



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

**EFFECTIVIDAD DE VERMICOMPOSTA EN EL CULTIVO DE
MAÍZ Y SUSCEPTIBILIDAD DE *Metarhizium anisopliae* EN
Phyllophaga sp.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS NATURALES

PRESENTA:

OFELIA SOLÍS PÉREZ

CODIRECTORES:

DR. VÍCTOR MANUEL HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ

DR. ANTONIO CASTILLO GUTIÉRREZ



Cuernavaca, Morelos, mayo de 2019.

**EFFECTIVIDAD DE VERMICOMPOSTA EN EL CULTIVO DE MAÍZ Y
SUSCEPTIBILIDAD DE *Metarhizium anisopliae* EN *Phyllophaga sp.***

**Tesis realizada por Ofelia Solís Pérez, aprobada por el comité revisor y
aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:**

DOCTORA EN CIENCIAS NATURALES

COMITÉ REVISOR

Director de tesis: _____
Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez

Codirector: _____
Dr. Antonio Castillo Gutiérrez

Revisor: _____
Dr. Guadalupe Peña Chora

Revisor: _____
Dr. Ramón Suárez Rodríguez

Revisor: _____
Dra. Angeluz Olvera Velona

Revisor: _____
Dra. Verónica Obregón Barboza

Revisor: _____
Dr. José Augusto Ramírez Trujillo

Cuernavaca, Morelos, Mayo de 2019.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el otorgamiento de la beca para realizar los estudios de Doctorado en Ciencias Naturales en el Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc por las facilidades otorgadas para la realización de los experimentos en el campo.

A los miembros del Comité Tutorial:

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez y al Dr. Antonio Castillo Gutiérrez, por su apoyo y dirección durante mi formación académica y la realización de este trabajo, por corregir el rumbo con sus comentarios y sugerencias tan atinados, así como por su interés en mi investigación.

Dra. Angeluz Olvera Velona, por sus consejos, información proporcionada y rápidas respuestas a mis preguntas, así como a las minuciosas revisiones realizadas a cada presentación de seminario y avances de tesis.

Dr. Guadalupe Peña Chora, por su asesoramiento, por estar siempre al pendiente de mis avances, por responder a todas mis preguntas y ser tan accesible conmigo.

Dr. Ramón Suárez Rodríguez, por sus observaciones y sugerencias durante la realización del trabajo.

Dr. Oscar Gabriel Villegas Torres, por sus comentarios y observaciones tan puntuales para la mejora del trabajo.

Dra. Verónica Obregón por la revisión del escrito, así como por sus aportaciones durante los experimentos en el laboratorio.

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo, por la revisión del escrito.

A la Dra. Karla Tatiana Murillo por el apoyo brindado en los experimentos de laboratorio.

A la M. C. Laura Lina por escucharme y aconsejarme en los momentos difíciles y por sus valiosas aportaciones y sugerencias durante la realización del trabajo.

DEDICATORIAS

Con todo mi AMOR a Héctor (†), cuyo ejemplo de resiliencia me motivó a seguir adelante. Gracias por iluminar siempre mi sendero.

A mis amados hijos Julia y Eduardo, por ser la fuente de mi fortaleza.

A mis padres Rodolfo y Fausta, por darme la vida y por apoyarme siempre en las buenas y en las malas.

A mis hermanos Rodolfo, Marco Antonio y Jesús, a mis cuñadas Saraí, Gloria e Ivón, y a mis sobrinos Adriana, Esteban, Axel, Héctor, Abi, Teo, Ambar, Coris y Saris, por su enorme cariño.

A mi querida abuelita Lola, de quien heredé el ánimo y el sentido del humor para ver el lado positivo siempre.

A mi tía Julia, por quererme y animarme siempre y por ser alguien tan especial en mi vida.

A mis queridas y grandes amigas Maggie, Tere y Rocío, por su cariño, apoyo, respeto y confianza en todo momento. Gracias.

A mis queridísimas Griegas y al Gargoteam, por agregar la pizca de la diversión para renovar las fuerzas y las ganas de continuar con el trabajo y por ser parte de mi vida.

A Yessy, Lino, Hermes, Eli, Tere, Ángeles, Margarita y Juan Carlos, gracias por su maravillosa amistad y el cariño y apoyo brindado en esos momentos difíciles, y por la oportunidad que me dieron de conocerlos.

INDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN GENERAL	vi
GENERAL SUMMARY	ix
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
JUSTIFICACIÓN	6
HIPÓTESIS	7
OBJETIVO GENERAL	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA GENERAL	9
Sitios de evaluación de los experimentos	10
Establecimiento del vermicompostaje	10
Evaluación de la vermicomposta como sustituto del fertilizante inorgánico	12
Determinación de la CL ₅₀ y TL ₅₀ del hongo entomopatógeno <i>Metarhizium anisopliae</i> para el control de “gallina ciega”.	14
CAPÍTULO III. RESPUESTA AGRONÓMICA DE VARIEDADES MEJORADAS DE MAÍZ A LA FERTILIZACIÓN CON VERMICOMPOSTA	17
RESUMEN	17
ABSTRACT	18
INTRODUCCIÓN	19
MATERIALES Y MÉTODOS	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	35
CAPÍTULO IV. EFECTO DE LA VERMICOMPOSTA SOBRE EL RENDIMIENTO DE GRANO EN MAÍZ EN CONDICIONES DE RIEGO Y DE TEMPORAL	40

RESUMEN	40
ABSTRACT	41
INTRODUCCIÓN	42
MATERIALES Y MÉTODOS	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	59
BIBLIOGRAFÍA	60
CAPÍTULO V. PATOGENICIDAD, VIRULENCIA E INTERACCIÓN DE <i>Metarhizium anisopliae</i> Y <i>Beauveria bassiana</i> CONTRA <i>Phyllophaga vetula</i> (COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE)	64
RESUMEN	64
ABSTRACT	65
INTRODUCCIÓN	66
MATERIALES Y MÉTODOS	68
Aislamiento de hongos	68
Larvas de <i>P. vetula</i>	68
Bioensayos	69
Bioensayos de virulencia (CL ₅₀)	70
Análisis estadístico	71
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
BIBLIOGRAFÍA	76
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES	80
CAPÍTULO VII. PERSPECTIVAS	81
CAPÍTULO VIII. BIBLIOGRAFÍA GENERAL	82
CAPÍTULO IX. ANEXOS	98

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características del germoplasma evaluado	12
Cuadro 2. Variables de respuesta evaluadas en las plantas de maíz	13

Cuadro 3. Parámetros fisicoquímicos que se determinaron en las muestras del suelo y de la vermicomposta	14
Cuadro 4. Factores y niveles considerados en el diseño del experimento	23
Cuadro 5. Características químicas de los suelos y de la vermicomposta	24
Cuadro 6. Cuadrados medios de la variable altura de planta evaluada en las etapas fenológicas V8, R2 y R6, durante el ciclo otoño-invierno 2013/14, en Ayala, Morelos, México	26
Cuadro 7. Promedio de las interacciones de los factores Suelo x Variedad x Fertilización para la altura de planta en la etapa reproductiva 2 (R2), durante el ciclo otoño-invierno 2013/14, en Ayala, Mor.	27
Cuadro 8. Cuadrados medios para las características de rendimiento de grano (RG), diámetro (DM) y peso de mazorca (PM), medidas en el ciclo otoño-invierno 2013/14 en Ayala, Morelos, México	30
Cuadro 9. Valores promedio de las interacciones entre los factores Suelo x Variedad x Fertilización para el peso de la mazorca, durante el ciclo otoño-invierno 2013/14, en Ayala, Mor.	32
Cuadro 10. Factores y niveles evaluados en el experimento de campo en los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015, en Ayala, Morelos	44
Cuadro 11. Características químicas del suelo del Campo Experimental de la EESuX y de las vermicompostas procedentes de los residuos de frutas y verduras	45
Cuadro 12. Cuadrados medios de los caracteres evaluados en las etapas R2 y R6 durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.	48
Cuadro 13. Comparación de medias de los caracteres evaluados en las etapas R2 y R6 durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.	50
Cuadro 14. Promedios de la interacción de los factores Ciclo x Variedad para el diámetro de tallo, altura de planta y de mazorca en la etapa reproductiva 6 (R6), durante los	

ciclos otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.	51
Cuadro 15. Cuadrados medios de los componentes de rendimiento y rendimiento de grano de los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.	52
Cuadro 16. Medias de los componentes de rendimiento y rendimiento de grano durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.	53
Cuadro 17. Promedio de la interacción de los factores Fertilización x Variedad para el Rendimiento de Grano, durante los ciclos otoño-invierno 2013/14 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.	54
Cuadro 18. Mortalidad de larvas de tercer estadio de <i>P. vetula</i> causadas por los conidios de siete aislamientos de <i>Metarhizium anisopliae</i> 30 días después de la inoculación. La concentración de conidios fue de 1×10^8 conidios/mL (n=15). Todos los aislamientos obtenidos para este estudio fueron de localidades dentro de Morelos, México	72
Cuadro 19. Mortalidad de las larvas de tercer estadio de <i>P. vetula</i> causadas por los conidios de siete aislamientos de <i>Beauveria bassiana</i> hasta 30 días después de la inoculación. La concentración de conidios fue 1×10^8 conidios/mL (n = 15). Todos los aislamientos obtenidos para este estudio fueron de localidades dentro de Morelos, México	73
Cuadro 20. Mortalidad causada por aislamientos de <i>M. anisopliae</i> (HI-019) y <i>B. bassiana</i> (HI-113) solos y en combinación, en densidades conidiales de conidios mL frente a larvas de tercer estadio de <i>P. vetula</i>	74
Cuadro 21. Concentración letal 50 (CL ₅₀) de los conidios de los aislamientos Ma17 y Ma19 de <i>Metarhizium anisopliae</i> contra larvas de tercer estadio de <i>P. vetula</i>	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrategia experimental del trabajo de investigación	9
--	---

Figura 2. Proceso de transformación de los residuos vegetales en vermicomposta	11
Figura 3. Contenedores utilizados en el proceso de precompostaje	11
Figura 4. Proceso de vermicompostaje	11
Figura 5. Cribado y almacenamiento de la vermicomposta	12
Figura 6. Cepas HI-017 y HI-019 de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin	15
Figura 7. <i>Phyllophaga sp.</i> de tercer estadio (lado izquierdo) y los palis que conforman el ráster (lado derecho)	15
Figura 8. Larvas colectadas de <i>Phyllophaga sp.</i> en periodo de cuarentena	16
Figura 9. Diferentes aspectos del sistema experimental basado en contenedores de plástico y riego por goteo, utilizado para evaluar los tratamientos de fertilización	24
Figura 10. Tipo de interacción entre suelos y diferentes dosis de fertilización con vermicomposta y fertilización inorgánica	33
Figura 11. Interacción entre los tratamientos con fertilización inorgánica y combinada y las variedades, para el rendimiento de grano, durante los ciclos otoño-invierno 2013/14 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.	55
Figura 12. Interacción entre los tratamientos con fertilización inorgánica y vermicomposta y las variedades, para el rendimiento de grano, durante los ciclos otoño-invierno 2013/14 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor	56
Figura 13. Interacción entre los tratamientos con vermicomposta y el tratamiento sin fertilización y las variedades, para el rendimiento de grano, durante los ciclos otoño-invierno 2013/14 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.	58

EFFECTIVIDAD DE VERMICOMPOSTA EN EL CULTIVO DE MAÍZ Y SUSCEPTIBILIDAD DE *Metarhizium anisopliae* EN *Phyllophaga sp.*

RESUMEN GENERAL

El maíz, *Zea mays* (L.), es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen, y debido a sus propiedades nutritivas para la producción de proteína animal, el consumo humano y el uso industrial, se ha convertido en uno de los productos más importantes en los mercados internacionales. Alrededor del 24% de las hectáreas sembradas en México se destina en la siembra de maíz blanco, con una producción anual de 21.1 millones de toneladas. En el 2015 en Morelos se sembraron 31,249 ha y se obtuvo un rendimiento promedio de 2.92 t·ha⁻¹. (SAGARPA-INEGI 2016). Sin embargo, las prácticas convencionales empleadas en este cultivo, basadas en el uso de fertilizantes e insecticidas, han contribuido al deterioro de la estructura y agotamiento de los nutrientes del suelo, ocasionando además resistencia en los insectos, contaminación en el ambiente y daños a la salud de la población. Ante esta problemática, es necesaria la aplicación de técnicas que eviten estos efectos adversos, por lo que el objetivo de este trabajo fue: evaluar los efectos de la aplicación de vermicomposta de residuos vegetales del mercado sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo de maíz, así como la susceptibilidad de las larvas de tercer estadio de *Phyllophaga sp.* a dos aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae*. Para ello se llevaron a cabo tres experimentos, el primero consistió en evaluar en macetas el efecto de la aplicación de cinco dosis de vermicomposta sobre doce variables del cultivo de maíz en suelo arcilloso y franco en el ciclo agrícola de otoño-invierno 2013/14 en Ayala Morelos, México. El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar con un arreglo de parcelas subdivididas en tres repeticiones. Los resultados indicaron que en la etapa reproductiva dos (R2), la altura de planta en los tratamientos con vermicomposta igualaron al tratamiento de fertilización inorgánica. Las dosis de 5 y 10 t·ha⁻¹ de vermicomposta junto con la fertilización inorgánica produjeron las mazorcas de mayor diámetro, peso y rendimiento de grano. Se detectó para el rendimiento de grano un efecto

significativo en la triple interacción entre los factores estudiados (suelo, variedad, dosis de fertilización), y entre los factores de tipo de suelo y la dosis de fertilización. Tomando como dosis de aplicación $5 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, se evaluó el efecto de los factores ciclos agrícolas y tipo de fertilización sobre características cuantitativas de germoplasma de maíz, se determinó la presencia de interacciones entre ciclos agrícolas, tipo de fertilización y variedades de maíz y se comprobó si la fertilización con vermicomposta aplicada sola o en combinación con fertilizante inorgánicos pueden sustituir o disminuir el uso de fertilizantes orgánicos, durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015, en un arreglo de tratamientos de parcelas subdivididas, bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Los resultados mostraron que la mayor altura de la planta y de diámetro de tallo se presentaron con la fertilización inorgánica y la fertilización integrada de vermicomposta y fertilizante mineral, y que los genotipos evaluados respondieron de manera distinta a estos mismos tratamientos, siendo las variedades H-515 y UAEM-BD1 las que presentaron rendimientos más altos. El efecto positivo de la vermicomposta dependió más del genotipo que del ciclo agrícola de aplicación, y aun cuando el tratamiento con vermicomposta no reportó los rendimientos más altos, el tratamiento combinado podría ser una alternativa en el corto y mediano plazo, ya que se reducirían los costos por el uso de fertilizantes químicos y se mejorarían las características físicas, químicas y biológicas del suelo, además de que se aprovecharían residuos que ocasionan un gran problema ambiental en la zona.

Por otra parte, el experimento tres consistió en determinar la patogenicidad, virulencia y la interacción entre cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* del estado de Morelos contra *P. vetula*. El aislamiento de *M. anisopliae* fue más patogénico que el de *B. bassiana*. *M. anisopliae* aislado del hospedero *Phyllophaga sp.* fue más patogénico (46.66 a 73.33%) que el que se aisló del insecto trampa *G. mellonella* (00.00 a 20%). La mortalidad causada por el aislamiento de *M. anisopliae*, con mayor patogenicidad, HI-019 (86.06%),

disminuyó significativamente ($P < 0.05$) cuando se inoculó simultáneamente con *B. bassiana* HI-113 (61.06%), pero estadísticamente fue la misma que cuando las larvas fueron inoculadas solo con *B. bassiana* (52.73%). Los valores estimados de las CL_{50} de los aislamientos de *M. anisopliae* Ma17 y Ma19 contra las larvas de *P. vetula* fueron de 4.749×10^7 conidios/mL y 7.684×10^8 conidios/mL, respectivamente, siendo iguales estadísticamente.

EFFECTIVENESS OF VERMICOMPOSTA IN THE MAIZE CULTURE AND SUSCEPTIBILITY OF *Metarhizium anisopliae* IN *Phyllophaga* sp.

GENERAL SUMMARY

Maiz, *Zea mays* (L.), is one of the oldest food grains known, and due to its nutritional properties for the production of animal protein, human consumption and industrial use, it has become one of the most important products in international markets. About 24% of the hectares planted in Mexico are destined for the sowing of white corn, with an annual production of 21.1 million tons. In 2015 in Morelos, 31,249 ha were sown and an average yield of 2.92 t·ha⁻¹ was obtained. (SAGARPA-INEGI 2016). However, the conventional practices used in this crop, based on the use of fertilizers and insecticides, have contributed to the deterioration of the structure and depletion of soil nutrients, causing also insect resistance, environmental contamination and damage to the environment. health of the population. Faced with this problem, it is necessary to apply techniques that avoid these adverse effects, so the purpose of this work was: to evaluate the effects of the application of vermicompost of vegetable waste from the market on the growth and yield of the maize crop, as well as as the susceptibility of the third stage larvae of *Phyllophaga* sp. to two native isolates of *Metarhizium anisopliae*. For this, three experiments were carried out, the first consisted of evaluating in pots the effect of the application of five doses of vermicompost on twelve variables of the cultivation of maize in clay soil and loam in the agricultural cycle of autumn-winter 2013/14 in Ayala Morelos, Mexico. The experiment was established in a randomized complete block design with an arrangement of plots subdivided into three repetitions. The results indicated that in the reproductive stage two (R2), the plant height in the treatments with vermicompost equaled the treatment of inorganic fertilization. The doses of 5 and 10 t·ha⁻¹ of vermicompost along with the inorganic fertilization produced the ears of greater diameter, weight and grain yield. A significant effect was detected for the grain yield in the triple interaction between the studied factors (soil, variety, fertilization dose), and between the soil type factors and the fertilization dose. Taking as application dose

5 t·ha⁻¹, the effect of agricultural cycle factors and type of fertilization on quantitative characteristics of corn germplasm was evaluated, the presence of interactions between agricultural cycles, type of fertilization and corn varieties was determined and it was verified whether vermicompost fertilization applied alone or in combination with inorganic fertilizers can substitute or reduce the use of organic fertilizers, during the autumn-winter 2014/15 and spring-summer 2015 agricultural cycles, in a treatment arrangement of subdivided plots, under an experimental design of randomized complete blocks with four repetitions. The results showed that the highest height of the plant and stem diameter were presented with inorganic fertilization and integrated fertilization of vermicompost and mineral fertilizer, and that the genotypes evaluated responded differently to these same treatments, being the varieties H- 515 and UAEM-BD1 those that presented higher yields. The positive effect of the vermicomposta depended more on the genotype than on the agricultural cycle of application, and even when the treatment with vermicompost did not report the highest yields, the combined treatment could be an alternative in the short and medium term, since it would reduce the costs for the use of chemical fertilizers and the physical, chemical and biological characteristics of the soil would be improved, as well as waste that would cause a great environmental problem in the area.

On the other hand, experiment three consisted of determining the pathogenicity, virulence and interaction between native strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* of the state of Morelos against *P. vetula*. The isolation of *M. anisopliae* was more pathogenic than that of *B. bassiana*. *M. anisopliae* isolated from the host *Phyllophaga sp.* was more pathogenic (46.66 to 73.33%) than the one that was isolated from the trap insect *G. mellonella* (00.00 to 20%). The mortality caused by the isolation of *M. anisopliae*, with higher pathogenicity, HI-019 (86.06%), decreased significantly ($P < 0.05$) when inoculated simultaneously with *B. bassiana* HI-113 (61.06%), but statistically it was the same as when the larvae were inoculated only with *B. bassiana* (52.73%). The estimated values of the LC₅₀ of the isolates of *M. anisopliae* Ma17 and Ma19 against the larvae of *P. vetula* were $4,749 \times 10^7$ conidia / mL and $7,684 \times 10^8$ conidia / mL, respectively, being statistically equal.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz, *Zea mays* (L.), es uno de los granos alimenticios más importantes en los mercados internacionales. A nivel mundial, es el segundo cultivo por su producción, el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea y el único que puede ser usado como alimento en distintas etapas del desarrollo de la planta (Paliwall, 2001; FIRA,2014). En 2016 la producción mundial de maíz fue de 1067.21 millones de toneladas (t), siendo el principal productor Estados Unidos (357,267,000 t), y en séptimo lugar México, con 25 millones de t.

La producción de maíz en México involucra el uso de diversas técnicas para realizar las labores agrícolas correspondientes como son: la roza, tumba y quema, la tracción animal y el tractor (Cruz-León *et al*, 2004), así como la aplicación de fertilizantes químicos para cubrir los requerimientos nutricionales de las plantas y aumentar la producción. Sin embargo, estas prácticas conllevan efectos negativos relacionados con la compactación del suelo y la disminución de nutrimentos y materia orgánica disponibles, lo que repercute en la productividad de este. Además de que los fertilizantes nitrogenados y fosfatados pueden infiltrarse en las aguas subterráneas o ser arrastrados a otros cuerpos de agua cuando se utilizan en cantidades superiores a las que pueden absorber los cultivos, lo que provoca la eutrofización de lagos, embalses y estanques y da lugar a una explosión de algas que suprimen otras plantas y animales acuáticos (FAO, 2014).

Ante esta problemática es necesario implementar prácticas de gestión de la fertilidad del suelo que controlen su degradación y aumenten la productividad del campo, como el uso de abonos e insumos orgánicos, la aplicación de técnicas

de rotación de cultivos con leguminosas y el empleo de germoplasma mejorado, así como saber cómo adaptar esas prácticas a las condiciones locales (FAO, 2014).

La vermicomposta es considerada un abono orgánico alternativo al uso de fertilizantes químicos, y se define como el “producto resultante de la transformación digestiva y metabólica de la materia orgánica, mediante la crianza sistemática de lombrices de tierra, denominada lombricultura” (NMX-FF-109-SCFI-2007; SEMARNAT, 2007), considerándose esta última como una ecotecnología sencilla que tiene como finalidad aprovechar y reducir los volúmenes de residuos orgánicos que generan problemas ambientales (Capistrán, 2004).

En la Central de Abastos de Cuautla, considerada como la más grande del estado de Morelos y la décima más importante de México en flujo comercial, se generan de 3 a 5 t diarias de residuos sólidos en tan solo una de las 5 plazas que alberga, los cuales son en su mayoría frutas y verduras o restos de éstas (hojas, cáscaras, tallos y semillas) que no cumplen con los estándares de comercialización (INEGI, 2013). Estos residuos no pueden almacenarse por largos periodos de tiempo, debido a su rápida descomposición que genera malos olores y libera gases que contribuyen a la contaminación atmosférica, además de que atraen fauna nociva y al poseer un alto grado de humedad, son los principales generadores de lixiviados dentro de un relleno sanitario.

Esta clase de residuos contienen muchos nutrientes orgánicos e inorgánicos, que son especialmente adecuados para diferentes procesos de biodegradación que conducen a la obtención de productos de valor agregado como etanol, metano, composta (Huang *et al.*, 2014; Cardona *et al.*, 2004) y vermicomposta, la cual puede ser utilizada como acondicionador del suelo y como fuente de nutrimentos para las plantas en la agricultura (Garg *et al.*, 2006).

También actúa como inóculo de microorganismos que pueden producir sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, fijar nitrógeno y solubilizar fósforo (Patriquin *et al.*, 1995).

Por otro lado, uno de los principales problemas sanitarios en la producción de granos son las plagas del suelo, entre las que destaca el complejo “gallina ciega”, que agrupa a inmaduros de varias especies de los géneros *Phyllophaga* y *Paranomala* (*Anomala*), y que representan un serio problema en el cultivo del maíz, ya que atacan las semillas y afectan a la planta en la germinación y durante el crecimiento vegetativo, lo que ocasiona el escaso desarrollo del sistema radicular y deformidad en las plantas, facilitando el acceso a fitopatógenos y provocando bajos rendimientos (Ríos-Rosillo y Romero-Parra, 1982).

