

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE CONTROL INTEGRADO DE PLAGAS  
MAESTRIA EN CONTROL INTEGRADO DE PLAGAS**



**EVALUACION DE LA PATOGENECIDAD E INFECTIVIDAD DEL VIRUS DE  
LA POLIEDROSIS NUCLEAR (VPN) EN SPODOPTERA FRUGIPERDA\_ J.  
SMITH (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)**

***Presentado por Lic. Concepción de María Narváez Solís***

***Tutor: M.Sc. Carmen Marina Rizo Zeledón***

**TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRA EN  
CONTROL INTEGRADO DE PLAGAS.**

**LEON, NICARAGUA 2000**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE CONTROL INTEGRADO DE PLAGAS  
MAESTRIA EN CONTROL INTEGRADO DE PLAGAS**

**EVALUACION DE LA PATOGENECIDAD E INFECTIVIDAD DEL VIRUS DE  
LA POLIEDROSIS NUCLEAR (VPN) EN SPODOPTERA FRUGIPERDA\_ J.  
SMITH (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)**

***Concepción de María Narváez Solís***

***Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador de Postgrado de  
la Facultad de Ciencias, para optar al grado de Maestra en Control  
Integrado de Plagas.***

**LEON, NICARAGUA 2000**

## DEDICATORIA

*A mi familia, especialmente padres y hermanos (as) que con su apoyo han podido contribuir a mi formación profesional y a la culminación de este trabajo de investigación.*

*A mis hijos, **Carlos Ernesto y María Alejandra** y a mi querida sobrina **Marna**, quiénes han sido mi inspiración para seguir adelante.*

*A mi esposo **Charles**, por su comprensión y apoyo.*

## AGRADECIMIENTO

A la **Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León**, por brindarme la oportunidad de realizar la Maestría, así como haberme permitido el tiempo necesario para ejecución de la misma.

A la **Dra. Luisa B. de Lugo** por promover el estudio de Postgrado.

Al **Dr. Sean Swezey** por haber iniciado y aportado sugerencias para la realización de la tesis.

A la **Dra. Sally Glandstone** por brindar sugerencias y apoyo en el tema de investigación.

A la **Lic. Carmen Marina Rizo Zeledón** por sus valiosos aportes como tutora y amiga en este trabajo de investigación.

Al **Dr. Charles Aker** por sus sugerencias y aportes al trabajo investigativo.

A todos los profesores que estuvieron impartiendo clase por compartir sus conocimientos.

A todo el personal del Departamento de Control Integrado de Plagas, por haber contribuido de alguna manera llevar a cabo este trabajo.

A todos aquellos que de una u otra forma han colaborado para la culminación de este trabajo de investigación.

## RESUMEN

Con el objetivo de Producir un insecticida viral para el control de *Spodoptera frugiperda*, mediante tres objetivos específicos, 1) establecer la cría de la especie *Spodoptera frugiperda*, 2) evaluar la patogenicidad del virus aislado de *Spodoptera frugiperda*, codificado como **SfVFN, OX-2**, introducido de Inglaterra y 3) evaluar la efectividad del virus de *Spodoptera frugiperda*, **SfVFN, OX-2** en el cultivo del maíz. Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Control Biológico del Departamento de Control Integrado de Plagas de la UNAN-LEON en el período comprendido entre 1987 a 1991, desarrollado en dos fases: una de laboratorio y una de campo. La fase de laboratorio consistió en el establecimiento de la cría de la especie huésped *Spodoptera frugiperda*, la que consistió en comparar dos dietas, una llamada "Soya" y otra "Tejana", para alimentación de las larvas. La reproducción del virus aislado de *Spodoptera frugiperda*, consistió en conocer qué edad (instar) y concentración es la más adecuada para multiplicar el virus y de esa manera obtener una larva muerta por virus en su último instar larval, que es donde hay más cantidad de cuerpos de inclusión poliedral. La determinación de la Dosis Letal Cincuenta, se hizo a través de Bioensayos donde se probaron 5 dosis de virus y un control. Para evaluar la efectividad en el campo se realizaron dos ensayos en el cultivo de maíz, donde se probaron dos dosis de Virus, una de 708 LE/ha y otra de 7086 LE/ha, un tratamiento con Clorpirifos con una dosis de 1.4 LT/ha y un testigo, con seis repeticiones; distribuidos en un Diseño de Bloques Completos al Azar. Los datos de los resultados de mortalidad fueron analizados en Probits, para obtener la  $DL_{50}$ . Se hicieron análisis de varianza para evaluar los resultados de efectividad en el campo. Los resultados obtenidos indican que no hay diferencia significativa en cuanto a las dietas utilizadas. Se determinó que la concentración en CIP/ $\mu$ l es de  $8.9 \times 10^8$  y tercer instar larval. Los resultados del análisis estadístico para el porcentaje de mortalidad para la primera fecha de aplicación se encuentran diferencias significativas entre el testigo y las dos dosis de virus y entre las dos dosis de virus y para la segunda fecha de aplicación solamente hay diferencias significativas entre el testigo y las dosis de virus y no entre las dos dosis de virus. Se concluye que la especie huésped, *Spodoptera frugiperda*, se puede producir de manera masiva para la multiplicación del virus. El virus SfVFN-OX-2 es patogénico a la especie *Spodoptera frugiperda*. Tanto la dosis de 708 LE/ha como la de 7086 LE/ha realizan un buen control en la especie *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA.....	i
ARADECIMIENTO.....	ii
RESUMEN.....	iii
TABLA DE CONTENIDO.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVOS.....	10
III. MATERIALES Y METODOS.....	11
3.1. Establecimiento de la Cría de <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	11
3.2. Reproducción del Virus de la Poliedrosis Nuclear.....	13
Codificado como SfVPN, OX-2, aislado de <i>Spodoptera frugiperda</i>	
3.3. Determinación de la Dosis Letal Cincuenta.....	14
3.3.1 Purificación.....	15
3.3.2 Montaje de Bioensayos.....	15
3.4. Ensayos de Campo para Evaluar Efectividad.....	17
3.4.1 Ensayo No. 1.....	17
3.4.2 Ensayo No. 2.....	19
3.5. Análisis Estadísticos.....	20
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	21
4.1. Establecimiento de la cría de <i>S. frugiperda</i> .....	21
4.2. Reproducción del Virus de la Poliedrosis Nuclear, .....	22
Codificado como SfVPN, OX-2.	
4.3. Determinación de la Dosis Letal Cincuenta.....	23

	<b>Página</b>
<b>4.4. Ensayos de Campo para evaluar Efectividad.....</b>	<b>25</b>
<b>4.4.1 Ensayo No. 1.....</b>	<b>25</b>
<b>4.4.2 Ensayo No. 2.....</b>	<b>30</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>35</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>36</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>37</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>39</b>

## LISTA DE CUADROS

Página

<b>Cuadro 1. Parámetros tomados en cuenta para la reproducción.....14 del virus SfVPN, OX-2 en la especie huésped, <i>S. frugiperda</i>.</b>	
<b>Cuadro 2. Dosis CIP utilizadas para el bioensayo de SfVPN, OX-2 .....17 Realizado en la especie <i>Spodoptera frugiperda</i></b>	
<b>Cuadro 3. Peso de Pupas de <i>S. frugiperda</i> con dos dietas .....21 Semiartificiales.</b>	
<b>Cuadro 4. Porcentajes de mortalidad y tamaño de larvas .....23 equivalentes (LE), cosechadas de larvas de <i>S. frugiperda</i> en diferentes edades y concentraciones.</b>	
<b>Cuadro 5. Resultado del Análisis Probit de Dosis Respuesta.....24 De <i>S. frugiperda</i> al Virus de la Poliedrosis Nuclear</b>	
<b>Cuadro 6. Análisis de Varianza del Porcentaje de Mortalidad.....28 Por Virus para dos fechas de aplicación. 1990</b>	
<b>Cuadro 7. Análisis de Varianza para la densidad de .....29 Población de <i>S. frugiperda</i> en el cultivo de maíz. 1990.</b>	

<b>Cuadro 8. Análisis de Varianza para la densidad de .....</b>	<b>33</b>
<b>Población de <i>S. frugiperda</i> en el cultivo de maíz. 1991.</b>	
<b>Cuadro 9. Análisis de Varianza para la densidad de .....</b>	<b>34</b>
<b>Población de <i>S. frugiperda</i> en el cultivo de maíz. 1991.</b>	

