de agua. Esto a su vez representa 300 L ha⁻¹ de solución final con una dosis de 0,4 L ha⁻¹ del PC y se utilizó como control estándar por ser un insecticida sistémico y de contacto recomendado para el control de *S. frugiperda* (MINAG, 2016). La descripción de los tratamientos se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos empleados para el control de *S. frugiperda*

No.	Tratamientos	Dosis/Concentración
1	Agua destilada estéril+0,1 % Tween 80 (Control absoluto)	-
2	(Imidacloprid+Deltametrina)+0,1 % Tween-80	0,4 L de PC ha ^{-1*}
3	<i>Beauveria bassiana</i> (Cepa Bb-18)+0,1 % Tween 80	1 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹
4	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Cepa Ma-18)+0,1 % Tween 80	1 x 10 ⁸ conidios mL ⁻¹

(*) MINAG (2016)

La adición de Tween-80 a cada tratamiento se realizó con el objetivo de romper la tensión superficial del agua en cada una de las diluciones (Castro *et al.*, 2015).

3.3.1. Inoculación de los biopreparados

En condiciones de laboratorio se realizaron diluciones a las cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* y sucesivos conteos de esporas en una cámara de Neubauer (Brand, Alemania), hasta obtener una concentración final de 1x10⁸ conidios mL⁻¹. Para determinar la calidad del biopreparado se determinó la

viabilidad de las esporas (método de gota colgante) (Lacey, 2012), y se comprobaron los postulados de Koch mediante la inoculación, aislamiento y reinoculación del biopreparado en las larvas de *S. frugiperda*. Todo el material (placas de Petri, papel de filtro y agua) usado en el experimento se esterilizó previamente. Los cogollos de *Z. mays* que se utilizaron para la alimentación las larvas de *S. frugiperda* se desinfectaron según Akuste *et al.* (2013). En este experimento se evaluaron larvas entre el primer al cuarto instar previamente criadas en el laboratorio según (Chacón-Castro *et al.*, 2009). Se sumergieron 20 larvas de cada instar evaluado en una suspensión miceliar de 15 mL de los hongos entomopatógenos durante un minuto. Una vez transcurrido este tiempo, las larvas de *S. frugiperda* se trasladaron a placas de Petri (15x3 cm) con un papel de filtro húmedo y una sección de cogollo de *Z. mays* para su alimentación el cual también se trató con los hongos entomopatógenos evaluados.

En el caso de la aplicación del insecticida químico este se asperjó sobre las larvas y las plantas de *Z. mays* obtenidas en condiciones semicontroladas y se colocaron en las respectivas Placas de Petri (15x3 cm). Las larvas se incubaron a 25 °C, 75 % de humedad relativa y un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h oscuridad. Se realizaron evaluaciones cada 24 h y se cuantificaron aquellas que aparecieron muertas, una vez que no respondían ante estímulos inducidos. El experimento se repitió cuatro veces y en cada repetición se utilizaron cuatro réplicas para cada tratamiento.

3.4. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete Minitab versión 17. Para determinar las diferencias en cuanto a la abundancia y prevalencia de los hongos entomopatógenos en los diferentes agroecosistemas se realizó una prueba de hipótesis con la posterior aplicación de la prueba de Fisher. Para comparar la colonización de los hongos en los diferentes tejidos de la planta, así como, la mortalidad y esporulación que ejerce sobre *S. frugiperda* se realizó un ANOVA simple para cada componente con la posterior aplicación de la

prueba DHS de Tukey. Todas las pruebas se realizaron con un nivel de confiabilidad del 95 %.

Resultados y Discusión

4. Resultados y Discusión

4.1 Abundancia y prevalencia de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. en agroecosistemas de *Zea mays*

En los agroecosistemas con manejo agroecológico se obtuvo un mayor número de aislados de hongos entomopatógenos respecto a los agroecosistemas convencionales con un total de 78 y 45 aislados respectivamente. En este sentido, se detectó un promedio de 23 aislados de *Beauveria* spp. en suelos de agroecosistemas agroecológicos, mientras que en aquellos convencionales solo se detectaron 14 aislados. Por su parte, *Metarhizium* spp. también mostró ser más abundante en agroecosistemas agroecológicos (55 aislados) con diferencias altamente significativas con respecto a los convencionales (31 aislados) (Figura 1).

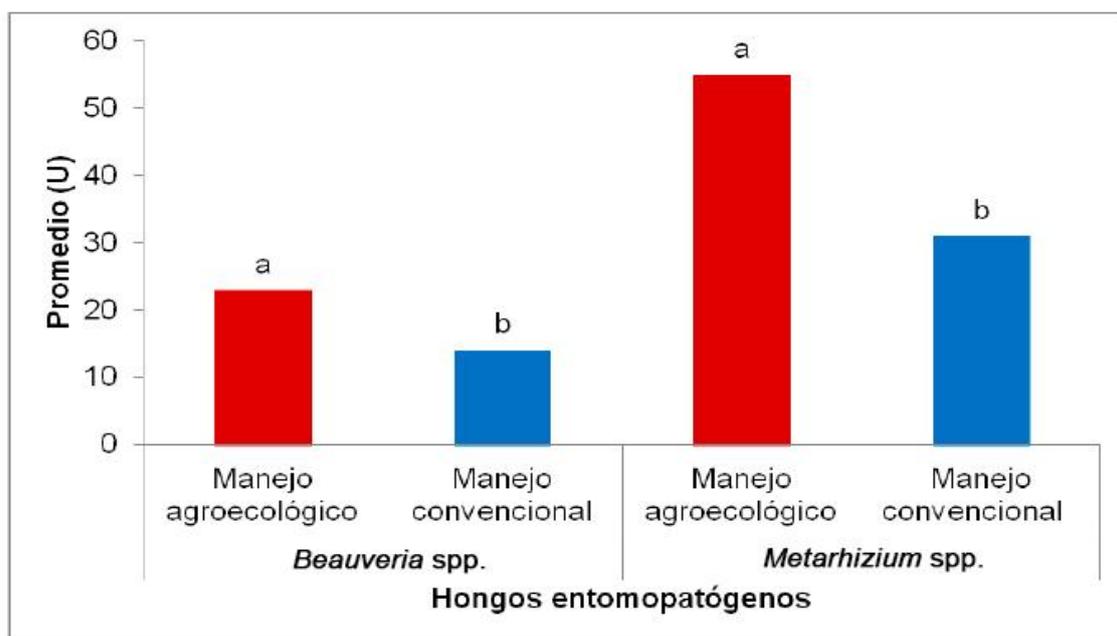


Figura 1. Abundancia de hongos entomopatógenos en dos tipos de agroecosistemas

Barras con letras distintas en una misma especie de hongo denotan diferencias significativas según prueba de hipótesis y prueba exacta de Fisher *a posteriori* ($P \leq 0,05$)

Estos resultados reflejan la importancia del tipo de manejo y la influencia de las prácticas agroecológicas en la conservación y abundancia de los hongos entomopatógenos. De forma general, los estudios de la ecología de los microorganismos del suelo es un asunto poco tratado y controversial por el número de factores bióticos y abióticos que pueden influir en los indicadores de abundancia, prevalencia y diversidad.

En México, se informó que el género *Beauveria* es más abundante en agroecosistemas agrícolas que en bosques y praderas, siendo *B. bassiana* y *B. pseudobassiana* (Bals.) Vuill. ampliamente distribuidas (Pérez-González *et al.*, 2014; Muñíz-Reyes *et al.*, 2014). Sin embargo, Wakil *et al.* (2013) informaron que este género puede ser más frecuente en bosques que en sistemas agrícolas.

Los resultados de este estudio revelan que existió un mayor número de aislados de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. en agroecosistemas con manejo agroecológico que con manejo convencional. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Klingen *et al.* (2002), quienes aislaron hongos entomopatógenos en diferentes suelos del norte de Noruega mediante el uso *G. mellonella* y *Delia floralis* Fall. como insectos cebo y obtuvieron una mayor abundancia de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en agroecosistemas orgánicos que en convencionales. De igual forma, señalan que no existieron diferencias entre el número de entomopatógenos aislados en los campos y los márgenes de estos. Resultados similares fueron obtenidos por Tkaczuk *et al.* (2014), quienes con el uso de *G. mellonella* como insecto cebo obtuvieron una abundancia de *B. bassiana* en los agroecosistemas orgánicos del 35,7 %, mientras que en los agroecosistemas convencionales no encontraron este entomopatógeno. En el este de EE.UU., Clifton *et al.* (2015) revelaron la existencia de una mayor proporción de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en agroecosistemas orgánicos que convencionales.

Quesada-Moraga *et al.* (2007) y Medo y Cagáñ (2011) reportaron que *B. bassiana* y *M. anisopliae* son más abundantes en suelos con alto contenido de materia orgánica. Esto puede explicar porque existió un mayor número de

asilados de *Beauveria* spp. en los agroecosistemas con manejo agroecológico inventariados en este estudio con respecto a los de manejo convencional, ya que una de las premisas de la agroecología es la aplicación de este tipo de biofertilizante. En este sentido, Klingen y Haukeland (2006) exponen que existe una gran posibilidad de que los hongos entomopatógenos puedan ser más frecuentes en los suelos tratados orgánicamente que en aquellos provenientes de agroecosistemas con manejo convencional. Sin embargo, estudios realizados por Goble *et al.* (2010) en agroecosistemas de cítricos en Sudáfrica revelaron que aunque se obtuvo un mayor número de aislados de *Beauveria* y *Metarhizium* en agroecosistemas orgánicos con respecto a los convencionales, no se evidenciaron diferencias significativas en cuanto a la influencia del tipo de agroecosistema. Estos resultados coincidieron también con los obtenidos por Meyling *et al.* (2011) en estudios realizados en Dinamarca.

