


TOXICIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES Y HONGOS ENTOMOPATOGENOS EN EL GUSANO COGOLLERO *Spodoptera frugiperda* J.E.Smith (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), DEL MAÍZ EN EL ESTADO DE GUERRERO

¹María Divina Ángel-Ríos, ¹Juan Pérez-Salgado y ²Fabiana Morales De Jesús.

¹Unidad Académica de Ciencias Naturales.

²Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Universidad S/N. C.P. 39105 (Rancho Shalako) Carr. Nal. Chilpancingo – Acapulco. Las Petaquillas, Gro. Tel.747 47 19310 ext. 3655. Cel74 71066398.

Correo: junpe242003@yahoo.com.mx

RESUMEN. Se evaluó la efectividad de *Metarhizium* sp y *Paecilomyces* sp a una concentración de 1×10^8 esporas mL⁻¹, y extractos vegetales del Paraíso (*Melia Azedarach* L), Higuierilla (*Ricinus communis* L) y guanábana (*Annona muricata* L) contra larvas de *Spodoptera frugiperda*. El material vegetal se secó a la sombra, y se hizo la extracción por el método de Soxhlet y Rotavapor, los hongos entomopatógenos se aislaron de suelos de la región y se reprodujeron en arroz. Las larvas de *Spodoptera* se obtuvieron de un pie de cría, desde huevo hasta adulto en laboratorio $27 \pm 1^\circ$ C. El extracto con mayor efecto fue *Melia* sp con mortalidad del 93.30% después la guanábana (87.97%) y por último la higuierilla (75.90%), la mortalidad de *Metarhizium* sp fue del 55.98% y *Paecilomyces* sp del 34.64%. De los hongos y los extractos el mayor efecto en la mortalidad de la larva fue *Melia* sp.

Palabras Clave: Hongos entomopatógenos, extractos vegetales, *Spodoptera*

Toxicity of plant extracts and entomopathogenic fungi in worm cogollero (*Spodoptera frugiperda*) of corn

ABSTRACT. We assessed the effectiveness of *Metarhizium* sp and *Paecilomyces* sp at a concentration of 1×10^8 spores mL⁻¹, and plant extracts of “paraíso” (*Melia azedarach* L), “higuierilla” (*Ricinus communis* L) and “guanábana” (*Annona muricata* L) against larvae of *Spodoptera frugiperda*. The plant material was dried in the shade, and extraction was made by the method of Soxhlet, entomopathogenic fungi were isolated from soil of the region and were reproduced in rice. The larvae of *Spodoptera* sp were obtained from a foot of breeding, from egg to adult in laboratory conditions $27 \pm 1^\circ$ C. The extract with greater effect was *Melia* sp with a mortality rate of 93.30 %, after the guanabana (87.97 %) and finally the castor (75.90 %), The mortality *Metarhizium* sp was of 55.98 % and *Paecilomyces* sp of 34.64 %. Of the fungi and the extracts the major effect of the mortality of the larva was *Melia* sp

Key Words: Entomopathogenic fungi, plant extracts, *Spodoptera*

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los alimentos básicos de mayor importancia a nivel mundial solo que enfrenta un sin número de enfermedades y plagas que reducen su producción y uno de los problemas más importantes que afecta al cultivo es el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). Esta plaga es un insecto perjudicial para la agricultura ya que es polífago, endémico y con una alta reproducción, puede sobrevivir todo el año en áreas tropicales y subtropicales (Machado, 2004). Se han utilizado variados mecanismos de control en esta plaga entre ellos se encuentran: el cultural, químico, físico, biológico y natural. En este último se pueden utilizar las propiedades insecticidas de las plantas, mediante formulados a base de extractos vegetales (Riquelme y Cuchman, 1994). Otra de las formas para combatir las plagas sin contaminar el

medio ambiente es utilizando los hongos entomopatógenos, donde citan alrededor de 750 especies (Smits, 1993), y sin ser necesariamente ingeridos por el huésped (Maddox, 1990); aunque son muy dependientes de las condiciones ambientales, particularmente de la alta humedad. Conocidos dentro de este grupo a *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, *Hirsutiella thompsonii*, *Aschersonia aleyrodis*, *Nomureae* y *Paecilomyces*, todos ellos en la subdivisión de Deuteromycotina (Smits, 1993; Van Lenteren, 1995).