De las 369 especies de *Phyllophaga* enumeradas por Morón (2003), se considera que menos de 20 son las responsables de daños de intensidad variable en cerca de 18 cultivos básicos, industriales o de exportación. Estos incluyen *P. obsoleta* (Blanchard), *P. ravidata* (Blanchard), *P. vetula* (Horn) y *P. crinita* (Burmeister), que se distribuyen a lo largo de las tierras altas de México. En 20 localidades de los municipios de Tlaquiltenango, Zacatepec, Jojutla, Cuernavaca, Yautepec, Puente de Ixtla, Amacuzac, Jiutepec, Tlayacapan, Axochiapan, Cuautla y Tepoztlán, en el estado de Morelos, se registraron 110 especies dentro del complejo “gallina ciega”, con larvas rizófagas o facultativas; concentrándose el mayor número de especies en los géneros *Phyllophaga*, *Macroductylus*, *Paranomala*, *Diploptaxis* y *Cyclocephala*. De las 47 especies de *Phyllophaga* registradas para el estado, solo nueve están consideradas en la categoría de plagas: *P. obsoleta*, *P. brevidens*, *P. vetula*, *P. setifera*, *P. pruinosa*, *P. lenis*, *P. ravidata*, *P. fulviventris* y *P. ilhicaminai* (Deloya, 2010).

En la zona maicera del altiplano mexicano cada año se ven afectadas entre 400,000 a 500,000 hectáreas por “gallina ciega” (Ruiz-Vega *et al.*, 2012). En el estado de Morelos no se tiene información que cuantifique de manera exacta el daño ocasionado, Villalobos *et al.* (2001) valoraron pérdidas en el cultivo del maíz entre un 40 y 70% en nueve localidades de los municipios de Cuernavaca (Buenavista del Monte), Ocuituco, Jiutepec, Puente de Ixtla, Xochitepec y Yecapixtla, y Rodríguez-Segura (2012) realizó una encuesta a productores en 40 localidades y estimó que en el año 2000 un 46% de las hectáreas muestreadas fueron afectadas durante el ciclo primavera-verano; perdiéndose el 32% de la producción de grano a causa de esta plaga.

Aun cuando la “gallina ciega” es considerada como plaga agrícola, debido a que consume las raíces de los cultivos de importancia económica, cumple una función importante en el suelo al trasladar a la superficie elementos minerales de las capas inferiores del edafon y elementos orgánicos de la superficie a éstas últimas, además de que las excavaciones que realizan permiten una mejor circulación del agua y del aire (Morón, 2010). Por otra parte, la “gallina ciega” puede consumir de 45 a 80 veces su peso en raíces o materia orgánica para completar su desarrollo, por lo que pueden llegar a evacuar proporciones importantes de heces enriquecidas con bacterias o productos nitrogenados de fácil asimilación, contribuyendo significativamente al ciclo de nutrientes del suelo y promoviendo su fertilidad en un corto, mediano y largo plazo (Villalobos, 1994; Morón, 2001).

La distribución de las especies del complejo “gallina ciega” está muy relacionada con la disponibilidad de materia orgánica y humedad en el suelo, derivada de las prácticas de manejo del sistema de producción, tienden a ovipositar en terrenos con gramíneas, siendo *P. obsoleta* la más euritópica, presente en terrenos abiertos o perturbados (Morón, 2001, Ramírez-Salinas y

Castro-Ramírez, 2000). Sin embargo, en suelos con un alto contenido de materia orgánica o abonados con composta se disminuye el daño a las raíces del maíz que causa este complejo, permitiendo mejor desarrollo de la planta y un alimento alternativo para las especies que no son rizófagas estrictas (Gómez *et al.*, 1999; Urias, 2000). Además de que la composta contiene esporas de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, lo que resulta ser una alternativa agroecológica de manejo para *P. ravidus*, *P. obsoletus* y *P. tenuipilis* (Velázquez-Cruz *et al.*, 2006).

En México, los mayores esfuerzos para el combate de “gallina ciega” se enfocan hacia el control químico utilizando carbofuran y fosforoditioato, que ya han sido prohibidos por su alta toxicidad y residualidad (Albert, 1988; Solís *et al.*, 1999). Aunque también son susceptibles a la infección por microorganismos como virus, bacterias, protistas, hongos y nematodos; siendo uno de los agentes de control microbiano más promisorios el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (1883). Sin embargo, el efecto de su control no siempre es estable debido a que los hongos entomopatógenos son fácilmente afectados por las condiciones de temperatura, humedad, microorganismos antagonistas o las interacciones en el suelo, además de que se utiliza una gran cantidad de inóculo (Hiromori and Nishigaki, 2001), y de que se requiere mayor tiempo después de la aplicación para el control del insecto, durante el cual los insectos infectados pueden causar serios daños a los cultivos (St. Leger *et al.*, 1996).

En la República Mexicana se han aislado más de 190 cepas de *M. anisopliae* y *B. bassiana* de “gallinas ciegas” en diversas entidades, de las cuales 18 presentan un buen potencial de control con base en evaluaciones de laboratorio, entre las que destacan MAGL3N y MAGL4N de la Colección de Hongos Entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico de *M.*

anisopliae, debido a su alta virulencia contra diversas especies de *Phyllophaga* y *Paranomala* en el norte y sur del país (Rodríguez *et al.*, 2005; Hernández *et al.*, 2010). Sin embargo, es importante la obtención de cepas nativas, ya que estas están adaptadas a las condiciones edafoclimáticas y a las labores culturales de la región, además de que se tiene la certeza de que fueron aisladas de alguna especie en particular.

En Morelos se identificó el complejo de especies de “gallinas ciegas” presentes en maíz y se aislaron las cepas de hongos entomopatógenos nativos de *M. anisopliae* HI-017 y HI-019, de especies de *Phyllophaga* (Coleoptera-Melolonthidae); en los municipios de Tetela del Volcán, y en la localidad de San Andrés de la Cal, municipio de Tepoztlán, respectivamente. La virulencia de ambas cepas fue probada en un bioensayo en larvas de tercer estadio (L3) de *P. vetula*, en dosis de 1×10^7 conidios/mL, reportándose el 60% de mortalidad para HI-017 y el 73.33% para HI-019 después de 30 días de inoculación (Hernández *et al.*, 2011).

De acuerdo con lo anteriormente descrito, es necesario el planteamiento de alternativas basadas en la aplicación de técnicas enfocadas a la protección y conservación del suelo y del agua, y de métodos de control biológico para el control de las plagas, que eviten efectos adversos en la salud humana y en los alimentos que se consumen.

JUSTIFICACIÓN

El maíz es uno de los cultivos más importantes en la agricultura y la economía nacional, sin embargo el uso intensivo de agroquímicos que se utilizan con la finalidad de incrementar su producción ha provocado que el suelo deje de ser fértil y productivo, por lo que es necesario implementar alternativas de

fertilización que proporcionen un aporte adecuado y continuo de nutrimentos; y de control biológico para regular las poblaciones de “gallina ciega”; para aumentar la productividad del maíz y promover un equilibrio en los ecosistemas. Una alternativa es la vermicomposta, cuyo aporte de materia orgánica y nutrimentos puede mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, estimular el crecimiento de las plantas e incrementar el rendimiento en el cultivo del maíz, y el hongo entomopatógeno *Metharizium anisoplae* para el control de *Phyllophaga spp.*

HIPÓTESIS

H₁: La incorporación al suelo de la vermicomposta proveniente de los residuos vegetales de los mercados de abasto, permitirá obtener rendimientos de grano similares que con fertilización química en maíz.

H₂: Las larvas de *Phyllophaga sp.* son susceptibles a las dos cepas (HI-017 y HI-019) de *Metharizium anisoplae*.

OBJETIVOS

GENERAL

- Evaluar los efectos de la aplicación de vermicomposta de residuos vegetales del mercado sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo de maíz, así como la susceptibilidad de las larvas de tercer estadio de *Phyllophaga sp.* a dos aislamientos nativos de *Metarhizium anisoplae*.

ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de la aplicación de cinco dosis de vermicomposta sobre doce variables de cultivo de maíz en macetas.
- Evaluar el efecto de los factores ciclos agrícolas y tipo de fertilización sobre características cuantitativas de germoplasma de maíz.
- Determinar la presencia de interacciones entre ciclos agrícolas, tipo de fertilización y variedades de maíz.
- Comprobar si la fertilización con vermicomposta aplicada sola o en combinación con fertilizante inorgánico pueden sustituir o disminuir el uso de fertilizantes orgánicos.
- Determinar la patogenicidad y virulencia de dos cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* del estado de Morelos contra *P. vetula*.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA GENERAL

El presente trabajo de investigación consistió en dos estudios, el primero involucra la evaluación de la vermicomposta proveniente de los residuos vegetales del mercado de abasto como sustituto del fertilizante inorgánico en el cultivo del maíz; y el segundo, la virulencia del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* para el control de “gallina ciega” (Figura 1). Cabe mencionar que los dos primeros artículos relacionados con la efectividad de la vermicomposta se han enviado a una revista científica y el del hongo entomopatógeno ya ha sido publicado.

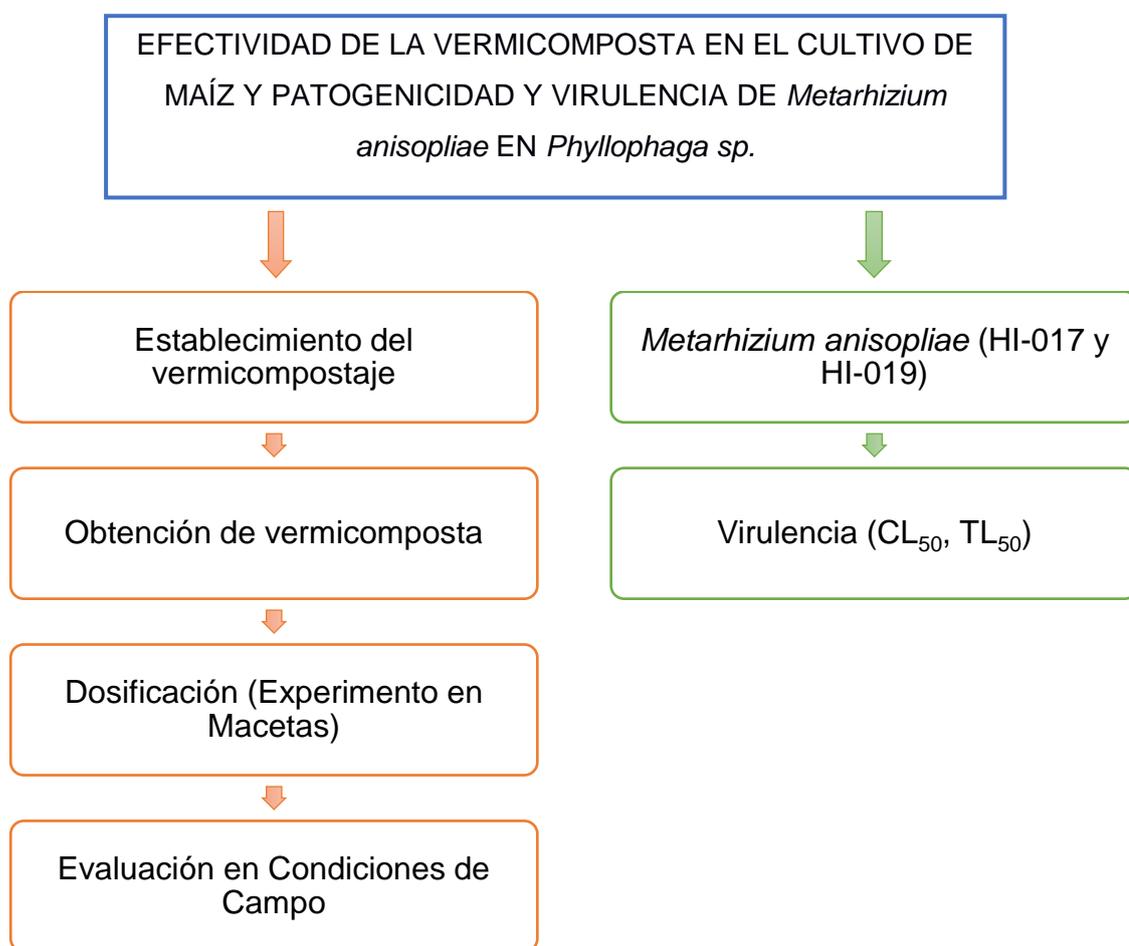


Figura 1. Estrategia experimental del trabajo de investigación.

➤ **Sitios de evaluación de los experimentos**

Los experimentos relacionados con la evaluación de la vermicomposta se llevaron a cabo en el Campo Experimental de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc (EESuX), de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), el cual se localiza en el municipio de Ayala, Morelos, México (18°46'01" Latitud Norte; 98°58'56" Longitud Oeste), a una altitud de 1218 m, con un clima tipo tropical cálido-subhúmedo con lluvias en verano, con una temperatura promedio anual de 21,5 °C, y con una precipitación media anual de 887,1 mm (INEGI, 2015); y los bioensayos para determinar la CL₅₀ y el TL₅₀ se desarrollaron en el Laboratorio de Control Biológico del Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB) de la UAEM.

➤ **Establecimiento del vermicompostaje**

La vermicomposta utilizada en los experimentos se produjo de la siguiente manera (Figura 2): se recolectaron los residuos vegetales en el mercado de abasto "Plaza Solidaridad" en Cuautla, Morelos, y se trasladaron a las instalaciones de la EESuX; se vaciaron a un contenedor de 1.125 m³ hecho con bloques de hormigón, donde se cubrieron con un plástico negro durante 15 días (Figura 3), al término de los cuales se destaparon, se airearon introduciendo un bieldo para voltear los residuos y se les colocó encima una capa de vermicomposta de 3 cm de grosor, conteniendo lombrices epígeas del género *Eisenia sp.* en distintas etapas de desarrollo (Figura 4). Durante este proceso se realizaron riegos diarios o tres veces por semana, dependiendo de la humedad ambiental, con 12 L de agua. Aproximadamente a los tres meses de haber iniciado el vermicompostaje, se suspendió el riego y se procedió a separar las lombrices de la vermicomposta mediante cribado, utilizando un harnero de 5 mm de abertura. La vermicomposta se colocó dentro de bolsas de plástico negras, y estas a su vez al interior de costales de rafia que se almacenaron en un lugar sombreado hasta el momento de su utilización (Figura 5).

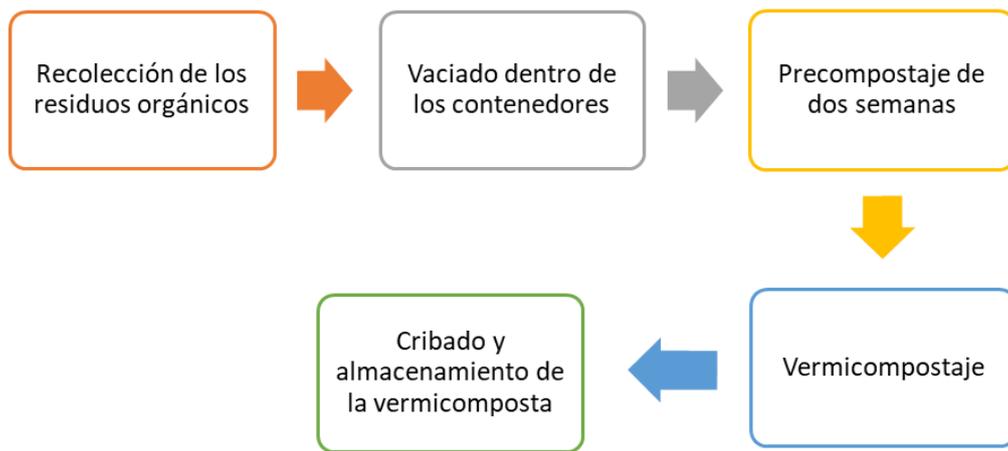


Figura 2. Proceso de transformación de los residuos vegetales en vermicomposta.



Figura 3. Contenedores utilizados en el proceso de precompostaje.



Figura 4. Proceso de vermicompostaje



Figura 5. Cribado y almacenamiento de la vermicomposta.

➤ **Evaluación de la vermicomposta como sustituto del fertilizante inorgánico.**

El germoplasma evaluado en este estudio lo constituyeron una variedad híbrida (H-515), una variedad de polinización libre (UAEM-BD₁) y una variedad criolla, cuyas características se presentan a continuación (Cuadro 1), y en las cuales se evaluaron los caracteres morfológicos y fisiológicos descritos en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Características del germoplasma evaluado.

Características	H-515	UAEM-BD ₁	NJM1
Variedad	Híbrido	Polinización libre	Criollo
Color de grano	Blanco cristalino	Blanco	Negro
Potencial de rendimiento	10.0 t·ha ⁻¹	7.0 t·ha ⁻¹	2.2 t·ha ⁻¹
Altura de planta (cm)	230-260	229-320	225-230
Días a floración	54-57	75-76	58-60

Cuadro 2. Variables de respuesta evaluadas en las plantas de maíz.

Variable	Procedimiento
Altura de Planta (AP)	Se midió desde la base del tallo hasta el verticilo de la planta y se expresó en centímetros.
Diámetro de Tallo (DT)	Se tomaron dos medidas inmediatamente después del primer nudo del tallo para obtener un promedio de ambas y se expresó en centímetros.
Contenido de Clorofila (CC)	Se midió con un Spad modelo 502 (KonicaMinolta Sensing, Inc.) en la última hoja extendida y fue expresado en unidades absolutas.
Diámetro de mazorca (DM)	Se midió la parte media de la mazorca y se expresó en centímetros.
Longitud de mazorca (LM)	Se midió el largo de la mazorca y se expresó en centímetros
Peso de la mazorca (PM)	Se obtuvo un promedio del peso de las mazorcas y se expresó en kilogramos
Número de granos por mazorca (NGM)	contó el número de granos en una hilera vertical y se multiplicó por el número de hileras de la mazorca; se expresó en unidades absolutas
Diámetro de olote (DO)	Se midió la parte media del olote y se expresó en centímetros
Peso de 100 semillas (P100S)	Se seleccionaron al azar 100 semillas y se pesaron. Se expresó en kilogramos
Peso volumétrico (PV)	Se pesó medio litro de los granos y se expresó en kilogramos
Rendimiento de grano (RG)	Se pesó el grano y se hizo la estimación de rendimiento de grano mediante la fórmula de Iowa. Se expresó en t·ha ⁻¹ .

En lo que respecta al suelo, se tomó una muestra previa a la incorporación de la vermicomposta y del fertilizante inorgánico, así como también de la

vermicomposta utilizada, a las que se les realizó un análisis físico y químico que incluyó lo siguiente (Cuadro 3):

Cuadro 3. Parámetros fisicoquímicos que se determinaron en las muestras del suelo y de la vermicomposta.

Parámetro	Método
pH	Potenciométrico
CE	Conductímetro
Materia orgánica	Método de Walkley y Black
Potasio disponible	Espectrofotómetro de flama
Fósforo disponible	Método de Olsen
Nitrógeno total	Método Kjeldahl
Carbono orgánico	Cálculo
Relación C/N	Cálculo a partir de los resultados de materia orgánica y nitrógeno.
Capacidad de intercambio catiónico	Método del acetato de amonio

Las variables de respuesta se analizaron mediante un ANOVA y comparación de medias de Tukey (0.05).

➤ **Determinación de la CL₅₀ y TL₅₀ del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* para el control de “gallina ciega”.**

En este estudio se utilizaron las cepas del hongo entomopatógeno *Metarhizium. Anisopliae* HI-017 Ma y HI-019 Ma (Figura 6) y larvas de tercer

estadio de *Phyllophaga* sp. (Figura 7), las cuales se recolectaron en unas parcelas cultivadas con maíz en el municipio de Ayala Morelos (N 18°44'36.4"; 98°54'39.2" a 1285 msnm). Para su traslado al laboratorio las larvas se colocaron en botes de 2 L con suelo del lugar y cuadritos de zanahoria. Posteriormente, cada larva fue separada de acuerdo con la forma del raster y colocada individualmente en vasos de plástico transparente conteniendo peat moss esterilizado y un cuadrito de zanahoria. Se alimentó a las larvas con la zanahoria una vez por semana hasta el momento de llevar a cabo el bioensayo (Figura 10).



Figura 6. Cepas HI-017 y HI-019 de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin



Figura 7. *Phyllophaga* sp. de tercer estadio (lado izquierdo) y los palis que conforman el ráster (lado derecho).



Figura 8. Larvas colectadas de *Phyllophaga sp.* en periodo de cuarentena.

De las larvas colectadas se seleccionaron aquellas que habían alcanzado el tercer estadio y que en función de su estado de salud, movilidad y capacidad de alimentación eran aptas para el bioensayo. Se formaron grupos de 15 larvas para cada dilución. Cada larva se sumergió durante 15 segundos en la dilución correspondiente y se depositó en recipientes individuales colocando además un cuadrito de zanahoria como alimento. Las larvas se mantuvieron a $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, alimentándolas dos veces por semana y registrando la mortalidad.

Este experimento se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar, donde los tratamientos evaluados fueron las siete concentraciones y un testigo (agua destilada con tween), en tres repeticiones. La unidad experimental estuvo conformada por 15 larvas de *Phyllophaga sp.* (21 pali puntiagudos). Las variables de respuesta a evaluar fueron: porcentaje de mortalidad, concentración letal media y tiempo letal medio.

**CAPÍTULO III. RESPUESTA AGRONÓMICA DE VARIEDADES
MEJORADAS DE MAÍZ A LA FERTILIZACIÓN CON VERMICOMPOSTA**

**AGRONOMICAL RESPONSE OF IMPROVED MAIZE VARIETIES TO
FERTILIZATION WITH VERMICOMPOST**

RESUMEN

En el ciclo agrícola de otoño-invierno 2013/14 en Ayala Morelos, México, se evaluaron dos variedades de maíz (H-515 y UAEM-BD1), en dos tipos de suelo (arcilloso y franco) y con siete dosis de fertilización (sin fertilización, fertilización inorgánica: 170 N-70 P-00 K; y 5, 10, 15, 20 y 25 t·ha⁻¹ de vermicomposta) en un sistema experimental y riego por goteo. El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar con un arreglo de parcelas subdivididas en tres repeticiones. Se midieron altura de planta, diámetro y peso de la mazorca, y rendimiento de grano. Se realizaron análisis de varianza y comparación de medias (Tukey, 0,05). Los resultados indicaron que en la etapa reproductiva dos (R2), la altura de planta en los tratamientos con vermicomposta igualaron al tratamiento de fertilización inorgánica. Las dosis de 5 y 10 t·ha⁻¹ de vermicomposta junto con la fertilización inorgánica produjeron las mazorcas de mayor diámetro, peso y rendimiento de grano. Se detectó para el rendimiento de grano un efecto significativo en la triple interacción entre los factores estudiados (suelo, variedad, dosis de fertilización), y entre los factores de tipo de suelo y la dosis de fertilización.

Palabras clave: *Zea mays*, fertilización orgánica, características cuantitativas, sistema experimental.

ABSTRACT

In the agricultural season of autumn-winter 2013/14 in Ayala, Morelos, Mexico, were evaluated two varieties of corn (H-515 and UAEM-BD1), in two type soil (clay and loamy) and seven doses of fertilization (without fertilization, inorganic fertilization: 170 N-70 P-00 K; and 5, 10, 15, 20 and 25 t·ha⁻¹ of vermicompost) in an experimental system and drip irrigation. The experiment was established in a Randomized Complete Block design with a treatment design of split-split plots subdivided in three replicates. Plant height, diameter and weight of the ear, and grain yield were measured. They were carried out analysis of variance and means comparison (Tukey, 0.05). The results indicated that in stage reproductive two (R2), the height of plant of the treatments with Vermicompost equalized to inorganic fertilization treatment. Doses of 5 and 10 t·ha⁻¹ of vermicompost along with inorganic fertilization produced ears of larger diameter, weight and grain yield. A significant effect on the triple interaction between the studied factors (soil, variety, dose of fertilization), and between the factors of soil type and dosage of fertilization was detected for grain yield.

Keywords: *Zea mays*, organic fertilization, quantitative traits, experimental system.

INTRODUCCIÓN

El maíz es el cultivo de mayor importancia alimentaria y socioeconómica en México, contribuye con el 18% del valor de la producción del sector agrícola y concentra el 33% de los 7,5 millones de hectáreas sembradas con este cereal. En el año 2017 se registró una producción de 23,3 millones de toneladas, con un rendimiento promedio de 3,8 t·ha⁻¹ (SIAP-SAGARPA, 2016). El rendimiento agronómico del cultivo está relacionado con la fertilidad del suelo, las necesidades nutrimentales de la especie cultivada y del grado de disponibilidad de los nutrimentos. Sin embargo, debido a la pérdida significativa de la fertilidad de los suelos en México, se requiere la aplicación de fertilizantes químicos para obtener los niveles de producción rentables. Por otro lado, la quema de residuos agrícolas y la pobre o nula incorporación de materia orgánica a los suelos se han relacionado con el deterioro de la fertilidad del suelo. Se estima que el 92.7% de los 34,0 millones de hectáreas agrícolas en México presentan degradación química; causada principalmente por el balance negativo entre el aporte de nutrimentos y materia orgánica al suelo, y la extracción de estos por los cultivos, adicionalmente a las pérdidas causadas por la quema de residuos de cosechas o por procesos de lixiviación en el suelo (SEMARNAT, 2006).