Lo anteriormente descrito, brinda una noción de la complejidad del estudio de los componentes de los agroecosistemas, por lo que además de la abundancia, conocer la prevalencia de los hongos entomopatógenos resulta prometedor para programas de manejo integrado de plagas.

Las evaluaciones de nuestro trabajo con respecto a la prevalencia de los hongos entomopatógenos revelaron que el género *Metarhizium* mostró mayor prevalencia que *Beauveria* spp. en cada uno de los agroecosistemas estudiados, independientemente del tipo de manejo y la localidad (Figuras 2 y 3). Con este resultado se deduce que la prevalencia de cada especie de hongo entomopatógeno depende además, de otro tipo de factores.

Estudios conducidos en México revelaron que los géneros *Beauveria* y *Metarhizium* son los más encontrados en los agroecosistemas, siendo *B. bassiana*, *B. pseudobassiana* y *M. robertsii* los más distribuidos (Pérez-González *et al.*, 2014; Muñoz-Reyes *et al.*, 2014.).

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Klingen *et al.* (2002) quienes obtuvieron una mayor prevalencia de *M. anisopliae* en comparación con *B. bassiana* en muestras de suelo tomadas de agroecosistemas en Noruega. Similares resultados se obtuvieron por parte de Clifton *et al.* (2015)

quienes demostraron que tanto en agroecosistemas orgánicos y convencionales *M. anisopliae* fue más abundante que *B. bassiana*.

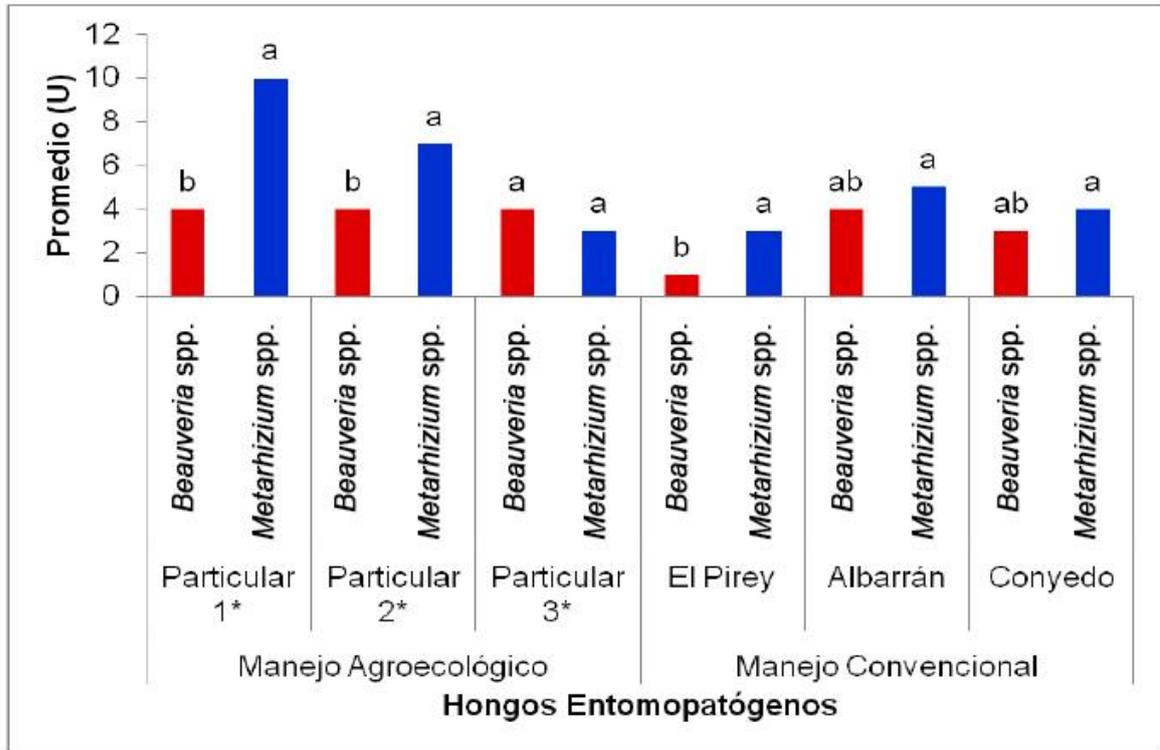


Figura 2. Prevalencia de hongos entomopatógenos en agroecosistemas con manejo agroecológico y convencional del municipio de Santa Clara

Barras con letras distintas en un mismo agroecosistema denotan diferencias significativas según prueba de hipótesis y prueba exacta de Fisher *a posteriori* ($P \leq 0,05$)

*CCS “Osvaldo Herrera”, Santa Clara, Cuba

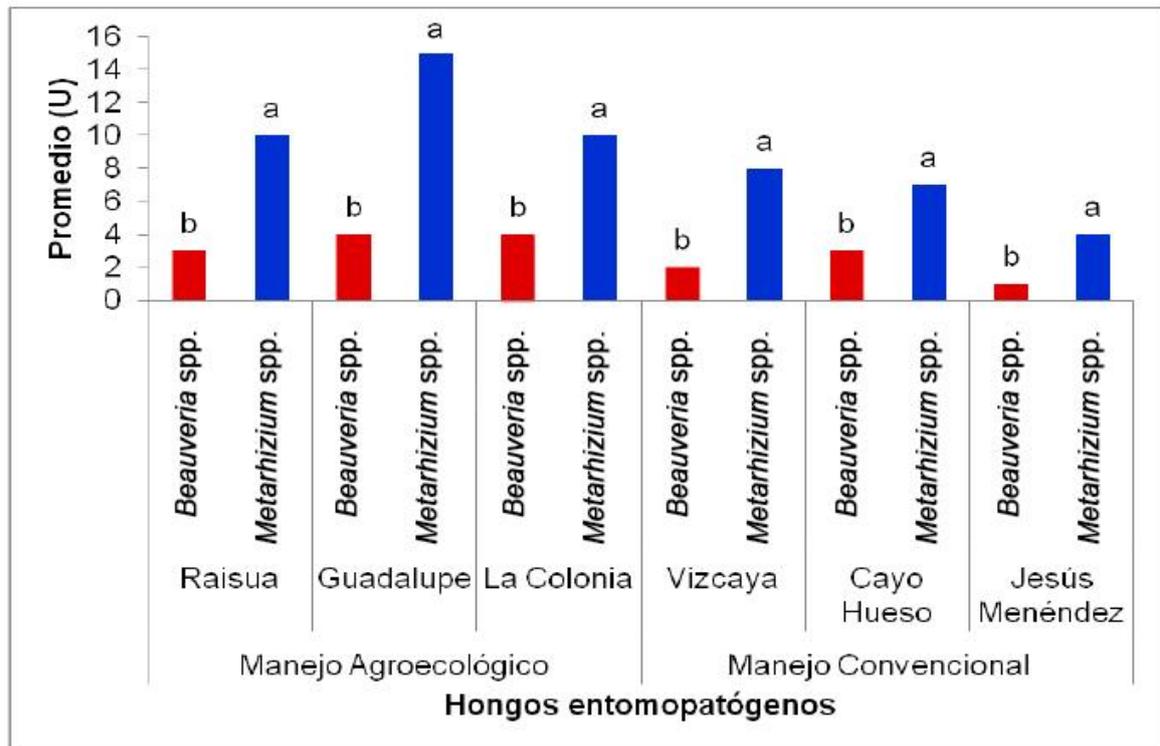


Figura 3. Prevalencia de hongos entomopatógenos en agroecosistemas con manejo agroecológico y convencional del municipio de Encrucijada

Barras con letras distintas en un mismo agroecosistema denotan diferencias significativas según prueba de hipótesis y prueba exacta de Fisher *a posteriori* ($P \leq 0,05$).

En un bosque Neotropical en Panamá también se detectó mayor prevalencia de *Metarhizium* spp. que de *Beauveria* spp. (Hughes *et al.*, 2004), por lo que todos estos resultados respaldan el hecho de que *Metarhizium* spp. es más prevalente que *Beauveria* spp. en agroecosistemas agrícolas (Quesada-Moraga *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2008; Tkaczuk *et al.*, 2014).

De forma contraria, algunos autores han reportado que *Beauveria* spp. es el complejo de hongos entomopatógenos más frecuentemente distribuido en el suelo, incluso más prevalente que las especies del género *Metarhizium*. En un experimento que se realizó en diferentes sistemas agrícolas, y diversos tipos de hábitat en Sudáfrica, Goble *et al.* (2010) determinaron que del total de hongos entomopatógenos aislados *B. bassiana* con un 15,63 % fue la especie más prevalente, mientras que solo se aisló un 3,82 % de *M. anisopliae*.

Resultados similares se obtuvieron en un campo de plátano (*Musa spp.*) donde se obtuvo un 41 y 7 % de aislados de *B. bassiana* y *M. anisopliae* respectivamente (Lopes *et al.*, 2012). En muestras de suelos colectadas por Pérez-González *et al.* (2014) de 11 localidades del estado de Guanajuato, Mexico, los autores determinaron un total de 121 aislados, de los cuales 112 pertenecieron al género *Beauveria* y nueve a *Metarhizium spp.* Esto concluye que la prevalencia de los hongos entomopatógenos aún no está bien definida y se necesitan más estudios para esclarecer esta temática.

4.2. Determinación del efecto endofítico de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas de *Zea mays*

La inoculación de los tejidos de *Z. mays* en el medio de cultivo SDA reveló la presencia de *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Se evidenció que *B. bassiana*, una vez inoculada al suelo, colonizó el tejido endofítico de la raíz, tallo y hoja de *Z. mays* con un 44, 27,7 y 18,05 % respectivamente; resultando la raíz el órgano de la planta más colonizado por este tipo de hongo entomopatógeno. *Metarhizium anisopliae* por su parte, solo colonizó raíces de *Z. mays* con un 73,61 % (Tabla 2).