Los objetivos de este estudio fueron evaluar el efecto biológico del Paraíso (*Melia azedarach* L), Higuierilla (*Ricinus communis* L) y Guanábana (*Annona muricata* L) y de los hongos entomopatógenos (*Metarhizium* sp y *Paecilomyces* sp) a una concentración de 1×10^8 esporas mL^{-1} , en larvas del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) a nivel de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODO

El área de colecta fue en Petaquillas, Guerrero, donde se seleccionó una parcela de maíz, con presencia de daños por *S. frugiperda*. Las larvas colectadas de esa zona fueron puestas en cajas Petri y llevadas a laboratorio, las cuales estuvieron a temperatura ambiente, y alimentadas con hojas tiernas de maíz hasta la obtención de pupas, estas se metieron en bolsas de papel enceradas hasta la eclosión de los adultos y aparearse, obtenidos los huevos se colocaron en frascos de plástico pequeños para la emergencia de las larvas para ser utilizados en el bioensayo a una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Por otro lado, se utilizaron semillas maduras de Paraíso (*M. azedarach* L), Higuierilla (*R. communis* L) y Guanábana (*A. muricata* L), estas se depositaron en bolsas de papel, se etiquetaron y secaron a temperatura ambiente para su deshidratación por 15 días. Posteriormente en matraces Erlen Meyer se agregaron 100g de semilla molida y 300 ml de alcohol (98% v/v) y se sometieron a extracción sólida-liquida alcohólica de metabolitos secundarios en el dispositivo de Soxhlet a 200°C durante dos horas y después se pasó en Rotavapor para obtener el concentrado. Para la preparación de la concentración (2 % p/v) se utilizaron 2 g del concentrado a un volumen final de 100 ml con agua destilada. Se etiquetaron y almacenaron a temperatura ambiente para las pruebas de susceptibilidad. Las cepas nativas a utilizar de *Metarhizium* y *Paecilomyces* se aislaron de suelos agrícolas de la región de Costa Grande y Costa Chica y se conservaron para su identificación. Se observaron las características morfológicas de acuerdo a las claves taxonómicas de Humber (1998) y Barnett y Hunter (2003).

Los hongos se reactivaron en medio artificial Sabouraud-Dextrosa-Agar (SDA) más 0.5 mg L⁻¹ de Cloranfenicol a $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Se reprodujeron masivamente en 300 gramos en bolsas de polipapel de arroz esterilizado. Para esto a cada uno de los hongos de las cajas Petri se les colocó cinco ml de agua estéril, y con la ayuda de una asa bacteriológica se mezcló el agua estéril con las esporas, se inocularon cinco ml de suspensión de conidios al arroz esterilizado bajo condiciones asépticas en la cámara de aislamiento y se incubó durante 20 días para el crecimiento de esporas. Para obtener las esporas se le agregó 500 ml de agua destilada estéril, frotando suavemente el arroz. La suspensión obtenida se conservó en un refrigerador hasta su uso. En la preparación de la concentración [1×10^8 esporas ml^{-1}], se utilizó una cámara de Neubauer para la cuantificación de esporas por ml. Obtenidas las larvas del *S. frugiperda* del tercer estadio se les asperjaron las concentraciones de [1×10^8 esporas ml^{-1}] de los hongos *Metarhizium* sp y *Paecilomyces* sp de 1ml a cada unidad experimental de los diferentes tratamientos. Después de la aplicación de cada tratamiento se realizaron lecturas, registrando el porcentaje de mortalidad para cada tratamiento.