## LISTA DE FIGURAS

Página

- FIGURA 1. Porcentajes de Cogollos dañados por *Spodoptera frugiperda*. Ensayo No. 1. Parcela Agrobiológica UNAN. L.C.B. 1990.....26**
- FIGURA 2. Porcentajes de mortalidad en larvas de *Spodoptera frugiperda* causado por Virus de la Poliedrosis Nuclear. Ensayo No. 1. Parcela Agrobiológica. UNAN. L.C.B. 1990.....27**
- FIGURA 3. Densidad de larvas de *Spodoptera frugiperda*. Ensayo No. 1. Parcela Agrobiológica UNAN. L.C.B. 1990.....27**
- FIGURA 4. Porcentajes de Cogollos dañados por *Spodoptera frugiperda*. Ensayo No. 2. Parcela Agrobiológica UNAN. L.C.B. 1991.....31**
- FIGURA 5. Porcentajes de mortalidad en larvas de *Spodoptera frugiperda* causado por Virus de la Poliedrosis Nuclear. Ensayo No. 2. Parcela Agrobiológica. UNAN. L.C.B. 1991.....31**
- FIGURA 6. Densidad de larvas de *Spodoptera frugiperda*. Ensayo No. 2. Parcela Agrobiológica. UNAN. L.C.B. 1991.....32**

## INTRODUCCION

Con el aumento de la agricultura en Nicaragua en los años 60, y principalmente con la extensión del monocultivo del algodón, se desarrollaron técnicas inapropiadas de control de plagas como el uso excesivo de productos químicos. Esto ha generado una serie de problemas: daño al medio ambiente, a la salud humana, desarrollo de resistencia de las plagas, la eliminación de la fauna benéfica, y el aumento de los costos de producción, entre otros.

Los problemas generados por las plagas y el uso irracional de productos químicos han conllevado a la necesidad de realizar esfuerzos para desarrollar programas alternativos para manejar los cultivos de una manera más integrada. Dentro de estos programas se encuentran el Manejo Integrado de Plagas, en el que se incluyen una gama de métodos para disminuir la contaminación, el uso de productos químicos como el daño causado por las plagas y desde luego bajar los costos de producción. La tecnología usada en el cultivo del algodón, también fueron utilizadas para el manejo de plagas en otros cultivos. Es así que para el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, plaga clave del cultivo de maíz, se usó también productos químicos para su control de una forma inadecuada.

El cultivo de maíz, grano básico en la alimentación de la población nicaragüense, es considerado importante no solo para consumo humano, sino animal. Debido a ello, se deben hacer otros tipos de manejos del cultivo para

poder consumir alimento sano sin que contenga residuos de productos químicos.

El maíz es atacado por diversas plagas que disminuye la densidad del cultivo. Obando, 1987, citado por Guido y Glandstone, 1991, reporta que una especie del Orden Coleoptera de la familia Elateridae llamado *Aeolus* sp causa pérdidas hasta de un 70%; también se citan a otros géneros como *Phyllophaga* y *Agrotis*. Entre las plagas del follaje se reporta a *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) como plaga clave del cultivo del maíz y a *Diatraea lineolata*, que puede causar la muerte en un 25% de plantas en la etapa de plántula (Obando, 1987, citado por Guido y Glandstone, 1991).

*Spodoptera frugiperda* está distribuida desde América del Norte hasta América del Sur y parte del Caribe, Spark, 1979, citado por Fuxa, 1987. Está reportada como plaga en pastos, sorgo, arroz y maíz. Bowling, 1978, citado por Pantoja y otros, 1986, la clasifica como plaga esporádica, pero potencialmente importante en el cultivo de arroz en los Estados Unidos y una de las plagas más serias en países de Latinoamérica donde limita la producción de arroz. Van Huis, 1981, la reporta como una plaga de amplio rango de huéspedes y menciona a los cultivos de sorgo, caña de azúcar, ajonjolí, arroz, algodón, tabaco, papa, vegetales, malezas y principalmente maíz. El Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG, 1985) reporta que el cogollero *Spodoptera frugiperda* ocasiona severos daños al cultivo del maíz.

En las primeras 3-4 semanas o primera mitad del estadio del cogollo, la planta puede tolerar un poco el daño, pero en la segunda mitad es más susceptible y la plaga puede causar pérdidas mayores. Mitchel, 1979, citado por Fuxa, 1987, reporta que el costo de daño y control del gusano cogollero en los Estados Unidos es hasta de 300 millones de dólares anuales.

Todos los aspectos relacionados con el uso de productos adecuados para el manejo de plagas, así como la importancia del cultivo, son considerados necesarios para desarrollar alternativas más sanas de manejo del cultivo. Entre los métodos de control está el Control Biológico de Plagas, que hace uso de diferentes organismos entre los que se pueden citar bacterias, hongos y virus entomopatógenos.

Los virus entomopatógenos se encuentran de manera natural en el ambiente causando infecciones a insectos en la población susceptible. Los virus entomopatógenos son parásitos obligados, o sea que necesitan de un organismo vivo para poder multiplicarse (Leucuona, R. 1996).

La clasificación que se ha realizado de los virus se ha hecho en base a estudios morfológicos, bioquímicos y biofísicos. Ellos están agrupados en varias familias, siendo la más importante la familia Baculoviridae que a la vez está subdividida en dos grupos: virus que no presentan cuerpo de inclusión y que solo pueden ser vistos en un microscopio electrónico y los que presentan un cuerpo de inclusión de naturaleza proteica y que son visibles en el

microscopio óptico. Dentro de los virus que presentan un cuerpo de inclusión están los Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), los cuales están compuestos internamente de una capa proteica llamada Cápside que protege al ácido nucleico y a este conjunto es lo que se denomina nucleocápside, éstos pueden estar solos o en grupos. Al conjunto de nucleocápside más la envoltura se le denomina Virión que es la unidad infectiva del virus (Leucuona, R. 1996).

En cuanto al modo de acción, los virus penetran al hospedero con la ingestión de alimentos contaminados con los poliedros. La etapa más susceptible del insecto es la etapa larval. Leucuona, 1996, reporta que otras vías como la infección a través de espiráculos, pasaje transovariano o por parasitoides no son consideradas importantes. El sitio de entrada y unión de las partículas vírales son las células epiteliales del intestino medio de los lepidopteros donde son disueltos por el jugo digestivo que tiene un pH alcalino de 9.5 a 11.5. Las partículas de virus liberadas producen una infección primaria que se fusionan con las microvellosidades del intestino medio y es en ese momento que los nucleocápside penetran al citoplasma de las células. La replicación del virus se lleva a cabo en el núcleo. Los síntomas que presentan los insectos comienza generalmente a partir del quinto día después de haber ingerido el alimento contaminado con virus. Las larvas infectadas presentan inicialmente una coloración pálida, movimientos lentos, disminuye su alimentación y finalmente su cuerpo se pone flácido, conteniendo los cuerpos de inclusión poliedral.

En el campo, las larvas enfermas (con síntomas de virus), suben generalmente hasta la parte más alta de la planta, sujetándose con sus falsas patas debajo de las hojas de la planta.

Una vez que el tejido de las larvas está completamente lleno de los cuerpos poliedrales, éste se rompe liberando miles de ellos. Esto produce de manera natural la diseminación lo que representa una ventaja, ya que esto produce infecciones a nuevas generaciones, las que pueden provocar epizootias, factor importante para el control de las plagas (Payne, 1986).

Entre las propiedades de los VPN se puede mencionar su alta especificidad a insectos, o sea que no afectan a vertebrados ni a plantas. Afectan principalmente a órdenes de insectos como Hymenoptera y Lepidoptera.

Algunos virus se caracterizan por tener infectividad cruzada, o sea, que son capaces de causar la muerte a otros huéspedes, lo que ha llevado a muchas investigaciones en este aspecto. Un ejemplo de infectividad cruzada es el caso del virus aislado de *Autographa californica*, que infesta a varias especies del Orden Lepidoptera (Vail y Hunter, 1990, citado por Harper, 1976). Armstrong, 1982 reporta al virus de *Autographa californica* afectando a un amplio rango de huéspedes.

La especificidad, efectividad y virulencia son factores importantes para considerarlos como agentes de control microbial contra plagas del Orden Lepidoptera y en algunos países ya se han incluido en programas de control biológico (Brooks et al., 1978, citados por Gelernter et al., 1986). Albes, 1986, reporta que los virus han sido usados en el trópico para el control de plagas como *Trichoplusia ni*, *Spodoptera frugiperda*, *Anticarsia gemmatalis*, y *Helicoverpa zea*.

Se ha reportado el uso de virus para el control de la plaga de la soya *Anticarsia gemmatalis* en Brasil con resultados de mortalidad hasta de 80% usando una dosis de 40 LE/HA (equivalentes larvales por hectárea), (Moscardi, 1989). Yearin y Young (1982) reportan estudios de utilización de virus para el control de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz. La dosis utilizada fue de 250 LE/HA. Fuxa, 1984 estudiaron la susceptibilidad al virus para determinar el número de poliedros para causar el 50% de mortalidad en *Spodoptera frugiperda*.