El hecho de que ambos hongos entomopatógenos presentaran una mayor preferencia de colonizar el tejido endofítico de la raíz puede deberse a que ambos hongos viven en la materia orgánica contenida en el suelo (Quesada-Moraga *et al.*, 2007) y están en estrecha relación con las raíces de las plantas. En este sentido, autores como Vega *et al.* (2012) y Keyser *et al.* (2015) enfatizan que *Metarhizium anisopliae* está mayormente asociado a las raíces de las plantas, mientras que *Beauveria bassiana* se encontró colonizando de forma natural todos los órganos de plantas de *Phaseolus vulgaris* (L.) (Ramos *et al.*, 2017).

Otros autores alegan que este hecho depende también en gran medida al método de inoculación que se utilice. Entre los métodos más utilizados se encuentran el recubrimiento de esporas secas a los granos, la aspersion foliar y el vertimiento de esporas suspendidas en agua al suelo, siendo esta última la menos estudiada.

Tabla 2. Colonización del tejido endofítico de *Zea mays* por *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*

<i>Beauveria bassiana</i>		
Órganos de <i>Zea mays</i>	Colonización (%)	Media
Raíz	44,00	8a
Tallo	27,70	5b
Hoja	18,05	3,25c
<i>Metarhizium anisopliae</i>		
Raíz	73,61	32a
Tallo	0	0b
Hoja	0	0b

Letras distintas en una misma columna para cada tipo de hongo denotan diferencias significativas según prueba DHS de Tukey ($P \leq 0,05$)

Los resultados evidencian claramente que *Z. mays* puede ser colonizada endofíticamente por *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Los resultados coinciden con los obtenidos por Wagner y Lewis (2000) quienes inocularon a *B. bassiana* mediante aspersion foliar en hojas de *Z. mays* y observaron mediante microscopia electrónica que las hifas penetraron dentro del xilema estableciendo una colonización endofítica. Además, determinaron que una vez establecidas dentro del tejido de las plantas no perdieron la virulencia contra el borer europeo del maíz *Ostrinia nubilalis* (Hubrer).

Los resultados respecto al porcentaje de colonización que mostró *B. bassiana* en nuestro trabajo sobre los diferentes órganos de *Z. mays* no coincidieron con los obtenidos por Tefera y Vidal (2009) quienes al tratar granos de *Sorghum bicolor* (L.) Moench con *B. bassiana* determinaron un mayor porcentaje de colonización endofítica en hojas que en raíces. Podemos alegar que la ecología de este hongo entomopatógeno varía con respecto a la planta inoculada y

estos resultados dependen también del tipo de método utilizado, tipo de suelo, cultivar y la disponibilidad de agua que contenga el suelo para el transporte de los conidios de este hongo a través de los haces vasculares hasta las hojas.

Renuka *et al* (2016) asperjaron seis aislados nativos de *B. bassiana* sobre plántulas de *Z. mays* y comprobaron que todos colonizaron los tallos y las hojas de esta planta, pero que la disponibilidad y persistencia variaban en dependencia de la edad de la planta. De esta forma concluyeron que este hongo entomopatógeno fue encontrado en su mayor cuantía en tejidos jóvenes y que a medida que las plantas envejecían disminuía su persistencia y disponibilidad en las mismas.

A pesar se ha comprobado que *B. bassiana* puede ser endófito de *Z. mays*, este no siempre se encuentra colonizando los tejidos de la planta. Esto lo demuestra el hecho de que Tall y Meyling (2017) inocularon semillas de esta planta con la cepa GHA de *B. bassiana* y mediante análisis de cadena de reacción de la polimerasa (PCR) determinaron que este hongo entomopatógeno no fue documentado en ninguno de los tejidos de la planta, sin embargo actuó como promotor del crecimiento de la misma lo que indica que la relación hongo-planta puede ser independiente del establecimiento endofítico.

El establecimiento endofítico de *B. bassiana* no solo se ha estudiado en *Z. mays*. También Akello *et al.* (2008) sumergieron tejidos de planta de banano (*Musa* sp.) (cultivar Kibuzi, grupo genómico EA-AAA) en una suspensión de *B. bassiana* a una concentración 1×10^7 conidios mL^{-1} durante dos horas. Como resultado se obtuvo que este hongo entomopatógeno se estableció como endofítico en las plantas de *Musa* spp. y produjo entre un 23,5 y un 88,9 % de micosis sobre *Cosmopolites sordidus* (Germar).

En *O. sativa* (L.) se demostró que *B. bassiana* se estableció como endófito solo en hojas de este cultivo, no siendo así en las raíces, tallos y granos (Yong *et al.*, 2013). Por su parte Biswass *et al.* (2013) introdujeron a nueve cepas de *B. bassiana* en granos de *Corchorus capsularis* (L.) (Yute blanco) y a través de PCR determinaron que todas las cepas de hongo entomopatógeno colonizaron

los tejidos foliares de la planta. No obstante, dieron a conocer que la frecuencia de colonización varió entre las cepas utilizadas. Esto demuestra que el tipo de cepa también influye en el establecimiento endofítico de *B. bassiana*.

En plantas medicinales también se probó el efecto endofítico de este hongo con el objetivo de ser utilizado contra plagas que afecten el material vegetal que se utiliza como medicamento. Tal es el caso de *Papaver somniferum* (L.) que al ser inoculado con *B. bassiana* mediante aspersión foliar, este colonizó el 100 % de las plantas y controló las larvas de *Timaspis papaveris* (Hymenoptera: Cynipidae) quien es la principal plaga de la planta en España (Quesada-Moraga *et al.*, 2006).

En Tunisia, la planta *Cynara scolymus* (L.) conocida como alcachofera, se cultiva como planta alimenticia y por sus propiedades medicinales. Esta especie de planta la utilizaron Guesmi-Jouini *et al.* (2014) para establecer a *B. bassiana* como endófito. Los resultados arrojaron que el hongo fue capaz de colonizar el tejido foliar de la planta e incluso las nuevas hojas que emergieron.

B. bassiana se puede establecer también de forma natural como endófitos en plantas sin la necesidad que sea inoculado por métodos artificiales. Qayyum *et al.* (2014) aislaron este hongo del tejido interno de las hojas de un cultivar silvestre de *Solanum lycopersicum* (L.) (tomate) y al reinocularlo conjuntamente con dos cepas comerciales evidenciaron que el aislado nativo fue más efectivo en la colonización de la planta, así como más virulento contra *Helicoverpa armigera* (Hübner) que las cepas comerciales. Esto se explica, porque el cultivo continuo de los hongos entomopatógenos en medios artificiales hace que disminuya la formación de conidios y su virulencia. Lo anterior es respaldado por los estudios conducidos por Jirakkakul *et al.* (2017) quienes observaron que tras una continua reproducción de cepas comerciales de *B. bassiana* estas producían más hifas que conidios. Además, señalaron que reducía los niveles de proteína en la reparación del ADN, la biogénesis de los ribosomas, la energía metabólica y la virulencia.

En *Cucurbita pepo* (L.) comúnmente conocido en Europa como calabacín, se inocularon cuatro cepas de *B. bassiana* a través de la aspersión foliar de las

mismas. Se observó que todas las cepas colonizaron las hojas de esta planta sin diferencias significativas entre ellas, además se observó que estas cepas pudieron controlar el virus del mosaico amarillo del calabacín (ZYMV) (del inglés Zucchini Yellow Mosaic Virus).

Vitis vinífera (L) también se utilizó por Rondot y Reineke (2016) como reservorio endófito de *B. bassiana*. Los autores inocularon las cepas ATCC 74040 y GHA en las hojas de la vid con el objetivo de reducir la incidencia de *Planococcus ficus* (Signoret) una de las principales plagas de este cultivo. Colateralmente se evidenció la reducción del *Empoasca vitis* (Salta hojas de la vid).

Sánchez-Rodríguez *et al.* (2017) evaluaron la capacidad de la cepa *B. bassiana* EABb 04/01-Tip de ser endófito de *Triticum aestivum* (L). El hongo fue introducido exitosamente dentro de las plantas por diferentes métodos y fue reaislado de los granos producidos por las plantas inoculadas. A su vez, se comprobó el efecto que tienen las hojas inoculadas con el hongo en el control de *Spodoptera littoralis* (Boisduval).

Akuste *et al.* (2013) inocularon granos de *Vicia faba* (L.) y *P. vulgaris* con *B. bassiana* y *M. anisopliae* y evidenciaron que *B. bassiana* colonizó raíces, tallos y hojas de ambos cultivos, mientras que *M. anisopliae* no colonizó los tejidos de las plantas evaluadas. Por otra parte, Maketon *et al.* (2013) también colonizaron tejidos de *Vigna unguiculata* (L) (caupí).

Muchos han sido los estudios que se han realizado en el establecimiento endófito de *B. bassiana*, sin embargo existen pocos estudios acerca de *M. anisopliae* en este aspecto. En este sentido se conoce el estudio de Batta (2013) quién inoculó la cepa 150 de *M. anisopliae* en plantas de colza *Brassica napus* (L.), asperjando 2 mL del biopreparado en las hojas de esta planta. Como resultado se evidenció la colonización del tejido interno de las hojas, peciolas y tallos de *B. napus*. Además, se alimentaron larvas de *Plutella xylostella* con las plantas colonizadas por *M. anisopliae* lo que produjo el 100 % de mortalidad de las larvas.