Se realizó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos en total y con cinco repeticiones para cada uno, arrojando 25 unidades experimentales (caja Petri) conformadas por

quince larvas cada una, a las que se aplicaron los tratamientos junto con su alimento (trozos tiernos de hojas de maíz), el porcentaje de mortalidad se analizó con un ANOVA, seguido de una prueba de comparación de medias de Tukey con $\alpha=0.05$ para determinar cuál de los extractos u hongos entomopatógenos presentaba el mayor efecto con respecto a los parámetros considerados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis de varianza que se aplicó al observar el efecto de mortalidad de larvas del gusano cogollero (*S. frugiperda*), los cinco tratamientos evaluados mostraron diferencia significativa en la mortalidad de estas.

Los resultados con la prueba de Tukey indican (Cuadro 1) que *Melia azedarach* y *Annona muricata* presentaron las mayores diferencias significativas al ocasionar el 93.3 % y 87.9 % de mortalidad respectivamente y *Ricinus communis* una mortalidad de 75.9 %. Es posible que *Melia Azedarach* tenga metabolitos secundarios como son limonoides, azedaracol, meliacarpina, melianol, melianona, meliantriol, maliatina, meliatoxina, nimboldina, aquinolida, sedanina, tosendanina, viladinina, estos metabolitos activos están en hoja, tallos, frutos y semillas.

El mecanismo de acción de la mayoría de las sustancias provenientes del extracto de la semilla del paraíso consiste en inhibir la acción de las oxidasas en el intestino medio, por lo que las larvas mueren o se convierten en pupa o adulto anormal, como también destruye su cutícula provocándole la mortalidad como lo señala Rodríguez (1990), así también que permitan mostrar resultados satisfactorios contra esta plaga, como lo señalan Rossetti *et al.*, 2008, que en la búsqueda de compuestos botánicos con potencial insecticida al evaluar la actividad de extractos de fruto maduro y hojas senescentes de *Melia azedarach* L. a (2, 5 y 10%) sobre larvas de *Spodoptera eridiana*, encontraron efectos anti alimentario y reducción de peso larval, Dávila y Vinicio, 1999 también evaluaron extractos vegetales, para el control de gusano cogollero del maíz (*S. frugiperda*) y la vaquita del frijol *Diabrotica* sp, como un repelente pero su resultados fueron negativos, sin embargo en la aplicación al cultivo de maíz del extracto de Ortiga hubo un menor daño por esta plaga comparado con plantas testigo donde no se aplicó, concluyendo que la Ortiga actúa como repelente y no así para la vaquita del frijol. También Delgado, *et al.* 2012 en su trabajo de propiedades entomotóxicas de los extractos vegetales de *Azardichta indica* y otras dos plantas para el control de *S. exigua* Hübner cuyo propósito fue evaluar el efecto anti alimentario y toxicidad de los extractos en condiciones de laboratorio y en cultivo orgánico de tomate encontraron que el mayor efecto disuasivo alimentario fue en el extracto de *Azardichta indica* y en el extracto metanólico fue más tóxico con 4.03 ppm. Existen otras plantas con propiedades insecticidas.

El segundo extracto con efecto en esta plaga fue la semilla de *Annona muricata* que contiene metabolitos secundarios como la annonacina, la javoricina, lactonas y ácido linoleico localizadas principalmente en la semilla. El mecanismo de acción consiste en destruir su cutícula, destruye el aparato digestivo y los que sobreviven son anormales como lo reporta Bernabé *et al.*, (2005), en el que trabajo con mosquitos del dengue *Aedes aegypti* L.

Cuadro 1. Mortalidad de larvas de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*).

