

EFICIENCIA DE *Bacillus thuringiensis* Línea HD-1 EN EL CONTROL DE *Spodoptera frugiperda* (Smith), *Lepidoptera*; *Noctuidae* EN CONDICIONES DE CAMPO Y DE LABORATORIO EN EL CULTIVO DE MAÍZ DULCE *Zea mays Saccharata*.¹

Edgar Miguel Ruíz Abdala²

Claudia Carolina Cabral Antúnez³

César Pino Quintana³

ABSTRACT

The experiment was carried out at the Entomology Division of the College of Agricultural Science of National University of Asunción under controlled conditions of temperature $25 \pm 2^\circ\text{C}$ and relative humidity of $70 \pm 10\%$. The field experiment phase was carry out at the same institution. Studies concerning the efficiency of *Bacillus thuringiensis* variety Kurstaki, Line HD- 1, at different stages of *Spodoptera frugiperda* (third and fourth) obtained from laboratory breeding from eggs collected in the field and nourished over sweet corn var Bright Jean were realized. The mortality ratio of larvae from the different instars was evaluated at 24, 48, 72, 96 and 120 hours after the application of *Bacillus thuringiensis*. Results showed the efficiency of the product based on B.t. Línea HD-1 over the larvae of the third and fourth instars. Larva of third instars were observed and average of 90% of efficiency after 120 hours of application. The larvae of fourth instars showed 80 % efficiency average to the final observation level. On field conditions 57,35% of efficiency was observed at 120 hours after the application of the third instars of *Spodoptera frugiperda* (Smith).

RESUMEN

El experimento fue realizado en el laboratorio de la División de Entomología del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de Asunción, bajo condiciones controladas de temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de $70 \pm 10\%$. La fase de campo se realizó en los predios del campo experimental de la misma casa de estudio. Se realizaron estudios sobre la eficiencia de *Bacillus thuringiensis*, Línea HD-1 en larvas de diferentes instares (tercer y cuarto) de *Spodoptera frugiperda* obtenidas de la cría en el laboratorio con huevos recolectados del campo, donde las larvas fueron alimentadas con hojas tiernas de maíz dulce var. Bright Jean. El porcentaje de mortalidad, de larvas en los diferentes instares, fue evaluado a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la aplicación del producto a base de *Bacillus thuringiensis* variedad Kurstaki Línea HD-1. Los resultados demostraron la eficiencia de la formulación a base de B.t. Línea HD-1 sobre larvas del tercer y cuarto instar de *S. frugiperda*. En larvas del tercer instar se observó un porcentaje de eficiencia del 90%, a las 120 horas de la aplicación; en las larvas del cuarto instar presentó una eficiencia del 80% al final del periodo de observación. En la fase de campo se logró una eficiencia del 57,25% a las 120 horas de la aplicación, sobre larvas del tercer instar de *S. frugiperda* obtenidas de la cría de laboratorio.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, *Spodoptera frugiperda*, raising, efficiency.

Palabras Clave: *Bacillus thuringiensis*, *Spodoptera frugiperda*, raising, efficiency.

¹ Parte de la Tesis de Grado presentada en la Orientación de Producción Agrícola de la FCA-UNA

² Ing. Agr., Egresado de la FCA-UNA - Promoción 2003.

³ Ing. Agr., Docente Investigador del Departamento de Protección Vegetal de la FCA – UNA. San Lorenzo Paraguay.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del maíz *Zea mays*, ocupa posiciones de destaque en la agricultura, tanto a nivel mundial como a nivel de la agricultura paraguaya, al punto de constituirse en la actualidad en uno de los rubros de mayor importancia en el mundo, por ser utilizado tanto en la alimentación humana como en la alimentación animal.

La variedad Saccharata de maíz, o maíz dulce, pertenece a los más utilizados en la alimentación humana, en estado fresco o como producto industrializado.

Naturalmente son muchas las variables que interactuando, propician una mayor o menor productividad en el cultivo del maíz, pero sin duda, los problemas ocasionados por *Spodoptera frugiperda*, plaga más importante en este cultivo, tiene gran importancia en el sistema de producción de este rubro.