La efectividad de los virus ha sido comparada con la de productos químicos. Por ejemplo el VPN de *Spodoptera exigua* (SeVPN) el cual fue comparado con los productos Methomyl y Permetrin, dando iguales resultados (Gelernter y otros, 1986).

Estos factores son importantes para considerarlos como agentes de control microbial contra plagas del Orden Lepidoptera.

En cuanto la reproducción del virus es importante tener un control de calidad del insecto hospedante sobre el cual se va a efectuar la multiplicación del entomopatógeno, como también del producto final obtenido. En el caso del hospedante, el componente más importante es el relacionado con la reproducción del hospedero. Estos se pueden evaluar mediante el porcentaje de emergencia, fecundidad (como una medida de la capacidad de reproducción), oviposición, longevidad del adulto, oviposición, porcentaje de eclosión y peso de pupas, (Young et. al. 1976; Morreti y Parra, 1983, citado por Lecouna, 1996).

Es importante conocer también los parámetros poblacionales para poder evaluar las características de la población en estudio. Swesey, 1988, realizó estudios de una tabla de vida de *Spodoptera frugiperda*, donde refleja una tasa de reproducción ( $R_0$ ) de 479.4, el tiempo generacional (TG) de 28.3 días, tasa intrínseca de crecimiento ( $r$ ) igual 0.24, relación de sexo (M:H) de 1:1.2 y un 3% de esterilidad.

Para contar con todos los parámetros anteriores se debe pensar en los requerimientos nutricionales de cada una de las etapas de desarrollo del insecto hospedante. En la dieta de las larvas es necesario incorporar proteínas, vitaminas, carbohidratos, lípidos, agar, antioxidantes, agua, (ver anexo 2). Los componentes de la dieta deben estar bien balanceados en cuanto a calidad y cantidad de los ingredientes. Para la alimentación de los adultos se puede utilizar una solución azucarada (miel con agua) al 10%.

Otros factores que hay que tener en cuenta son las condiciones ambientales en que se desarrollará el hospedante como son la temperatura y humedad. La temperatura adecuada para la crianza del hospedero deberá mantenerse entre 20 y 26 grados centígrados, así como una humedad de 60 – 80% para evitar la rápida deshidratación de la dieta, lo cual interfiere en la actividad alimentaria de las larvas. Otro aspecto importante es el fotoperíodo, con doce horas luz.

En cuanto a la reproducción del virus es necesario conocer los hábitos del hospedero, edad adecuada del hospedero al momento de la inoculación. La dosis utilizada debe ser aquella que permita el máximo desarrollo del insecto para el máximo aprovechamiento de los cuerpos de inclusión poliedral. En cuanto a la pureza del inóculo, éste debe estar libre de contaminantes para evitar que otros microorganismos reduzcan tanto cuantitativamente como cualitativamente la producción del virus. Al igual que en la cría del hospedante, es necesario dieta adecuada, humedad y temperatura, (Lecouna, 1996).

Para llevar a cabo tanto la reproducción del hospedero como la multiplicación del virus es necesario desarrollar trabajos de investigación sobre una alternativa de control menos riesgosa que los productos químicos y poder disminuir el uso de plaguicidas para el manejo de plagas del Orden Lepidoptera específicamente de la familia Noctuidae.

Un aspecto muy elemental es introducir en la cría nuevas poblaciones del insecto para producir un incremento en la variabilidad genética.

## I. OBJETIVOS

### Objetivo General:

- Evaluar un insecticida viral para el control de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz.

### Objetivos Específicos:

- 1) Establecer la cría de la especie *Spodoptera frugiperda* bajo condiciones de laboratorio.
- 2) Evaluar la patogenicidad del virus aislado de *Spodoptera frugiperda*.
- 3) Evaluar la efectividad del virus aislado de *Spodoptera frugiperda*, en el cultivo de maíz.

## II. MATERIALES Y METODOS

Este estudio se realizó en el período comprendido entre 1987 a 1991 en dos etapas, una de laboratorio y otra de campo. El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio del Departamento de Control Integrado de Plagas de la UNAN-León. Esta etapa consistió en el establecimiento de la cría de *Spodoptera frugiperda*, la reproducción del virus y la determinación de la Dosis Letal 50 (DL<sub>50</sub>). El trabajo de campo para evaluar la efectividad del Virus de la Poliedrosis Nuclear en el cultivo de maíz se realizaron en la Parcela Agrobiológica de la UNAN-León, ubicada al Sur-Este de la ciudad.

### 3.1. Establecimiento de la cría de *Spodoptera frugiperda*

En el año 1987 se inició la recolecta de masas de huevos de *Spodoptera frugiperda*, en el cultivo de maíz en diferentes zonas del Occidente del país. Una vez colectadas, estas fueron llevadas al laboratorio y esterilizadas con formalina al 3% por de 15 minutos. Seguidamente, se enjuagaron y se dejaron secar para ser colocados posteriormente en el fondo de copas plásticas conteniendo 5 trozos de dieta artificial Tejana (ver anexo 1). Posteriormente los huevos fueron revisados diariamente con el propósito de observar la duración en días de su eclosión. Una vez eclosionados se esperó a que las larvas llegaran al segundo instar larval para trasladarlas individualmente a copas plásticas pequeñas conteniendo un trozo de dieta Tejana. Estas pasaron por un proceso cuarentenario por un período de dos generaciones. Estas larvas fueron revisadas tres veces por semana para registrar el número

de larvas sanas y muertas, pupas y algunos agentes de mortalidad como parásitos, bacterias, hongos, etc. Las pupas resultantes fueron sexadas y colocadas en vasos de vidrio grandes (5 parejas de adultos por vaso), (ver anexo 3), para la emergencia (relación de sexo 1:1). A los vasos conteniendo las pupas, se les colocó tiras de papel para facilitar la postura de huevos por la hembra emergida y alimento a base de miel y agua. Una vez que ovipositaron, los huevos fueron colectados de las tiras de papel, barridos suavemente con pincel para ser esterilizados con formaldehído al tres por ciento e iniciar un nuevo ciclo. Una que vez se obtuvo la segunda generación se trasladaron al insectario para dar inicio al pié de cría completamente sana. La metodología para la crianza en el insectario fue la misma utilizada en el proceso cuarentenario.

Para el establecimiento de una cría sana y bien desarrollada, se requiere de una dieta adecuada. Para ello se probaron inicialmente dos dietas, una a base de frijol, llamada Tejana y otra a base de soya denominada Soya. Los ingredientes de ambas dietas están descritos en el Anexo 1. En esta prueba se usaron 100 larvas de segundo instar de *Spodoptera frugiperda* por cada dieta para comparar al final el peso (mg) de las pupas, resultantes. Al mismo tiempo de comparar el peso de las pupas, se hicieron observaciones sobre el desarrollo larval. Además, se observó si las dietas produjeron demasiada humedad en el medio donde se encontraban las larvas, ya que esto podía haber permitido el desarrollo de hongos, bacterias que afectan el crecimiento de las larvas.

### **3. 2 Reproducción de Virus de la Poliedrosis Nuclear, introducido de Inglaterra y codificado como SfVPN, OX-2, aislado de *Spodoptera frugiperda*.**

Se iniciaron pruebas preliminares con el objetivo de determinar edad de la larva y concentración del virus requerido para obtener el máximo rendimiento en la reproducción del virus. Se utilizó el virus crudo, o sea no purificado. Este se preparó triturando larvas muertas por virus y agregando agua en una proporción de entre 1 a 3 ml de agua por cada larva muerta y luego se filtró para obtener la solución viral. Para la infestación se usaron larvas de diferentes instares (III y IV instar). Se usaron vasos pequeños, en los cuales se colocó un trozo de dieta Tejana esparcida en el fondo formando una superficie homogénea. Después se depositó con una micropipeta el volumen de microlitros correspondiente a la solución viral (ml/larva), sobre la dieta y se agregó una larva de los instares anotados en el cuadro 1.

Estas larvas infectadas se revisaron diariamente hasta observar la mortalidad, y poder cosechar las larvas en su último instar larval y obtener el rendimiento máximo. Cuando se habla de rendimiento máximo es obtener una larva muerta en su último instar larval, ( $2.65 \times 10^8$  Cuerpos de Inclusión Poliedral, CIP, pues contiene mayor número de cuerpos de inclusión poliedral.