Jaber y Enkerli (2016) también inocularon granos de *V. faba* con la cepa de *Metarhizium brunneum* (BIPESCO5). Los autores observaron que este hongo colonizó las raíces, tallos y hojas de esta planta e influyó positivamente sobre el

crecimiento de las mismas con respecto a las plantas provenientes de granos que no fueron tratados.

Los resultados también demuestran la efectividad de *M. anisopliae* de colonizar raíces de *Z. mays* por lo que constituye un aporte en el estado del arte de la ecología de esta especie de hongo entomopatógeno.

4.3. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre *S. frugiperda*

La acción de *B. bassiana* sobre larvas del primer instar de *S. frugiperda* comenzó a las 72 horas posteriores a la aplicación de este hongo entomopatógeno y a partir de este momento alcanzó una aumento paulatino hasta lograr el 100 % de mortalidad a las 192 horas (equivalente a ocho días) posteriores a la inoculación. Iguales resultados se obtuvieron cuando el hongo actuó sobre el segundo instar, no siendo así lo registrado en el tercer y cuarto instar donde *B. bassiana* alcanzó un 89 y 87 % de mortalidad respectivamente (Figura 4).

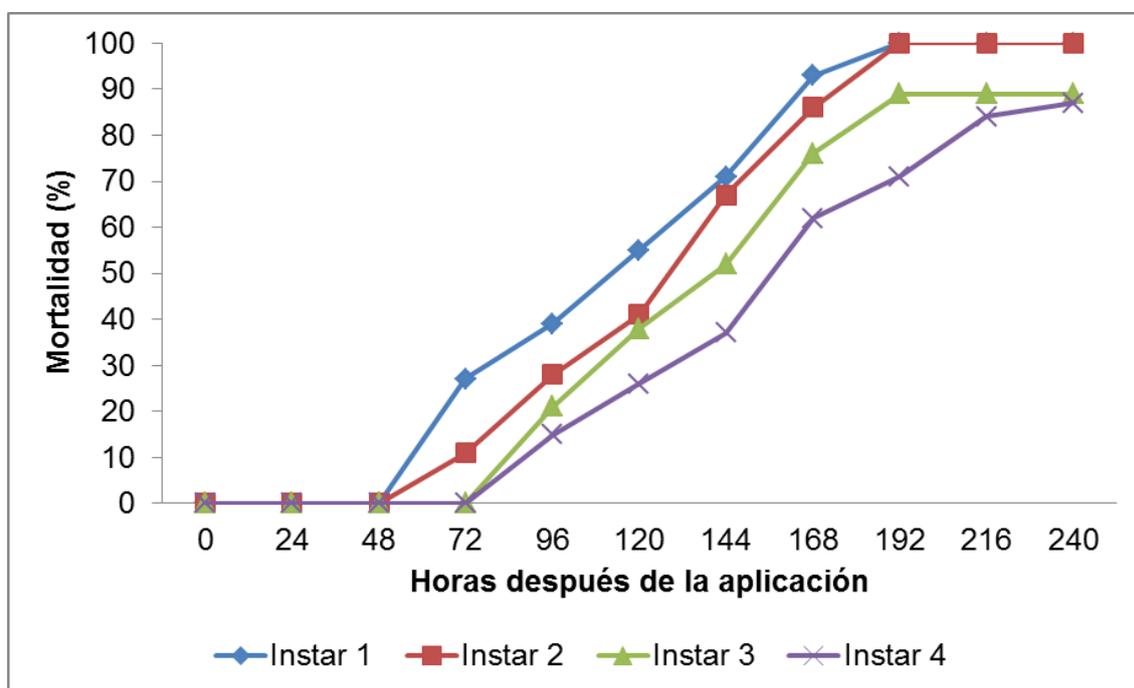


Figura 4. Efecto de *Beauveria bassiana* sobre *Spodoptera frugiperda*

El hongo entomopatógeno *M. anisopliae* provocó la mortalidad del primer y segundo instar larval de *S. frugiperda* a las 48 horas posteriores a la aplicación

y logró sobre estos un 100 % de mortalidad a las 168 horas (siete días), justo 24 horas con respecto al tratamiento con *B. bassiana*. Sobre el tercer y cuarto instar larval se evidenció los primeros cadáveres a las 72 horas y alcanzó la máxima mortalidad (100 y 75 %) a las 192 horas posteriores a la aplicación (Figura 5). También es importante resaltar, que *M. anisopliae* comenzó a matar a larvas de *S. frugiperda* 24 horas antes en comparación con las larvas tratadas por *B. bassiana*.

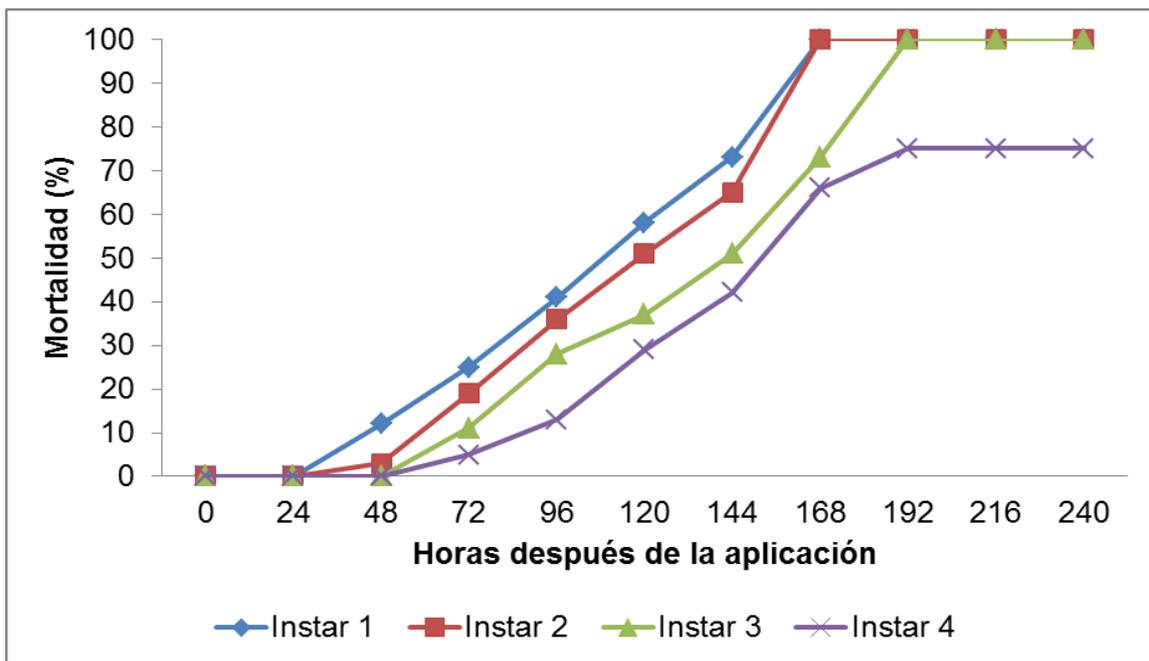


Figura 5. Efecto de *Metarhizium anisopliae* sobre *Spodoptera frugiperda*

Por otra parte, la aplicaciones de imidacloprid+deltametrina provocaron la muerte sobre los cuatro instares larvales estudiados a las 24 horas posteriores a la aplicación, con valores comprendidos entre el 86 y el 100 % de mortalidad. No obstante, se observó que a partir de las 48 horas, el insecticida químico causó la muerte del resto de las larvas. (Figura 6). En el caso del control, este no ejerció ningún efecto sobre ninguno de los instares larvales evaluados.

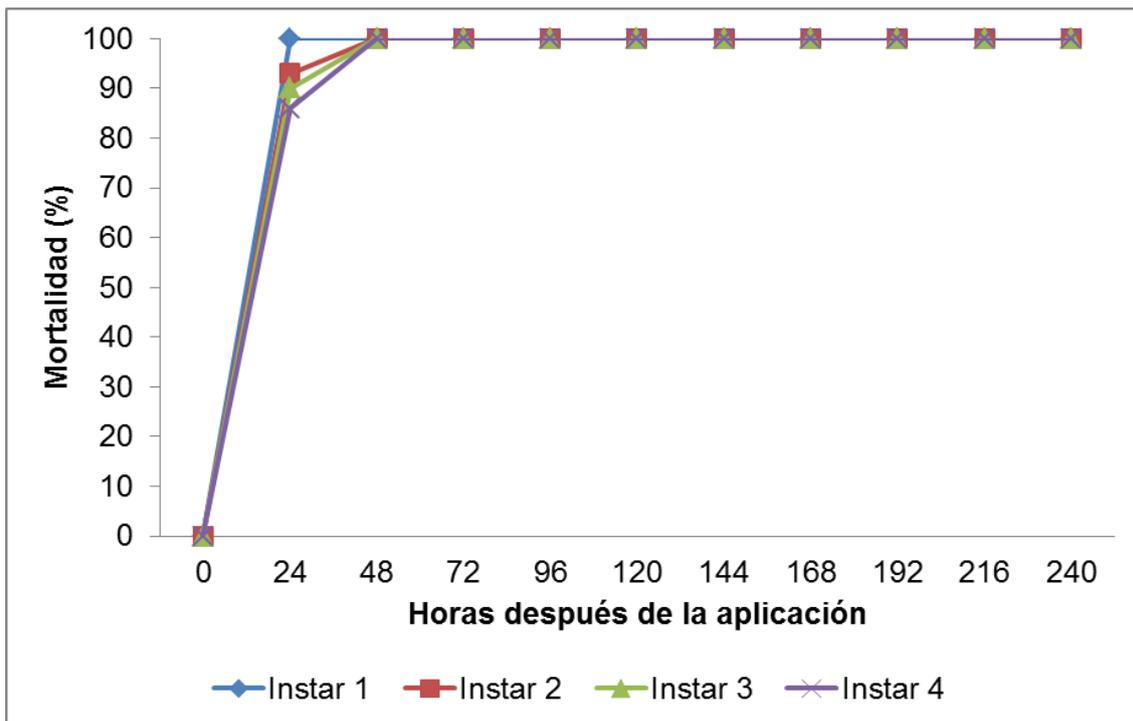


Figura 6. Efecto de Imidacloprid+deltametrina sobre *Spodoptera frugiperda*

Es importante destacar que los tratamientos empleados para el control de las larvas de *S. frugiperda* demoraron más en causar su efecto sobre el cuarto instar larval que en los instares inferiores. Esto puede estar dado a que existe mayor superficie corporal que cubrir y colonizar, al mismo tiempo del aumento de los mecanismos de resistencia que ejercen las larvas de mayor instar.