Esta plaga se caracteriza por el daño a las hojas centrales desde el inicio del ciclo, pudiendo llegar a destruir a las plantas por completo, como sucede con la mayoría de las plagas de los cultivos, pero los daños más drásticos produce durante los meses de mayor calor. En el verano ataca a las plantas, desde que estas tienen escasamente entre 10 a 15 cm de altura.

Parsons (1994) afirma que la capacidad de daño de las larvas está influenciada por el vigor de la planta y por el clima, pudiendo llegar a ser severos los daños en regiones tropicales, con una reducción del 60% en la producción de granos.

Diversos métodos de control vienen siendo utilizados, en la tentativa de minimizar las poblaciones de estos insectos, como ser el control mecánico, control químico, y más recientemente el control biológico, que constituye un vasto campo de estudios, basado en el fenómeno natural de que muchas especies viven a expensas de otros organismos, cuyas poblaciones son reguladas y a veces erradicadas del ecosistema.

Este tipo de control presenta algunas ventajas como el hecho de no dejar residuos, ser más específico y generalmente no provocar desequilibrios, además de ser más permanente y más barato que un control químico. En contrapartida, pero también presenta algunas limitaciones, como tener una acción más lenta que los insecticidas químicos y ser más eficiente para cultivos perennes y semi-perennes, donde la población de plagas se puede mantener continua todo el año.

Entre los organismos utilizados para el control biológico de *Spodoptera frugiperda* se destaca el uso del *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis (Bt) es un bacilo gram-positivo, aerobio, que se encuentra en forma natural en el suelo.

Actualmente es el biopreparado más utilizado en la práctica y representa más del 90% del mercado de insecticidas biológicos (IABIOTEC, 2002).

Esta bacteria es utilizada para el control de larvas de lepidópteros, y su forma de acción es a través de la ingestión y posterior intoxicación de la plaga, que tiene lugar dentro de su aparato digestivo, debido a una parálisis intestinal, pudiendo señalarse como síntomas de la intoxicación del insecto por *Bacillus thuringiensis* el cambio de coloración, el vómito, diarrea y finalmente la muerte del insecto (SERV-SAN, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización.

Los trabajos experimentales fueron ejecutados en el campo experimental y en el laboratorio de la División de Entomología, del Departamento de Protección Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción, ubicada en San Lorenzo – Paraguay.

Periodo experimental.

El periodo experimental, a nivel de laboratorio y de campo, se extendió de octubre del 2002 a febrero del 2003. Los trabajos de gabinete se extendieron hasta el mes de marzo del 2003.

Semilla, germinación y transplante.

La semilla utilizada fue el híbrido Súper dulce Bright Jean de ciclo corto (70 - 80 días). Para la germinación de las mismas, primeramente fueron introducidas en agua por espacio de cuatro horas para su imbibición, luego fueron retiradas y colocadas sobre papel para su germinación; transcurridas 24 horas se procedió a la siembra de las mismas, en las bandejas de germinación. Siete días después de la siembra en las bandejas de germinación, las plántulas obtenidas fueron retiradas de las mismas y se procedió al transplante en el lugar definitivo.

Experimento en condiciones de laboratorio.

Una vez obtenidas las larvas de *Spodoptera frugiperda*, criadas en el laboratorio bajo condiciones controladas de temperatura: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa: $70 \pm 5\%$, mediante la colecta de huevos del campo las del tercer y cuarto, fueron colocadas en tubos de ensayos numerados y alimentadas con hojas de maíz dulce Bright Jean de un diámetro de 4 cm, luego estas hojas fueron tratadas con el producto biológico a base de *B.t.* Línea HD-1, para lo cual se procedió a colocar las hojas en el recipiente que contenía la formulación, con una dosis de dos gramos por litro de agua, por un espacio de 30 segundos, para luego dejarlas secar y proceder a colocarlas en los tubos de ensayos respectivos.

Experimento en condiciones de campo.