**Cuadro 1. Parámetros tomados en cuenta para la reproducción del virus codificado como SfVPN, OX-2, en la especie *Spodoptera frugiperda*.**

Tamaño de Larva (Instar)	Concentración (CIP/ $\mu$ l) (CIP por microlitros)	CIP/ml (CIP por mililitros)	Número de Larvas Infectadas
L <sub>3</sub>	1.34 X 10 <sup>7</sup> (50 ml)	1.34 X 10 <sup>5</sup> (1.0 ml)	312
L <sub>3</sub>	8.9 x 10 <sup>6</sup> (50 ml)	1.78 x 10 <sup>5</sup> (1.5 ml)	624
	1.42 x 10 <sup>7</sup> (80 ml)		143
L <sub>3</sub>	5.35 X 10 <sup>6</sup> (50 ml)	1,07 x 10 <sup>5</sup> (2.5 ml)	107
	8.56 X 10 <sup>6</sup> (80 ml)		238
L <sub>4</sub>	8.56 x 10 <sup>6</sup> (80 ml)		100
L <sub>3</sub>	4.45 x 10 <sup>6</sup> (50 ml)	8.9 x 10 <sup>4</sup> (3.0 ml)	1335
L <sub>4</sub>	7.12 x 10 <sup>6</sup> (80 ml)		100

### 3.3 Determinación de la dosis letal 50 (DL50)

En el año 1990 se realizaron bioensayos con la especie *Spodoptera frugiperda*, usando el virus introducido de Inglaterra en el año 1987 y codificado como SFVPN, OX-2, aislado de *Spodoptera frugiperda*.

### **3.3.1 Purificación:**

Este virus fue purificado el 28 de agosto de 1990 usando el método de centrifugación diferencial. A las larvas muertas por virus, reproducidas en el laboratorio, se les agregó detergente analítico, Sodio Duodecil Sulfato (SDS) al 0.1%. Luego se trituraron hasta obtener un caldo oscuro, el cual se filtró con tela de gasa. Este caldo resultante fue colocado en tubos de ensayo para ser centrifugado en dos etapas, una de 1500 rpm por un minuto y otra de 3000 rpm por diez minutos. Al sedimento resultante, que contiene los cuerpos de inclusión poliedral (CIP), se les agregó agua destilada y así se obtuvo la “solución madre”. A partir de esta se prepararon tres diluciones que fueron 1:10, 1:100 y 1:1000. Se tomó una gota de la dilución 1:1000 y se depositó en un hemocitómetro con cámara de conteo Neuvauer. Luego se procedió a observar en un microscopio de contraste de fase, para conocer el número de Cuerpos de Inclusión Poliedral (CIP) contenidos en la solución madre. Para ello se contó el número de poliedros en cinco cuadros de la cámara de conteo y luego se efectuaron los cálculos correspondientes. Determinada la concentración de la solución madre se prepararon cinco dosis por medio de diluciones seriadas utilizando agua destilada para completar los volúmenes deseados y proceder al montaje de los bioensayos.

### **3.3.2. Montaje de Bioensayos**

Para la realización del bioensayo se seleccionaron larvas del II instar de

*Spodoptera frugiperda*, procedentes de la cría del laboratorio de Control Biológico.

Previamente fueron pesadas una muestra de veinte larvas de *Spodoptera frugiperda*. En un plato de bioensayo se colocó con una jeringa 1 mm de dieta tejana en cada una de las 30 celdas del plato. Seguidamente, con una micropipeta se depositó 1 µl de cada una de las dosis previamente preparadas, iniciando con el control, en el que se utilizó agua, y luego de la dosis más baja a la más alta para evitar contaminación en el testigo. Seguidamente, se colocó una larva de II instar en cada celda del plato y se tapó con papel absorbente húmedo, para evitar resequedad en la dieta, y dos porta objeto; sellados con cinta adhesiva para evitar que las larvas escaparan. Se colocaron 30 larvas de II instar por dosis con tres repeticiones, (ver anexo 6).

A las 24 horas, o una vez que las larvas comieran toda la dieta, fueron trasladadas a copitas individuales que contenían un cubo de dieta Tejana. Estas se taparon y marcaron con la correspondiente dosis.

Las larvas fueron revisadas a diario para registrar la muerte por virus, pupación o la presencia de otro agente de mortalidad. En el cuadro 2 se presentan las dosis de virus utilizadas con sus respectivos logaritmos en el bioensayo homólogo para la especie blanco *Spodoptera frugiperda*.

**Cuadro 2.** Dosis de CIP usadas para el bioensayo de **SfVFN OX-2** realizado con la especie *Spodoptera frugiperda*.

Dosis (Número de CIP)	Log Dosis
511	2.7
1535	3.1
3070	3.4
4385	3.6
6140	3.7
CONTROL (agua)	

### 3.4 Ensayo de Campo para Evaluar Efectividad

#### 3.4.1. Ensayo N°. 1

El 31 de agosto de 1990, ciclo de postrera, se sembró la variedad de maíz NB-6 con tracción animal a una distancia de 76.5 cm entre surco en la parcela Agrobiológica de la UNAN-León. Este ensayo tuvo cuatro tratamiento y seis repeticiones, los que estaban ubicados en un diseño de Bloques Completos al Azar.

Los tratamientos fueron dos dosis de Virus, una dosis baja (708 LE/ha y una dosis alta (7086 LE/ha), una dosis de 1.4 LT/ha de Clorpirifos y un

testigo absoluto. El área de cada parcela fue de 68 m<sup>2</sup>, para una área total de 2508.25 m<sup>2</sup>.

El método de recuento utilizado fue el de dos estaciones de diez plantas por parcela y los parámetros fueron altura de la planta, número de masas de huevos, daño en el cogollo, densidad de larvas grandes y pequeñas de *Spodoptera frugiperda*.

Previa a cada aplicación de virus, se recolectaron 60 larvas por tratamiento de diferentes instares, las que fueron llevadas al laboratorio y colocadas en una copita de plástico conteniendo un trozo de dieta Tejana. Estas larvas fueron revisadas diariamente con el objetivo de evaluar la mortalidad por virus, pupación y la presencia de otros agentes de mortalidad.

A los 27 dds se aplicó 129 kg/ha de urea. Los recuentos se iniciaron a los 20 dds hasta los 45 dds. Se realizaron tres aplicaciones de los tratamientos comenzando a los 20 días después de la siembra y concluyendo a los 33 días después de la siembra con un intervalo entre ellos de 5 a 8 días. El equipo de aplicación fue de ultra bajo volumen llamado micro-ulva, (ver anexo 7).

La cosecha se realizó a los 102 días después de la siembra en dos surcos centrales excluyendo medio metro de cada extremo. Se pesó y se calculó el rendimiento por qq/mz para cada tratamiento.

### **3.4.2. Ensayo N° 2.**

El 21 de mayo de 1991, en el ciclo de primera, en la Parcela Agrobiológica de la UNAN, se sembró maíz variedad NB-6 a una distancia de 76.5 cm entre surco. Previa a la siembra se preparó el terreno con un pase de grada y uno de grada banca. Se rayó con tracción animal y se sembró a mano. Al momento de la siembra se aplicó 126 kg/ha de fertilizante NPK (12-30-20) y 64.5 kg/ha de urea los 27 y 48 dds.

El primer recuento se inició a los 13 dds, y el último a los 43 dds. Se evaluaron cuatro tratamientos similares al del primer ensayo, con seis repeticiones distribuidos en un diseño de Bloques Completos al Azar.

El método de recuento, la evaluación de la mortalidad de cada uno de los tratamientos, el equipo de aplicación y la cosecha fueron los mismos que para el primer ensayo.

Se realizaron cuatro aplicaciones de virus, comenzando a los 15 días después de la siembra y finalizando a los 38 días.

La cosecha para ambos tratamientos se realizó tomando los 2 surcos centrales menos medio metro en los extremos, se desgranó y se pesó para sacar el peso correspondientes en quintales por manzana.

### 3.5. Análisis Estadísticos

En el caso de la comparación de dietas para el establecimiento de la cría de *Spodoptera frugiperda*, se hizo comparación de medias de los pesos resultantes de las pupas y se calculó la desviación estándar.

Los porcentajes de mortalidad obtenidos en los bioensayos fueron analizados a través de Análisis Probits.

Se realizó un Análisis de Varianza para los resultados de efectividad en el campo para la primera y segunda aplicación, haciendo transformación arcoseno y contrastes ortogonales para el testigo y las dos dosis de virus. La comparación con el tratamiento químico no se realizó debido a que las mortalidades presentadas fueron por virus y no por el producto químico.

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 Establecimiento de la cría de *Spodoptera frugiperda*

La especie *Spodoptera frugiperda* se logró establecer en el laboratorio después de la segunda generación. Los resultados comparativos del peso de pupa en relación a los tipos de dietas que se probaron se presenta en el cuadro 3.