TRATAMIENTO	MORTALIDAD %	SIGNIFICANCIA
Paraíso	93.300	A
Guanábano	87.970	A
Higuerilla	75.900	B
<i>Metarhizium</i>	55.980	C
<i>Paecilomyces</i>	34.640	D

Nota: Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

En el caso del extracto de semilla de Higuerilla (*Ricinus communis* L.) contiene metabolitos secundarios como la ricina y ricinina, su mecanismo de acción consiste en alterar su ciclo biológico y provocar la mortalidad en las larvas del primer estadio. Aunque los resultados de esta planta mostraron un menor efecto en comparación con paraíso y anona, esta mortalidad de la larva por la planta se consideró con efecto insecticida o insectistático como lo señalan Ramos *et al.*, 2006, en el trabajo de actividad de extractos acuosos de *Ricinus communis* y de *Azadirachta indica* contra *Spodoptera frugiperda*, o como efecto entomotóxico hacia ella, como lo indican Delgado y *et al.*, 2012, en el trabajo de propiedades entomotóxicas de los extractos vegetales de *Azadirachta indica*, *Piper auritum* y *Petiveria alliacea* para el control de *Spodoptera exigua* Hubner, lo cual es congruente con los resultados encontrados en el anterior y presente estudio, al comparar la actividad insecticida de los aislamientos de hongos entomopatógenos (Cuadro 1) que tuvo la más alta patogenicidad sobre larvas de *S. frugiperda* fue *Metarhizium* a una concentración de $[1 \times 10^8$ esporas $\text{ml}^{-1}]$ con una mortalidad de 55.9%, seguido de *Paecilomyces* (34.6%).

Estos hongos poseen la capacidad de sintetizar toxinas que son utilizadas en el ciclo de las relaciones patógeno-hospedero. La forma de acción es adherirse al tegumento y la germinación de los conidios o esporas, luego se produce la penetración a través de la cutícula del insecto, la multiplicación del hongo en el hemocele y la producción de toxinas y es cuando sobreviene la muerte de las larvas y el hongo coloniza todo el interior del hospedante. Posteriormente, el micelio sale al exterior pasando a través del tegumento, esporula sobre la superficie de las larvas y se sintetiza toxinas que pueden acelerar la muerte del insecto y que actúa de 48 a 60 horas como lo mencionan, Lecuona 1995, Lezama 1992 y Araujo *et al.* 2009. Así mismo, Srisukchayakul *et al.* (2005) sugieren que la germinación de esporas en aislamientos nativos depende del insecto hospedero o debido quizás a la variación del integumento. El estudio de Garcia *et al.* 2011, patogenicidad de aislamientos de hongos entomopatógenos contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Epiilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae) al usar a *Metarhizium* y *Beauveria* encontraron mortalidades hasta de 96.6%, al igualar nuestro trabajo con este, observamos que sus resultados fueron mayores al presente estudio.

CONCLUSIONES

En la determinación del efecto de las tres semillas de extractos vegetales higuerilla, guanábano y paraíso a una concentración de 2% contra larvas de *Spodoptera frugiperda*, el tratamiento que mayor porcentaje de mortalidad obtuvo fue el extracto de semillas del árbol de

paraíso (*Melia azedarach*) con un 93.3%, seguida del extracto de semilla de guanábano (*Annona muricata* L) y el de higuera (*Ricinus communis* L.), con un 87.9% y 75.9% de mortalidad respectivamente.

En cuanto a la evaluación de hongos entomopatógenos contra las larvas de *S. frugiperda* a una concentración de [1×10^8 esporas ml^{-1}], la mejor mortalidad se presentó en *Metarhizium* (55.9%), que en *Paecilomyces* (34.6%).

AGRADECIMIENTOS

Secretaría de Educación Pública (PROMEP) por el financiamiento de este proyecto para la consolidación del Cuerpo Académico de Agro producción. A la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro.) a través de la Dirección de Planeación y Acreditación por el apoyo al proyecto.