Treinta días después del transplante se realizó la infestación de las plantas de maíz, con dos larvas de *Spodoptera*

frugiperda del tercer instar provenientes de la cría realizada en el laboratorio. Las larvas fueron colocadas en el brote apical de las plantas; por medio de la utilización de pinceles, que tenían las puntas mojadas con agua, a fin evitar daños a las larvas. Un día después de la infestación, se realizó la aplicación de *B.t.* Línea HD-1 por medio de la utilización de una mochila pulverizadora, con la dosis citada anteriormente. El experimento se realizó en una parcela de 200 m².

Análisis estadísticos de los datos obtenidos.

Los datos obtenidos a través de los análisis, tanto a nivel de laboratorio como a nivel de campo, fueron evaluados por medio del método de Abbot, mediante la fórmula:

$$\text{Eficiencia de producto} = \frac{(T - t)}{T'} \times 100$$

Donde: T: número de insectos vivos en el testigo.

t: número de insectos vivos en el tratamiento.

T': número de insectos vivos en el testigo.

(Abbot Laboratories, 1989)

A su vez se realizó un análisis de X² (Ji cuadrada), tanto para los datos a nivel de laboratorio como a nivel de campo, con el objeto de verificar si existe o no diferencia significativa con respecto a la aplicación del producto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) del tercer instar en condiciones de laboratorio.

En la Tabla 1 se observa la eficiencia de *Bacillus thuringiensis* Línea HD-1, en larvas del tercer instar de *Spodoptera frugiperda* (Smith), en respuesta a la aplicación del producto biológico. Se percibe que el mayor porcentaje de mortalidad se produjo a las 96 horas aproximadamente, con una eficiencia del 73,33% y al final del período de observación se obtuvo 90 % de eficiencia de la bacteria entomopatógena, acumulados durante 120 horas después de la aplicación, aproximándose a los resultados obtenidos por Cortes et al. (1999), que encontraron una eficiencia de los 95% acumulados durante 120 horas después de la aplicación de la misma bacteria. La apariencia de las larvas muertas por el producto biológico a base de *B.t.* Línea HD-1 se caracteriza por presentar un aspecto seco con el tegumento y las partes del cuerpo bien definidas debido a la intoxicación, que ocurre a nivel de las células epiteliales del intestino, lo que desencadena un proceso de plasmólisis, en donde las mismas pierden su líquido vital y luego mueren.

El tiempo de máxima eficiencia del *Bacillus thuringiensis* Línea HD-1 se obtiene a las 88,44 horas después de la aplicación del producto con un porcentaje del 29,60% (Figura 1). Este dato proviene del ajuste matemático realizado, que permitió la obtención de una ecuación de segundo grado, para relacionar los periodos de observación con la eficiencia del producto.

Tabla. 1 Número de larvas muertas del tercer instar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera; Noctuidae) y porcentaje (%) de eficiencia del producto biológico *Bacillus thuringiensis* tratadas en condiciones de laboratorio. San Lorenzo, 2002.

Horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas
Nº acumulado de larvas muertas	0	2	10	22	27
% acumulado de eficiencia	0	6,66	33,33	73,33	90,00

Porcentaje de mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) del cuarto instar en condiciones de laboratorio.

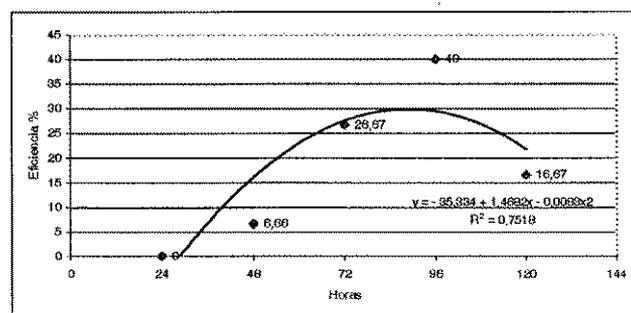


Figura 1. Eficiencia de *Bacillus thuringiensis* Línea HD-1 para el control de larvas de *Spodoptera frugiperda* del tercer instar en condiciones de laboratorio. San Lorenzo, 2002.