**Cuadro 3. Peso de pupas de *Spodoptera frugiperda* con dos dietas semi-artificiales.**

DIETA	NO. DE LARVAS	PESO PUPA (gr) (promedio)	DESVIACION STANDAR
TEJANA	100	0.241977	± 0.030
SOYA	100	0.2065333	± 0.023

Los pesos promedios de las pupas obtenidos con las dietas Tejana y Soya no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ , comparación de medias y cálculo de desviación standar), por lo tanto, las larvas de esta especie, *Spodoptera frugiperda*, se pueden alimentar con ambas dietas. Sin embargo, en las observaciones realizadas se notó mucha humedad en la dieta de Soya, ya que en ésta dieta contiene más volumen de agua, lo que provocó el desarrollo de hongos en el medio donde se desarrollaban las larvas en un 2%. En el anexo 4 se observa el ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*.

### 4.2 Reproducción de Virus de la Poliedrosis Nuclear, codificado como SfVPN-0X-2, introducido de Inglaterra, aislado de *Spodoptera frugiperda*.

Los porcentajes de mortalidad encontrados en los resultados de las pruebas de reproducción del virus, se observan en el cuadro 4. Aunque el tamaño de larva equivalente obtenido cuando se utiliza larvas del IV instar es lo óptimo, no se obtienen los mayores porcentajes de mortalidad y cuando se obtienen mayores porcentajes de mortalidad el tamaño de larva no es adecuado. En cambio cuando se infectan larvas en el instar III con concentraciones de  $8.9 \times 10^6$ , utilizando  $1.78 \times 10^5$  CIP/ml se obtienen porcentajes casi del 70%, con tamaño de larva óptimo. Esto se debe a que se utiliza una mayor concentración de CIP/ml y concentración mayor de CIP/ $\mu$ l.

**Cuadro No. 4. Porcentajes de mortalidad y tamaño de Larvas Equivalentes (LE) cosechadas de larvas infectadas en diferentes edades y concentraciones.**

CIP/ml	Concentración (CIP/ $\mu$ l)	Porcentaje de Mortalidad		Tamaño de Larva	
		L3	L4	L3	L4
<b>1</b> <b>(<math>2.68 \times 10^5</math>)</b>	$1.34 \times 10^7$ <b>(50 ml)</b>	<b>62.5</b>	—	Mediana	
<b>1.5</b> <b>(<math>1.78 \times 10^5</math>)</b>	$8.9 \times 10^6$ <b>(50 ml)</b>	<b>69.8</b>	—	Grandes	
	$1.42 \times 10^7$ <b>(80 ml)</b>	<b>52.3</b>	—	Grandes	
<b>2.5</b> <b>(<math>1.07 \times 10^5</math>)</b>	$5.35 \times 10^6$ <b>(50 ml)</b>	<b>88.8</b>	—	Medianas	
	$8.56 \times 10^6$ <b>(80 ml)</b>	<b>50.0</b>	<b>52.5</b>	Grandes	Grandes
<b>3.0</b> <b>(<math>8.9 \times 10^4</math>)</b>	$4.45 \times 10^6$ <b>(50 ml)</b>	<b>13</b>	—	Medianas	
	$7.12 \times 10^6$ <b>(80 ml)</b>	<b>55.3</b>	<b>61.8</b>	Grandes	Mediana

(Medianas= L3 – L4), Grandes (L4 – L5).

### 4.3 Determinación de la Dosis Letal 50 (DL<sub>50</sub>)

Los resultados de los bioensayos del aislado viral (SfVPN, OX-2) se presentan en el cuadro 5.

**Cuadro 5. Resultados del Análisis Probit de dosis Respuesta de *Spodoptera frugiperda* al Virus de la Poliedrosis Nuclear (SfVPN, OX-2)**

DOSIS	% DE MORTALIDAD	DL <sub>50</sub>	LIMITES FIDUCIALES	PENDIENTE	X2
511	41.37				
1335	46.42				
3070	65.51	1123.76	604.97 – 2087.46	1.001	1.41
4385	75.00				
6140	79.31				
Control					

El valor de  $\chi^2$  es de 1.41, lo que indica que es una buena representación de distribución teórica, o sea las respuestas esperadas con las esperadas de la ecuación. Como se puede observar la **DL<sub>50</sub>** resultante es muy alta lo que indica que el virus aislado de *Spodoptera frugiperda* (**SfVPN-OX-2**) no es muy virulento, aunque la pendiente indica que hay una respuesta al tóxico, por lo que podemos decir que el virus es patogénico a la especie *Spodoptera frugiperda*, (ver anexo 8 de línea respuesta). Esta alta dosis podría deberse a que *Spodoptera frugiperda* no es muy susceptibles a este aislado de virus, o son muy resistente al VPN. Fuxa 1988, reporta a *Spodoptera frugiperda* como importante para realizar estudios de resistencia. Valicente, H., I. Cruz, 1991),

reportan que *Spodoptera frugiperda* es susceptible al Virus de la Poliedrosis Nuclear. Existen estudios para determinar la resistencia de *Spodoptera frugiperda* usando larvas de diferentes regiones geográficas, así como aislados virales de distintos lugares. Estos estudios reportan haber encontrado valores distintos de Dosis Letal  $_{50}$ , entre 4.1 a 18.7 CIP/mg, (J.R. Fuxa, 1987).

#### **4.4. Efectividad del Virus en el Campo**

##### **4.4.1. Ensayo No. 1**

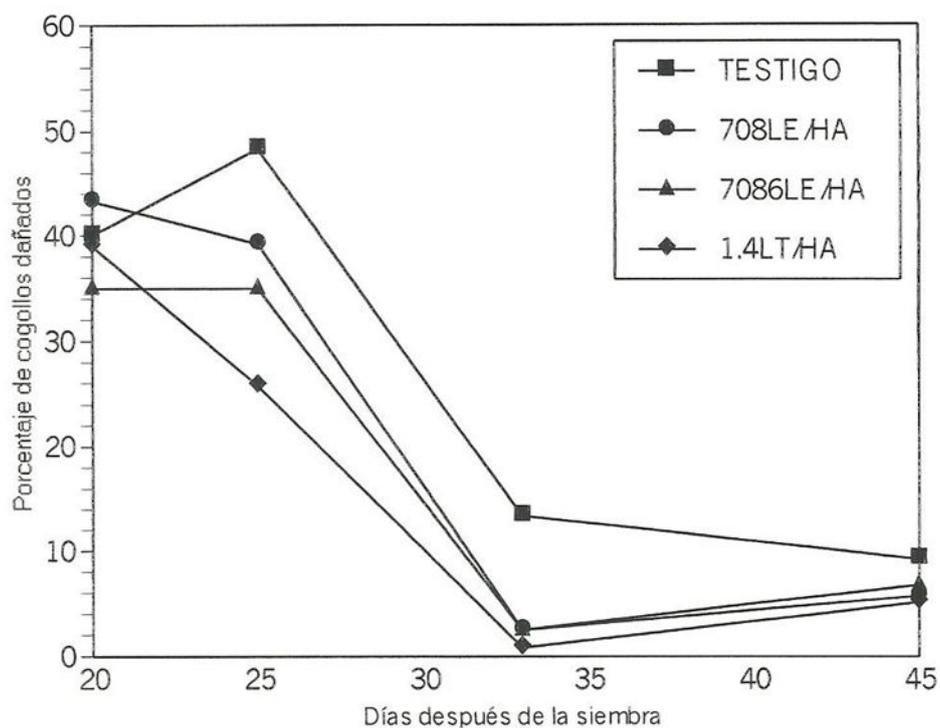
En la figura 3, se observa que la población promedio de larvas de *Spodoptera frugiperda* a los 20 días después de la siembra osciló entre 9 y 11.5 larvas en 10 plantas, esta población había ocasionado un daño de 35 a 43%, en los diferentes tratamientos en el primer ensayo (figura 1). El umbral recomendado para la aplicación de un insecticida en el cultivo de maíz es de 40% de cogollos dañados, (MAG, 1991), por lo cual se realizó la primera aplicación de cada uno de los tratamientos. Cinco días después (25 dds), se observó una disminución de la población de larvas en las parcelas, bajando a 4.6 larvas en 10 plantas en la dosis baja de virus (708 LE/ha), 5.0 larvas en la dosis alta de virus (7086 LE/ha). Esta disminución de la población se debió principalmente al efecto de los tratamientos obteniéndose una mayor mortalidad en larvas por virus entre 48.3% en la dosis baja y 70.6% en la dosis alta.