Es evidente que el uso de imidacloprid+deltametrina causó la mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* en un menor período de tiempo en comparación con los hongos entomopatógenos ya que estos últimos necesitan de un mayor tiempo y condiciones de alta temperatura y humedad relativa para la formación de sus conidios. No obstante, nuestro estudio demuestra que a partir de las 48 horas comienza reducir los niveles poblacionales de la plaga y entre los 7 y 8 días causa una mortalidad similar a la que produce el insecticida químico. Además, una de las ventajas del uso de los hongos entomopatógenos es que una vez que estos proliferen por los aberturas naturales de las lavas pueden ser una fuente de inóculo para otros insectos plagas.

El empleo de piretroides para el control de lepidópteros se remonta desde la época de los 80-90. Zanuncio *et al.* (1994) comprobaron la eficiencia de

deltametrina y permetrina en el control de *Thyrinteina arnobia* (Stoll) y *Nystalea nyseus* (Cramer) y destacaron el rápido efecto larvicida de estos insecticidas químicos, sin embargo destacaron su ineficiencia en el control del estadio adulto de ambas plagas. Tejeda-Reyes *et al.* (2016) al evaluar la acción de algunos insecticidas químicos como deltametrina contra *S. frugiperda*, obtuvieron que estos redujeron entre el 86 y 95 % de las larvas y aminoraron los daños hasta un 56 %.

En Chile, la deltametrina fue utilizada también para el control de lepidópteros. Tal es el caso de los estudios realizados por Rosa *et al.* (1997) quienes observaron la eficiencia de este piretroide sobre *P. xylostella* (L.), pero a su vez informaron de la resistencia que manifestaban las larvas de esta especie al insecticida químico. De igual forma León-García *et al.* (2012) al evaluar el efecto de lambdacialotrina, deltametrina, ciflutrina y metomil mediante aplicación tópica en el protórax de larvas de tercer instar de *S. frugiperda* y detectaron la resistencia de las mismas a los cuatro insecticidas evaluados. Lo anteriormente expuesto, explica una de las deficiencias que presenta el uso de insecticidas químicos sobre las plagas agrícolas en comparación con el empleo de hongos entomopatógenos que al ser organismos vivos, combaten los mecanismos de resistencia de los insectos.

La efectividad de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre *Spodoptera* spp. fue descrita por Petlamuland *et al.* (2015) quienes argumentaron que las tres cepas de *B. bassiana* fueron superiores a *M. anisopliae* en la mortalidad de *Spodoptera lituraon* (F.). Además, *B. bassiana* resultó mejor en cuanto a la virulencia y tasas de germinación de los conidios, mientras que *M. anisopliae* resaltó por sus actividades enzimáticas.

García *et al.* (2011) aplicaron las cepas de *B. bassiana* Bb-42 (aislada de una larva de *S. frugiperda*) y Bb-18 (obtenida de plantas de frijol) sobre larvas de los primeros instares de *S. frugiperda*, resultando la primera la más efectiva con un 96,6 % de mortalidad. Otras de las conclusiones arribadas fue que los aislados obtenidos de larvas son más virulentos que aquellos obtenidos por plantas o suelo. Un estudio conducido por Oliveira de Moraes *et al.* (2015) también hacen alusión a la eficiencia de *B. bassiana* formulada con aceite vegetal y asperjada sobre larvas de *S. frugiperda* ya que no causó diferencias

significativas con respecto al efecto producido por el insecticida lambda-cialotrina en el control de esta plaga.

Wraight *et al.* (2010) al probar el efecto de 47 aislados de *B. bassiana* sobre varias especies de lepidópteros, observaron que todas resultaron susceptibles a la incidencia de este hongo entomopatógeno. Por otra parte, González-Maldonado *et al.* (2015) evaluaron el efecto de varios medios de control biológico sobre *S. frugiperda* y determinaron que aunque *B. bassiana* fue virulento contra esta plaga, el medio de control que causó la mayor mortalidad fue el extracto de *A. indica* (A.Juss).

Los resultados también evidencian que no existieron diferencias significativas entre *B. bassiana* y *M. anisopliae* con respecto a la mortalidad de las larvas de esta plaga, sin embargo se comprobó que *M. anisopliae* mostró un mayor porcentaje de esporulación (45 %) en comparación con *B. bassiana* quien alcanzó esporular sobre el 31 % de las larvas tratadas (Tabla 3.). Este resultado es importante porque la esporulación del hongo desde su hospedante, significa la formación de una nueva fuente de inóculo para la infección de nuevas poblaciones de insectos plagas. Por lo tanto el hongo que presente mayor porcentaje de esporulación, será aquel que tenga más posibilidades de ser diseminado por agentes bióticos (otros insectos) y abióticos (viento).

Tabla 3. Comparación entre la mortalidad y esporulación producidos por *B. bassiana* y *M. anisopliae* en *S. frugiperda*

Hongos entomopatógenos	Mortalidad			Esporulación		
	Porcentaje	Media	Error Estándar	Porcentaje	Media	Error Estándar
<i>Beauveria bassiana</i>	95,20	19,45	0,23	31,00	5,9b	0,19
<i>Metarhizium anisopliae</i>	95,00	19,36	0,28	45,00	9,1a	0,20

Letras distintas en una misma columna para cada tipo de hongo denotan diferencias significativas según prueba DHS de Tukey ($P \leq 0,05$).

La inducción de la esporulación de los hongos generalmente se realiza con el objetivo de comprobar que los insectos murieron por el efecto de los mismos y no por otros factores como parasitoides, nematodos o por inhibición de la alimentación. Por otra parte, la esporulación es un indicador de calidad de los hongos entomopatógenos. Tal es el caso que García *et al.* (2011) al tener seleccionado entre varios aislados nativos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* para el control de *S. frugiperda* establecieron como indicador de selección la rápida esporulación de los aislados.

Ibarra-Aparicio (2005) dieron a conocer que *M. anisopliae* cepa M362 causó una mayor mortalidad sobre *Dalbulus maidis* (DeLong y Wolcott) en *Z. mays* que *B. bassiana*. Además, esta cepa de *M. anisopliae* comenzó a esporular a los tres días posteriores a la detección de los individuos muertos y tuvo el mayor porcentaje de esporulación (52,8 %) entre todos los aislados empleados. Nuestros resultados coinciden con estos autores en que *M. anisopliae* presentó mayor porcentaje de esporulación en comparación con *B. bassiana*.

Sun *et al.* (2002) al aplicar formulados de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre termitas observaron un aumento de la esporulación de estos hongos a los 11 días posteriores a la mortalidad de los insectos. Contra *Diaphorina citri* Kuwayama se usó la cepa ESALQ-PL63 la que causó un 58,3 % de esporulación sobre los cadáveres de este insecto plaga de los cítricos (Ausique *et al.*, 2017).

La esporulación está condicionada por factores bióticos (características del hongo) y abióticos como la temperatura, la humedad relativa y la luz. Investigaciones han demostrado que la luz continua favorece la esporulación de *M. anisopliae* mientras que la oscuridad continua la de *B. bassiana* (Barajas-Ontiveros *et al.*, 2009). Cuando la temperatura desciende por debajo de los 20° C se afecta la esporulación de los hongos entomopatógenos (Tefera y Pringle, 2003). Experimentos conducidos por Sharififard (2012) indican que *B. bassiana* causó la mayor mortalidad y esporulación sobre *Musca domestica* L. entre un rango de 25-30 °C y 75 % de humedad relativa. No obstante cada especie de hongo entomopatógeno y cada aislado dentro de la misma especie responden

de forma diferente ante los valores de temperatura y humedad relativa (Garrido-Jurado *et al.*, 2011).

De forma general, el conocimiento de la virulencia producido por diferentes hongos entomopatógenos y su capacidad de esporular, son elementos de interés para establecimiento de futuros programas de manejo integrado de plagas.

Conclusiones

5. Conclusiones

1. Los agroecosistemas con manejo agroecológicos presentan mayor abundancia de hongos entomopatógenos con respecto a aquellos con manejo convencional, siendo *Metarhizium* spp. más prevalentes con respecto a *Beauveria* spp. en ambos agroecosistemas.
2. *Beauveria* spp. fue endófito de raíz, tallo y hoja de *Z. mays*, mientras que *Metarhizium* spp. solo colonizó la raíz.
3. Las cepas de *B. bassiana* Bb-18 y *M. anisopliae* Ma-18 son factibles para el control de *S. frugiperda* ya que alcanzaron el 100% de mortalidad en los primeros instares larvales.
4. La cepa *M. anisopliae* Ma-18 causó mayor esporulación en *S. frugiperda* con respecto a *B. bassiana* Bb-18.