El mayor porcentaje de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Spodoptera frugiperda* (Smith), debido a la acción de *Bacillus thuringiensis* Línea HD-1, se registra a las noventa y seis (96) horas, aproximadamente, con un porcentaje del 60 %, llegando al 80% de eficiencia transcurridas 120 horas de la aplicación (Tabla 2).

Lo anterior no coincide con los resultados encontrados por Bujanos & Muñiz (2001), que observaron la mayor mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* a las 48 horas de la ingestión de *B.t.* con un porcentaje de eficiencia superior al 70%.

Según la Figura 2, el mayor porcentaje o punto de máxima eficiencia se observa a las 108,25 horas después de la aplicación del *B.t.* con un valor de 27,39 %. Este dato proviene del ajuste matemático realizado que permitió la obtención de una ecuación de segundo grado que relaciona el porcentaje de eficiencia del producto biológico utilizado con el tiempo transcurrido después de haber hecho la aplicación del mismo

Porcentaje de mortalidad de larvas de *Spodoptera*

frugiperda (Smith) del tercer instar en condiciones de campo.

Tabla. 2 Número de larvas muertas del cuarto instar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera; Noctuidae) y porcentaje (%) de eficiencia del producto biológico *Bacillus thuringiensis* tratadas en condiciones de laboratorio. San Lorenzo, 2002.

Parámetro \ horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas
Nº acumulado de larvas muertas	0	1	6	18	24
% acumulado de eficiencia	0	3,3	20,0	60,0	80,0

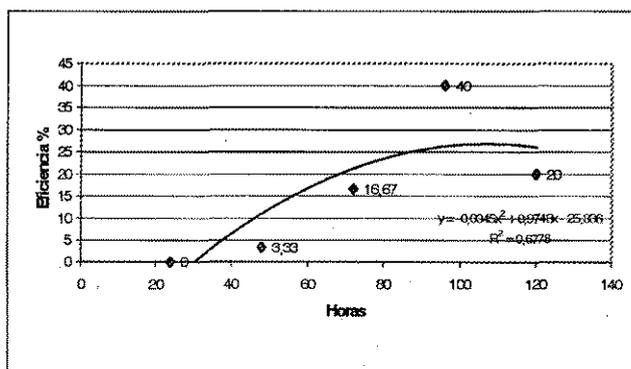


Figura. 2 Curva ajustada de la eficiencia de *Bacillus thuringiensis* Línea HD-1 en larvas de *Spodoptera frugiperda* del cuarto instar en condiciones de laboratorio. San Lorenzo, 2002.

El mayor porcentaje de mortandad de larvas ocurrió entre las 48 y 96 horas, y la máxima eficiencia alcanzada por el producto biológico a base de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki Línea HD-1 fue de 57,35 %, a las 120 horas después de su aplicación, menor al porcentaje obtenido en condiciones de laboratorio para las larvas del mismo instar (Tabla 3).

Este resultado se debe a las condiciones de campo, donde no se puede tener un control minucioso de todas las variables, ya que éstas pueden ser influenciadas por factores externos a la investigación, como ser el medio ambiente (en especial las lluvias), con las que ocurre un lavado del producto aplicado a las hojas. Después de 36 horas de haber sido aplicado el producto hubo una precipitación de aproximadamente 10 – 15 mm, por lo que las larvas solo consumieron las hojas tratadas con *B.t.* por espacio de 36 horas, por tanto la cantidad absorbida de la bacteria fue menor, lo que incide directamente en la eficiencia del producto, debido a que el modo de acción del *Bacillus thuringiensis* es a través de la absorción de una cierta cantidad de esporas de la bacteria, que luego

se multiplican en el intestino de las larvas. Este resultado encontrado no coincide con los referidos por Pérez (s.f.), que obtuvo una eficiencia de la Línea HD-1 de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki del 80% a las 72 horas después de su aplicación.

Tabla. 3 Número de larvas muertas del tercer instar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera; Noctuidae) y porcentaje (%) de eficiencia del producto biológico *Bacillus thuringiensis* tratadas en condiciones de campo. San Lorenzo, 2003.