Como resultado de la segunda aplicación (33 días después de la siembra), se obtienen porcentajes de mortalidad más bajos que después de la

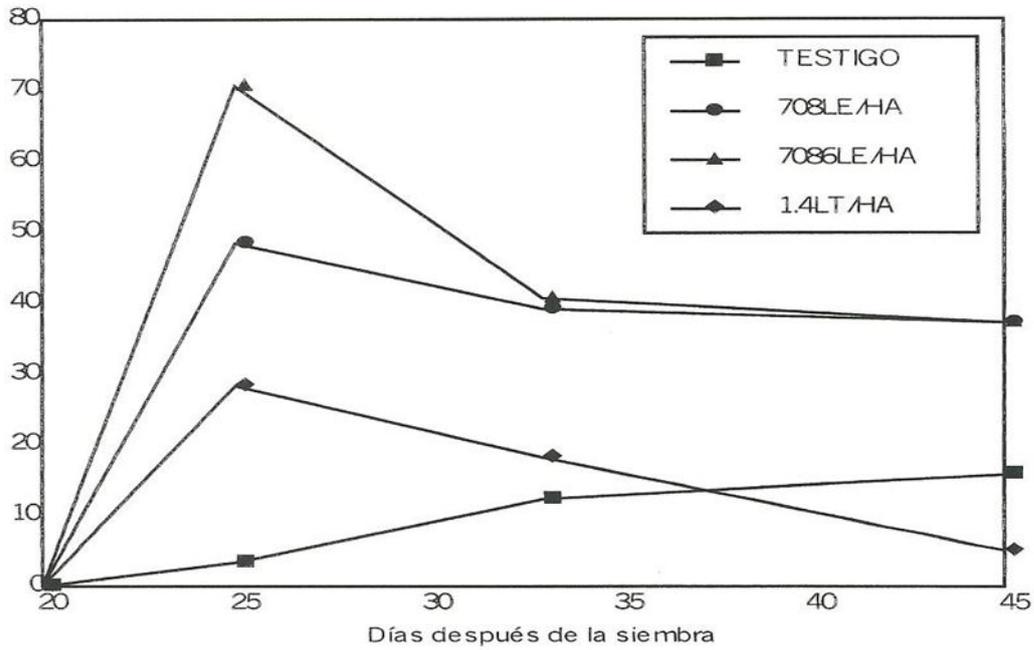
primera aplicación (39 y 41% en la dosis baja y dosis alta de Virus respectivamente, (ver figuras 1, 2 y 3).

A los 33 días después de la siembra el daño en el cogollo se reduce en 2.5% en los tratamientos con virus y 13 % en el testigo.

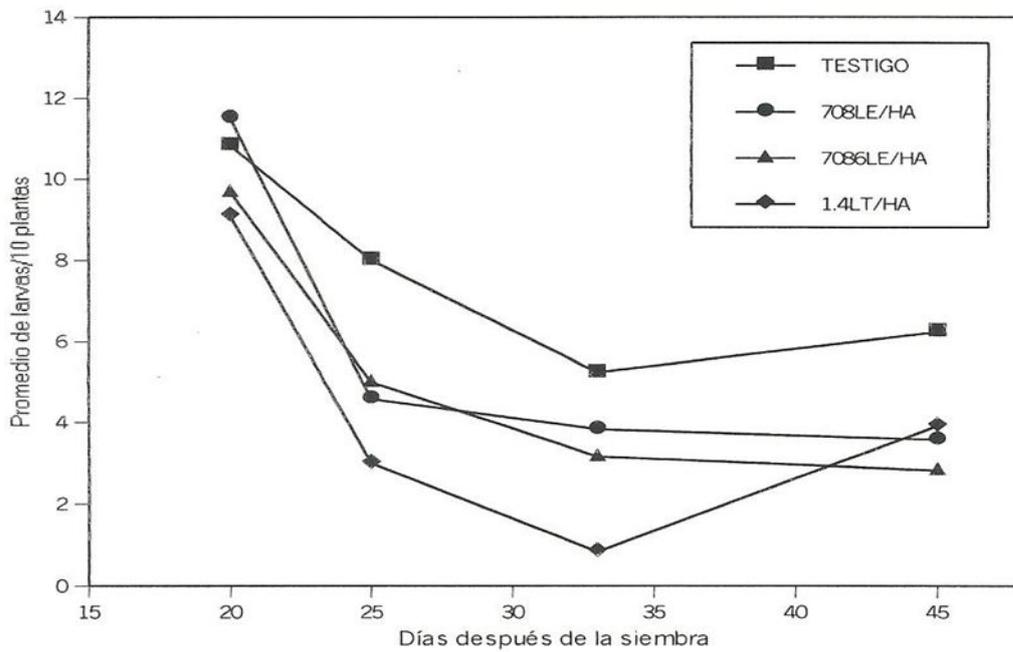
El testigo presenta mortalidades por virus en un 3.3% debido a la dispersión del virus en las parcelas adyacentes.



**Figura 1.** Porcentaje de cogollos dañados por *Spodoptera frugiperda*  
Ensayo No. 1. Parcela Agrobiológica. UNAN-León. L.C.B. 1990.



**Figura 2** .Porcentaje de mortalidad en larvas de *Spodoptera frugiperda* causado por VPN. Ensayo No. 1. Parcela Agrobiológica. UNAN-León. L.C.B. 1990.



**Figura 3** Densidad de larvas de *Spodoptera frugiperda*. Ensayo No. 1 Parcela Agrobiológica, UNAN-León. L. C. B. 1990.

En el cuadro seis se detallan los datos resultantes del análisis estadístico para el porcentaje de mortalidad para la primera y segunda fecha de aplicación y las significancias entre el testigo y las dos dosis de virus y la dosis baja y alta de virus. Para el tratamiento químico no se hizo el contraste debido a que presentó mortalidades por virus debido a la dispersión del mismo en las parcelas adyacentes.

Para la primera fecha de aplicación se encuentra diferencias significativas ( $P= 0.05$ ) entre el testigo versus ambas dosis de virus y entre la Dosis 1 (708 LE/HA) y Dosis 2 (7086LE/HA). El resultado de la segunda aplicación (33 dds) solamente se encuentra diferencias significativas entre el testigo versus Virus y no entre ambas dosis de virus.

**Cuadro 6. Análisis de Varianza del porcentaje de mortalidad por virus para dos fechas de aplicación. 1990.**

Fecha	FV.	Sc.	GL	CM	F	P
<b>(DDS)</b>						
25	Bloques	0.126	5	0.024	0.663	
	Tratamientos	2.818	3	0.939	5.401	0.000
	Testigo vs. VPN	2.544	1	2.554	69.086	0.000
	Dosis 1 vs. Dosis 2	0.228	1	0.228	6.165	0.025
	Error	0.555	15			
33	Bloques	0.462	5	0.092	3.461	
	Tratamientos	0.636	3	0.212	7.938	0.002
	Testigo vs. VPN	0.522	1	0.522	19.538	0.000
	Dosis 1 vs. Dosis 2	0.000	1	0.000	0.009	0.922
	Error	0.401	15	0.027		

En el análisis de varianza para la densidad poblacional de larvas de *Spodoptera frugiperda*, (cuadro 7), después de la primera aplicación (25 dds) se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos, entre el testigo y los tratamientos de virus, pero no hay diferencia entre las dosis de virus. Para la segunda aplicación (33 dds), solamente hay diferencias mínimas entre tratamiento.

**Cuadro 7. Análisis de Varianza para densidad de población de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz. 1990.**

Fecha	FV.	Sc.	GL	CM	F	P
<b>(DDS)</b>						
25	Bloques	144.430	5	28.885	9.164	
	Tratamientos	78.531	3	26.177	8.305	0.001
	Testigo vs. VPN	41.174	1	41.174	13.062	0.002
	Dosis 1 vs. Dosis 2	0.521	1	0.521	0.165	0.690
	Error	47.281	15	47.281		
33	Bloques	20.427	5	4.085	1.278	
	Tratamientos	61.114	3	20.371	6.373	0.005
	Testigo vs. VPN	12.250	1	12.250	3.830	0.069
	Dosis 1 vs. Dosis 2	1.333	1	1.333	0.417	0.528
	Error	47.948	15	3.196		

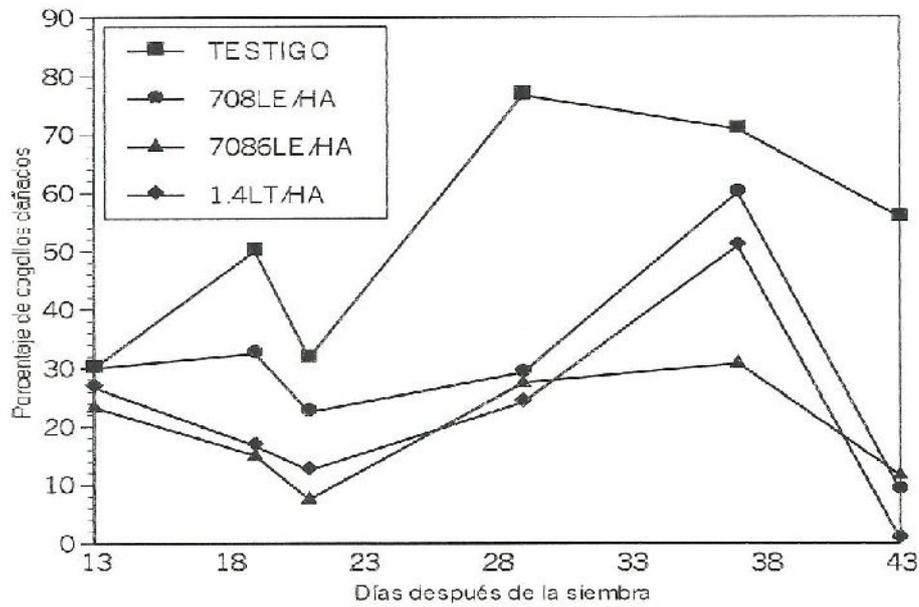
Las mortalidades encontradas para este primer ensayo son satisfactorias y se verifica con el análisis estadístico.