Recomendaciones

6. Recomendaciones

1. Realizar análisis moleculares para determinar la diversidad de especies de *Beauveria* y *Metarhizium* en ambos tipos de agroecosistemas.
2. Emplear formulaciones de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de forma preventiva ante la llegada de *S. frugiperda*, así como posteriores aplicaciones sobre los instares larvales.

Referencias Bibliográficas

7. Referencias bibliográficas

Adamczyk, Jr., J.J., Sumerford, D.V. (2000). Increased tolerance of fall armyworms (Lepidoptera: Noctuidae) to Cry1Ac d-endotoxin when fed transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton: Impact on the development of subsequent generations. *Florida Entomologist*, 84: 1–6.

Akello, J., Dubois, T., Coyne, D., Kyamanywa, S. (2008). Endophytic *Beauveria bassiana* in banana (*Musa* spp.) reduces banana weevil (*Cosmopolites sordidus*) fitness and damage. *Crop Protection*, 27: 1437-1441.

Akuste, K.S., Maniania, N.K., Fiaboe. K.K., Van Den Berg, M.J., Ekesi, S. (2013). Endophytic colonization of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) by fungal pathogens and their effects on the lifehistory parameters of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Fungal Ecology*, 6: 293-301.

Alatorre-Rosas, R., Bravo-Mojica, H., Leyva-Vásquez, J.L., Huerta, P.A. (2014). Manejo Integral de Plagas. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Estado de México*, pp.11.

Altieri, M.A, Nicholls, C.I. (2013). Agroecología y resiliencia al cambio climático. *Agroecología*, 8: 7-20.

Altieri, M.A., Nicholls, C. (2006). Optimizando el manejo agroecológico de plagas a través de la salud del suelo. *Agroecología* 1: 29-36.

Altieri, M.A., Nicholls, C.I. (2009). Biodiversidad y manejo de plagas en Agroecosistemas. *LEISA revista de agroecología*, 14: 5-8.

Andrews, K.L., Rutilio, J.Q., (1989). Maíz y sorgo. *En: Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: estado actual y futuro*, 623. pp.

Ángulo, J.M. 2000. Manejo del gusano cogollero del maíz utilizando extractos de plantas.

Arnold, A.E., Henk, D.A., Eells, R.L., Lutzoni, F., Vilgalys, R. (2007). Diversity and phylogenetic affinities of foliar fungal endophytes in loblolly pine inferred by culturing and environmental PCR. *Mycologia*, 99: 185-206.

Arrieta K., Salazar, C., Campo, R.O., Villarreal, N. (2007). Enfermedades patogénicas en los híbridos de maíz (*Zea mays*) en el medio y bajo Sinú del departamento de Córdoba. *Temas Agrarios*, 12: 58-69.

Ausique, J.J.S., D'Alessandro, C.P., Conceschi M.R., Mascarín G.M., Delalibera Jr I. (2017). Efficacy of entomopathogenic fungi against adult *Diaphorina citri* from laboratory to field applications. *Journal of Pest Science*, 90: 947-960.

Barajas-Ontiveros, C.G., Morales-Romano, M.D., Pozo-Núñez, E.M., Rodríguez-Aguilar, M.L., Núñez-López, J.J. (2011). Condiciones para el desarrollo de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control biológico de chapulín frijolero. (2009). *Revistas tecnociencias chihuahua*, 3: 33-38.

Barbosa, P. (1998). Conservation biological control. *Academic Press*, 39-54.pp.

Barros J., R. A. Malvar, R. Santiago. (2011). Función de la pared celular del maíz (*Zea mays* L.) como mecanismo de defensa frente a la plaga del taladro (*Ostrinia Nubilalis* Hüb. y *Sesamia Nonagrioides* Lef.). *Revista de Educación Bioquímica*, 30: 132-142.

Bassi, A. (1835). Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi da seta. *APS Phytopathology Classics*, 10: 1–49.

Batta, A.Y. (2013). Efficacy of endophytic and applied *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) against larvae of *Plutella xylostella* L. (Yponomeutidae: Lepidoptera) infesting *Brassica napus* plants. *Crop Protection*, 44: 128-134.

Behie, S.W., Jones, S.J., Bidochka, M.J. (2015). Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. *Fungal Ecology*, 13: 112-119.

Biswass, Ch; Dey, P; Satpathy, S; Satya, Pratik; Mahapatra, B. S. (2013). Endophytic colonization of white jute (*Corchorus capsularis*) plants by different

Beauveria bassiana strains for managing stem weevil (*Apion corchori*). *Phytoparasitica*, 41: 17-21.

Blanco, C.A., Pellegaud, J.G., Nava-Cabmberos, U., Lugo-Barrera, D., Vega-Aquino, P., Coello, J., Teran-Vargas, A. P., Vargas-Camplis, J. (2014). Maize pests in Mexico and challenges for the adoption of integrated pest management program. *Journal of Integrated Pest Management*, 5: 1-9.

Brewbaker, J. L. (2015). Diversity and genetics of tassel branch numbers in maize. *Crop Science*, 55: 65-78.

Bruner, S., Scarmusa, L., Otero, A. (1975). Catálogo de los insectos que atacan las plantas económicas de Cuba. Segunda Edición. Academia de Ciencia de Cuba. *Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 62: 77-84.

Castro, T., Roggia, S., Wekesa, V.W., Andrade, R., Demétrio, C., Delalibera Jr, I., Klingen, I. (2015). The effect of synthetic pesticides and sulfure used in conventional and organically grown strawberry and soybean on *Neozygites floridana*, a natural enemy of spider mites. *Pest Management Science*, 72: ps 4204.

Chacón-Castro, Y., Garita-Rojas, C., Vaglio-Cedeño, C., Villalba-Veásquez, V. (2009). Desarrollo de una metodología de crianza en laboratorio del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) como posible hospedante de insectos biocontroladores de interés agrícola. *Tecnología en Marcha*, 22: 28-37.

Cisneros, J., Goulson, D., Derwent, L.C., Penagos, D.I., Hernández, O., Williams, T. (2002). Toxic effects of spinosad on predatory insects. *Biological Control*, 23: 156–163.

Clavijo, S.,A., Fernández-Badillo, A. Ramírez, A.,A., Delgado, A., Lathullreie, J.,M. (2006). Influencia de la temperatura sobre el desarrollo de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Agronomía Tropical*, 41: 245-256.

Clement, S. L., Hu, J., Stewart, A. V., Wang, B., Elberson, L.R. (2011). Detrimental and neutral effects of a wild grass-fungal endophyte symbiotum on insect preference and performance. *Journal of Insect Science*, 11: 77.

Clifton, E.H., Jaronski, S.T., Hodgson, E.W., Gassmann, A.J. (2015). Abundance of soil-borne entomopathogenic fungi in organic and conventional fields in the Midwestern USA with an emphasis on the effect of herbicides and fungicides on fungal persistence. *PLOS ONE*, 10: 133-613.

Cook, J., Jacobs, P. (2014). Scientists are from Mars, Laypeople are from Venus: An Evidence-Based Rationale for Communicating the Consensus on Climate. *Reports of the National Center for Science Education*, 34: 1–10.

De Bach, P. (1964). Biological control of insects pests and weeds. *Chapman and Hall, London*, pp. 844.

De Bary, H.A. (1884). Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze Mycetozen und Bacterien. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, Berlin.

De Faria, M.R., Wraight, S.P. (2007). Mycoinsecticides and micoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and internacional classification of formulation types. *Biological Control*, 43: 237-256.

Delgado, M.R., Escalante, J.S.E., Díaz, R.R., Trinidad, A. S., Morales R. E., Sosa, E.M. (2016). Defoliación en maíz y su efecto sobre el rendimiento de frijol-maíz en asociación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5: 1015-1027.

Devine, G.J., Eza, D., Oigusuku, E., Furlong, M.J. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Medicina Experimental y Salud Pública*, 25: 74–100.

Dourado, P.M. (2009). Resistencia de *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera: Nocutidae) a spinosad no Brasil. *Paricicaba*, 71.pp.

FAO. (2016). FAO Stat-Agriculture. Disponible en: <http://faostat.fao.org/default.aspx>. (Consultado: febrero 2017).

Fernández J.L. (2001). Ecología y elementos para el control biológico y cultural de insectos plagas del maíz en cuatro municipios de la provincia Granma, Cuba. Tesis Doctoral, Universidad Central de Las Villas Cuba, 198 pp.

Gallardo, M. (2016). Concentrados y Subproductos para la alimentación de rumiantes. *XXI Curso Internacional de Lechería para Profesionales Internacionales de América Latina*, 153-162.pp.

García, C.G., González, B.M., Bautista, N.M. (2011). Pathogenicity of isolates of entomopathogenic fungi against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 37: 217-222.

García, G.M., Rojas, R.J., Castellanos, G.L., Enjamio, J.D. (2010). Policultivo (maíz-calabaza) en el control de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en Fomento, Sancti Spiritus. *Centro Agrícola*, 37: 57-6.

García, M.T. (2015). Empleo de policultivos para el manejo de plagas en el maíz (*Zea mays* L.). Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas.

Garrido-Jurado, I., Valverde-García, P., Quesada-Moraga, E. (2011). Use of a multiple logistic regression model to determine the effects of soil moisture and temperature on the virulence of entomopathogenic fungi against pre-imaginal Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. *Biological Control*, 59: 366-372.

Gilbert, L.I., Gill, S.S. (2010). Biological and Synthetic Agents. *Insect Control*, 353.pp.

Gliessman, S. R. (1998). Ecological Processes in Sustainable Agriculture. *Agroecology*, 347.pp.

Gliessman, S.R. (2002). Procesos ecológicos en agricultura sostenible. Centro agronómico tropical de investigación y enseñanza. *Agroecología*, 4: 255-264.