LITERATURA CITADA

- Araujo, A. M. E. y Henrique, A. M. 2009 Hongos entomopatógenos: importantes herramientas para el control de mosca blanca. Análisis de academias pernambucana de ciencias agronómicas, vols. 5e6 pp. 24-34
- Bernabé, G. G. y Ríos, P. 2005. Bioensayos de extractos acuosos de la Guanábana *Annona muricata* L. contra larvas del mosquito *Aedes aegypti* L., transmisor del dengue en el Estado de Guerrero. Tesis profesional Facultad. Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero. México. 1-74 pp.
- Dávila, C. M. V. 1999. Evaluación de ocho extractos vegetales para el control del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*) y de la vaquita del frijol (*Diabrotica* sp) en la zona Atlántica de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y ganadería (MAG). Costa Rica y UCR.
- Delgado, B. E., Garcia-Mateos, Ma. R., Ybarra-Moncada, Ma C., Luna-Morales, C y Martinez-Damian, Ma. T. 2012. Propiedades entomotoxicas de los extractos vegetales de *Azadirachta indica*, *Piper auritum* y *Petiveria alliacea* para el control de *Spodoptera exigua* Hübner. Rev. Chapingo Serie Horticultura 18(1): 55-69, 2012.
- García, G. C., González, M. M. M. B. y Bautista, M. N. 2011. Patogenicidad de aislamientos de hongos entomopatógenos contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). Revista Colombiana de Entomología 37(2):217-222 (2011).
- Humber, R. A. 1998. Entomopathogenic fungal identification. APS/ESA Workshop. November 7, 1998. APS/ES Joint Annual Meeting. Las Vegas, NV:26.
- Lecuona, E. R. 1995. Hongos entomopatógenos. Microorganismos Patógenos empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga. Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola IMYZA, Instituto de Recursos Bióticos, INTA. Castelar. Cap. 3, p.p. 35-60.
- Lezama, G. R. 1992. Biología y aplicación de los hongos entomopatógenos. F.C.A.B. Universidad de Colima. Tecomán, Colima, México.
- Machado, V. 2004. Identificación y comparación de fall armyworm (Lepidoptera noctuidae) host strains in Brazil, Texas y Florida. Anuario de la Sociedad Entomológica Americana. 100:394-402.

- Maddox, J.V. 1990. Uso de patógenos de insectos en el manejo de plagas. Capt. 6: 223 - 270. In: Metcalf, R. L. y W. H. Luckmann. (Ed.). Introducción al Manejo de Plagas de Insectos. LIMUSA. México, D. F.
- Ramos, L. M. A, Perez, G. S., Zavala, M.A. Rodriguez, H. C. y Mahuku. 2010. Actividad de extractos acuosos de *Ricinus communis* y de *Azadirachta indica* con *Spodoptera frugiperda*. African JOURNAL OF Biotechnology, 9(9): 1359-1365.
- Riquelme, A. H., Cuchman, H.A. 1994. Manejo de plagas y enfermedades (en línea). Montevideo, UY. Consultado el 18 de diciembre 2010. Disponible en <http://ceadu.org.uy/>
- Rodríguez, H. C. 2000. Plantas contra plagas. Potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. RAPAM., RAAA. Texcoco, México. p. 133.
- Rossetti M. R., Defagó M.T., Carpinella M.C., Palacios S. M. y Valladarez G. 2008. Actividad biológica de extractos de *Melia azadarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Soc. Entomol. Argentina. Vol. 67. No. 1-2. Mendoza.
- Smits, P. H. 1993. Microbial control of insects pests. 189 - 198. In: Zadoks, J. C. (Ed.). Modern crop protection developments and perspectives. Wayeningen Press. The Netherlands.
- Van Lenteren, J. C. 1995. Basis of biological control of arthropod pests in protected crops. In: Integrated Pest and Disease Management in Protected Crops. CIHEAM. Zaragoza, Spain. p. 21.