El rendimiento obtenido fueron de 25 qq/mz en la dosis de 708 LE/ha, 30.1 qq/mz en la dosis de 7086 LE/ha, siendo más baja en el testigo y el tratamiento químico (14.7 y 24.3 qq/mz, respectivamente).

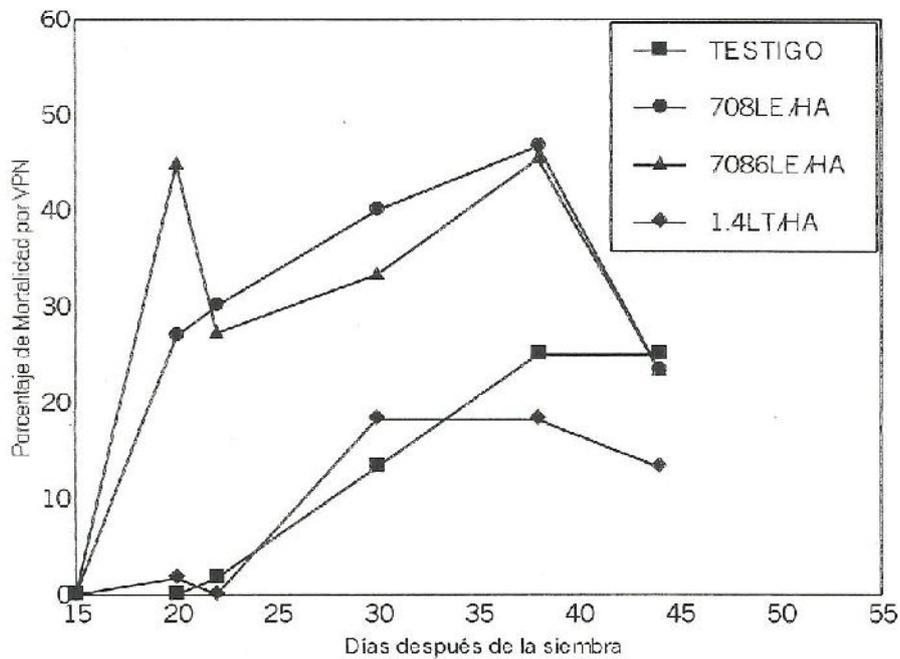
#### 4.4.2. Ensayo No. 2

En la figura 6, se observa que la población promedio de larvas de *Spodoptera frugiperda* a los 13 días después de la siembra osciló entre 5.9 y 7.0 larvas en 10 plantas, con un porcentaje de cogollos dañados de 23.3 a 30%, en los diferentes tratamientos, (figura 4). Se realizó la primera aplicación a los 15 días después de la siembra, cuando la población oscilaba entre 4.7 y 5.7 larvas en 10 plantas. Después de la primera aplicación (19 dds), se obtuvieron porcentajes de mortalidad entre 26.8% en la dosis baja de virus (708 OE/ha) y 44.8% en la dosis alta de virus (7086 LE/ha). La población promedio de larvas fue entre 4.7 y 5.7 larvas en 10 plantas. Tres días después de realizada la segunda aplicación (22 dds), se obtienen porcentajes de mortalidad 30 y 27.2% en las dosis de virus, reduciéndose el daño en el cogollo (7.5 y 31.7 en los diferentes tratamientos), aunque la población no se logra disminuir en los diferentes tratamientos.

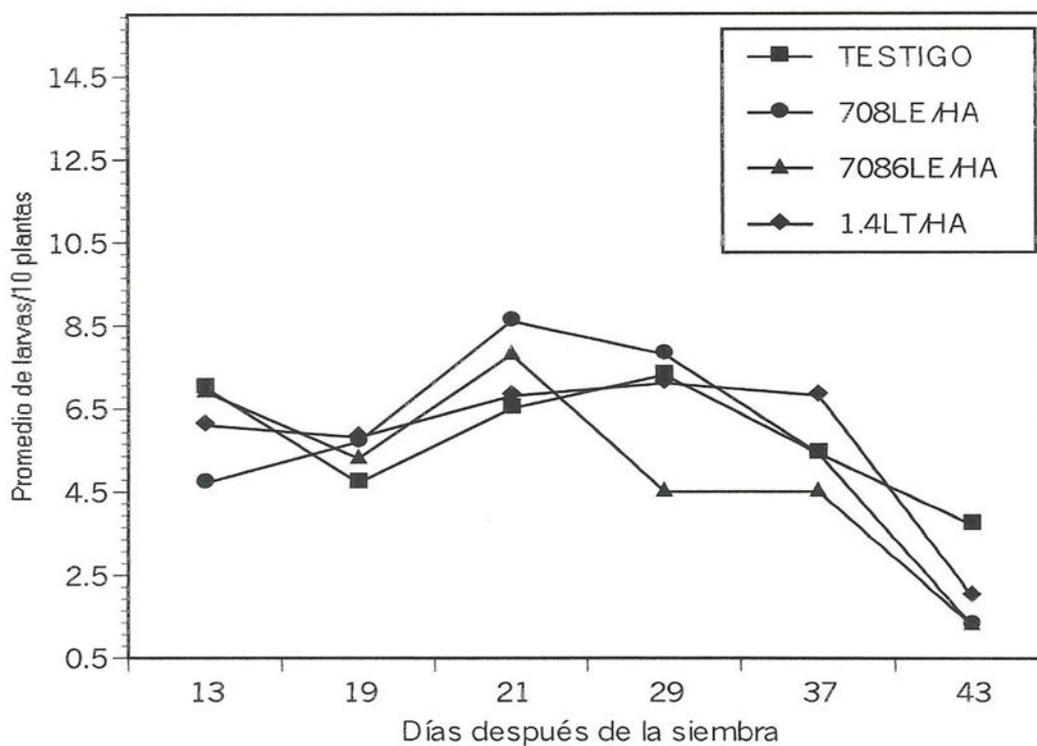
Como resultado de la tercera aplicación (30 dds), se obtienen porcentajes de mortalidad entre 40 y 33.3% en la dosis baja y alta de virus respectivamente, (ver figuras 4,5 y 6).



**Figura 4** .Porcentaje de cogollos dañados por *Spodoptera frugiperda* . Ensayo No. 2. Parcela Agrobiológica. UNAN-León. L.C.B. 1991.



**Figura 5.** Porcentaje de mortalidad en larvas de *Spodoptera frugiperda* causado por VPN. Ensayo No. 2. Parcela Agrobiológica, UNAN-León. L.C.B. 1991.



**Figura 6.** Densidad de Larvas de *Spodoptera frugiperda*. Ensayo No. 2 Parcela Agrobiológica, UNAN-León. 1991

En el cuadro ocho se reflejan los resultados del análisis estadístico para el porcentaje de mortalidad de tres aplicaciones de virus que corresponden a las fechas 20, 22 y 30 dds). Para las tres fechas se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, testigo versus los tratamientos con virus, pero no entre las dosis de virus, ( $P=0.05$ ).