Los abonos orgánicos constituyen una alternativa de manejo y rehabilitación de la capacidad productiva de suelos degradados (Leblanc *et al.*, 2007). Sin embargo, la disponibilidad de los nutrimentos que contienen es usualmente baja y variable, por lo que las dosis de aplicación de este tipo de

abonos son generalmente más altas en comparación con los fertilizantes químicos (Castro *et al.*, 2009). Entre los abonos orgánicos más utilizados se encuentran: la composta, el bocashi, la vermicomposta, las excretas de animales y los abonos verdes (Soto y Meléndez, 2004). La vermicomposta es un sustrato de alto contenido de materiales orgánicos, alta tasa de mineralización y de retención de agua, además proporciona una adecuada porosidad en el suelo (Domínguez, 2004). Las características de la vermicomposta producida a partir de residuos orgánicos de cocina, agrícolas e industriales, indican que puede ser utilizada como acondicionador del suelo y como fuente de nutrientes para las plantas (Garg *et al.*, 2006).

La calidad nutrimental de un abono orgánico depende de la cantidad y la disponibilidad de los nutrientes para las plantas cultivadas (Leblanc *et al.*, 2007). Una forma práctica para determinar la calidad de estos abonos como fuente de nutrientes, es la evaluación de la respuesta de las plantas cultivadas en contenedores a diferentes proporciones de composta-suelo (Soto y Meléndez, 2004).

En experimentos de maíz cultivado en contenedores se determinó la eficiencia agronómica relativa de los fertilizantes orgánicos: composta, gallinaza y vermicomposta. Los resultados indicaron que los dos primeros, tanto en forma individual como mezclados con fertilizante inorgánico, mostraron el mayor peso seco a los 63 días, en comparación con el tratamiento de fertilizante inorgánico

(Matheus *et al.*, 2007). En otro estudio de dos ciclos agrícolas se incorporó vermicomposta en un suelo Fluvisol Háplico, mostrando un efecto positivo, tanto únicamente la vermicomposta como combinada con nitrato de amonio y dolomita, sobre las variables de altura de la planta, diámetro del tallo, contenido de clorofila, biomasa y contenido de macronutrientes; efecto que fue mayor en el segundo ciclo agrícola después de la aplicación (Kmet'ová *et al.*, 2014). El resultado de la aplicación de 20 t·ha⁻¹ de vermicomposta durante tres años, sobre la producción de biomasa y el rendimiento del maíz fue significativo en el segundo año de prueba; y en un año de evaluación con presencia de estrés hídrico, los tratamientos con vermicomposta mostraron el mejor comportamiento agronómico (Thu *et al.*, 2015). Sin embargo, el efecto positivo de la vermicomposta depende de un gran número de factores ambientales, además de que las plantas responden de manera distinta a la calidad o el grado de mineralización de la materia orgánica, por ello las variedades evaluadas pueden resultar con respuestas diferentes a la fertilización orgánica (Lazcano *et al.*, 2011).

Por lo que el presente estudio tuvo como objetivo evaluar las variables cuantitativas relativas a la planta (altura en tres estados fenológicos V8, R2 y R6); los componentes de rendimiento (diámetro de mazorca, peso de la mazorca y rendimiento de grano) y el efecto de las interacciones entre los tipos de suelo, variedades y dosis de fertilización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los tipos de suelos evaluados fueron: suelo arcilloso (arena: 25,2%, arcilla: 57,4% y limo: 17,4%) y suelo franco (arena: 49,2%, arcilla: 17,4% y limo: 33,4%). El material biológico que se usó en la evaluación estuvo constituido por las variedades mejoradas H-515 y UAEM-BD1. La variedad H-515 es una variedad híbrida trilineal desarrollada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en tanto que la UAEM-BD1 es una variedad del tipo de polinización libre, obtenida por la EESuX. Los tratamientos considerados se constituyeron por la combinación de los factores y niveles que se muestran en el Cuadro 4.

El experimento se llevó a cabo en el ciclo agrícola otoño-invierno 2013/14, en el campo experimental de la EESuX, el cual se localiza en el municipio de Ayala, Morelos, México (18°46'01" Latitud Norte; 98°58'56" Longitud Oeste), a una altitud de 1218 m, con un clima tipo tropical cálido-subhúmedo con lluvias en verano, con una temperatura promedio anual de 21,5 °C, y con una precipitación media anual de 887,1 mm (INEGI, 2014).

Cuadro 4. Factores y niveles considerados en el diseño del experimento.

Factores	Niveles
Suelo	Arcilloso Franco
Variedades	H-515 UAEM-BD1
Fertilización	170 N-70 P-00 K (Dosis recomendada) 25 t-ha-1 de vermicomposta 20 t-ha-1 de vermicomposta 15 t-ha-1 de vermicomposta 10 t-ha-1 de vermicomposta 5 t-ha-1 de vermicomposta Sin fertilización

Se evaluaron los 28 tratamientos en un sistema experimental instalado a “cielo abierto”, se utilizaron 840 bolsas de polietileno negro de 20 L de capacidad como contenedores, de las cuales 420 se llenaron con suelo franco y 420 con suelo arcilloso. Antes de la siembra, se depositó la vermicomposta o el fertilizante inorgánico según las dosis indicadas (Cuadro 4) y se mezclaron uniformemente. Las dosis de vermicomposta y de fertilización inorgánica se estimaron con base en una densidad poblacional de 50 000 plantas por ha.

La vermicomposta se obtuvo a partir de residuos de frutas y verduras. Las características químicas de la vermicomposta y de los tipos de suelo se muestran en el Cuadro 5. De acuerdo con estos valores los suelos se consideraron como moderadamente alcalinos, sin problemas de salinidad, de bajo a medio contenido de materia orgánica y contenido medio de nitrógeno total (SEMARNAT, 2000), y la vermicomposta como moderadamente alcalina, sin problemas de salinidad y con alta disponibilidad de nitrógeno (SEMARNAT, 2007).

Cuadro 5. Características químicas de los suelos y de la vermicomposta.

Sustrato	Valor de pH	CE ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	MO	CO	N total	P total	Relación C: N
					%		
Suelo arcilloso	8.1	0.228	1.07	0.48	0.15	0.20	3.2
Suelo franco	7.2	0.450	2.74	1.23	0.15	0.14	8.2
Vermicomposta	7.6	0.003	7.77	3.48	0.50	0.90	6.9

CE=Conductividad Eléctrica, MO=Materia Orgánica, CO=Carbono Orgánico, N=Nitrógeno, P=Fósforo.

La siembra de las variedades (H-515 y UAEM-BD1) se realizó depositando dos semillas por contenedor a una profundidad aproximada de 4 cm; posterior a la emergencia, en la etapa fenológica V3 (Ritchie, 1992), se realizó un “aclareo” de plantas para dejar solo una. El manejo de la humedad de los contenedores se llevó a cabo mediante un sistema de riego por goteo (Figura 9). El control de maleza se realizó de manera manual durante todo el ciclo biológico del maíz.



Figura 9. Diferentes aspectos del sistema experimental basado en contenedores de plástico y riego por goteo, utilizado para evaluar los tratamientos de fertilización.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ANOVA para la variable altura de planta (Cuadro 6) mostraron diferencias estadísticas significativas en la fuente de variación que evalúa los efectos de la triple interacción entre los factores estudiados. Se observó que en la etapa vegetativa 8 (V8), las diferencias fueron altamente significativas ($P \leq 0.01$), sin embargo, esta misma interacción en la etapa fenológica reproductiva 2 (R2), solo indicó diferencias significativas ($P \leq 0.05$), y nulas diferencias se detectaron en la etapa reproductiva 6 (R6). En lo que se refiere a las dobles interacciones, se detectaron diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.01$) exclusivamente en las interacciones de Suelo x Fertilización y Variedad x Fertilización, en las etapas fenológicas V8 y R2, y diferencias no significativas en la etapa R6. En cuanto al comportamiento de los factores principales evaluados (Tipo de suelo, tipo de variedad y tipo de fertilización); el tipo de suelo (arcilloso vs. franco) a través de las tres etapas fenológicas evaluadas, no mostró ningún efecto sobre la variable de altura de planta. En tanto que en el factor de tipo de variedad (híbrido vs. variedad de polinización libre), el efecto sobre la altura de planta se observó únicamente en las dos etapas reproductivas estudiadas (R2 y R6). Sin embargo, en el tipo de fertilización el efecto fue significativo en las tres etapas del estudio. Con respecto a los coeficientes de variación en las tres etapas evaluadas, los valores fueron bajos, en tanto que los valores de los coeficientes de determinación fueron convenientemente altos.

Cuadro 6. Cuadrados medios de la variable altura de planta evaluada en las etapas fenológicas V8, R2 y R6, durante el ciclo otoño-invierno 2013/14, en Ayala, Morelos, México.

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Altura de Planta (cm)		
		V8	R2	R6
Repetición	2	60.1 NS	932.2 NS	1626.1 NS
Suelo	1	8.3 NS	542.6 NS	257.9 NS
Error (1)	2	10.2	733.7	838.9
Variedad	1	242.8 NS	3465.0*	4447.2*
S*V	1	153.1 NS	109.9 NS	109.3 NS
Error (2)	4	46.3	185.6	293.3
Fertilización	6	838.7**	441.4**	315.0**
S*F	6	240.5**	167.0**	149.7 NS
V*F	6	54.3**	135.2**	146.4 NS
S*V*F	6	53.7**	118.5*	143.7 NS
Error	48	15.7	49.9	68.0
CV (%)		5.8	4.9	4.4
R ²		0.9	0.8	0.8

cm=centímetros, S=Suelo, V=Variedad, F=Fertilización, *=Significativo al 0.05 de probabilidad, **=Significativo al 0.01 de probabilidad, NS=No significativo, V8=etapa vegetativa de ocho hojas, R2=etapa de llenado de grano, R6=etapa de madurez fisiológica.

La significancia estadística detectada en la triple interacción entre factores (S x V x F), tiene origen en la presencia de las dobles interacciones entre los diferentes tipos de fertilización evaluados y los tipos de germoplasma y suelo considerados en este estudio. Particularmente las interacciones se originan por las diferencias altamente significativas detectadas entre los diferentes tratamientos de fertilización; los que incluyen diferentes dosis de vermicomposta (fertilización orgánica) y los tratamientos testigos (fertilización inorgánica y no fertilización). El análisis de medias para la interacción Suelo x Variedad x

Fertilización (Cuadro 7) en la etapa Reproductiva 2 (R2) para la misma variable, indicó que la variedad UAEM-BD1 tuvo la mayor altura de planta en respuesta a la fertilización inorgánica en ambos tipos de suelo y a la dosis de 10 t·ha⁻¹ de vermicomposta en suelo arcilloso. La interacción detectada entre factores fue del tipo de diferencias en magnitud, debido principalmente a que la variedad UAEM-BD1, que es una variedad de polinización libre y de mayor altura que la variedad hibrida H-515, en todas las combinaciones entre los factores variedad x fertilización resultó con la mayor altura de planta. Así mismo, los resultados indicaron que a partir de la etapa fenológica R2, comienza a definirse la altura de planta en el cultivo de maíz.

Cuadro 7. Promedio de las interacciones de los factores Suelo x Variedad x Fertilización para la altura de planta en la etapa reproductiva 2 (R2), durante el ciclo otoño-invierno 2013/14, en Ayala, Mor.

Factores			Altura de Planta cm
Suelo	Variedad	Fertilización	
Franco	UAEM-BD1	170N-70P-00K	165.8 a
Arcilloso	UAEM-BD1	170N-70P-00K	163.0 a
Arcilloso	UAEM-BD1	10 t·ha ⁻¹ de vermicomposta	160.5 a
Arcilloso	H-515	5 t·ha ⁻¹ de vermicomposta	129.8 b
Arcilloso	H-515	Sin fertilización	119.8 b

Medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales (Tuckey 0.05).

En lo que respecta a las diferencias estadísticas significativas identificadas en el factor fertilización (Cuadro 6), los tratamientos que en las tres etapas evaluadas indujeron una mayor altura de planta, fueron aquellos que incluyeron la fertilización inorgánica. El efecto fue mayor en la etapa V8, sin embargo, a partir de la etapa R2, la altura de las plantas fertilizadas con las dosis

más altas de vermicomposta igualaron a los tratamientos de fertilización inorgánica. El tratamiento con 5 t·ha⁻¹ de vermicomposta no mostró efecto alguno en la altura de planta y manifestó un comportamiento similar al tratamiento sin fertilización. Estos efectos pueden originarse por el hecho de que los fertilizantes químicos son sales solubles altamente concentradas, disponibles en forma inmediata para las plantas; en tanto que los abonos orgánicos liberan lentamente los nutrimentos (Chaoui *et al.*, 2003; Matheus *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los reportados en otras investigaciones; como lo observado de que el tratamiento con fertilizante inorgánico produjo una mayor altura en maíz a los 21 y 43 días y en los tratamientos con abonos orgánicos el efecto se observó hasta los 63 días (Matheus *et al.*, 2007). Similar comportamiento en la altura de planta se reporta con la comparación de fertilización inorgánica y orgánica, donde la inorgánica produjo una mayor altura en etapas vegetativas, y en etapas fenológicas finales se igualaron las alturas en las plantas fertilizadas por ambos tipos de fertilizantes (Kannan *et al.*, 2013).

Con relación a las características de peso de mazorca (PM) y rendimiento de grano (RG), los resultados de los ANOVAs (Cuadro 2), indicaron presencia de interacción entre los tres factores analizados (S x V x F), altamente significativa ($P \leq 0.01$) para el PM y significativa ($P \leq 0.05$) para el RG. En tanto que, para la interacción entre el tipo de suelo y fertilización (S x F), se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para PM y RG; y

únicamente significativas ($P \leq 0.05$) para diámetro de mazorca (DM). Respecto a la interacción de Variedad x Fertilización (V x F), solo se identificaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) para peso de mazorca y rendimiento de grano. Referente a la interacción de Suelo x Variedad (S x V), en ninguna las tres características se detectaron diferencias estadísticas significativas.

En lo que respecta a los factores principales para las características de DM, PM y RG (Cuadro 8), el factor Suelo (arcilloso, franco) no mostró ningún efecto en las tres características; sin embargo, para el factor Variedad (H-515, UAEM-BD1) el efecto fue altamente significativo ($P \leq 0.01$) en RG y significativo ($P \leq 0.05$) en el PM; y no significativo para DM. En cuanto al factor fertilización, resultó altamente significativo ($P \leq 0.01$) el efecto en las tres características. Los coeficientes de variación en todas las variables mostraron valores relativamente bajos, en tanto que los coeficientes de determinación mostraron valores aceptables con un valor mínimo de 0.62 en la característica de DM.

El análisis de la triple interacción entre factores (Cuadro 6) para peso de mazorca (PM), reveló que las mazorcas de mayor peso fueron producidas por la variedad UAEM-BD1 cultivada en suelo arcilloso y fertilizada con $5 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ de vermicomposta, cuyo comportamiento fue igual cuando se usó la fertilización inorgánica (170N - 70P - 00K). Similar comportamiento se observó en la variedad H-515 cultivada en suelo arcilloso y fertilizada con la dosis más alta de

vermicomposta (25 t·ha⁻¹); y asimismo cuando se fertilizó con el tratamiento testigo de fertilización inorgánica (170 N-70 P-00 K). En contraste el menor peso de mazorca se observó en la combinación suelo arcilloso, variedad UAEM-BD1 y los tratamientos de fertilización de 15 t·ha⁻¹ y con el tratamiento testigo sin fertilización.

Cuadro 8. Cuadrados medios para las características de rendimiento de grano (RG), diámetro (DM) y peso de mazorca (PM), medidas en el ciclo otoño-invierno 2013/14 en Ayala, Morelos, México.

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	DM cm	PM g	RG t·ha ⁻¹
Repetición	2	0.1 NS	2056.1**	0.3 NS
Suelo	1	0.1 NS	133.8 NS	0.2 NS
Error (1)	2	0.1	19.0	0.1
Variedad	1	0.1 NS	2080.0*	18.4**
S x V	1	0.1 NS	10.7 NS	0.8 NS
Error (2)	4	0.1	240.3	0.4
Fertilización	6	0.2**	1198.9**	2.6**
S x F	6	0.1*	1408.9**	1.6**
V x F	6	0.0 NS	756.1*	0.8*
S x V x F	6	0.0 NS	1356.2**	0.8*
Error	48	0.0	271.6	0.3
CV (%)		4.8	11.5	9.9
R ²		0.6	0.7	0.8

RG=rendimiento de grano, DM=diámetro de mazorca, PM=peso de mazorca, g=gramos S=suelo, V=variedad, F=fertilización, *=Significativo al 0.05 de probabilidad, **=Significativo al 0.01 de probabilidad, NS=No significativo.

Los resultados obtenidos tanto en los análisis de varianza (Cuadro 8) como el análisis de triple interacción (Cuadro 9), indican que el tipo de suelo no

tuvo un efecto sobre el rendimiento de grano y sus componentes de diámetro y peso de mazorca; las interacciones entre los factores estudiados fueron originadas fundamentalmente por el tipo de germoplasma de maíz usado en el presente estudio y por los tratamientos de fertilización evaluados. En general, la mejor respuesta a la fertilización inorgánica (170N-70P-00K), se asoció a la variedad H-515, que es un tipo de germoplasma híbrido el que por su origen genético tiene un mayor potencial de rendimiento que la variedad UAEM-BD1, sobre todo cuando se utilizan altas dosis de fertilización inorgánica. Sin embargo, cuando la variedad UAEM-BD1 fue fertilizada con los tratamientos de vermicomposta, igualó el comportamiento de H-515 en cualquier tipo de suelo. Lo que es esperado debido a que la vermicomposta es una fuente de nutrimentos, lo que permite potenciar el desarrollo de las plantas; además de incorporar materia orgánica al suelo (Harris *et al.*, 1990). Aunque el efecto de la vermicomposta en el suelo y en el crecimiento vegetal dependerá de las propiedades iniciales que éste presente (Durán y Enríquez, 2007). Por otro lado, los suelos utilizados en el experimento se consideran moderadamente alcalinos, sin problemas de salinidad, con un contenido de materia orgánica de mediano a muy bajo; además de contenido medio de nitrógeno total (SEMARNAT, 2000), lo que explica las nulas diferencias estadísticas encontradas en todas las características analizadas. Así mismo lo anterior explica el efecto positivo observado cuando se adicionó la vermicomposta y el fertilizante inorgánico. Por otro lado, los valores de los coeficientes de variación (CV) y de determinación (R^2) sugieren la confiabilidad en los resultados obtenidos y en el diseño

experimental usado para evaluar los efectos combinados de los tres factores de estudio.

Cuadro 9. Valores promedio de las interacciones entre los factores Suelo x Variedad x Fertilización para el peso de la mazorca, durante el ciclo otoño-invierno 2013/14, en Ayala, Mor.

Suelo	Factores		PM g
	Variedad	Fertilización	
Arcilloso	UAEM-BD1	5 t·ha ⁻¹	177.3 a
Arcilloso	H-515	25 t·ha ⁻¹	170.0 a
Franco	UAEM-BD1	15 t·ha ⁻¹	164.3 a
Arcilloso	H-515	170N - 70P - 00K	163.3 a
Franco	H-515	10 t·ha ⁻¹	162.0 a
Arcilloso	UAEM-BD1	170N - 70P - 00K	160.3 a
Arcilloso	UAEM-BD1	15 t·ha ⁻¹	101.0 b
Arcilloso	UAEM-BD1	Sin fertilización	100.3 b
DMSH _(0.05)			51.6

En lo que respecta al rendimiento de grano (RG), el análisis de varianza (Cuadro 8) mostró diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la interacción Suelo x Fertilización; por lo que se realizó un análisis detallado para RG en la interacción que se presenta entre los diferentes tipos de suelo (arcilloso y franco) y los tratamientos de fertilización, que incluyeron los testigos sin fertilización, fertilización inorgánica y cinco dosis de vermicomposta para el rendimiento de grano (Figura 10). El comportamiento del tratamiento de fertilización inorgánica (170N - 70P - 00K) a través de los dos tipos de suelo, fue el que produjo el más alto RG, en contraste el que proporcionó el más bajo RG en ambos ambientes correspondió al tratamiento testigo sin fertilización. En cuanto al tratamiento de

25 t·ha⁻¹, en suelo arcilloso produjo un efecto similar al tratamiento de fertilización inorgánica, sin embargo, ese mismo tratamiento en suelo franco produjo un RG similar al tratamiento sin fertilización. Aun cuando la gráfica muestra tipos de interacción estadística de cambio de rango, las nulas significancias estadísticas de algunos de los tratamientos en un mismo tipo de suelo indican que el tipo de interacción que prevalece es la de diferencias en magnitud.

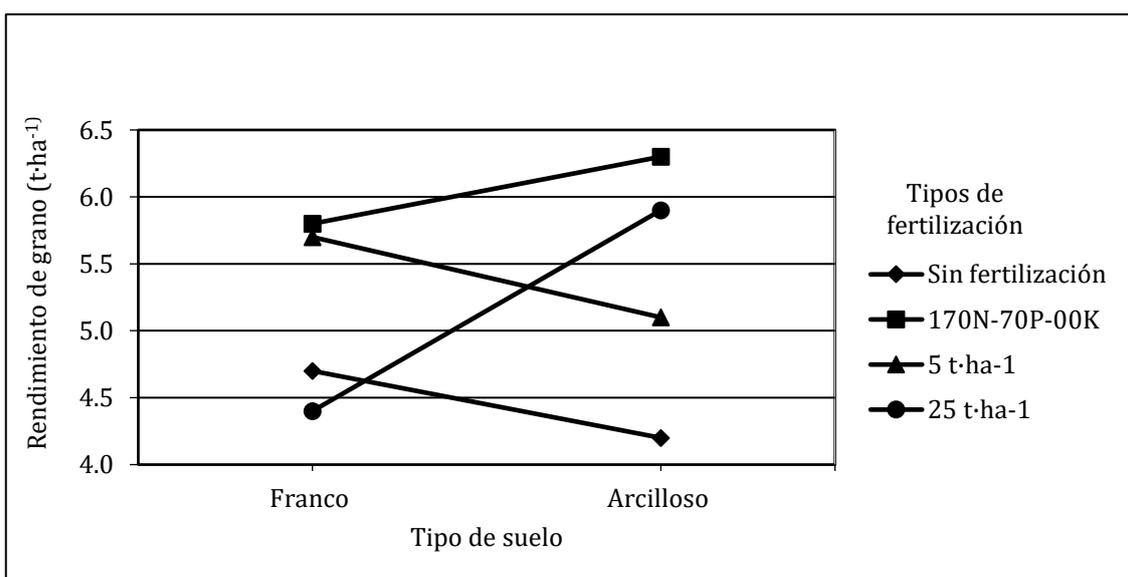


Figura 10. Tipo de interacción entre suelos y diferentes dosis de fertilización con vermicomposta y fertilización inorgánica.