Parámetro \ Horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas
Nº acumulado de larvas muertas	0	18	43	63	78
% acumulado de eficiencia	0	13,23	31,61	46,32	57,35

A través de la Figura 4 se observa que el mayor porcentaje de eficiencia del producto, a base de *Bacillus thuringiensis* Línea HD-1, sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) del tercer instar en condiciones de campo, es de 17,93 %, lo que ocurre a las 81,08 hs. El dato fue logrado mediante el ajuste matemático realizado para la obtención de la ecuación de segundo grado que interrelaciona el porcentaje de eficiencia con el tiempo transcurrido una vez aplicado el producto.

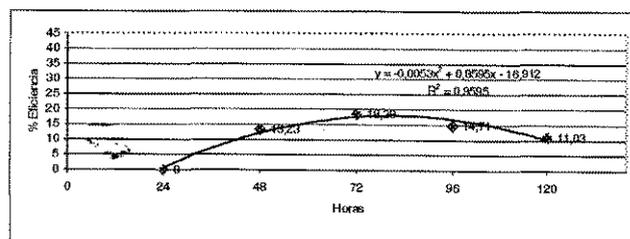


Figura. 3 Curva ajustada de la eficiencia de *Bacillus thuringiensis* Línea HD-1 en larvas de *Spodoptera frugiperda* del tercer instar en condiciones de campo. San Lorenzo, 2003.

CONCLUSIÓN

De las larvas provenientes de la cría del laboratorio, las del tercer instar presentaron un mayor porcentaje de mortandad entre las 48 y 96 horas con una eficiencia acumulativa del producto a base de *B.t.* del 90 % a las 120 horas después de la aplicación.

Las larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) del cuarto instar en condiciones de laboratorio presentaron un mayor porcentaje de mortandad alrededor de las 96 horas con una eficiencia del 80% del producto biológico al final

del periodo de observación (120 horas).

A nivel de campo, el mayor porcentaje de mortandad de larvas se dio entre las 72 y 96 horas después de la aplicación del producto.

La bacteria entomopatógena, cuya formulación es a base de *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* Línea HD-1, presentó una eficiencia del 57,35 %, a las 120 horas de la aplicación sobre las larvas del tercer instar de *Spodoptera frugiperda*. Este porcentaje es menor a la eficiencia de las larvas en condiciones de laboratorio

LITERATURA CITADA

ABBOT LABORATORIES, 1989. Métodos de evaluación de eficiencia de productos. Abbot Laboratories. Chemical and Agricultural Products Division. North Chicago, Illinois. 16 p.

BUJANOS, M.; MUÑIZ, A. 2001. Manejo integrado del gusano del cogollo *Spodoptera frugiperda* en el bajo México (en línea). México. Consultado el 26 feb 2003. Disponible en: www.aguascalientes.gob.mx/agro/produce/

CORTES, A.; LÓPEZ, A.; BOSA, F.; ARIAS, J.; VARGAS,

C.; FORERO, M.; DIAZ, A.; HERNANDEZ, J.; MARIÑO, L. 1999. Caracterización biológica y molecular de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* para el control de insectos plaga en agricultura (en línea). Bogota-Colombia. Consultado 18 Feb 2003. Disponible en: www.colciencias.gov.co/

IABIOTEC (Instituto Agrícola de Biotecnología). 2001. *Bacillus thuringiensis* (en línea). Madrid, España. Consultado el 23 nov 2002. Disponible en: www.iabiotec.com.

PARSONS, D. 1994. Manual para educación agropecuaria: Maíz. 2ª ed. México: Trillas. p. 94 - 97.

PÉREZ, E. s.f. Control biológico de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en maíz (en línea). México. Consultado 21 de diciembre de 2002. Disponible en www.aguascalientes.gob.mx.

SERV-SAN. (Servicio de Saneamiento Técnico e Comercial). s.f. Dimy Pel, Insecticida biológico (en línea). San Pablo, Br. Consultado 20 nov 2002. Disponible en www.servsan.com.br/dimypel.htm.