Goble, T.A., Dames, J.F., Hill, M.P., Moore, S.D. (2010). The effects of farming system, habitat type and bait type on the isolation of entomopathogenic fungi

from citrus soils in the Eastern Cape province, South Africa. *BioControl*. 55: 399-412.

González, G. (2009). Virus y fitoplasmas en el cultivo del maíz (*Zea mays* L.) en Cuba. Distribución y diagnóstico. *Fitosanidad*, 6: 4.

González, M.J., López, S.J.A., F. Briones, E., Varela F.S.E., Reyes, M.C.A., Pecina, M.J.A. (2014). Programa de manejo, conservación y mejoramiento de maíz nativo de la Facultad de Ingeniería y Ciencias de la UAT.

González-Maldonado, M.B.; Gurrola-Reyes, J.N.; Chaírez-Hernández, S. (2015). Productos biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 41: 200-204.

Guagler, R. (1988). Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects with entomopathogenic nematodes. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 24: 351-360.

Guesmi-Jouini, J., Garrido-Jurado, I., López-Díaz, C., Halima-Kamel, M, Ben., Quesada-Moraga, E. (2013). Establishment of fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Bionectria ochroleuca* (Ascomycota: Hypocreales) as endophytes on artichoke *Cynaras colymus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 119: 1-4.

Guesmi-Jouini, J., Garrido-Jurado, I., López – Díaz , C; Ben Halima-Kamel, M., Quesada- Moraga, E. (2014). Establishment of fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Bionectria ochroleuca* (Ascomycota: Hypocreales) as endophytes on artichoke *Cynara scolymus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 119: 1-4.

Gurulingappa, P., Sword, G.A., Murdoch, G., McGee, P.A. (2010). Colonization of crop plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta. *Biological Control*, 55:34–41.

Gutiérrez G.S.C., Sánchez E.J., Pérez D.J.F., Carballo C.A., Berguinson D., Guilera P.M.M. (2010). Efecto del nim en el daño ocasionado por el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en

tres variables agroquímicas de maíz resistente y susceptible. *Acta Zoológica Mexicana*. 26:1-16.

Hernández, J.A., Pérez-Jiménez, J.M., Bosch, I.D., Castro, S.N. (2015). Clasificación de los suelos de Cuba. *INCA*, 79.pp.

Hernández-Velázquez, V. M., Cervantes-Espíndola, Z., Villalobos, F.J., García, L.L., Peña-Chora, G. (2011). Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz. *Acta Zoológica Mexicana*, 27: 591-599.

Hughes, W.O.H., Thompson, L., Eilenberg, J., Boomsma, J.J. (2004). Diversity of entomopathogenic fungi near leaf-cutting ant nests in a neotropical forest, with particular reference to *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 85: 46-53.

Ibarra-Aparicio, G.; Moya-Raygoza, G.; Berlanga-Padilla, A. (2005). Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharita del maíz (*Dalbulus maidis*) (Delong y Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). *Folia Entomológica Mexicana*, 44: 1-6.

Jirakkakul, J., Roytrakul, S., Srisuksam, Ch., Swangmaneecharern, P., Kittisenachai, S., Jaresitthikunchai, J., Punya, J., Prommeenate, P., Senachak, J., So, L., Tachaleat, A., Tanticharoen, M., Cheevadhanarak. S., Wattanacchaisaereekul, S., Amnuaykanjanasin, A. (2017). Culture degeneration in conidia of *Beauveria bassiana* and Virulence determinants by proteomics. *Fungal Biology*, 112: 2-3.

Johny, S., Kyei-Poky, G., Gauthier, D., Van Frankenhuyzen, K., Krell, P.J. (2012). Characterization and virulence of *Beauveria* spp. recovered from emerald ash borer in southwestern Ontario, Canada. *Journal of Invertebrate Pathology*, 11: 41-49.

Keller, S.; Zimmerman, G. (1989). Mycopathogens on soil insects. *Advances in Microbial Ecology*, 15:227-240.

Keyser, Ch. K., De Fine Licht, H. H., Steinwender, B. M., Meyling, N. V. (2015). Diversity within the entomopathogenic fungal species *Metarhizium flavoviride* associated with agricultural crops in Denmark. *BMC Microbiology*, 15: 249.

Klingen, I., Eilenberg, J., Meadow, R. (2002). Impact of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. *Agriculture Ecosystem and Environment*, 91: 191-198.

Klingen, I., Haukeland, S. (2006). The soil as reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes. *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*, pp. 145-211.

Lacey, L.A. (2012). Manual of techniques in invertebrate pathology. Second Edition. *Academic Press, London*, 470.pp.

Landis, D.; Wratten, S. and Gurr, G. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, 45: 175-201.

León-García, I., Rodríguez-Leyva, E., Ortega-Arenas, L.D., Solís-Aguila, J.F. (2012). Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) a insecticidas asociada a césped en Quintana Roo, México. *Agrociencia*, 46: 279-287.

Lopes, A.P.S., Diniz, I.R., Moraes, M.C.B., Borges, M., Laumann, R.A. (2012). Defenses induced by herbivory and specific interactions on the tri-trophic system soybean-stink bug-egg parasitoids. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 47: 875-878.

Maketon, M., Chkanya, N., Premudomkit; Maketon, C. (2013). Interaction Between Entomopathogenic Fungi and Some Aphid Species in Thailand. *Gesunde Pflanzen*. *Gesunde Pflanzen*, 65: 93-105.

Martínez, E., Barrios, G., Rovesti, L., Santos, L. (2007). Manejo Integrado de Plagas. *Manual Práctico*, 526.pp.

Medo, J., Cagáň, L. (2011). Factors affecting the occurrence of entomopathogenic fungi in soils of Slovakia as revealed using two methods. *Biological Control*, 59: 200-208.

Meyling, N.V., Thorup-Kristensen, K., Eilenberg, J. (2011). Below-and aboweground abundance and distribution of fungal entomopathogens in experimental conventional and organic cropping systems. *Biological Control*, 59: 180-186.

Ministerio de la Agricultura (2016). Cuba <http://www.minag.gob.cu/> (Consultado: 24 de abril de 2018).

Muñíz-Reyes, E., Guzmán-Franco, A.W., Sánchez-Escudero, J., Nieto-Angel, R. (2014). Occurrence of entomopathogenic fungi in tejocote (*Crataegus mexicana*) orchard soils and their pathogenicity against *Rhagoletis pomonella*. *Journal of Applied Microbiology*, 117: 1450-1462.

Nexticapán-Garcéz, A.A, Magdub-Méndez, S. Vergara-Yoisura, R. Martín-Mex, A. Larqué-Saavedra. (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. *Universidad y Ciencia trópico húmedo*, 25: 273-277.

O'Brien, T.R. (2008). *Metarhizium ansopliae* persistence as a saprophyte, genetic basis of adaptation and role a plant symbiont. *Tesis Doctoral*, 135.pp.

Oficina Nacional de Estadísticas Cuba (2016). <http://www.one.cu/> (Consultado: 21 de marzo de 2018).

Oliveira de Moraes, R.F., Toscano, L.C., Arantes, M.F., Pietrobon, V.L., Santos, M.C. (2015). *Beauveria bassiana* in association with genetically modified maize on *Spodoptera frugiperda* and *Rhopalosiphum maidis* management. *Agricultural Entomology*, 82: 1-7.

Ortiz, F. (2010). Diccionario de especialidades agroquímicas. Thomson PLM del Ecuador S.A. Quito, Ecuador. 31. pp.

Parihar, C. M., Bhupender Kumar, S.L. Jat, A.K. Singh, M.L. Jat, V. Chaudhary, Sain, D. (2016). Specialty Corn for Nutritional Security and Dietary Diversification. *Biofortification of Food Crops*, 387-398.pp.

Parsa, S., Ortiz, V., Vega, F.E. (2013). Establishing fungal entomopathogens as endophytes: towards endophytic biological control. *Journal of Visualized Experiment*, 74: 1-5.

Pecina, M.J.A., Mendoza, C., López S., F. Castillo G.M. Mendoza R. y J. Ortiz C. (2011). Rendimiento de grano y sus componentes en maíces nativos de Tamaulipas evaluados en ambientes contrastantes. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34: 85-92.

Pérez, F. (2008). Manejo Ecológico de Plagas. *Editorial: Félix Varela*, 192-193.pp.

Pérez-González, V.H., Guzmán-Franco, A.W., Altatorre-Rojas, R., Hernández-López, J., Hernández-López, A., Carrillo-Benítez, M.G., Baverstock, J. (2014). Specific diversity on the entomopathogenic fungi *Beauveria* and *Metarhizium* in Mexican agricultural soils. *Journal of Invertebrate Pathology*, 119: 54-61.

Petlamul, W., Prasertsan, P. (2015). Evaluation of Strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Spodoptera litura* on the Basis of Their Virulence, Germination Rate, Conidia Production, Radial Growth and Enzyme Activity. *Mycobiology*, 40: 111-116.

Qayyum, M. A., Wakil, W., Arif, M.J., Dunlap, Ch.A. (2014). Infection of *Helicoverpa armigera* by endophytic *Beauveria bassiana* colonizing tomato plants. *Biological Control*, 90: 200-207.

Quesada- Moraga. E; Landa, B.B; Ledesma , J.M. (2006). Endophytic colonisation of opium poppy, *Papaver somniferum*, by an entomopathogenic *Beauveria bassiana* strain. *My Copathologia*, 161: 323–329.

Quesada-Moraga, E., Navas-Cortés, J.A. Maranhao, E.A.A. Ortiz-Urquiza, A. Santiago-Álvarez, C. (2007). Factors affecting the occurrence and distribution of

entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research*, 3: 947-966.