Las respuestas diferenciales entre tipos de fertilización pudieron haberse originado por las características físicas y químicas del suelo (Durán y Enríquez, 2007), ya que los tipos de suelo utilizados en esta evaluación presentan diferente grado de fertilidad, como se puede observar en la Cuadro 5. En otro sentido, el comportamiento de los tratamientos testigo (fertilización inorgánica y sin fertilización) fue de acuerdo con lo esperado, lo que demuestra que el nivel de fertilidad de los suelos dedicados al cultivo de maíz, requieren de la fertilización

que garantice la sustentabilidad del sistema de producción. Por otro lado, el presente estudio proporciona evidencia a favor de que el uso de la vermicomposta es factible para proveer nutrimentos para las plantas; más aún, que es posible que la vermicomposta pueda sustituir a los fertilizantes inorgánicos. Sin embargo, la respuesta del maíz a la fertilización con vermicomposta, dependerá del tipo de suelo y de la variedad que se utilice en el agroecosistema. Debido a que como se demuestra, que dosis altas de vermicomposta solo tuvieron un efecto similar al tratamiento con fertilización inorgánica, cuando se trataba de suelo arcilloso; aunque la aplicación de dosis altas de vermicomposta permite tener una mayor disponibilidad de nitrógeno, lo que se refleja en el crecimiento de las plantas y por consecuencia en un incremento en el rendimiento del maíz (Ghosh *et al.*, 2013). Finalmente, entre las características que definen la calidad de un abono orgánico están una relación C: N menor de 20:1, más del 2 % de nitrógeno y de 0,15 a 1,5 % para fósforo (Paul y Clark, 1996), aunque dichos valores dependerán del tipo de materia prima utilizada, las mezclas y el proceso de obtención del abono; que en el caso de los desechos verdes caseros se reportan contenidos que van del 0,8 al 2% de nitrógeno (Soto y Meléndez, 2004). En este estudio, la respuesta positiva a la fertilización con vermicomposta sobre el rendimiento de maíz pudo ser debida al aporte de N y P por mineralización (Álvarez-Solís *et al.*, 2010), ya que al momento de su incorporación presentó 0,50% de N, 0,90% de P y una relación C: N <10.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indicaron que la mayor altura de planta de maíz durante la etapa vegetativa ocho (V8), la produjo la fertilización inorgánica; sin embargo, en la etapa reproductiva dos (R2), las dosis de 15, 20 y 25 t·ha⁻¹ de vermicomposta indujeron una altura de planta similar a la fertilización inorgánica. Por otro lado, las dosis de 5 y 10 t·ha⁻¹ de vermicomposta produjeron las mazorcas de mayor diámetro y peso, equivalente respuesta se observó en el rendimiento de grano, lo que igualó el efecto del tratamiento de fertilización inorgánica. La variedad híbrida H-515 superó en 16.3% el rendimiento de la variedad de polinización libre UAEM-BD1. En el rendimiento de grano, se identificó la presencia de interacción estadística entre los tres factores de estudio (tipo de suelo, variedad y dosis de fertilización), así como la interacción doble entre tipo de suelo y dosis de fertilización; detectándose en ambos casos una interacción de diferencias en magnitud, lo que permite identificar la mejor combinación entre factores.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez-Solís, J. D.; Gómez-Velasco, D. A.; León-Martínez, N. S.; Gutiérrez-Miceli, F. A. 2010. Manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz. *Agrociencia*. 44: 575-586.
- Castro, A.; Henríquez, C.; Bertsch, F. 2009. Capacidad de suministro de N, P y K de cuatro abonos orgánicos. *Agronomía Costarricense*. 33(1): 31-43.

- Chaoui, H. I.; Zibilske, M.; Ohno, T. 2003. Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. *Soil Biology and Biochemistry*. 35: 295-302.
- Dominguez, J. 2004. State of the art and new perspectives on vermicomposting research. In: Edwards, C.A. (ed.), *Earthworm Ecology* 2nd Edition, 401–424. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Durán, L. y Henríquez, C. 2007. Caracterización química, física y microbiológica de vermicompostes producidos a partir de cinco sustratos orgánicos. *Agronomía Costarricense*. 31 (1): 41-51.
- Financiera Nacional de Desarrollo. Secretaría de Hacienda y Crédito Público. 2014. Panorama del Maíz. Disponible en: <http://www.financierarural.gob.mx> (fecha de consulta: 16/junio/2015).
- Garg, P.; Gupta, A.; Satya, S. 2006. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. *Biosource Technology* 97: 391-395.
- Ghosh, B. C.; Bera, N.; Das, D.; Swain, D. K. 2013. Effect of Varying Soil and Vermicompost Mixtures on Growing Media and Yield and Quality of Sweet Corn. *International Conference on Food and Agricultural Sciences*. IPCBEE. 55. IACSIT Press, Singapore.
- Harris, G. D.; Platt, W. L.; Price, B. C. 1990. Vermicomposting in a rural community. *Biocycle*. 10 (2): 48-51.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México). 2014. Anuario estadístico y geográfico de Morelos. 475 p.

- Kannan, R. L.; Dhivya, M.; Abinaya, D.; Lekshmi, K. R.; Krishnakumar, S. 2013. Effect of Integrated Nutrient Management on Soil Fertility and Productivity in Maize. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.* 2 (8): 61-67.
- Kmet'ová, M.; Kováčik, P. 2014. The impact of vermicompost application on the yield parameters of maize (*Zea mays* L.) observed in selected phenological growth stages (BBCH-SCALE). *Actafytotechn. Zootechn.* 17(4): 100-108.
- Lazcano, C.; Revilla, P.; Malvar R. A.; Domínguez, J. 2011. Yield and fruit quality of four sweet corn hybrids (*Zea mays*) under conventional and integrated fertilization with vermicompost. *J Sci Food Agric.* 91: 1244-1253.
- Leblanc, H. A.; Cerrato, M. E.; Miranda, A.; Valle, G. 2007. Determinación de la calidad de abonos orgánicos a través de bioensayos. *Tierra Tropical.* 3(1): 97-107.
- Matheus, L. J.; Caracas, J.; Montilla, F.; Fernández, O. 2007. Eficiencia agronómica relativa de tres abonos orgánicos (vermicompost, compost y gallinaza) en plantas de maíz (*Zea mays*, L.). *Agricultura Andina.* 13, 27-38.
- Patra, P. S. y Biswas, S. 2009. Integrated nutrient management on growth, yield and economics of maize (*Zea mays* L.) under terai region. *Journal of Crop and Weed*, 5(1): 130-133.
- Paul, E. and Clark, F. 1996. *Soil microbiology and biochemistry.* 2 ed. Academic. 340 p.
- Méndez-Moreno, O., León-Martínez, S., Gutiérrez-Miceli, F. A., Rincón-Rosales, R. y Álvarez-Solís, J. 2012. Efecto de la aplicación de humus de lombriz

en el crecimiento y rendimiento de grano del cultivo de maíz. Guyana ot.
69 (Número Especial): 49-54.

Ritchie, S. W. 1992. How a corn plant develops. Special report No. 48. Iowa State University of Science and Technology. Cooperative Extension Service Ames. Iowa. 21 p.

SAGARPA. 2013. Agenda de Innovación Tecnológica del Estado de Morelos Actualización 2013. En:
<http://www.producemorelos.org/AGENDA%20FPMAC%202013.pdf>

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2000. Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial, martes 31 de diciembre. 2002.

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2006. Capítulo 3. Suelos. Sección Suelos de México. Disponible en:
http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/pdf/Cap3_suelos.pdf
(fecha de consulta: 16/junio/2015).

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2007. NMX-FF-109-SCFI-2007. Humus de Lombriz (Lombricomposta)-Especificaciones y Métodos de Prueba.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP-SAGARPA). 2014. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Disponible en:
<http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
Fecha de consulta: 11 de octubre de 2015.

- Soto, G.; Meléndez, G. 2004. Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*. 72: 91-97.
- Thu, D. T.; Henry-des-Tureaux, T.; Rumpel, C.; Janeau, J. L.; Jouquet, P. 2015. Impact of compost, vermicompost and biochar on soil fertility, maize yield and soil erosion in Northern Vietnam: A three year mesocosm experiment. *Science of the Total Environment*. 514: 147-154.

**CAPÍTULO IV. EFECTO DE LA VERMICOMPOSTA SOBRE EL
RENDIMIENTO DE GRANO EN MAÍZ EN CONDICIONES DE RIEGO Y DE
TEMPORAL**

RESUMEN

Durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala Morelos, México, se evaluaron tres variedades de maíz bajo cinco niveles de fertilización. El experimento se estableció en un arreglo de tratamientos de parcelas subdivididas, bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Se evaluaron 11 variables de respuesta en dos etapas reproductivas. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y de medias, para este último se utilizó el procedimiento de Diferencia Mínima Significativa ($DMS_{0.05}$) con el paquete estadístico Statistical Analysis System. La mayor altura de la planta y de diámetro de tallo se presentó con la fertilización inorgánica y la fertilización integrada de vermicomposta y fertilizante mineral. Por otro lado, los genotipos evaluados respondieron de manera distinta a estos mismos tratamientos, siendo las variedades H-515 y UAEM-BD1 las que presentaron rendimientos más altos. Los resultados obtenidos muestran que el efecto positivo de la vermicomposta dependió más del genotipo que del ciclo agrícola de aplicación. Por otra parte, las plantas respondieron de manera distinta a la fuente de aporte de nutrimentos y al grado de mineralización de estos, y aun cuando el tratamiento con vermicomposta no reportó los rendimientos más altos, el tratamiento combinado podría ser una alternativa en el corto y mediano plazo,

ya que se reducirían los costos por el uso de fertilizantes químicos y se mejorarían las características físicas, químicas y biológicas del suelo, además de que se aprovecharían residuos que ocasionan un gran problema ambiental en la zona.

Palabras clave: Maíz, vermicomposta, residuos de mercado, fertilización combinada.

ABSTRACT

During the autumn-winter 2014/15 and spring-summer 2015 agricultural cycles in Ayala Morelos, Mexico, three varieties of maize were evaluated under five levels of fertilization. The experiment was established in an arrangement of treatments of subdivided plots, under an experimental design of randomized complete blocks with four repetitions. Eleven response variables were evaluated in two reproductive stages. The data were subjected to an analysis of variance and means, for the latter the Minimum Significant Difference procedure ($DMS_{0.05}$) was used with the statistical package Statistical Analysis System. The highest height of the plant and stem diameter was presented with inorganic fertilization and integrated fertilization of vermicompost and mineral fertilizer. On the other hand, the genotypes evaluated responded differently to these same treatments, with the varieties H-515 and UAEM-BD1 having the highest yields. The results obtained show that the positive effect of the vermicomposta depended more on the genotype than on the agricultural cycle of application. On the other hand, the plants responded differently to the source of nutrient supply and the degree of mineralization of these, and even when the treatment with vermicompost did not report the highest yields, the combined treatment could be an alternative in the short and medium term, since the costs would be reduced by the use of chemical fertilizers and the physical, chemical and biological characteristics of the soil would be improved, as well as the use of waste that causes a great environmental problem in the area.

Key words: maize, vermicompost, market waste, combined fertilization.

INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los cuatro principales cultivos a nivel mundial, la producción global la encabeza Estados Unidos con 343 millones de toneladas, seguido de China (229), Brasil (79), Ucrania (28), Argentina (25) y México con 23.5 millones de toneladas. En el 2015 aproximadamente el 24% de la superficie sembrada en México se destinó a la siembra de maíz blanco, con una producción anual de 21.1 millones de toneladas. En el estado de Morelos se sembraron 31,249 ha y se obtuvo un rendimiento promedio de 2.92 t·ha⁻¹. (SAGARPA-INEGI 2016).

Con base en estimaciones realizadas por la SEMARNAT (2011), 138 mil ha en el estado de Morelos presentan degradación química, dicho proceso se ha relacionado con actividades del sector agrícola, como son la quema, la labranza del suelo y el inadecuado uso de insumos químicos, lo que ha ocasionado deterioro en la estructura del suelo y una disminución de nutrimentos y materia orgánica disponible, lo que ha reducido la fertilidad de los suelos agrícolas de Morelos.

Por otro lado, los abonos orgánicos como la vermicomposta, se consideran como una alternativa para mantener la productividad del suelo, debido al aporte de materia orgánica, nutrimentos y microorganismos. Sin embargo, la disponibilidad de los nutrimentos que contiene es usualmente baja y variable, por lo que las dosis de aplicación son altas, en comparación con los fertilizantes inorgánicos (Castro *et al*, 2009; Bertsch, 1998). Se han realizado pruebas que estiman el efecto de la vermicomposta en el comportamiento de los cultivos, como en la evaluación en híbridos de maíz bajo un régimen integrado, reportándose similares niveles de producción con el tratamiento convencional (Lazcano *et al.*, 2011); en otro estudio los resultados mostraron un mayor rendimiento de grano al aplicar el 25% de la dosis de fertilización recomendada con 5.5 t·ha⁻¹ de vermicomposta (Patra y Biswas, 2012). De igual manera la aplicación de la dosis recomendada de fertilizante inorgánico junto con 6 t·ha⁻¹ de vermicomposta, no solo mejoró la productividad del maíz, sino también

la fertilidad del suelo en términos de mayor disponibilidad de macronutrientes y carbono orgánico (Kannan *et al.*, 2013). Méndez-Moreno *et al.* (2012) reportaron un mayor rendimiento de grano en las plantas fertilizadas con vermicomposta en comparación con las plantas sin biofertilización en una variedad nativa de maíz de la raza Olotón, bajo condiciones de temporal; adicionalmente la vermicomposta combinada con la aplicación foliar del extracto de vermicomposta estimuló la producción de materia fresca.

Con base en la evidencia experimental de que los suelos agrícolas del estado de Morelos prácticamente no contienen materia orgánica y a que éstos muestran una baja fertilidad como consecuencia del uso intensivo de los terrenos agrícolas, y a la no implementación de un programa de mantenimiento o restitución de la fertilidad de suelos, es necesario buscar estrategias que contribuyan a disminuir o a solucionar la problemática descrita. Por lo que, lo reportado en la presente investigación es un intento de evaluar la efectividad de la vermicomposta como fertilizante orgánico sobre el rendimiento final en germoplasma de maíz. Los objetivos principales fueron: 1) evaluar el efecto de los factores ciclos agrícolas y tipo de fertilización sobre características cuantitativas de germoplasma de maíz, 2) determinar la presencia de interacciones entre ciclos agrícolas, tipo de fertilización y variedades de maíz, y 3) comprobar si la fertilización con vermicomposta aplicada sola o en combinación con fertilizantes inorgánicos pueden sustituir o disminuir el uso de fertilizantes inorgánicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la presente investigación se evaluó el efecto de tres factores de estudios 1) ciclos agrícolas, 2) diferentes dosis de fertilización, y 3) variedades; en el Cuadro 10 se describen los niveles de cada factor de estudio. La combinación de factores se evaluó bajo condiciones de campo; los experimentos se establecieron en el campo experimental de la EESuX, dependiente de la UAEM, el cual se localiza en el

municipio de Ayala, Morelos, México (18°46'01" Latitud Norte; 98°58'56" Longitud Oeste), a una altitud de 1218 m, con un clima tipo tropical cálido-subhúmedo con lluvias en verano, con una temperatura promedio anual de 21.5 °C, y con una precipitación media anual de 887.1 mm (INEGI, 2015).

Cuadro 10. Factores y niveles evaluados en el experimento de campo en los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015, en Ayala, Morelos.

Factores	Niveles	Descripción
Ciclo	Otoño-invierno 2014/15	Ambiente de riego
	Primavera-verano 2015	Ambiente de temporal
Fertilización	170-70-00	Dosis recomendada
	5 t·ha ⁻¹ Vermicomposta	Dosis vermicomposta
	2.5 t·ha ⁻¹ Vermicomposta + 85-35-00	Dosis combinada
	85-35-00	50% dosis recomendada
	Sin fertilización	Tratamiento testigo
Variedades	H-515	Hibrido triple
	UAEM-BD1	Variedad experimental
	NJM1	Accesión nativa

En ambos ciclos agrícolas, previo a la preparación del terreno, se tomó una muestra compuesta de suelo del sitio experimental para determinar la textura y características químicas del mismo (NOM-021; SEMARNAT, 2000); de igual forma se realizó un análisis fisicoquímico de la vermicomposta (NMX-FF-109-SCFI-2007; SEMARNAT, 2007) producida a base residuos de frutas y verduras (Cuadro 11).

Cuadro 11. Características químicas del suelo del Campo Experimental de la EESuX y de las vermicompostas procedentes de los residuos de frutas y verduras.

Sustrato	Valor de pH	CE	Relación C/N	N	MO	CO	P	K
		(dS·m ⁻¹)		total	%	extractable	extractable	
						ppm		
Suelo O-I	5.9	0.4	11.8	0.4	8.5	5.1	78.6	20.9
Suelo P-V	6.4	0.4	12.0	0.3	6.1	3.6	66.9	13.6
Vermicomposta O-I	7.3	0.6	11.6	2.2	43.6	25.3	546.3	No disponible
Vermicomposta P-V	7.2	0.8	11.6	1.9	38.8	22.5	680.7	4.8

O-I=Otoño-Invierno, P-V= Primavera-Verano, CE=conductividad eléctrica, N=nitrógeno, P=fósforo, K=potasio, MO=materia orgánica, CO=carbono orgánico.

El genotipo H-515 es una variedad comercial desarrollada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP); el UAEM-BD1 es una variedad experimental de polinización libre generada por la EESuX; y NJM1 es una población nativa de grano color negro colectada en el municipio de Jonacatepec, Morelos.

En cuanto a la preparación del terreno, en el ciclo agrícola de otoño-invierno 2014/15 se realizó un barbecho, una rastra y el surcado, en tanto que en primavera-verano 2015 solo se realizó una rastra y el surcado. El terreno que se usó para realizar el experimento fue el mismo para ambos ciclos agrícolas. La densidad de siembra establecida fue de 50,000 plantas por hectárea. Para ello se sembraron dos semillas cada 0.25 m y en la etapa vegetativa 2 (V2) se realizó un “aclareo” para dejar una sola planta.

La dosis de fertilización inorgánica que se usó en ambos ciclos agrícolas fue la 170-70-00 aplicada en banda en dos partes; en la primera aplicación se usó la dosis de 85-70-00 (utilizando como fuentes de Nitrógeno y Fósforo, sulfato de amonio y fosfato diamónico, respectivamente) al momento de la siembra. Previo a la escarda en la etapa fenológica vegetativa 6 (V6) se realizó la segunda aplicación del fertilizante mediante el uso de urea. Los tratamientos de vermicomposta (5 t·ha⁻¹ de vermicomposta y 2.5 t·ha⁻¹ de vermicomposta + 85-35-00) se aplicaron de igual forma en banda al momento de la siembra en cada ciclo agrícola. En lo que respecta al control de malezas, en ambos ciclos agrícolas se aplicó el herbicida pre-emergente Gesaprim Combi después de la siembra, a una dosis de 6 L·ha⁻¹ y posteriormente, el control se llevó a cabo de manera manual durante todo el ciclo; para el control de gusano cogollero se aplicó el insecticida Palgus a una dosis de 75 mL·ha⁻¹.

Con respecto a los experimentos de campo, ambos se establecieron en un arreglo de tratamientos de parcelas subdivididas y bajo un diseño experimental de bloques completos al azar. Las parcelas grandes las representaron los ciclos agrícolas (otoño-invierno, primavera-verano), las parcelas intermedias la dosis de fertilización (12 surcos por nivel de fertilización) y las parcelas chicas estuvieron representadas por las variedades de maíz (cuatro surcos para cada variedad), haciendo un total de 30 tratamientos con cuatro repeticiones por tratamiento. Las variables de respuesta fueron: contenido de clorofila (CC) en la etapa reproductiva 2 (R2); y en la R6 diámetro de tallo (DT) y altura de planta (AP) y de mazorca (AM); a la cosecha, longitud (LM) y diámetro de la mazorca (DM), diámetro de olote (DO),

número de granos por mazorca (NG), peso volumétrico (PV), peso de 100 granos (P100G) y rendimiento de grano (RG). La totalidad de datos generados por ambos experimentos se sometieron a análisis de varianza de acuerdo con el diseño experimental y arreglo de tratamientos utilizado, para posteriormente realizar un análisis de comparación múltiple de medias, para este último se utilizó el procedimiento de Diferencia Mínima Significativa ($DMS_{0.05}$). Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico Statistical Analysis System [SAS, 1999].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 12 se muestran los resultados de los análisis de varianza (ANOVA), los que indicaron diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.01$) para la variable contenido de clorofila en los factores de Ciclo Agrícola (C), Fertilización (F) y para Variedad (V); no detectando diferencias para todas las interacciones; el coeficiente de variación (CV) tuvo un valor de 9.01%. En cuanto a las variables de diámetro de tallo (DT), altura de planta (AP) y de mazorca (AM) todas mostraron diferencias estadísticas a uno de los dos niveles de significancia (0.05 y 0.01) para las fuentes de Ciclos, Fertilización y Variedades, y únicamente en la interacción ciclo x variedad se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las tres características evaluadas en la etapa R6. En la interacción Fertilización x Variedad la única variable que resultó con diferencias estadísticas al 0.05 fue la de altura de mazorca. Respecto a los coeficientes de variación para esas tres variables oscilaron entre 5.36 y 9.69%.

Cuadro 12. Cuadrados medios de los caracteres evaluados en las etapas R2 y R6 durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	ETAPA R2	ETAPA R6		
		CC ua	DT	AP cm	AM
Repeticiones	3	118.0 NS	0.5 NS	6875.3*	2126.9*
Ciclos (C)	1	1275.9**	7.1*	5262.9*	17367.0**
Error (1)	3	17.8	0.3	297.1	72.3
Fertilización (F)	4	698.0**	0.9**	4736.9**	2545.4**
C x F	4	39.2 NS	0.2 NS	237.4 NS	265.6 NS
Error (2)	24	20.1	0.1	240.4	131.3
Variedades (V)	2	70.9**	1.3**	11066.0**	16537.0*
C x V	2	35.4 NS	0.8**	2908.4**	1165.9**
F x V	8	8.6 NS	0.0 NS	233.7 NS	151.9*
C x F x V	8	9.5 NS	0.0 NS	67.0 NS	37.8 NS
Error (3)	60	14.2	0.0	130.9	72.2
CV (%)		9.0	7.7	5.4	9.7
R ²		0.9	0.9	0.9	0.9

CC=Contenido de Clorofila, ua=unidades absolutas, AP=Altura de Planta, DT=Diámetro de Tallo, cm=centímetros, C=Ciclos agrícolas, F=Fertilización, V=Variedades, CV=Coeficiente de Variación, *=significativo al 0.05 de probabilidad, **significativo al 0.01 de probabilidad, NS= No Significativo.

El análisis de medias para las variables evaluadas (Cuadro 13) indica que las plantas con un mayor contenido de clorofila (50.91 ua) fueron las que se fertilizaron químicamente, dicho valor es considerado como adecuado para alcanzar el 95% del rendimiento máximo. Por otro lado, los valores menores registrados en los tratamientos sin fertilización (38.10 ua) y con vermicomposta (38.04 ua), superan en casi tres unidades a los valores que se consideran como críticos para el maíz (de 35.3 ua o menos) y que indican la necesidad de aplicar nitrógeno (Novoa y Villagrán 2002).

En lo que respecta al análisis de los factores principales las plantas con mayor altura y diámetro de tallo menor fueron las del ciclo agrícola primavera-verano, siendo la variedad NJM1 la que presentó estas características, lo cual era de esperarse dado que dicha población no ha sido mejorada genéticamente. Con relación al factor fertilización, las unidades experimentales fertilizadas con la dosis recomendada de fertilizante inorgánico fueron las de mayor altura de planta y mayor diámetro de tallo; por el contrario, las unidades experimentales que mostraron la menor altura y diámetro correspondieron al tratamiento testigo sin ningún tipo de fertilización. Este comportamiento pudo ser ocasionado por que los fertilizantes químicos son sales solubles altamente concentradas y disponibles casi de forma inmediata para las plantas (Chaoui *et al.*, 2003). Por otro lado, aun cuando se menciona que los abonos orgánicos liberan lentamente los nutrimentos y que estos están disponibles para la planta cuando se requieran (Matheus *et al.*, 2007), el efecto de la vermicomposta no fue el mismo que el tratamiento combinado de vermicomposta y fertilizante inorgánico; lo que sugiere que el fertilizante inorgánico aceleró los procesos de mineralización de la vermicomposta en el suelo (Kmet'ová *et al.*, 2014), por lo que las plantas que recibieron ambos tipos de fertilización presentaron una mayor altura y diámetro que las que se fertilizaron orgánicamente.

Cuadro 13. Comparación de medias de los caracteres evaluados en las etapas R2 y R6 durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.

Factores	Niveles	ETAPA R2	ETAPA R6		
		CC ua	DT	AP cm	AM
Ciclos	Otoño-invierno 2014/15	44.9 a	2.4 a	206.9 b	99.7 a
	Primavera-verano 2015	38.4 b	1.9 b	220.2 a	75.6 b
DMS		1.4	0.1	4.2	3.1
Fertilización	170-70-00	50.9 a	2.4 a	220.2 a	97.2 a
	2.5 t·ha ⁻¹ V + 85-35-00	41.7 b	2.3 b	206.9 b	94.4 a
	85-35-00	39.4 c	2.3 b	218.8 b	92.7 a
	5 t·ha ⁻¹ Vermicomposta	38.0 c	2.0 c	203.9 c	81.2 b
	Sin fertilización	38.1 c	1.9 c	194.5 d	72.8 c
DMS		2.2	0.1	6.6	4.9
Variedades	H-515	42.1 a	2.4 a	195.6 c	68.4 c
	UAEM-BD1	40.1 b	2.2 b	216.9 b	85.7 b
	BJM1	42.7 a	2.0 c	229.4 a	108.9 a
DMS		1.7	0.1	5.1	3.8

CC= contenido de clorofila, DT= diámetro de tallo, AP= altura de planta, AM= altura de mazorca; medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales (DMS 0.05).

El análisis de medias para la interacción Ciclo x Variedad (Cuadro 14), indicó que en el ciclo agrícola primavera-verano, la variedad NJM1 tuvo la mayor altura de planta y de mazorca, y el menor diámetro de tallo. La interacción que se observó entre estos factores fue del tipo de diferencias en magnitud, debido a que la variedad NJM1 es una variedad criolla de mayor altura y de tallo más delgado que la UAEM-BD1, que es una variedad de polinización libre y que la variedad híbrida H-515; sin embargo, los valores alcanzados de estas dos últimas variedades se acercan a los reportados en las fichas técnicas.

Cuadro 14. Promedios de la interacción de los factores Ciclo x Variedad para el diámetro de tallo, altura de planta y de mazorca en la etapa reproductiva 6 (R6), durante los ciclos otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.

Ciclo	Variedad	ETAPA R6					
		DT		AP		AM	
		cm					
Otoño-Invierno	H-515	2.7	a	195.8	d	60.6	d
	UAEM-BD1	2.5	b	211.5	c	75.4	c
	NJM1	2.1	c	212.6	c	90.8	b
Primavera-Verano	H-515	1.9	c	194.4	d	76.1	c
	UAEM-BD1	1.9	c	222.2	b	95.9	b
	NJM1	1.9	c	244.1	a	127.0	a
DMSH_(0.05)		0.2		9.2		7.0	

cm=centímetros, medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales (DMS_{0.05}).

En lo que se refiere a los componentes de rendimiento y rendimiento de grano (Cuadro 15), el análisis para los factores evaluados indica que hubo diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) y significativas ($P \leq 0.05$) en las variables evaluadas, con excepción del diámetro de olote y peso de la mazorca, para el factor Ciclo; altamente significativas ($P \leq 0.01$) para el rendimiento de grano en la Fertilización y también altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la Variedad, excepto para diámetro de mazorca, donde no hubo diferencias estadísticas. En la comparación de medias (Cuadro 16), las variables evaluadas presentan los mejores resultados durante el ciclo otoño-invierno, y en el tratamiento con fertilización inorgánica, sobresaliendo la variedad H-515; por lo que se discuten solo la interacción Fertilización x Variedad para el rendimiento de grano (Cuadro 17).

Cuadro 15. Cuadrados medios de los componentes de rendimiento y rendimiento de grano de los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.

Fuentes de Variación	GL	RG t·ha ⁻¹	NG	LM	DM	DO	PM	PV
				cm				g
Repetición	3	2.4 NS	3916.7 NS	2.1 NS	0.1 NS	0.1 NS	10.9 NS	3361.5 NS
Ciclos	1	20.3**	19203.0*	135.9**	4.7**	0.2 NS	0.0 NS	2243794.0**
Error (1)	3	0.6	1575.5	1.5	0.0	0.0	6.8	2854.8
Fertilización	4	4.1**	3569.2 NS	2.2 NS	0.1*	0.0 NS	7.3 NS	500.9 NS
C x F	4	0.4 NS	521.7 NS	0.7 NS	0.1 NS	0.1*	3.3 NS	753.6 NS
Error (2)	24	0.5	2624.5	1.1	0.0	0.0	5.2	1664.1
Variedades	2	22.9**	79198.0**	105.7**	0.1 NS	3.5**	39.3**	82457.0**
C x V	2	0.5 NS	23.4 NS	1.1 NS	0.3**	0.0 NS	3.6 NS	7423.4**
F x V	8	0.8**	2570.9 NS	0.7 NS	0.1NS	0.0 NS	7.8 NS	900.2 NS
C x F x V	8	0.4 NS	5178.9*	0.6 NS	0.1**	0.0 NS	2.7 NS	1255.3 NS
Error (3)	60	0.3	2235.1	1.0	0.0	0.0	4.2	884.3
CV (%)		13.9	11.6	7.12	4.2	5.2	18.8	5.2
R ²		0.9	0.7	0.9	0.8	0.9	0.6	0.9

C=Ciclos, F=Fertilización, V=Variedades, CV=Coeficiente de Variación, GL= Grados de Libertad, RG=Rendimiento de Grano, NG= Número de Granos, LM= Longitud de mazorca, DM= Diámetro de Mazorca, DO= Diámetro de Olote, PM= Peso de la Mazorca, PV= Peso Volumétrico, *=significativo al 0.05 de probabilidad, **significativo al 0.01 de probabilidad, NS= No Significativo.

Cuadro 16. Medias de los componentes de rendimiento y rendimiento de grano durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2014/15 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.

Factores	Niveles	RG	NG	LM	DM	DO	PM	PV
		t·ha ⁻¹			cm			g
Ciclos	Otoño-invierno 2014/2015	4.2 a	419.6 a	15.3 a	4.4 a	2.5a	10.9 a	703.4 a
	Primavera-verano 2015	3.3 b	394.3 b	13.2 b	4.1 b	2.4 b	10.9 a	429.9 b
DMS		0.2	17.3	0.4	0.1	0.1	0.7	10.9
Fertilización	170-70-00	4.3 a	413.5 ab	14.7 a	4.4 a	2.4 ab	11.3 ab	566.5 a
	2.5 t·ha ⁻¹ V + 85-35-00	4.0 b	413.9 ab	14.1 b	4.3 ab	2.4 a	11.2 ab	568.2 a
	85-35-00	3.6 c	417.0 a	14.1 b	4.2 b	2.4 ab	11.4 a	566.2 a
	5 t·ha ⁻¹ vermicomposta	3.4 c	402.9 ab	14.2 ab	4.2 b	2.4 ab	10.5 ab	550.8 a
	Sin fertilización	3.4 c	387.3 b	13.9 b	4.2 b	2.4 b	10.1 b	572.5 a
DMS		0.3	27.30	0.6	0.1	0.1	1.2	17.2
Variedades	H-515	4.4 a	450.4 a	15.2 a	4.2 a	2.6 a	11.7 a	600.9 a
	UAEM-BD1	3.9 b	408.9 b	15.1 b	4.3 a	2.5 b	11.2 b	583.8 b
	BJM1	2.9 c	361.4 c	12.3 b	4.2 a	2.1 c	9.8 b	515.7 c
DMS		0.2	21.1	0.5	0.1	0.1	0.9	13.3

RG=Rendimiento de Grano, NG= Número de Granos, LM= Longitud de mazorca, DM= Diámetro de Mazorca, DO= Diámetro de Olote, PM= Peso de la Mazorca, PV= Peso Volumétrico, cm=centímetros, g=gramos. Medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales (DMS _{0.05}).

Cuadro 17. Promedio de la interacción de los factores Fertilización x Variedad para el Rendimiento de Grano, durante los ciclos otoño-invierno 2013/14 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.

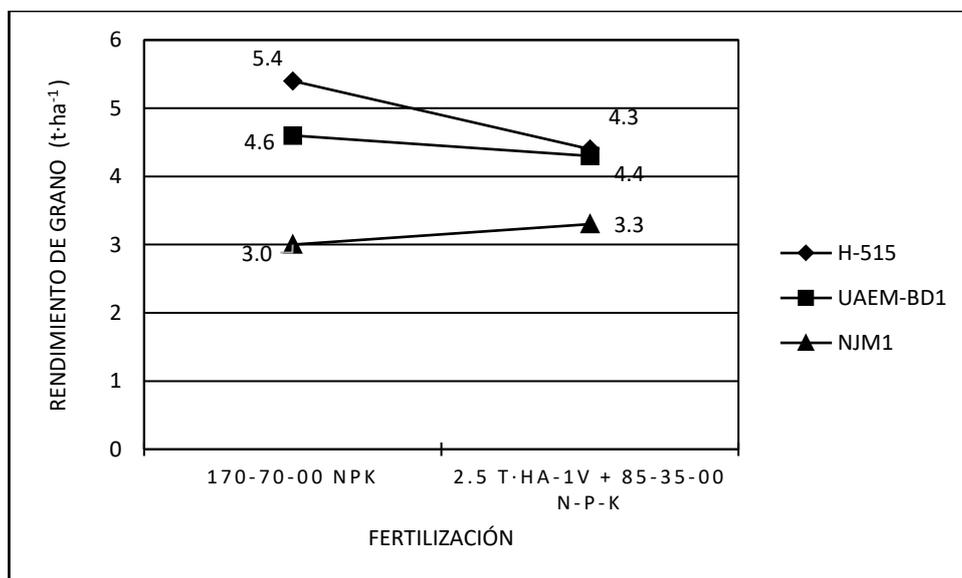
Fertilización	Variedad	RG t·ha ⁻¹	
170-70-00	H-515	5.4	a
	UAEM-BD1	4.6	b
	NJM1	3.0	e f g
2.5 t·ha ⁻¹ V + 85-35-00	H-515	4.4	b c
	UAEM-BD1	4.3	b c
	NJM1	3.3	d e f
85-35-00	H-515	4.4	b c
	UAEM-BD1	3.8	c d
	NJM1	2.7	f g
5 t·ha ⁻¹ Vermicomposta	H-515	4.0	b c d
	UAEM-BD1	3.4	d e
	NJM1	2.6	g
Sin fertilización	H-515	3.8	c d
	UAEM-BD1	3.5	d e
	NJM1	2.9	e f g
DMSH (0.05)		0.7	

RG=Rendimiento de Grano, medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales (DMS_{0.05}).

Los análisis obtenidos para esta interacción indican que la variedad H-515 respondió positivamente a la fertilización inorgánica en la dosis recomendada; sin embargo, el tratamiento de 5 t·ha⁻¹ de vermicomposta tuvo un comportamiento muy semejante al tratamiento con el 50% de esta dosis, al igual que las 2.5 t·ha⁻¹ de vermicomposta combinadas con 85-35-00 de fertilizante mineral. No obstante, pese a que los mayores rendimientos en las tres variedades se alcanzaron con la fertilización inorgánica, como se puede apreciar en la figura 11, UAEM-BD1 y NJM1

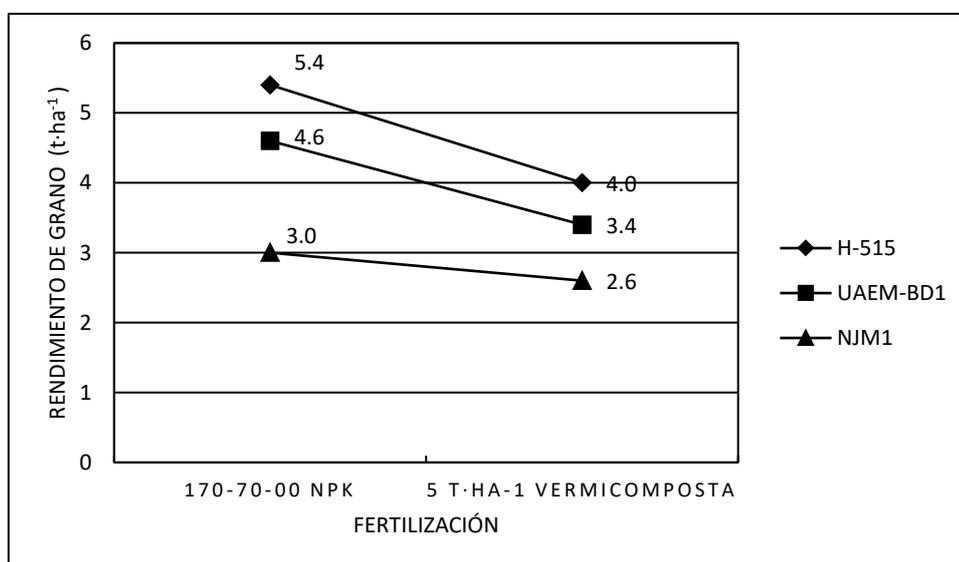
presentaron rendimientos similares en los tratamientos con fertilización inorgánica y combinado. A este respecto Lazcano *et al.* (2011) mencionan que con el 75% de fertilizante mineral combinado con un 25% de vermicomposta se obtuvo el mismo nivel de productividad que con el 100% de fertilización mineral en un híbrido de maíz dulce; y Sanjivkumar (2014) reporta mayores rendimientos para una variedad híbrida al aplicar 5 t·ha⁻¹ de vermicomposta combinada con un 75% de la dosis recomendada de fertilizante inorgánico; lo que sugiere que ciertos genotipos o variedades son más adecuados que otros para conducirlos en sistemas orgánicos o integrados (orgánico-mineral) (Lazcano *et al.*,2011); y aun cuando estas dos variedades presentan una respuesta semejante en el tratamiento con el 50% de la dosis recomendada, la incorporación de la vermicomposta traería consigo el mejoramiento de las características físicas, químicas y biológicas del suelo.

Figura 11. Interacción entre los tratamientos con fertilización inorgánica y combinada y las variedades, para el rendimiento de grano, durante los ciclos otoño-invierno 2013/14 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.



Por otro lado, Paul y Clark (1996), mencionan que un abono orgánico de calidad debe tener una relación C/N <20 y un contenido de nitrógeno mayor del 1.8% en promedio, pero aun cuando los valores registrados en el análisis de la vermicomposta que se utilizó en este estudio la sitúan en esta categoría, el efecto que tuvo en comparación con el fertilizante inorgánico (Figura 12) no fue como el reportado por diversos autores.

Figura 12. Interacción entre los tratamientos con fertilización inorgánica y vermicomposta y las variedades, para el rendimiento de grano, durante los ciclos otoño-invierno 2013/14 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.



En el presente estudio los rendimientos de grano obtenidos con la incorporación de la vermicomposta no demuestran el efecto positivo de este abono orgánico (Figura 13) como lo manifiestan Méndez-Moreno *et al.* (2012) y Patra y Biswas (2009), a este respecto Castro *et al.*, (2009) y Soto (2003), demuestran que menos del 25% de los elementos contenidos en los abonos orgánicos están disponibles para las plantas a corto plazo, Sullivan *et al.* (1998) señalan que las

compostas con relaciones de C/N bajas una vez aplicadas tendrán del 5-25% del nitrógeno total disponible para la planta; Sikora y Enkiri (2001) mencionan que el contenido de N de las compostas es de 1-3% y la tasa de mineralización de este elemento es cercana al 10%, por lo cual solo una fracción tanto del nitrógeno como de otros elementos está disponible el primer año después de su aplicación, así que el efecto de este tipo de abonos podría manifestarse en periodos largos de tiempo y no ser observados en años individuales (Durán y Henríquez, 2010).

Al igual que en este estudio, Durán y Enríquez (2007) no encontraron una respuesta significativa entre los tratamientos sin fertilización y con la incorporación de vermicomposta, ya que por un lado el suelo no presentaba limitantes de fertilidad y por el otro encontraron que la relación C/N muy baja de la vermicomposta proveniente de residuos domésticos provocó la pérdida de nitrógeno debido a su rápida liberación; por lo que para determinar a partir de qué momento hay una respuesta favorable en el rendimiento es necesario realizar el experimento durante más ciclos agrícolas.

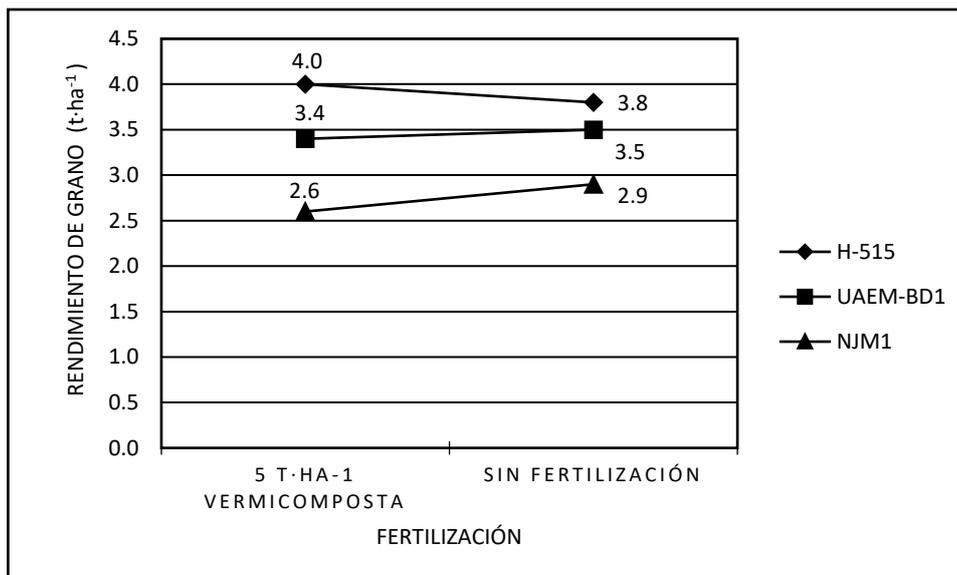


Figura 13. Interacción entre los tratamientos con vermicomposta y el tratamiento sin fertilización y las variedades, para el rendimiento de grano, durante los ciclos otoño-invierno 2013/14 y primavera-verano 2015 en Ayala, Mor.

Particularmente, en lo que respecta a los rendimientos de grano alcanzados por la variedad NJM1, estos son semejantes en los tratamientos evaluados (Cuadro 17) y aun cuando los valores del contenido de clorofila no denotaron una posible deficiencia de nitrógeno, es evidente que este comportamiento se debió a la influencia del medio agroecológico, ya que durante el ciclo de Primavera-Verano se presentaron fuertes vientos en tres ocasiones, lo que propició el acame de varias plantas, mermando el rendimiento en algunos tratamientos; pese a esta situación comparados con los reportados por Broa-Rojas *et al.* (2013) para esta misma variedad pero en un sistema de riego por goteo y fertirrigación ($2.2 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ con 140N-160P-110K), son mayores. García *et al.* (2013), observaron el mismo comportamiento al aplicar solo $6 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ de vermicomposta; $3 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ de vermicomposta en combinación con 120N-60P-00K; y la mitad de la dosis recomendada en un maíz criollo, obteniendo de 1.5 a 2 toneladas más que la media experimental registrada en una región del Valle de

Sinaloa, con un suelo tipo Vertisol, lo que pone en evidencia que las variedades criollas requieren menos agroquímicos a diferencia de las semillas mejoradas e híbridas (Soleri *et al.*, 2006 y Perales *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

La mayor altura de la planta y de diámetro de tallo se presentó con la fertilización inorgánica y la fertilización integrada de vermicomposta y fertilizante mineral. Por otro lado, los genotipos evaluados respondieron de manera distinta a estos mismos tratamientos, siendo las variedades H-515 y UAEM-BD1 las que presentaron rendimientos más altos.

Los resultados obtenidos muestran que el efecto positivo de la vermicomposta dependió más del genotipo que del ciclo agrícola de aplicación. Por otra parte, tomando en cuenta las propiedades químicas de la vermicomposta y la fertilidad del suelo, las plantas respondieron de manera distinta a la fuente de aporte de nutrientes y al grado de mineralización de estos.

Aun cuando el tratamiento con vermicomposta no reportó los rendimientos más altos, el tratamiento combinado podría ser una alternativa en el corto y mediano plazo, ya que se reducirían los costos por el uso de fertilizantes químicos y se mejorarían

las características físicas, químicas y biológicas del suelo, además de que se aprovecharían residuos que ocasionan un gran problema ambiental en la zona.

BIBLIOGRAFÍA

- Broa-Rojas, E.; Bahena-Delgado, G.; Villarreal-Manzo, L.A.; Valadez-Ramírez, M.; Jaime-Hernández, M. A. 2013. El uso eficiente del agua en la producción de maíces nativos de color en Xalostoc, Morelos, México. *Ambiente y Desarrollo*, [S.l.], v. 17, n. 33, p. 99-111, dic. 2013. ISSN0121-7607. Disponible en: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/ambienteydesarrollo/article/view/7045/5609>>. Fecha de acceso: 10 jun. 2016.
- Castro, A.; Henríquez, C.; Bertsch, F. 2009. Capacidad de suministro de N, P y K de cuatro abonos orgánicos. *Agronomía Costarricense*. 33(1): 31-43.
- Chaoui, H. I.; Zibilske, M.; Ohno, T. 2003. Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. *Soil Biology and Biochemistry*. 35: 295-302.
- Durán, L. y Henríquez, C. 2007. Caracterización química, física y microbiológica de vermicompostes producidos a partir de cinco sustratos orgánicos. *Agronomía Costarricense*. 31 (1): 41-51
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México). 2015. Anuario estadístico y geográfico de Morelos. 475 p.

- Kannan, R. L.; Dhivya, M.; Abinaya, D.; Lekshmi, K. R.; Krishnakumar, S. 2013. Effect of Integrated Nutrient Management on Soil Fertility and Productivity in Maize. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.* 2 (8): 61-67.
- Kmet'ová, M.; Kováčik, P. 2014. The impact of vermicompost application on the yield parameters of maize (*Zea mays* L.) observed in selected phenological growth stages (BBCH-SCALE). *Acta fytotechn. Zootechn.* 17(4): 100-108.
- Lazcano, C.; Revilla, P.; Malvar R. A.; Domínguez, J. 2011. Yield and fruit quality of four sweet corn hybrids (*Zea mays*) under conventional and integrated fertilization with vermicompost. *J Sci Food Agric.* 91: 1244-1253.
- Matheus, L. J.; Caracas, J.; Montilla, F.; Fernández, O. 2007. Eficiencia agronómica relativa de tres abonos orgánicos (vermicompost, compost y gallinaza) en plantas de maíz (*Zea mays*, L.). *Agricultura Andina.* 13, 27-38.
- Novoa, R. y N. Villagrán. 2002. Evaluación de un instrumento medidor de clorofila en determinación de niveles de nitrógeno foliar en maíz. *Agricultura Técnica* 62 (1): 166-171.
- Paul, E. and Clark, F. 1996. *Soil microbiology and biochemistry.* 2 ed. Academic. 340 p.
- Perales, R. H., Bruschi, S. B. y Qualset, S. O. 2003. Landraces of maize in central Mexico: An altitudinal transect. *Economy Botany.* 57: 7-20.

SAGARPA 2015. Agenda Técnica Agrícola de Morelos Segunda edición, 2015.
©Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

Sanjivkumar, V. 2014. Effect of integrated nutrient management on soil fertility and yield of maize crop (*Zea mays*) in Entic Haplustart in Tamil Nadu, India. Journal of Applied and Natural Science 6(1): 294-297.

Soleri, D., Cleveland, D. A. y Aragón-Cuevas, F. 2006. Transgenic crops and crop varietal diversity: The case of maize in Mexico. BioScience. 56: 503-513.

Sullivan D.M., Fransen S.C., Bary A.I., Cogger C. G. 1998. Fertilizer nitrogen replacement value of food residuals composted with yard trimmings, paper or wood wastes. Compost Science & Utilization 6(1):6-18.

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2000. Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial, martes 31 de diciembre. 2002.

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2007. NMX-FF-109- SCFI- 2007. Humus de Lombriz (Lombricomposta) - Especificaciones y Métodos de Prueba.

Sikora, L. J., and N. K. Enkiri. 2001. Uptake of ¹⁵N fertilizer in compost-amended soils. Plant and Soil 235: 65-73.

Soto, G.; Meléndez, G. 2004. Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica). 72: 91-97.

CAPÍTULO V. PATOGENICIDAD, VIRULENCIA E INTERACCIÓN DE

Metarhizium anisopliae Y *Beauveria bassiana* CONTRA *Phyllophaga vetula* (COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE)

RESUMEN

Phyllophaga spp. causa severos daños al maíz, sorgo, trigo, caña de azúcar, frijol, amaranto y cacahuate en México, América Central y Estados Unidos. Los métodos de control para las larvas de “gallina ciega” han dependido principalmente de químicos persistentes. Una estrategia ecológicamente segura es el uso de entomopatógenos para combatir las plagas del suelo, la cual está basada en la identificación de un complejo de especies plaga y sus patógenos nativos, para seleccionar posteriormente, los microorganismos con el mayor potencial para este propósito. El objetivo de este estudio fue determinar la patogenicidad, virulencia y la interacción entre cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* del estado de Morelos contra *P. vetula*. Los aislamientos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* mostraron diferente patogenicidad contra *P. vetula*. El aislamiento de *M. anisopliae* fue más patogénico que el de *B. bassiana*. El hongo entomopatógeno *M. anisopliae* aislado del hospedero *Phyllophaga* sp. fue más patogénico (46.66 a 73.33%) que el que se aisló del insecto trampa *G. mellonella* (00.00 a 20%). La mortalidad causada por el aislamiento de *M. anisopliae*, con mayor patogenicidad, HI-019 (86.06%), disminuyó significativamente ($P < 0.05$) cuando se inoculó simultáneamente con *B. bassiana* HI-113 (61.06%), pero estadísticamente fue la misma que cuando las larvas fueron inoculadas solo con *B. bassiana* (52.73%). Los valores

estimados de las CL₅₀ de los aislamientos de *M. anisopliae* Ma17 y Ma19 contra las larvas de *P. vetula* fueron de 4.749×10^7 conidios/mL y 7.684×10^8 conidios/mL, respectivamente, siendo iguales estadísticamente.