Raju J, Reddy P, Reddy A, Kumar C and Hyder I. (2017). Livestock feed resources in surplus rainfall Agro ecological zones of Andhra Pradesh: Requirement, availability and their management. *International Journal of Livestock Research*, 7: 148–163.

Ramos, Y., Portal, O., Lysoe E., Meyling, N. V; Klingen, I. (2017). Diversity and abundance of *Beauveria bassiana* in soils, stink bugs and plant tissues of common bean from organic and conventional fields. *Invertebrate Pathology*, 105: 114-120.

Renuka, S., Ramanujam, B., Poornesha, B. (2016). Endophytic Ability of Different Isolates of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in Stem and Leaf Tissues of Maize (*Zea mays* L.). *Indian Journal of Microbiology*, 56:126–133.

Ribeiro, S. (2004). El día en que muera el sol. *Biodiversidad*, 1-7.pp.

Ridgway, R.L., Vinson, S., B. (1977). Insect and Mite Control with Parasites and Predators. *Biological control by augmentation of natural enemies*, 3-341.pp.

Ritchie, H.; Hanway, R. (1982). Jornada de manejo sustentable del cultivo del maíz. *Fundación Produce Sinaloa*, 1-40.pp.

Rojas, J. (2000). *S. frugiperda* (J. E. Smith) en maíz; enemigos naturales; empleo de ellos en la lucha contra esta plaga dentro de una agricultura de bajos insumos. Tesis para alcanzar el grado científico de doctor en ciencias agrícolas UCLV. FAME. Cuba.

Rondot, Y., Reineke, A. (2016). Endophytic *Beauveria bassiana* in grapevine *Vitis vinifera* (L.) reduces infestation with piercing-sucking insects. *Biological Control*, 116: 82-89.

Rosa, M.,J., Araya, J.E., Guerrero, M.A., Lamborot, L. (1997). Niveles de resistencia de *Plutella xylostella* (L.) a tres insecticidas en varias localidades de la zona central de Chile. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 23: 571-581.

Rubio, S.V.; Fereres, C.A. (2005). Control biológico de plagas y enfermedades de los cultivos. *Centro de Ciencias Medioambientales*, 28.pp.

Sánchez-Rodríguez, A. R., Raya-Díaz, S., Zamarreño, A.M., García-Mina, J. M., Campillo, M.C., Quesada-Moraga, E. (2017). An endophytic *Beauveria bassiana* strain increases spike production in bread and durum wheat plants and effectively controls cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) larvae. *Biological Control*, 116: 90-102.

Sarandón, S. J. (2014). Bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. *En: Agroecología*, 100-130.pp.

Schmutterer, H. (1990). Plagas de las Plantas Cultivadas en el Caribe. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GMBH*, 640.pp.

Segrelles, S.J. (2005).El problema de los cultivos transgénicos en América Latina: Una “Nueva” Revolución Verde. *Entorno Geográfico*, 3: 93-120.

Séralini, G. E., E. Clair, R. Mesnage, S. Gress, N. Defarge, M. Malatesta, D. Hennequin and J. S. de Vendômois, (2014). Republished study: longterm toxicity of aRoundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environmental Sciences Europe*, 26:14.

Sharififard, M. (2012). Effects of Temperature and Humidity on the Pathogenic of the Entomopathogenic Fungi in Control of the House Fly, *Musca domestica* L. (*Diptera:Muscidae*) under Laboratory Conditions. *Journal of Entomology*, 9: 282-288.

Skinner, M., Parker, B.L., El Bouhssini, M., Brownbridge, M. (2014). Role of Entomopathogenic Fungi for Integrated Pest Management. *Integrated Pest Management* .

Soengas, F., M. P., P. Velasco P., R. A. Malvar P., P. Revilla T. y A. Ordás P. (2000). Herencia de la resistencia del maíz dulce a *Sesamia nonagrioides*. *Actas de Horticultura*, 30: 317-322.

Sun, B.D., Liu, X.Z. (2008). Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. *Applied Soil Ecology*. 39: 100-108.

Sun, J., Fuxa, J.R., Henderson, G. (2002). Sporulation of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Coptermes formosanus* and in vitro. *Journal Invertebrate Pathology*, 81: 78-85.

Tall, S; Meyling, N. V. (2017). Probiotics for Plants? Growth Promotion by the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Depends on Nutrient Availability. *Microbial Ecology*, 1-7.

Tefera T.; Pringle, K. (2003). Germination, Radial Growth, and Sporulation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Isolates and Their Virulence to *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae) at Different Temperatures. *Biocontrol Science and Technology*, 13: 699-704.

Tefera,T; Vidal, S. (2009). Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Bio Control*, 54: 663-669.

Tejeda-Reyes, M.A., Solís-Aguilar, J.F., Díaz-Nájera, J.F., Peláez-Arroyo, A., Ayvar-Serna, S., Mena-Bahena, A. (2016). Evaluación de insecticidas en el control de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz en Cocula, Guerrero. *Entomología mexicana*, 3: 391-394.

Tkcacsuk, C., Król, A., Majchorowska-Safaryan, A., Nicewicz, L. (2014). The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from fields cultivated in a conventional and organic system. *Journal of Ecological Engineering*, 15: 137-144.

Valdez-Torres, Soto-Landeros, J.B., Osuna-Enciso, F.T., Báez-Sañudo, M. A. (2012). Modelos de predicción fenológica para maíz blanco (*Zea mays* L.) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith). *Agrociencia* 46: 399-410.

Vega, F. E; Goettel, M. S; Blackwell, M; Chandler, D; Jackson, M. A; Keller S. (2012b). Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*, 2: 149-159.

- Vega, F.E. (2008). Insect pathology and fungal endophytes. *Journal of invertebrate pathology* . 98: 277-279.
- Vega, F.E., Meyling, N.V., Luangsa-ard, J.J., Blackwell, M. (2012a). Fungal entomopathogens. *Academic Press*, 171-220.pp.
- Wagner, B.L., Lewis, L.C. (2000). Colonization of Corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 3468-3473.
- Wakil, W.; Ghazanfar, M.U.; Riasat, T.; Kwon, Y.J.; Qayyum, A.; Yasin, Muhammad. (2013). Occurrence and diversity of entomopathogenic fungi in cultivated and uncultivated soils in Pakistan. *Entomological Research*, 43: 70-78.
- Whalon, M.E., Mota-Sanchez D., Hollingworth R.M., Duynslager, L. (2008). Arthropod pesticide resistance database. *Journal of Integrated Pest Management*, 6: 1.
- Willink, E.; V. M. Osores y M. A. Costilla. 1993. Daños, pérdidas y niveles de daño económico por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. *Rev. Ind. y Agric. de Tucumán*, 70:49-52.
- Woodring, J.L.; Kaya, H.K. (1988). Steinernematid and Heterorhabditid Nematodes: A Handbook o Biology and Techniques, Fayetteville, Arkansas: Arkansas Agricultural Experiment Station. Academic Press, London, pp. 1-30.
- Wraight, S.P.; Ramos, M.E.; Avery, P.B.; Jaronski, S.T.; Vandenberg J.D. (2010). Comparative virulence of *Beauveria bassiana* isolates against lepidopteran pests of vegetable crops. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103: 186–199.
- Yan, J.F., Broughton, S.J., Yang, S.L., Gange, A.C. (2015). Do endophytic fungi grow through their hosts systemically. *Fungal Ecology*, 13: 53–59.
- Yong, J., Jia-Yu, Z., Jia-Xi, H., Wei Du., Yuan-Qing, B., Chang-Hong, L., Chuan-Chao, D. (2013). Distribution of the Entomopathogenic Fungus

Beauveria bassiana in Rice Ecosystems and Its Effect on Soil Enzymes. *Current Microbiology*, 67: 631–636.

Zanuncio, J.C., Guedes, R.C., Cruz, A.P., Zunancio, T.V. (1994). Eficiência da Deltametrina e da Permetrina, em aplicação terrestre, contra os lepidópteros *Thyrinteina arnobia* (Geometridae) e *Nystela nyseus* (Notodontidae) no trópico Úmido. *Acta Amazónica*, 24: 321-326.

Anexos

8. Anexos

Anexo 1. Labores que se realizan en los agroecosistemas escogidos.

Labores	Agroecosistema con manejo convencional	Agroecosistema con manejo agroecológico
Preparación del suelo	Primera labor de aradura (rotura) Labor de picadora (dos veces) Segunda labor de aradura (cruce) Mullido (dos pases de grada) Land Plane Surque	Primera labor de aradura (rotura) Segunda labor de aradura (Cruce) Mullido (un pase de grada) Surque
Control de plagas	Herbicidas e insecticidas	Pase de araña, guataquea
Fertilización	NPK , Nitrato de Amonio, Urea	Compost

Anexo 2. Etapas fenológicas del cultivo de *Zea mays* descritas por (Ritchie y Hanway, 1982).

Etapas	Días	Descripción
VE	3	El coleóptilo emerge de la superficie del suelo.
V1	9	Es visible el cuello de la primera hoja.
V2	12	Es visible el cuello de la segunda hoja.
Vn		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).
VT	55	Es completamente visible la última rama de la panoja.
R0	57	Antesis o floración masculina, el polen se comienza a arrojar.
R1	59	Son visibles los estigmas.
R2	71	Etapa de ampolla. Los granos se llenan con un líquido claro y se puede ver el embrión.
R3	80	Etapa lechosa. Los granos se llenan con un líquido lechoso blanco.
R4	90	Etapa masosa. Los granos se llenan con una pasta blanca. El embrión tiene aproximadamente la mitad del ancho del grano.
R5	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.
R6	112	Madurez fisiológica. Una capa negra es visible en la base del grano. La humedad del grano es generalmente de alrededor del 35%.