Palabras clave: “gallina ciega”, bioensayo, hongo entomopatógeno, concentración letal.

ABSTRACT

Phyllophaga spp. cause severe damage to maize, sorghum, wheat, sugarcane, bean, amaranth and peanut in Mexico, Central America and the USA. Control measures for white grubs depended mainly on persistent chemicals. An ecologically safe strategy is the use of entomopathogens to contend with soil pests, which is based on the identification of a complex of pest species and their native pathogens and to subsequently select the microorganism with the greatest potential for this purpose. The purpose of this study was to determine the pathogenicity, virulence and the interaction between native strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* from Morelos State against *P. vetula*. The fungal isolates of *M. anisopliae* and *B. bassiana* showed differential pathogenicity against *P. vetula*. The *M. anisopliae* isolates were more pathogenic than those of *B. bassiana*. *M. anisopliae* isolates from a *Phyllophaga* sp. host were more pathogenic (46.66 to 73.33%) than those from an insect tramp, *G. mellonella* (00.00 to 20%). The mortality caused by the most highly pathogenic isolate of *M. anisopliae*, HI-019, (86.06%) decreased significantly ($P < 0.05$) when the inoculation was simultaneous with *B. bassiana* HI-113 (61.06%), but the mortality

was statistically the same as that when the grubs were inoculated with only *B. bassiana* (52.73%). The estimated LC₅₀ values of *M. anisopliae* isolates Ma17 and Ma19 against *P. vetula* larvae were 4.749×10^7 conidia/mL and 7.684×10^8 conidia/mL, respectively, which are statistically equivalent.

INTRODUCCIÓN

Las larvas de Melolonthidae tienen cuerpos en forma de “C” ligera o fuertemente curvados, patas distintivas, y cápsula cefálica endurecida, y se conocen como “gallinas ciegas”. México es un centro de diversidad para los Melolonthidae (Morón, 1986), y se han registrado un gran número de especies del género *Phyllophaga* (386 en México). Solo pocas especies causan daños económicos (Morón, 2010), entre ellas se encuentran *P. obsoleta* (Blanchard), *P. ravidata* (Blanchard) y *P. vetula* (Horn), que se distribuyen por todo el altiplano mexicano (Jackson y Klein, 2006).

Phyllophaga spp. causa severos daños al maíz, sorgo, trigo, caña de azúcar, frijol, amaranto y cacahuate en México, América Central y los Estados Unidos. Históricamente, las medidas de control para las “gallinas ciegas” han dependido principalmente de productos químicos persistentes, pero debido a la preocupación sobre seguridad y contaminación ambiental, se han propuesto otras formas de control como el control biológico (Jackson y Klein, 2006).

Debido a su hábitat subterráneo durante el desarrollo, las larvas son susceptibles a la infección por microorganismos tales como virus, bacterias, protistas, nematodos y hongos (Jackson y Klein, 2006; Allsopp, 2010), teniendo este último grupo un alto potencial de uso en el control microbiano de insectos (Johnson y Rasmann, 2015). Una estrategia ecológicamente segura para combatir las plagas del suelo es el uso de entomopatógenos, basándose en la identificación de un complejo de especies de plagas y sus patógenos nativos, para posteriormente seleccionar el microorganismo con mayor potencial para este propósito, tomando como referencia la virulencia, la persistencia, la especificidad y los costos de producción del patógeno (Villalobos, 1992).

Las condiciones de humedad, la temperatura relativamente estable y la protección contra la luz ultravioleta del suelo favorecen la infección de melolontides larvales por hongos entomopatógenos (Villani *et al.*, 1992), proporcionándoles un alto potencial para actuar como agentes de control contra larvas rizófagas. Los trabajos previos que involucran bioensayos con melolontidos larvales han sido inconsistentes, en gran parte porque estos bioensayos se han realizado utilizando larvas recolectadas en el campo, ya que la cría de estas especies es difícil debido a su ciclo anual y hábito subterráneo. El objetivo de este estudio fue determinar la patogenicidad, la virulencia y las interacciones entre las cepas nativas del estado de Morelos de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* contra *P. vetula*.

MATERIALES Y MÉTODOS

➤ **Aislamiento de hongos**

Se utilizaron siete aislamientos de *M. anisopliae* y 20 de *B. bassiana* que se obtuvieron previamente en un estudio realizado en el estado de Morelos, para recolectar aislamientos nativos de hongos entomopatógenos en larvas de “gallina ciega” o en el insecto trampa *Galleria mellonella*, en un campo de maíz (Hernández *et al.*, 2011). Los hongos se cultivaron en agar de dextrosa Sabouraud (ADS) que incluía 5 g/L de peptona suave, 5 g/L de caseína peptona, 40 g/L de dextrosa y 1.5 g/L de agar. El cultivo se ajustó a pH 5.6 ± 0.2 , se incubó en un cuarto oscuro a 27 ± 1 ° C durante 15 días para inducir la esporulación, y a continuación se conservó a 4 ± 2 ° C. Los conidios fueron recuperados de las placas de Petri usando agua destilada (con Tween 80 al 0.05%) en una cámara de flujo laminar (CFLV-80, Aparatos de Laboratorio BG, México). Los conidios fueron contados en una cámara de Neubauer.

➤ **Larvas de *P. vetula***

Se requirió un gran número de insectos para realizar los bioensayos. Para el experimento de patogenicidad e interacción, se colectaron 1000 larvas de *P. vetula* en el campo en Villa de Ayala, Morelos, México, y se colocaron individualmente en vasos de plástico de 30 ml cubiertos con tapas de plástico, se transportaron al laboratorio y se mantuvieron a 25 ± 1 °C durante 7 días antes

del bioensayo. Las larvas colectadas se separaron con base en la presencia de palidios (23-30 pali) casi paralelos en el último segmento abdominal (raster) (Hernández-Cruz *et al.*, 2016). Un trozo pequeño de zanahoria fue agregado a cada vaso como alimento.

Para los bioensayos de las CL₅₀, un total de 600 larvas del primer instar de *P. vetula* se colectaron en el mismo sitio pero se mantuvieron a 25 ± 1 ° C hasta el tercer estadio.

➤ **Bioensayos**

El procedimiento para inocular cada aislamiento fue el mismo para todos los experimentos. Para el análisis de la patogenicidad, se analizaron 27 tratamientos (siete aislados de *M. anisopliae* y 20 de *B. bassiana*) con 15 larvas para cada uno. Las larvas recolectadas en el campo se desinfectaron superficialmente con una solución de NaCl al 2%, se lavaron con agua destilada y se colocaron sobre toallas de papel para eliminar el exceso de agua. El bioensayo siguió una metodología modificada de "ensayo de prueba máxima", que es útil para separar los aislamientos virulentos de los no virulentos en las primeras etapas de los programas de detección de entomopatógenos (Milner, 1992). Debido a la gran variabilidad en los aislamientos (Carrillo *et al.*, 2013), se usaron varias densidades de conidios en el bioensayo en lugar de cepas esporuladas.

Para el bioensayo de interacción, los conidios de *M. anisopliae* (HI-019) y *B. bassiana* (HI-113) se evaluaron solos y en dosis combinadas de 1×10^8 conidios/mL, y se empleó agua destilada (con Tween 80 al 0.05%) como control. Se utilizó un diseño completamente al azar, donde cada unidad experimental estaba compuesta por 15 larvas de *P. vetula* de tercer instar. Cada tratamiento se aplicó de la misma manera que en los bioensayos de patogenicidad. Todos los bioensayos se realizaron por triplicado. La mortalidad de las “gallinas ciegas” se determinó a los 8 y 12 días.

Después del tratamiento, las larvas se colocaron individualmente en vasos de 30 ml con una pieza de zanahoria como fuente de alimento. Las larvas se mantuvieron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, y la mortalidad se evaluó tocando la larva en los segmentos torácicos con una sonda.

➤ **Bioensayos de virulencia (CL₅₀)**

La virulencia se determinó en cuatro concentraciones, y se utilizó agua destilada (con Tween 80 al 0.05%) como control. Se evaluaron cuatro densidades de conidios del aislamiento Ma17 de *M. anisopliae*: 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 y 1×10^8 conidios/mL, y cuatro densidades de conidios del aislamiento Ma19: 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^7 y 1×10^8 conidios / mL. Cada tratamiento se aplicó de la misma manera que en los bioensayos de patogenicidad. Todos los bioensayos se realizaron por triplicado. La mortalidad se determinó a los 30 días. Un total

de 45 larvas de tercer estadio de *P. vetula* fueron utilizadas por tratamiento, y 225 por bioensayo.

➤ **Análisis estadístico**

Los datos del porcentaje de mortalidad se transformaron en arco seno para el análisis estadístico. Después de procesar los datos, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación múltiple de medias de Tukey, a un nivel de significancia de 0.05, utilizando el paquete estadístico SAS 9.1 (2003). Se realizó un análisis de Probit para estimar la concentración letal media 50 (CL₅₀), y se generaron intervalos de confianza (IC) utilizando el paquete estadístico Polo Plus (Robertson *et al.*, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La patogenicidad es una medida cualitativa de la capacidad de un patógeno o parásito para causar enfermedad en un huésped (Johnson y Rasman, 2015). Los aislados fúngicos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* mostraron patogenicidad diferente frente a *P. vetula*. En general, los aislamientos de *M. anisopliae* (Cuadro 18) fueron más patógenos que los de *B. bassiana* (Cuadro 19), corroborando otros estudios con *Phyllophaga spp.* (Poprawski y Yule, 1991). Los aislamientos de *M. anisopliae* de *Phyllophaga sp.* como huésped fueron más patógenos (46,66 a 73,33%) que los del insecto trampa *G. mellonella* (00,00 a 20%). De esta manera, la susceptibilidad diferencial de *Phyllophaga spp.* a la

infección por hongos ha sido reportada en otros lugares (Rodríguez-del-Bosque *et al.*, 2005), y en *P. polyphylla*, la infección larvaria nunca superó el 30% para *B. bassiana* o *M. anisopliae* (Guzmán-Franco *et al.*, 2012).

Cuadro 18. Mortalidad de larvas de tercer estadio de *P. vetula* causadas por los conidios de siete aislamientos de *Metarhizium anisopliae* 30 días después de la inoculación. La concentración de conidios fue de 1×10^8 conidios/mL (n = 15). Todos los aislamientos obtenidos para este estudio fueron de localidades dentro de Morelos, México.

Aislamiento	Origen geográfico	Hospedero	% mortalidad
HI-010	Ocuituco	<i>Galleria mellonella</i>	20.00
HI-011	Yecapixtla	<i>Galleria mellonella</i>	13.33
HI-014	Chalcatzingo	<i>Galleria mellonella</i>	0.00
HI-016	Tlayca	<i>Anomala</i> sp.2 L2	26.66
HI-017	Tetela del Volcán	<i>Phyllophaga</i> sp. L3	60.00
HI-019	San Andrés de la Cal	<i>Phyllophaga</i> sp.3 L2	73.33
HI-020	San Andrés de la Cal	<i>Phyllophaga</i> sp.5 L3	46.66

Cuadro19. Mortalidad de las larvas de tercer estadio de *P. vetula* causadas por los conidios de siete aislamientos de *Beauveria bassiana* hasta 30 días después de la inoculación. La concentración de conidios fue 1×10^8 conidios/mL (n = 15). Todos los aislamientos obtenidos para este estudio fueron de localidades dentro de Morelos, México.

Aislamiento	Origen geográfico	Hospedero	% mortalidad
HI-113	Yecapixtla	<i>Galleria mellonella</i>	53.33
HI-114	Totolapan	<i>Galleria mellonella</i>	0.00
HI-115	Ocuituco	<i>Galleria mellonella</i>	40.00
HI-116	Ocuituco	<i>Galleria mellonella</i>	26.66
HI-118	Jumiltepec	<i>Galleria mellonella</i>	26.66
HI-119	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	40.00
HI-121	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	13.33
HI-122	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	20.00
HI-123	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	6.66
HI-124	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	40.00
HI-125	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	13.33
HI-126	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	13.33
HI-127	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	6.66
HI-128	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	20.00
HI-129	Yautepec	<i>Galleria mellonella</i>	26.66
HI-133	Jonacatepec	<i>Galleria mellonella</i>	6.66
HI-134	Temoac	<i>Galleria mellonella</i>	33.33
HI-135	Temoac	<i>Galleria mellonella</i>	6.66
HI-136	Tenextepango	<i>Galleria mellonella</i>	33.33
HI-137	Tenextepango	<i>Galleria mellonella</i>	33.33

La mortalidad causada por el aislamiento altamente patógeno de *M. anisopliae* HI-019 (86,06%) disminuyó significativamente ($P \leq 0,05$) cuando la inoculación fue simultánea con *B. bassiana* HI-113 (61,06%), pero la mortalidad

fue estadísticamente igual cuando se inocularon las larvas sólo con *B. bassiana* (52,73%) (Cuadro 20). En el control biológico de plagas de insectos, la eficacia del tratamiento con patógenos múltiples no se ha investigado con frecuencia, pero puede tener cierto potencial en los esfuerzos de manejo eficaces. La co-infección en el campo no es comúnmente reportada; sin embargo, la co-infección por *Entomophthora aulicae* y *Paecilomyces canadensis* se reportó para *Lymantria dispar* en las observaciones de campo de epizootia en una población de polillas gitanas en Japón (Aoki, 1974). En la rizosfera, las larvas de *Phyllophaga spp.* están frecuentemente sujetas a la co-infección por patógenos de especies distintas (Johnson y Rasmann, 2015). De los experimentos presentados aquí, ningún efecto benéfico fue evidente en el uso de los dos hongos juntos. Se han reportado resultados similares para otros insectos hospederos (Maheswara *et al.*, 2006). La información reciente sobre la actividad antimicrobiana de los metabolitos secundarios aislados de *B. bassiana* y *M. anisopliae* ha identificado sustancias potencialmente bioactivas con actividad antimicrobiana (Tae-Young *et al.*, 2013), que pueden hacer que una infección fúngica compita con otra.

Cuadro 20. Mortalidad causada por aislamientos de *M. anisopliae* (HI-019) y *B. bassiana* (HI-113) solos y en combinación, en densidades conidiales de conidios mL frente a larvas de tercer estadio de *P. vetula*.

Tratamiento	8 d (DE)	12 d (DE)
<i>Ma</i>	52.74(±17.33) a	86.06(±9.58) a
<i>Bb</i>	44.4(±4.84) a	52.73(±9.64) ab
<i>Ma + Bb</i>	38.86(±9.64) ab	61.06(±17.37) b
Control	13.86(±9.64) b	22.2(±4.84) c

Para 8 días, ANOVA (P= 0.0149), C.V. = 30.13.

Para 12 días, ANOVA (P= 0.0007), C.V. = 20.60.

Diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas (P<0.05)

Los valores estimados de las CL₅₀ de los aislamientos Ma17 y Ma19 de *M. anisopliae* frente a larvas de tercer estadio de *P. vetula* fueron 4.749×10^7 conidios/mL y 7.684×10^8 conidios/mL, respectivamente, que son estadísticamente iguales (Cuadro 21). Por lo tanto, se deben realizar estudios adicionales para evaluar aún más estos aislamientos contra las larvas de “gallina ciega” en condiciones de invernadero y/o campo (Milner, 1992; Shannon *et al.*, 1993). De manera similar, las cepas más virulentas pueden ser consideradas como candidatos para una agricultura sostenible basada en una estrategia de control biológico de conservación (Meyling y Eilenberg, 2007).

Cuadro 21. Concentración letal 50 (CL₅₀) de los conidios de los aislamientos Ma17 y Ma19 de *Metarhizium anisopliae* contra larvas de tercer estadio de *P. vetula*.

Aislamiento	CL ₅₀ (c/mL)	95% CI CL ₅₀	
		Límite inferior	Límite superior
Ma17	4.749×10^7	4.735×10^6	3.303×10^9
Ma19	7.684×10^8	3.721×10^8	1.389×10^9

BIBLIOGRAFÍA

- Allsopp, P.G. 2010. Integrated management of sugarcane whitegrubs in Australia: an evolving success. *Annu. Rev. Entomol.* 2010: 55: 329-349.
- Aoki, J. 1974. Mixed infection of the gypsy moth, *Lymantria dispar japonica* Motschulsky (Lepidoptera: Lymantriidae), in a larch forest by *Entomophthera aulicae* (Reich.) Sorok. and *Paecilomyces canadensis* (Vuill.) Brown et Smith. *Appl. Ent. Zool.* 9(3): 185-190.
- Carrillo Benítez, M.G., A.W. Guzmán Franco, R. Alatorre Rosas and J.N. Enríquez Vara. 2013. Diversity and genetic population structure of fungal pathogens infecting White grub larvae in agricultural soils. *Microb. Biol.* 65:437-449. DOI 10.1007/s00248-012-0124-9.
- Guzmán-Franco AW, J. Hernández-López, J.N. Enríquez-Vara, R. Alatorre-Rosas, F. Tamayo-Mejía, L. Ortega-Arenas. 2012. Susceptibility of *Phyllophaga polyphilla* and *Anomala cincta* larvae to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates, and the interaction with soil properties. *BioControl* 57:553–563.
- Hernández Velázquez, V., Zito Cervantes Espíndola, F. J. Villalobos, Laura Lina García y Guadalupe Peña Chora. 2011. Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.) 27(3): 591-599.
- Hernández-Cruz, J., M. A. Morón, J. Ruiz-Vega, J.A. Sánchez-García, L. Martínez-Martínez and R. Pérez Pacheco. 2016. Descripción de la larva de

Phyllophaga lenis (Coleoptera: Melolonthidae) en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México, con notas sobre su biología. Acta Zoológica Mexicana (n. s.) 32(1): 55-61. ISSN 0065-1737.

Huang, K.; Li, J. F.; Helard, D.; Hirooka, K. 2012. Rapid vermicomposting of fresh fruit and vegetable wastes using earthworm *Eisenia fetida*. Japan. JSCE, Ser. G (Environ. Res.). 68: 113-120.

Jackson, T.A. and M.G. Klein. 2006. Scarabs as pests: a continuing problem. Coleopterists Society Monograph Number 5: 102-119.

Johnson, S.N. and S. Rasmann. 2015. Root-feeding insects and their interactions with organisms in the rhizosphere. Annu. Rev. Entomol. 60: 517-535.

Maheswara Rao, C.U., K. Uma Devi and A. Ali Khan. 2006. Effect of combination treatment with entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Nomuraea rileyi* (Hypocreales) on *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Biocontrol Science and Technology 16: 221-232.

Meyling, N.V. and J. Eilenberg. 2007. Ecology of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. Biological Control 43: 145-155.

Milner, R.J. 1992. Selection and characterization of strains of *Metarhizium anisopliae* for control of soil insects in Australia, Pp. 200-207. In C.J. Lomer and C. Prior, (eds.), Biological control of locusts and grasshoppers. C.A.B. International.

Morales-Rodriguez, A., A. Ospina and D.C. Peck. 2010. Variation in the laboratory susceptibility of turf-infesting white grubs (Coleoptera:

- Scarabaeidae) to biological, biorational and chemical control products. Pests Manag. Sci. 66: 90-99.
- Morón, M.A. 1986. El Género *Phyllophaga* en México. Instituto de Ecología, México, D.F.
- Morón, M.A. 2010. Diversidad y distribución del complejo “gallina ciega” (Coleoptera: Scarabaeoidea), pp: 41-63. In: L.I. Rodríguez del Bosque and M.A. Morón (edit.) Plagas del Suelo. Mundi Prensa México, S.A. de C.V.
- Poprawski, T. J. and W. N. Yule. 1991. Incidence of lungi in natural populations of *Phyllophaga* spp. and susceptibility of *Phyllophaga anxia* (LeConte) (Co.: Scarabaeidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina). J. App. Entomo. 112: 359-365.
- Robertson, J.L., Preisler, H.K., Russell, R.M. (2003) PoloPlus. Probit and logit analysis. LeOra software 2002-2003.
- Rodríguez-del-Bosque, L.A.; Silvestre-García, F.; Hernández-Velázquez, V.M.; Quiroz-Martínez, H. & J. E. Throne 2005. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Phyllophaga crinita* and *Anomala flavipennis* (Coleoptera: Scarabaeidae). Journal of Entomological Science 40 (1): 67-73.
- Shannon, P., S.M. Smith and E. Hidalgo. 1993. Evaluación en el laboratorio de aislamientos costarricenses y exóticos de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae), pp: 203-2015. In: Morón, M.A. (ed.), Diversidad y manejo de plagas subterráneas. Publicación especial de la Sociedad Mexicana de Entomología, Xalapa, Ver., México. 261pp.

- Tae-Young, S., K. Seung-Hyun, L. Won-Woo, B. Sung-Min, Ch. Jae-Bang and W. Soo-Dong. 2013. Screening and evaluation of antibacterial metabolites from entomopathogenic fungi. *Int. J. Indust. Entomol.* 26: 89-94.
- Villalobos, F. J. 1992. The potential of entomopathogens for the control of white grub pests of corn in Mexico, pp. 253-260. *In: T. A. Jackson & T. R. Glare (Eds.), Use of pathogens in scarab pest management.* Intercept. England.
- Villani, M. G., S. R. Krueger & J. P. Nyrop. 1992. A case study of the impact of the soil environment on insect/pathogen interactions: scarab in turfgrass, pp: 111-126. *In: T. A. Jackson & T. R. Glare (Eds.), Use of pathogens in scarab pest management.* Intercept Limited, Andover.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES

El efecto de la vermicomposta a dosis similares de aplicación varía de acuerdo con el medio y el tipo de suelo donde se suministre, ya que en los contenedores la respuesta de la planta a este abono fue positiva, y en el campo no se manifestó durante los dos ciclos agrícolas que se evaluaron, lo que sugiere que bajo estas condiciones el efecto podría manifestarse en periodos de tiempo más largos; por lo que la aplicación de la vermicomposta como sustituto del fertilizante inorgánico de manera continua podría ser una alternativa para mantener la fertilidad del suelo, además del beneficio ambiental que traería consigo al transformar los residuos orgánicos de los mercados de abasto; en la medida en que éstos no se descargarían en vertederos ni se quemarían, sino que se podrían considerar un recurso que se puede reciclar.

Por otro lado, el uso de cepas nativas para el control de gallina ciega, al estar adaptadas a las condiciones edafoclimáticas y a un determinado grupo de hospederos podrían ser consideradas como una alternativa al control de esta plaga.

CAPÍTULO VII. PERSPECTIVAS

1. Conducir el experimento de campo durante varios ciclos agrícolas, con la finalidad de determinar el tiempo en el que se observa el efecto positivo de la vermicomposta tanto en el rendimiento del cultivo como en las características físicas, químicas y biológicas del suelo.
2. Probar combinaciones de residuos ricos en carbono con los residuos del mercado para mejorar la composición nutrimental de la vermicomposta.
3. Una vez seleccionada la cepa con mayor virulencia se tendrían que realizar evaluaciones de persistencia, patogenicidad, virulencia y viabilidad combinando el hongo con la vermicomposta en bioensayos de laboratorio, invernadero y campo, ya que esto podría representar una alternativa agroecológica para el manejo de “gallina ciega” en el cultivo de maíz.

CAPÍTULO VIII. BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Allsopp, P.G. 2010. Integrated management of sugarcane whitegrubs in Australia: an evolving success. *Annu. Rev. Entomol.* 2010: 55: 329-349.
- Álvarez-Solís, J. D.; Gómez-Velasco, D. A.; León-Martínez, N. S.; Gutiérrez-Miceli, F. A. 2010. Manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz. *Agrociencia.* 44: 575-586.
- Alves, S.B. 1998. Fungos entomopatogenicos. p. 289-370. In S. B. Alves (ed.). *Controle microbiano de insectos.* 2ª ed. Fundación de Estudios Agrarios Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- Aoki, J.1974. Mixed infection of the gypsy moth, *Lymantria dispar japonica* Motschulsky (Lepidoptera: Lymantriidae), in a larch forest by *Entomophthera aulicae* (Reich.) Sorok. and *Paecilomyces canadensis* (Vuill.) Brown et Smith. *Appl. Ent. Zool.* 9(3): 185-190.
- Aranzazu-Hernández, J., Leguizamón-Caycedo, J. E. y Dávila-Arias, T. 1999. Efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma koningii* sobre estados biológicos de *Eisenia foetida*. *Cenicafé*, 50(1):39-48.
- Broa-Rojas, E.; Bahena-Delgado, G.; Villarreal-Manzo, L.A.; Valadez-Ramírez, M.; Jaime-Hernández, M. A. 2013. El uso eficiente del agua en la producción de maíces nativos de color en Xalostoc, Morelos, México. *Ambiente y Desarrollo*, [S.l.], v. 17, n. 33, p. 99-111, dic. 2013. ISSN0121-7607. Disponible en: <<http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/ambienteydesarrollo/article/view/7045/5609>>. Fecha de acceso: 10 jun. 2016.

- Bruck, D.J. 2005. Ecology of *Metarhizium anisopliae* in soilless potting media and the rhizosphere: implications for pest management. *Biological Control*, v.32, p.155-163, 2005.
- Capistrán, F., Aranda, E. y Romero, J. 2004. Manual de reciclaje, compostaje y lombricompostaje. 151 pp. 1era. Ed., 2ª. Reimp. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Ver., México.
- Carrillo Benítez, M.G., A.W. Guzmán Franco, R. Alatorre Rosas and J.N. Enríquez Vara. 2013. Diversity and genetic population structure of fungal pathogens infecting White grub larvae in agricultural soils. *Microb. Biol.* 65:437-449. DOI 10.1007/s00248-012-0124-9.
- Castro, A.; Henríquez, C.; Bertsch, F. 2009. Capacidad de suministro de N, P y K de cuatro abonos orgánicos. *Agronomía Costarricense*. 33(1): 31-43.
- Chacon, A.G. y Blanco, J.M. (eds.) 1999. Manual práctico para la fabricación de abono orgánico utilizando lombrices. San José. Costa Rica. 39 p.
- Chaoui, H. I.; Zibilske, M.; Ohno, T. 2003. Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. *Soil Biology and Biochemistry*. 35: 295-302.
- Cortez M., E. 2009. Recomendaciones para el manejo de las principales plagas insectiles del maíz en el norte de Sinaloa. Jornada de Manejo sustentable del cultivo del maíz. Memoria de capacitación. Fundación Produce, Sinaloa, A.C., SAGARPA, Gobierno del Estado de Sinaloa. 41-51 pp.
- Cruz-López, J.A. 1999. Alternativas de manejo de "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en maíz en Amatenango del Valle, Chiapas. Tesis

- Licenciado en Biología. Universidad de Ciencias y Artes del Estado de Chiapas. Chiapas, México. 111 pp.
- Cruz, L. A., Martínez, T., Omaña, J. M. 2004. Fuentes de fuerza, diversidad tecnológica y rentabilidad de la producción de maíz en México. *Ciencia Ergo Sum* [en línea] : [Fecha de consulta: 15 de agosto de 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10411307> ISSN1405-0269.
- Deloya, C. 2010. "Gallinas ciegas" en Morelos. En: *Plagas del Suelo*. Rodríguez del Bosque, L. A. y Morón, M. A. (Eds.). 349-359 pp.
- Doan, T. T., Henry-des-Tureaux, T., Rumpel, C., Janeau, J. y Jouquet, P. 2015. Impact of compost, vermicompost and iochar on soil fertility, maize yield and soil erosion in Northern Vietnam: A three-year mesocosm experiment. *Science of the Total Environment*. 514. 147-154 p.
- Dominguez, J. 2004. State of the art and new perspectives on vermicomposting research. In: Edwards, C.A. (ed.), *Earthworm Ecology* 2nd Edition, 401–424. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Dominguez, J. and Edwards, C. 2011. *Biology and Ecology of Earthworm Species Used for Vermicomposting* by Taylor & Francis Group, LLC.
- Durán, L. y Henríquez, C. 2007. Caracterización química, física y microbiológica de vermicompostes producidos a partir de cinco sustratos orgánicos. *Agronomía Costarricense*. 31 (1): 41-51.
- Durán-Umaña, L. y Henríquez-Henríquez, C. 2010. El vermicompost: su efecto en algunas propiedades del suelo y la respuesta en planta. *Agronomía mesoamericana*. Vol 21, núm. 1. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 85-93 pp.

- FAO, 2011. Global food losses and food waste. www.fao.org/docrep/014/mb060e/mb060e00.pdf.
- FAO 2014. Anuario estadístico. La Alimentación y la Agricultura en América Latina y el Caribe. En: <http://www.fao.org/3/a-i3592s.pdf>. Consultado el: 16 de agosto de 2017.
- Financiera Nacional de Desarrollo. Secretaría de Hacienda y Crédito Público. 2014. Panorama del Maíz. Disponible en: <http://www.financierarural.gob.mx> (fecha de consulta: 16/junio/2015).
- García-Gutiérrez, C. y Rodríguez-Meza, G. D. 2012. Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. Ra Ximhai, 8(3). Universidad Autónoma Indígena de México Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. pp. 1-10.
- Garg, P.; Gupta, A.; Satya, S. 2006. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. Biosource Technology 97: 391-395.
- Ghosh, B. C.; Bera, N.; Das, D.; Swain, D. K. 2013. Effect of Varying Soil and Vermicompost Mixtures on Growing Media and Yield and Quality of Sweet Corn. Internatinal Conference on Food and Agricultural Sciences. IPCBEE. 55. IACSIT Press, Singapore.
- Gopal, M., Gupta, A. y Thomas, G. 2005. Prospects of using *Metarhizium anisopliae* to check the reeding of insect pest, *Oryctes rhinoceros* L. in coconut leaf vermicomposting sites.
- Gómez, B., Villalobos, F. J., Ruiz, L., Castro-Ramírez, A. E. y Valle, J. 1999. El complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en maíz en maíz e

- los Altos de Chiapas, México: su relación con el tiempo de uso agrícola y la materia orgánica del suelo. *Folia Entomol. Méx.* 107: 1-20.
- Guzmán-Franco AW, J. Hernández-López, J.N. Enríquez-Vara, R. Alatorre-Rosas, F. Tamayo-Mejía, L. Ortega-Arenas. 2012. Susceptibility of *Phyllophaga polyphilla* and *Anomala cincta* larvae to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates, and the interaction with soil properties. *BioControl* 57:553–563.
- Harris, G. D.; Platt, W. L.; Price, B. C. 1990. Vermicomposting in a rural community. *Biocycle*. 10 (2): 48-51.
- Hiromori, H. and Nishigaki, J. 2001. Factor analysis of synergistic effect between the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and synthetic insecticides. *Appl. Entomol Zool.* 36(2): 231-236.
- Hernández A. y Hansen, A. 2011. Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 27(2). México.
- Hernández Velázquez, V., Zito Cervantes Espíndola, F. J. Villalobos, Laura Lina García y Guadalupe Peña Chora. 2011. Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.) 27(3): 591-599.
- Hernández-Cruz, J., M. A. Morón, J. Ruiz-Vega, J.A. Sánchez-García, L. Martínez-Martínez and R. Pérez Pacheco. 2016. Descripción de la larva de *Phyllophaga lenis* (Coleoptera: Melolonthidae) en Santa Cruz Xoxocotlán,

- Oaxaca, México, con notas sobre su biología. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.) 32(1): 55-61. ISSN 0065-1737.
- Hu, G.; St. Leger, R.J. 2002. Field studies of a recombinant mycoinsecticide (*Metarhizium anisopliae*) reveal that it is rhizosphere competent. *Applied Environmental Microbiology*, v.68, p.6383-6387.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México). 2015. Anuario estadístico y geográfico de Morelos. 475 p.
- Jackson, M.A. y Jaronski, S.T. 2009. Production of microsclerotia of the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and their potential for use as a biocontrol agent for soil-inhabiting insects. *Mycological Research*, v.113, p.842-850.
- Jackson, T.A. and M.G. Klein. 2006. Scarabs as pests: a continuing problem. *Coleopterists Society Monograph Number 5*: 102-119.
- Johnson, S.N. and S. Rasmann. 2015. Root-feeding insects and their interactions with organisms in the rhizosphere. *Annu. Rev. Entomol.* 60: 517-535.
- Kannan, R. L.; Dhivya, M.; Abinaya, D.; Lekshmi, K. R.; Krishnakumar, S. 2013. Effect of Integrated Nutrient Management on Soil Fertility and Productivity in Maize. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.* 2 (8): 61-67.
- Kmeťová, M.; Kováčik, P. 2014. The impact of vermicompost application on the yield parameters of maize (*Zea mays* L.) observed in selected phenological growth stages (BBCH-SCALE). *Actafytotechn. Zootechn.* 17(4): 100-108.

- Lanza, L.M., Monteiro A. y Braga, E. 2005 População de *Metarhizium anisopliae* em diferentes tipos e graus de compactação do solo. *Ciência Rural*, v.34, p.1757-1762, 2004.
- Lazcano-Ferrat, I. 1999. Nuevos criterios en la recomendacion de fertilizantes en sistemas de alta productividad agricola en Mexico. En: *Informaciones agronomicas instituto de la potasa y el fosforo. Potash and Phosphate Institute. Edición para México y Norte de Centroamérica.* 3 (6) En: [http://www.ipni.net/ppiweb/iamex.nsf/\\$webindex/0BE723352A4340B806256AE80058B52C/\\$file/IA+COM+3-6.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/iamex.nsf/$webindex/0BE723352A4340B806256AE80058B52C/$file/IA+COM+3-6.pdf)
- Lazcano, C.; Revilla, P.; Malvar R. A.; Domínguez, J. 2011. Yield and fruit quality of four sweet corn hybrids (*Zea mays*) under conventional and integrated fertilization with vermicompost. *J Sci Food Agric.* 91: 1244-1253.
- Leblanc, H. A.; Cerrato, M. E.; Miranda, A.; Valle, G. 2007. Determinación de la calidad de abonos orgánicos a través de bioensayos. *Tierra Tropical.* 3(1): 97-107.
- Maheswara Rao, C.U., K. Uma Devi and A. Ali Khan. 2006. Effect of combination treatment with entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Nomuraea rileyi* (Hypocreales) on *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biocontrol Science and Technology* 16: 221-232.
- Marshall, E.J.P., Brown, V.K., Boatman, N.D., Lutman, P.J.W., Squire, G.R., Ward, L.K. 2003. The role of weeds in supporting biological diversity within crop fields. *Weed Research* 43: 77-89.
- Matheus, L. J.; Caracas, J.; Montilla, F.; Fernández, O. 2007. Eficiencia agronómica relativa de tres abonos orgánicos (vermicompost, compost y

- gallinaza) en plantas de maíz (*Zea mays*, L.). *Agricultura Andina*. 13, 27-38.
- Méndez-Aguilar M. J., Castro-Ramírez, A. E., Ramírez-Salinas, C. y López-Anaya, M. A. 2003. Preferencias de hábitat de las especies de “gallina ciega” (Melolonthidae) en parcelas agrícolas de Oxchuc, Chiapas. En: *Estudios sobre Coleópteros del Suelo en América*. Aragón, G. A., M. A. Morón y A. Marín (eds.). Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. 149-165 pp.
- Méndez-Moreno, O., León-Martínez, S., Gutiérrez-Miceli, F. A., Rincón-Rosales, R. y Álvarez-Solís, J. 2012. Efecto de la aplicación de humus de lombriz en el crecimiento y rendimiento de grano del cultivo de maíz. *Guyana ot.* 69 (Número Especial): 49-54.
- Meyling, N.V. and J. Eilenberg. 2007. Ecology of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Biological Control* 43: 145-155.
- Milner, R.J. 1992. Selection and characterization of strains of *Metarhizium anisopliae* for control of soil insects in Australia, Pp. 200-207. In C.J. Lomer and C. Prior, (eds.), *Biological control of locusts and grasshoppers*. C.A.B. International.
- Morales-Rodriguez, A., A. Ospina and D.C. Peck. 2010. Variation in the laboratory susceptibility of turf-infesting white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) to biological, biorational and chemical control products. *Pests Manag. Sci.* 66: 90-99.

- Morón, M.A. 1986. El Género *Phyllophaga* en México. Instituto de Ecología, México, D.F.
- Morón M., A. 2001. Larvas de escarabajos del suelo (Coleoptera: Melolonthidae). In: C. Fragoso y I. Barois (eds). Biodiversidad de los Organismos del Suelo en México. Acta Zool. Mex. Xalapa, México. 67 p.
- Morón, M. A. 2003. Diversidad, distribución e importancia de las especies de *Phyllophaga* Harris en México (Coleoptera: Melolonthidae). In: Aragón, G. A.; Morón, M. A. y Marín, J. A. (Eds.) 2003. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. p. 1–27.
- Morón, M.A. 2010. Diversidad y distribución del complejo “gallina ciega” (Coleoptera: Scarabaeoidea), pp: 41-63. In: L.I. Rodríguez del Bosque and M.A. Morón (edit.) Plagas del Suelo. Mundi Prensa México, S.A. de C.V.
- Nájera-Rincón, M. B. y I. E. Valdez. 1997. Efecto de los sistemas de labranza y la cobertura vegetal sobre la macrofauna edáfica asociada al maíz de temporal. Avances de Investigación en Labranza de Conservación. I., Libro Técnico No. 1. Centro Nacional de Investigación para Producción Sostenible (CENAPROS), INIFAP. México pp. 65-76.
- Nájera-Rincón, M. B., Jackson, T. A. y López-Mora, J. D. 2006. Hongos entomopatógenos para el control de *Phyllophaga* vetula (Horn) (Coleoptera: Melolonthidae) en cultivos de maíz en Zacapu, Michoacán, México. En: Diversidad, importancia y manejo de escarabajos edáficos. Castro-Ramírez, A. E., Morón, M. A. y Aragón, A. (Eds.). Publicación especial de El Colegio de la Frontera Sur, la Fundación PRODUCE

- Chiapas, A. C. y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. 241-262 pp.
- Novoa, R. y N. Villagrán. 2002. Evaluación de un instrumento medidor de clorofila en determinación de niveles de nitrógeno foliar en maíz. *Agricultura Técnica* 62 (1): 166-171.
- Paliwal, R. L., Granados, G., Laffite, H. R. y Violic, A. D. 2001. El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción. FAO. 376 p.
- Patra, P. S. y Biswas, S. 2009. Integrated nutrient management on growth, yield and economics of maize (*Zea mays* L.) under terai region. *Journal of Crop and Weed*, 5(1): 130-133.
- Patriquin, D. G., D. Baines, & A. Abboud. 1995. Diseases, pests and soil fertility. Pp. 161-174. In: H. F. Cook and H. C. Lee (Eds.). *Soil management in sustainable agriculture*. Wye College Press, Wye.
- Paul, E. and Clark, F. 1996. *Soil microbiology and biochemistry*. 2 ed. Academic. 340 p.
- Perales, R. H., Brusck, S. B. y Qualset, S. O. 2003. Landraces of maize in central Mexico: An altitudinal transect. *Economy Botany*. 57: 7-20.
- Pérez-Agis, E., Morón, M. A., Nájera Rincón, M. B y Castro-Ramírez, A. 2014. Factores que influyen en la abundancia de larvas de Coleoptera: Melolonthidae con importancia agrícola en la región purhépecha, Michoacán, México. *Acta Zool. Mex.* (n.s.) 30(1).
- Poprawski, T. J. and W. N. Yule. 1991. Incidence of lungi in natural populations of *Phyllophaga* spp. and susceptibility of *Phyllophaga anxia* (LeConte)

- (Co.: Scarabaeidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina). J. App. Entomo. 112: 359-365.
- Ramírez-Salinas, C., A. E. Castro-Ramírez, y M. A. Morón. 2001. Descripción de la larva y pupa de *Euphoria basalis* (Gory & Percheron, 1833) (Coleoptera: Melolonthidae: Cetoniinae) con observaciones sobre su biología. Acta Zool. Mex. (n.s.) 83: 73-82.
- Ramírez-Salinas C, Morón M A, Castro-Ramírez C (2004) Descripción de los estados inmaduros de tres especies de *Anomala*, *Ancognatha* y *Ligyris* (Coleoptera: Melolonthidae: Rutelinae y Dynastinae) con observaciones de su biología. Acta Zool Mex (ns) 20: 67-82.
- Ríos-Rosillo, F; Romero-Parra, S. 1982. Importancia de los daños al maíz por insectos del suelo en el estado de Jalisco, México (Coleoptera). Folia Entomológica Mexicana 52:41- 60.
- Ritchie, S. W. 1992. How a corn plant develops. Special report No. 48. Iowa State University of Science and Technology. Cooperative Extension Service Ames. Iowa. 21 p.
- Robertson, J.L., Preisler, H.K., Russell, R.M. (2003) PoloPlus. Probit and logit analysis. LeOra software 2002-2003.
- Rodríguez del Bosque, L. A. 1996. Seasonal feeding by *Phyllophaga crinita* and *Anomala spp.* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae in Northeastern Mexico. J. Entomol. Sci. 31(3): 301-305.
- Rodríguez-del-Bosque, L.A.; Silvestre-García, F.; Hernández-Velázquez, V.M.; Quiroz-Martínez, H. & J. E. Throne 2005. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Phyllophaga crinita* and

Anomala flavipennis (Coleoptera: Scarabidae). Journal of Entomological Science 40 (1): 67-73.

Rodríguez-Segura, Z. 2012. Caracterización de la actividad insecticida de regiones genéticas de *Serratia entomophila* Mor4.1, cepa patogénica hacia larvas de Scarabaeidae. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Centro de Investigación en Biotecnología. UAEM. 138 p.

Romero-López, A. A., Morón, M. A., Aragón, A. y Villalobos, F. J. 2010. La "Gallina Ciega" (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) Vista Como Un "Ingeniero del Suelo" Source: Southwestern Entomologist, 35(3):331-343.

Ruiz- Vega, J., Aquino, T., Silva, M. E. y Girón S. 2012. Control integrado de la gallina ciega *Phyllophaga vetula* Horn (Coleoptera: Melolonthidae) con agentes entomopatógenos en Oaxaca, México. Revista Científica UDO Agrícola 12 (3): 609-616.

SAGARPA 2015. Agenda Técnica Agrícola de Morelos Segunda edición, 2015. ©Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

SAGARPA. 2013. Agenda de Innovación Tecnológica del Estado de Morelos Actualización 2013. En: <http://www.producemorelos.org/AGENDA%20FPMAC%202013.pdf>

Sanjivkumar, V. 2014. Effect of integrated nutrient management on soil fertility and yield of maize crop (*Zea mays*) in Entic Haplustart in Tamil Nadu, India. Journal of Applied and Natural Science 6(1): 294-297.

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2006. Capítulo 3. Suelos. Sección Suelos de México. Disponible en:

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/pdf/Cap3_suelos.pdf

(fecha de consulta: 16/junio/2015).

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2000.

Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial, martes 31 de diciembre. 2002.

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2007.

NMX-FF-109-SCFI-2007. Humus de Lombriz (Lombricomposta)-Especificaciones y Métodos de Prueba.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP-SAGARPA). 2014.

Cierre de la producción agrícola por cultivo. Disponible en:

<http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>

Fecha de consulta: 11 de octubre de 2015.

Shannon, P., S.M. Smith and E. Hidalgo. 1993. Evaluación en el laboratorio de

aislamientos costarricenses y exóticos de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae), pp: 203-215. In: Morón, M.A. (ed.), Diversidad y manejo de plagas subterráneas. Publicación especial de la Sociedad Mexicana de Entomología, Xalapa, Ver., México. 261pp.

Sikora, L. J., and N. K. Enkiri. 2001. Uptake of 15N fertilizer in compost-amended soils. *Plant and Soil* 235: 65–73.

Soleri, D., Cleveland, D. A. y Aragón-Cuevas, F. 2006. Transgenic crops and crop varietal diversity: The case of maize in Mexico. *BioScience*. 56: 503-513.

- Solís, A. J. F., González, H. H., Hernández, G. E. y Flores, M. J. F. 1999. Control químico de *Scyphophorus acupunctatus* en Jalisco. Memorias del XXXV Congreso Nacional de Entomología, Acapulco, México. p. 679-683.
- Soto, G.; Meléndez, G. 2004. Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica). 72: 91-97.
- St. Leger RJ, Joshi L, Bidochka MJ, Roberts DW (1996) Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. Proc Natl Acad Sci USA 93: 6349-6354.
- Sullivan D.M., Fransen S.C., Bary A.I., Cogger C. G. 1998. Fertilizer nitrogen replacement value of food residuals composted with yard trimmings, paper or wood wastes. Compost Science & Utilization 6(1):6-18.
- Suthar, S. 2009a. Vermistabilization of municipal sewage sludge amended with sugarcane trash using epigeic *Eisenia fétida* (Oligochaeta). Journal Hazard Material. 163: 199-206.
- Tae-Young, S., K. Seung-Hyun, L. Won-Woo, B. Sung-Min, Ch. Jae-Bang and W. Soo-Dong. 2013. Screening and evaluation of antibacterial metabolites from entomopathogenic fungi. Int. J. Indust. Entomol. 26: 89-94.
- Tanzini, M. R.; Batista, S.; Setten, A.; Toschi, N. 2001. Compatibilidad de agentes tensoactivos con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Manejo Integrado de Plagas, Costa Rica, n. 59, p. 15 - 18.
- Thu, D. T.; Henry-des-Tureaux, T.; Rumpel, C.; Janeau, J. L.; Jouquet, P. 2015. Impact of compost, vermicompost and biochar on soil fertility, maize yield and soil erosion in Northern Vietnam: A three year mesocosm experiment. Science of the Total Environment. 514: 147-154.

- Urías-López, M. 2000. Efecto de métodos de preparación del suelo sobre las plagas rizófagas del maíz de temporal de Nayarit. En: Stanford C., S., Morales M., A., Padilla J. R. y M. P. Ibarra G. (eds.) XXXV Congreso Nacional de Entomología. México, pp: 430-434.
- Vandermeer, J., van Noordwijk, M., Anderson, J., Ong, C., Perfecto, I. 1998. Global change and multi-species agroecosystems: Concepts and issues. *Agriculture Ecosystems and Environment* 67: 1-22.
- Velázquez-Cruz, E. J., Castro-Ramírez, A. E. y Ramírez-Salinas, C. 2006. Manejo agroecológico de "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae). En: Diversidad, importancia y manejo de escarabajos edafícolas. Castro-Ramírez, A. E., Morón, M. A. y Aragón, A. (Eds.). Publicación especial de El Colegio de la Frontera Sur, la Fundación PRODUCE Chiapas, A. C. y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. 209-220 pp.
- Villalobos, F. J. 1992. The potential of entomopathogens for the control of white grub pests of corn in Mexico, pp. 253-260. *In*: T. A. Jackson & T. R. Glare (Eds.), *Use of pathogens in scarab pest management*. Intercept. England.
- Villalobos, F. J., Goh, K. M., Emberson, R. M., Chapman, R. B. y McPherson, R. J. 1993. Interacciones entre la materia orgánica del suelo, la bacteria *Serratia entomophila* Grimont et al. y la alimentación de larvas de *Costelytra zealandica* (White) (Coleoptera: Melolonthinae). En: Diversidad y manejo de plagas subterráneas. M. A. Morón (comp.). Publicación especial de la Sociedad Mexicana de Entomología e Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz, México. 235-253 pp.

- Villalobos, F. J., Romero López, A. y Núñez-Valdez, M. E. 2001. Diagnóstico del problema causado por gallina ciega en cultivos de maíz del estado de Morelos. En: Memorias 1er Simposium de Manejo Integrado de Plagas del estado de Morelos. UAEM. Morelos, México.
- Villalobos, F. J., Vásquez-Govea, R., Romero-López, A. A. y Núñez-Valdez, M. E. 2003. La labranza de conservación y la agrobiotecnología como propuesta de manejo sustentable de la gallina ciega (Coleptera: Scarabacidae) en cultivos de maíz (*Zea mays*) de Morelos. En: A. Aragón, M. A. Morón y A. Marín (Eds.). Estudios sobre Coleópteros del suelo en América. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Guanajuato, México. 313-326 pp.
- Villani, M. G., S. R. Krueger & J. P. Nyrop. 1992. A case study of the impact of the soil environment on insect/pathogen interactions: scarab in turfgrass, pp: 111-126. In: T. A. Jackson & T. R. Glare (Eds.), *Use of pathogens in scarab pest management*. Intercept Limited, Andover.

CAPÍTULO IX. ANEXOS

El presente artículo ha sido publicado en la revista Journal of Pure & Applied Microbiology, en el volumen 10, número 6 del año 2016.

Pathogenicity, virulence and the interaction of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Phyllophaga vetula* (Coleoptera: Melolonthidae)

Solís Pérez, Ofelia.¹; Castillo Gutiérrez, Antonio²; Peña Chora, Guadalupe³; Alvear García Andrés⁴; Serrano Morales, Miguel Mizraim⁵; Suárez Rodríguez Ramón¹; Hernández Velázquez, Víctor Manuel^{1*}

¹Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Campus Chamilpa. Avenida Universidad 1001. 62209, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, Mexico.

² Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Nicolás Bravo S/N Parque Industrial Cuautla, Ayala, Morelos, México. C.P. 62715.

³Centro de Investigaciones Biológicas. Campus Chamilpa.

⁴Facultad de Ciencias Agropecuarias. Campus Chamilpa.

⁵Facultad de Ciencias Biológicas. Campus Chamilpa.

*Corresponding author Tel.: +52-777-3-29-70-57,

E-mail address: vmanuelh@uaem.mx

Key words: white grub, bioassay, entomopathogenic fungi, lethal concentration.

Abstract

Phyllophaga spp. cause severe damage to maize, sorghum, wheat, sugarcane, bean, amaranth and peanut in Mexico, Central America and the USA. Control measures for white grubs have depended mainly on persistent chemicals. An ecologically safe strategy is the use of entomopathogens in combating soil pests,

which is based on the identification of a complex of pest species and their native pathogens and to subsequently select the microorganism with the greatest potential for this purpose. The objective of this study was to determine the pathogenicity, virulence and the interaction between native strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* from Morelos State against *P. vetula*. The fungal isolates of *M. anisopliae* and *B. bassiana* showed differential pathogenicity against *P. vetula*. The *M. anisopliae* isolates were more pathogenic than those of *B. bassiana*. *M. anisopliae* isolates from a *Phyllophaga* sp. host were more pathogenic (46.66 to 73.33%) than those from an insect tramp, *G. mellonella* (00.00 to 20%). The mortality caused by the most highly pathogenic isolate of *M. anisopliae*, HI-019, (86.06%) decreased significantly ($P < 0.05$) when the inoculation was simultaneous with *B. bassiana* HI-113 (61.06%), but the mortality was statistically the same as that when the grubs were inoculated with only *B. bassiana* (52.73%). The estimated LC_{50} values of *M. anisopliae* isolates Ma17 and Ma19 against *P. vetula* larvae were 4.749×10^7 conidia/mL and 7.684×10^8 conidia/mL, respectively, which are statistically equivalent.

Introduction

Melolonthidae larvae have slightly to strongly curved, C-shaped bodies, distinctive legs, and hardened head capsules, and they are referred to as white grubs. Mexico is a centre of diversity for the Melolonthidae (1), and a large number of species of the genus *Phyllophaga* have been recorded (386 in Mexico). Only relatively few species cause economic damage (2); these include

Phyllophaga obsoleta (Blanchard), *P. ravidata* (Blanchard), and *P. vetula* Horn, which are distributed throughout the Mexican highlands (3).

Phyllophaga spp. cause severe damage to maize, sorghum, wheat, sugarcane, bean, amaranth and peanut in Mexico, Central America and the USA. Historically, control measures for white grubs have depended mainly on persistent chemicals, but because of concerns regarding safety and environmental contamination, other forms of control such as biological control have been proposed (3).

Due to their underground habitat during development, the grubs are susceptible to infection by microorganisms such as viruses, bacteria, protists, fungi and nematodes (3,4), with the latter having a high potential for use in the control of microbial growth (5). An ecologically safe strategy in combating soil pests, the use of entomopathogens, is based on the identification of a complex of pest species and their native pathogens and to subsequently select the microorganism with the greatest potential for this purpose, taking as benchmarks the virulence, mobility, persistence, specificity and production costs of the pathogen (6).

Moist conditions, a relatively stable temperature, and protection against ultraviolet light from the soil favour the infection of larval melolonthids by entomopathogenic fungi (7), providing them with a high potential to act as control agents against rhizophagous larvae. Previous work involving bioassays with

larval melolonthids has been inconsistent, largely because these bioassays have been performed using larvae collected in the field because breeding these species is difficult as a result of their annual cycles and underground habit. The objective of this study was to determine the pathogenicity, virulence and interactions between native Morelos state strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *P. vetula*.

Materials and Methods

Fungal isolates

Seven isolates of *M. anisopliae* and 20 of *B. bassiana* that were previously obtained in a survey conducted in Morelos State to collect native isolates of entomopathogenic fungi from infected white grubs or an insect tramp (*Galleria mellonella*) in a maize field were used (8). The fungi were grown on Sabouraud dextrose agar (SDA) that included 5 g/l of mild peptone, 5 g/l casein peptone, 40 g/l dextrose, and 1.5 g/l agar. The culture was adjusted to pH 5.6 ± 0.2 , was incubated in a dark room at 27 ± 1 °C for 15 d to induce sporulation, and was then preserved at 4 ± 2 °C. Conidia were recovered from the Petri dishes using distilled water (with 0.05% Tween 80) in a laminar flux chamber (CFLV-80; Aparatos de Laboratorio BG, Mexico). The conidia were counted in a Neubauer chamber.

***P. vetula* larvae**

A large number of insects were required to perform the bioassays. For the pathogenicity and interaction experiment, a total of 1000 third-instar larvae of *P. vetula* were collected in the field in Villa de Ayala, Morelos, Mexico, placed individually in 30-ml plastic cups covered with plastic lids, transported to the laboratory, and maintained at $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 7d before the bioassay. The collected larvae were separated based on the presence of palidia that were almost parallel in the last abdominal segment (raster) and 23-30 pali (9). A small piece of carrot was added to each cup for food.

For the LC_{50} bioassays, a total of 600 first-instar larvae of *P. vetula* were field-collected at the same site but were maintained at $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ up to the third instar.

Bioassays

The procedure to inoculate each isolate was the same for all of the experiments. For the analysis of pathogenicity, 27 treatments (seven isolates of *M. anisopliae* and 20 of *B. bassiana*) with 15 larvae each were tested. Field-collected larvae were surface-sterilized with a 2% NaCl solution, washed with distilled water, and placed on paper towels to eliminate excess water. The bioassay followed a modified “maximum challenge test” methodology, which is useful for separating virulent from non-virulent isolates at the early stages of entomopathogen screening programmes (10). Because of the great variability in isolates (11),

various conidial densities were used in the bioassay rather than sporulating strains.

For the interaction bioassay, the conidia of *M. anisopliae* (HI-019) and *B. bassiana* (HI-113) were evaluated alone and in combined doses of 1×10^8 con/ml, and distilled water (with 0.05% Tween 80) was used as a control. A completely randomized design was used, and each experimental unit was composed of 15 third-instar larvae of *P. vetula*. Each treatment was applied in the same way as in the pathogenicity bioassays. All bioassays were carried out in triplicate. The mortality of white grubs was determined at 8 and 12 d.

After treatment, the larvae were placed individually into 30-ml cups with a piece of carrot as a food source. The larvae were maintained at $25 \pm 1^\circ\text{C}$, and mortality was evaluated by touching the grub on the thoracic segments with a probe.

Virulence bioassays (LC₅₀)

Virulence was determined at four concentrations, and distilled water (with 0.05% Tween 80) was used as a control. Four *M. anisopliae* isolate Ma17 conidial densities were evaluated: 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , and 1×10^8 conidia/ml, and four conidial densities of isolate Ma19 were evaluated: 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^7 , and 1×10^8 conidia/ml. Each treatment was applied in the same way as in the pathogenicity bioassays. All bioassays were carried out in triplicate. The mortality was determined at 30 d. A total of 45 third-instar larvae of *P. vetula* were used per treatment, and 225 were used per bioassay.

Statistical analysis

The percentage mortality data were arcsine transformed for statistical analysis. After processing the data, we performed analysis of variance (ANOVA) and Tukey's multiple comparisons of means at a significance level of 0.05 using the statistical package SAS 9.1 (2003). Probit analysis was performed to estimate the mean lethal concentration 50 (LC₅₀), and confidence intervals (CIs) were generated using the statistical package Polo Plus (12).

Results and Discussion

Pathogenicity is a qualitative measure of the ability of a pathogen or parasite to cause disease in a host (5). The fungal isolates of *M. anisopliae* and *B. bassiana* showed different pathogenicity against *P. vetula*. In general, the *M. anisopliae* isolates (Table 1) were more pathogenic than those of *B. bassiana* (Table 2), corroborating other studies with *Phyllophaga* spp. (13,14). *M. anisopliae* isolates from a *Phyllophaga* sp. host were more pathogenic (46.66 to 73.33%) than those from an insect tramp, *G. mellonella* (00.00 to 20%). In this way, differential susceptibility of *Phyllophaga* spp. to fungal infection has been reported elsewhere (15, 16), and in *P. polyphylla*, larval infection never exceeded 30% for *B. bassiana* or *M. anisopliae* (17).

Table 1. Mortality of third-instar larvae of *P. vetula* caused by the conidia from seven isolates of *Metarhizium anisopliae* up to 30 d after inoculation. The conidial concentration was 1×10^8 c/mL (n=15). All isolates obtained for this study were from locations within Morelos, Mexico.

Isolate	Geographical origin	Host	% mortality
HI-010	Ocuituco	<i>Galleria mellonella</i>	20.00
HI-011	Yecapixtla	<i>Galleria mellonella</i>	13.33
HI-014	Chalcatzingo	<i>Galleria mellonella</i>	0.00
HI-016	Tlayca	<i>Anomala</i> sp.2 L2	26.66
HI-017	Tetela del Volcán	<i>Phyllophaga</i> sp. L3	60.00
HI-019	San Andrés de la Cal	<i>Phyllophaga</i> sp.3 L2	73.33
HI-020	San Andrés de la Cal	<i>Phyllophaga</i> sp.5 L3	46.66

Table 2. Mortality of third-instar larvae of *P. vetula* caused by the conidia from seven isolates of *Beauveria bassiana* up to 30 d after inoculation. The conidial concentration was 1×10^8 c/mL (n=15). All isolates obtained for this study were from locations within Morelos, Mexico.

Isolate	Geographical origin	Host	% mortality
HI-113	Yecapixtla	<i>Galleria mellonella</i>	53.33
HI-114	Totolapan	<i>Galleria mellonella</i>	0.00
HI-115	Ocuituco	<i>Galleria mellonella</i>	40.00
HI-116	Ocuituco	<i>Galleria mellonella</i>	26.66
HI-118	Jumiltepec	<i>Galleria mellonella</i>	26.66
HI-119	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	40.00
HI-121	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	13.33
HI-122	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	20.00
HI-123	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	6.66
HI-124	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	40.00
HI-125	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	13.33
HI-126	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	13.33
HI-127	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	6.66
HI-128	Campus UAEM	<i>Lygus</i> sp.	20.00
HI-129	Yautepec	<i>Galleria mellonella</i>	26.66
HI-133	Jonacatepec	<i>Galleria mellonella</i>	6.66
HI-134	Temoac	<i>Galleria mellonella</i>	33.33
HI-135	Temoac	<i>Galleria mellonella</i>	6.66
HI-136	Tenextepango	<i>Galleria mellonella</i>	33.33
HI-137	Tenextepango	<i>Galleria mellonella</i>	33.33

The mortality caused by the highly pathogenic isolate of *M. anisopliae* HI-019 (86.06%) decreased significantly ($P < 0.05$) when the inoculation was

simultaneous with *B. bassiana* HI-113 (61.06%), but the mortality was statistically the same as when a grub was inoculated with only *B. bassiana* (52.73%) (Table 3). In the biocontrol of insect pests, the efficacy of treatment with multiple pathogens has not been frequently investigated but may have some potential in effective management efforts. Co-infection in the field is not commonly reported; however, co-infection by *Entomophthora aulicae* and *Paecilomyces canadensis* was reported for *Lymantria dispar* in field observations of epizootic disease in a gypsy moth population in Japan (18). In the rhizosphere, *Phyllophaga* spp. are frequently subject to co-infection by pathogens of distinct species (5). From the experiments presented here, no beneficial effect was apparent in using the two fungi together. Similar results have been reported for other insect hosts (19). Recent information about the antimicrobial activity of secondary metabolites isolated from *B. bassiana* and *M. anisopliae* has identified potentially bioactive substances with antimicrobial activity (20), which can cause one fungal infection to outcompete another.

Table 3. Mortality caused by isolates of *M. anisopliae* (HI-019) and *B. bassiana* (HI-113) alone and in combination at conidial densities of conidia/mL against third-instar larvae of *P. vetula*.

Treatment	8 d (DE)	12 d (DE)
Ma	52.74(±17.33) a	86.06(±9.58) a
Bb	44.4(±4.84) a	52.73(±9.64) ab
Ma + Bb	38.86(±9.64) ab	61.06(±17.37) b
Control	13.86(±9.64) b	22.2(±4.84) c

For 8 d, ANOVA (P= 0.0149), C.V. = 30.13. For 12 d, ANOVA (P= 0.0007), C.V. = 20.60.
 Different letters between columns indicate significant differences (P < 0.05)

The estimated LC₅₀ values of *M. anisopliae* isolates Ma17 and Ma19 against third-instar larvae of *P. vetula* were 4.749×10^7 conidia/mL and 7.684×10^8 conidia/mL, respectively, which are statistically equivalent. Thus, additional studies must be conducted to further evaluate these isolates against white grubs under greenhouse and/or field conditions (10, 14). Similarly, the more virulent strains can be considered as candidates for sustainable agriculture based on a strategy of conservation biological control (21).

Table 4. Lethal concentration 50 (LC₅₀) of conidia of *Metarhizium anisopliae* isolates Ma17 and Ma19 against third-instar larvae of *P. vetula*.

Strain	LC ₅₀ (c/mL)	95% CI LC ₅₀	
		Lower limit	Upper limit
Ma17	4.749×10^7	4.735×10^6	3.303×10^9
Ma19	7.684×10^8	3.721×10^8	1.389×10^9

Acknowledgements

The first author acknowledges the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología for the PhD fellowship and the anonymous reviewers for the improvement of the manuscript.

References

1. Morón, M.A. 1986. El Género *Phyllophaga* en México. Instituto de Ecología, México, D.F.
2. Morón, M.A. 2010. Diversidad y distribución del complejo “gallina ciega” (Coleoptera: Scarabaeoidea), pp: 41-63. In: L.I. Rodríguez del Bosque and M.A. Morón (edit.) Plagas del Suelo. Mundi Prensa México, S.A. de C.V.
3. Jackson, T.A. and M.G. Klein. 2006. Scarabs as pests: a continuing problem. Coleopterists Society Monograph Number 5: 102-119.
4. Allsopp, P.G. 2010. Integrated management of sugarcane whitegrubs in Australia: an evolving success. Annu. Rev. Entomol. 2010: 55: 329-349.
5. Johnson, S.N. and S. Rasmann. 2015. Root-feeding insects and their interactions with organisms in the rhizosphere. Annu. Rev. Entomol. 60: 517-535.
6. Villalobos, F. J. 1992. The potential of entomopathogens for the control of white grub pests of corn in Mexico, pp. 253-260. In: T. A. Jackson & T. R. Glare (Eds.), *Use of pathogens in scarab pest management*. Intercept. England.

7. Villani, M. G., S. R. Krueger & J. P. Nyrop. 1992. A case study of the impact of the soil environment on insect/pathogen interactions: scarab in turfgrass, pp: 111-126. *In*: T. A. Jackson & T. R. Glare (Eds.), *Use of pathogens in scarab pest management*. Intercept Limited, Andover.
8. Hernández Velázquez, V., Zito Cervantes Espíndola, F. J. Villalobos, Laura Lina García y Guadalupe Peña Chora. 2011. Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.) 27(3): 591-599.
9. Hernández-Cruz, J., M. A. Morón, J. Ruiz-Vega, J.A. Sánchez-García, L. Martínez-Martínez and R. Pérez Pacheco. 2016. Descripción de la larva de *Phyllophaga lenis* (Coleoptera: Melolonthidae) en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México, con notas sobre su biología. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.) 32(1): 55-61. ISSN 0065-1737.
10. Milner, R.J. 1992. Selection and characterization of strains of *Metarhizium anisopliae* for control of soil insects in Australia, Pp. 200-207. In C.J. Lomer and C. Prior, (eds.), *Biological control of locusts and grasshoppers*. C.A.B. International.
11. Carrillo Benítez, M.G., A.W. Guzmán Franco, R. Alatorre Rosas and J.N. Enríquez Vara. 2013. Diversity and genetic population structure of fungal pathogens infecting White grub larvae in agricultural soils. *Microb. Biol.* 65:437-449. DOI 10.1007/s00248-012-0124-9.
12. Robertson, J.L., Preisler, H.K., Russell, R.M. (2003) PoloPlus. Probit and logit analysis. LeOra software 2002-2003.

13. Poprawski, T. J. and W. N. Yule. 1991. Incidence of lungi in natural populations of *Phyllophaga* spp. and susceptibility of *Phyllophaga anxia* (LeConte) (Co.: Scarabaeidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina). J. App. Entomo. 112: 359-365.
14. Shannon, P., S.M. Smith and E. Hidalgo. 1993. Evaluación en el laboratorio de aislamientos costarricenses y exóticos de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae), pp: 203-2015. In: Morón, M.A. (ed.), Diversidad y manejo de plagas subterráneas. Publicación especial de la Sociedad Mexicana de Entomología, Xalapa, Ver., México. 261pp.
15. Rodríguez-del-Bosque, L.A.; Silvestre-García, F.; Hernández-Velázquez, V.M.; Quiroz-Martínez, H. & J. E. Throne 2005. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Phyllophaga crinita* and *Anomala flavipennis* (Coleoptera: Scarabidae). Journal of Entomological Science 40 (1): 67-73.
16. Morales-Rodríguez, A., A. Ospina and D.C. Peck. 2010. Variation in the laboratory susceptibility of turf-infesting white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) to biological, biorational and chemical control products. Pests Manag. Sci. 66: 90-99.
17. Guzmán-Franco AW, J. Hernández-López, J.N. Enríquez-Vara, R. Alatorre-Rosas, F. Tamayo-Mejía, L. Ortega-Arenas. 2012. Susceptibility of *Phyllophaga polyphilla* and *Anomala cincta* larvae to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates, and the interaction with soil properties. BioControl 57:553–563.

18. Aoki, J. 1974. Mixed infection of the gypsy moth, *Lymantria dispar japonica* Motschulsky (Lepidoptera: Lymantriidae), in a larch forest by *Entomophthera aulicae* (Reich.) Sorok. and *Paecilomyces canadensis* (Vuill.) Brown et Smith. Appl. Ent. Zool. 9(3): 185-190.
19. Maheswara Rao, C.U., K. Uma Devi and A. Ali Khan. 2006. Effect of combination treatment with entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Nomuraea rileyi* (Hypocreales) on *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Biocontrol Science and Technology 16: 221-232.
20. Tae-Young, S., K. Seung-Hyun, L. Won-Woo, B. Sung-Min, Ch. Jae-Bang and W. Soo-Dong. 2013. Screening and evaluation of antibacterial metabolites from entomopathogenic fungi. Int. J. Indust. Entomol. 26: 89-94.
21. Meyling, N.V. and J. Eilenberg. 2007. Ecology of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. Biological Control 43: 145-155.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 29 de mayo de 2019

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (Tutor)
Dr. Antonio Castillo Gutiérrez (Co Tutor)
Dr. Guadalupe Peña Chora
Dra. Angeluz Olvera Velona
Dr. Ramón Suárez Rodríguez
Dra. Verónica Obregón Barboza
Dr. José Augusto Ramírez Trujillo.

Tesis: "Efectividad de vermicomposta en el cultivo de maíz y susceptibilidad de *Metarhizium anisopliae* en *Phyllophaga sp.*"

Alumno que la presenta a revisión: OFELIA SOLIS PEREZ

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. VICTOR MANUEL HERNÁNDEZ VELAZQUEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 29 de mayo de 2019

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (Tutor)

Dr. Antonio Castillo Gutiérrez (Co Tutor)

Dr. Guadalupe Peña Chora

Dra. Angeluz Olvera Velona

Dr. Ramón Suárez Rodríguez

Dra. Verónica Obregón Barboza

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo.

Tesis: "Efectividad de vermicomposta en el cultivo de maíz y susceptibilidad de *Metarhizium anisopliae* en *Phyllophaga sp.*"

Alumno que la presenta a revisión: OFELIA SOLIS PEREZ

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DRA. ANGELUZ OLVERA VELONA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 29 de mayo de 2019

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (Tutor)
Dr. Antonio Castillo Gutiérrez (Co Tutor)
Dr. Guadalupe Peña Chora
Dra. Angeluz Olvera Velona
Dr. Ramón Suárez Rodríguez
Dra. Verónica Obregón Barboza
Dr. José Augusto Ramírez Trujillo.

Tesis: "Efectividad de vermicomposta en el cultivo de maíz y susceptibilidad de *Metarhizium anisopliae* en *Phyllophaga sp.*"

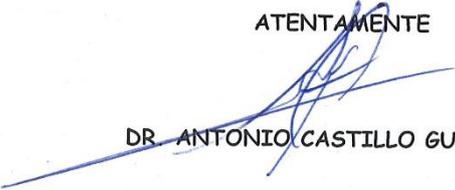
Alumno que la presenta a revisión: OFELIA SOLIS PEREZ

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE


DR. ANTONIO CASTILLO GUTIERREZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 29 de mayo de 2019

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (Tutor)

Dr. Antonio Castillo Gutiérrez (Co Tutor)

Dr. Guadalupe Peña Chora

Dra. Angeluz Olvera Velona

Dr. Ramón Suárez Rodríguez

Dra. Verónica Obregón Barboza

Dr. José Augusto Ramírez Trujillo.

Tesis: "Efectividad de vermicomposta en el cultivo de maíz y susceptibilidad de *Metarhizium anisopliae* en *Phyllophaga sp.*"

Alumno que la presenta a revisión: OFELIA SOLIS PEREZ

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. JOSE AUGUSTO RAMIREZ TRUJILLO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 29 de mayo de 2019

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (Tutor)
Dr. Antonio Castillo Gutiérrez (Co Tutor)
Dr. Guadalupe Peña Chora
Dra. Angeluz Olvera Velona
Dr. Ramón Suárez Rodríguez
Dra. Verónica Obregón Barboza
Dr. José Augusto Ramírez Trujillo.

Tesis: "Efectividad de vermicomposta en el cultivo de maíz y susceptibilidad de *Metarhizium anisopliae* en *Phyllophaga*.sp."

Alumno que la presenta a revisión: OFELIA SOLIS PEREZ

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. GUADALUPE PEÑA CHORA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 29 de mayo de 2019

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (Tutor)
Dr. Antonio Castillo Gutiérrez (Co Tutor)
Dr. Guadalupe Peña Chora
Dra. Angeluz Olvera Velona
Dr. Ramón Suárez Rodríguez
Dra. Verónica Obregón Barboza
Dr. José Augusto Ramírez Trujillo.

Tesis: "Efectividad de vermicomposta en el cultivo de maíz y susceptibilidad de *Metarhizium anisopliae* en *Phyllophaga sp.*"

Alumno que la presenta a revisión: OFELIA SOLIS PEREZ

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DRA. VERONICA OBREGON BARBOZA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 29 de mayo de 2019

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (Tutor)
Dr. Antonio Castillo Gutiérrez (Co Tutor)
Dr. Guadalupe Peña Chora
Dra. Angeluz Olvera Velona
Dr. Ramón Suárez Rodríguez
Dra. Verónica Obregón Barboza
Dr. José Augusto Ramírez Trujillo.

Tesis: "Efectividad de vermicomposta en el cultivo de maíz y susceptibilidad de *Metarhizium anisopliae* en *Phyllophaga sp.*"

Alumno que la presenta a revisión: OFELIA SOLIS PEREZ

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. RAMON SUAREZ RODRIGUEZ