**Cuadro 8. Análisis de Varianza del Porcentaje de Mortalidad por Virus después de dos aplicaciones. 1991.**

Fecha	FV.	Sc.	GL	CM	F	P
<b>(DDS)</b>						
20	Bloques	0.206	5	0.041	0.857	
	Tratamientos	2.227	3	0.742	15.440	0.000
	Testigo vs. VPN	1.484	1	1.484	30.880	0.000
	Dosis 1 vs. Dosis 2	0.184	1	0.048	3.820	0.069
	Error	0.721	15			
22	Bloques	0.131	5	0.026	1.112	
	Tratamientos	1.594	3	0.531	22.520	0.000
	Testigo vs. VPN	0.949	1	0.949	40.230	0.000
	Dosis 1 vs. Dosis 2	0.000	1	0.000	0.018	0.894
	Error	0.035	15	0.024		
30	Bloque	0.058	5	0.012	0.360	
	Tratamiento	0.526	3	0.175	4.621	0.017
	Testigo vs. VPN	0.475	1	0.475	12.530	0.003
	Dosis 1 vs. Dosis 2	0.012	1	0.012	0.310	0.351
	Error	0.568	15	0.038		

En relación al análisis estadístico de la densidad poblacional no se encuentran diferencias significativas entre tratamientos, entre testigo y dosis de virus y entre las dosis de virus, para ninguna de las fechas, descritas en el cuadro nueve.

**Cuadro 9. Análisis de Varianza de la densidad poblacional de larvas de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz, época de primera. 1991.**

Fecha	FV.	Sc.	GL	CM	F	P
<b>(DDS)</b>						
19	Bloques	179.333	5	35.867	1.963	
	Tratamientos	4.417	3	1.472	0.081	0.969
	Testigo vs. VPN	2.507	1	2.507	0.137	0.716
	Dosis 1 vs. Dosis 2	0.521	1	0.521	0.028	0.868
	Error	274.083	15	18.272		
22	Bloques	42.177	5	8.435	1.604	
	Tratamientos	27.947	3	9.316	1.772	0.196
	Testigo vs. VPN	21.007	1	21.007	3.996	0.064
	Dosis 1 vs. Dosis 2	0.521	1	0.521	0.099	0.757
	Error	78.865	15	5.257		
30	Bloque	11.708	5	2.342	0.546	
	Tratamiento	30.875	3	10.292	2.398	0.108
	Testigo vs. VPN	9.000	1	9.000	2.097	0.168
	Dosis 1 vs. Dosis 2	18.750	1	18.750	4.369	0.054
	Error	64.375	15	4.292		

Los rendimientos obtenidos en este segundo ensayo fueron el testigo con 41 qq/mz, dosis baja de virus (708 LE/ha), 58 qq/mz, dosis alta de virus (7086 LE/ha), y 53 qq/mz en el tratamiento químico.

## V. CONCLUSIONES

1. La especie *Spodoptera frugiperda* se logró establecer en condiciones de laboratorio, lo cual indica que se puede producir de manera masiva para la multiplicación del virus de la poliedrosis nuclear con la dieta Tejana
2. La dosis letal cincuenta  $DL_{50}$  para *Spodoptera frugiperda* (II instar), utilizando el aislado viral **SfVPN,OX-2**, introducido de Inglaterra, es de 1123.76 CIP/mg de peso
3. Los porcentajes de efectividad en el cultivo de maíz obtenidos con el Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), introducido de Inglaterra son muy satisfactorios, por lo que se pueden incluir en un programa de manejo de la especie *Spodoptera frugiperda*.
4. En base al Análisis Estadístico realizado, tanto la dosis de 708 LE/HA como la de 7086 LE/HA, tienen comportamientos similares en cuanto a la efectividad en el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en el cultivo de maíz, por lo tanto resulta más barato utilizar la dosis baja ya que contiene un menor número de larvas equivalentes.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Iniciar la búsqueda de aislados virales nativos de la especie *Spodoptera frugiperda*.
2. Una vez encontrado el virus nativo aislado de la especie *Spodoptera frugiperda*, se deberán realizar estudios de comparación entre los dos virus para optimizar la producción del mismo.
3. Estimar el análisis de costo para obtener el valor de una dosis de virus.
4. Optimizar la producción de virus a gran escala para ofrecer a los productores y sea utilizada en el manejo de plagas, como una alternativa biológica.

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. ALBES, S.A. Virus Entomopatogénicos. In Controle Microbiano de Insectos. Eds. Manole. 1986. P 171.
2. BUSTILLO, A.E. Utilización de Agentes Microbiológicos. In Manejo Integrado de Plagas Insectiles en la Agricultura. Eds. Andrews y Quezada. 1989, pp. 215 – 216.
3. CARNER, G.R., HUDSON, J.S., and BARNETT. 1979. The Infectivity of Nuclear Polyhedrosis Virus of the Velvetbean Caterpillar for Eight Noctuid Host. *Journal of Invertebrate Pathology* 33: 211 – 216.
4. VALICENTE, H. , I. Cruz. Controle Biológico da Lagarta-Do-Cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o Baculovirus. Circular Técnica. 1991. p. 23
5. FUXA, J.R. 1987. *Spodoptera frugiperda* Susceptibility to Nuclear Polyhedrosis Virus Isolates with Reference to Insect Migration. *Environ. Entomol.* 16: 218 – 223.
6. GELERNTER, W.D., N.C. TOSCANO, K. KIDO, and B.A. FEDERICI. 1986. Comparison of a Nuclear Polyhedrosis Virus and Chemical Insecticides for Control of the Beet Armyworm (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) on Head Lettuce. *J. Economic Entomol.* 79: 714 – 717.
7. GUIDO, MT., S. GLDSTONE. 1991. Factores Bióticos de Mortalidad en la Fase Vegetativa del Maíz, en Epoca Seca y Lluviosa y su Respuesta a Carbofuran. *Revista de la Escuela de Sanidad Vegetal.* Vol 2 (2). Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 18 – 26 pp.
8. HARPER, J.D. 1976. Cross – Infectivity of Six Plusiine Nuclear Polyhedrosis Virus Isolates to Plusiine Hosts. *J. Invertebr. Pathol.* 27: 275 – 277.

9. HAMM, J. 1982. Relative Susceptibility of Several Noctuid Species to a Nuclear Polyhedrosis Virus from *Heliothis armiger*. J. Invertebr. Pathol. 9: 255 – 256.
10. Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), 1991. Guía Técnica “El Maíz” Centro Nacional de Investigación en Granos Básicos. 1991. p. 36.
11. MOSCARDI, F. 1989. Use of Viruses for Pest Control in Brazil: the case of the Nuclear Polyhedrosis Virus of the Soybean Caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Río de Janeiro. Vol. 84, Supl. III, pp. 51 – 56.
12. SWESEY, S. Tabla de Vida de *Spodoptera frugiperda* con dieta semisentética de soya/frijol rojo. Laboratorio de Control Biológico UNAN-León. 1988. Datos no publicados.
13. OEA. Organización de Estados Americanos. Ecología de Poblaciones Animales. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Monografía No. 21. 1978 pp. 43-86
14. PANTOJA, A., C.M. SMITH and J. F. ROBINSON. 1986. Evaluation of Rice Germ Plasm for Resistance to the Fall Armyworm (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). J. Economic Entomol. 79 : 1319 – 1323.
15. PANTOJA, A., C.M. SMITH and J. F. ROBINSON. 1986. Effects of the Fall Armyworm (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) on Rice Yields. J. Economic Entomol. 79: 1324 – 1329.
16. PAYNE, C. C. 1986. Insect Pathogenic Viruses as Pest Control Agent. Pp 183 – 200. In: Biological Plant and Health Protection. (J. M. Franz ed.). Fischer Verlag, Stuttgart.
17. SMITS, P. H. & VLAK, J.M., 1988. Selection of Nuclear Polyhedrosis Virus as Biological Control Agent. of *Spodoptera exigua* (LEP.: NOCTUIDAE). Entomophaga, 33, 299 – 308.

## ***ANEXOS***

## ANEXO 1

### INGREDIENTES DE DIETA TEJANA Y SOYA

INGREDIENTES	“TEJANA”	“SOYA”
AGAR	41.0 g	60.0 g
GERMEN DE TRIGO	160.0 g	200.0 g
PROTEINA DE FRIJOL	375.0 g	275.0 g
PROTEINA DE SOYA	—	120.0 g
LEVADURA	106.0 g	125.0 g
ACIDO ASCORBICO	11.6 g	15.0 g
ACIDO SORBICO	3.3 g	8.0 g
VITAMINAS	25.0 g	25.0 g
TETRACICLINA	0.5 g	0.5 g
METIL PARABEN	6.6 g	10.0 g
BENLATE	1.0 g	2.0 g
AGUA	1,600.0 ml	3,500.0 ml

#### PREPARACION:

Se mezclan la proteína de frijol, soya, germen de trigo y agar. En otro recipiente se mezcla la levadura con un poco de agua tibia y se agrega a la mezcla anterior. Esto se hace para evitar que la levadura forme gránulos grandes. A esta mezcla se le adiciona el volumen de agua de grifo correspondiente, según la dieta. Se homogeniza bien y se introduce en el autoclave por 20 minutos.

Después de la esterilización debe esperarse que la mezcla baje la temperatura a 60° C y se procede a disolver el ácido sórbico, ácido ascórbico, metil paraben, benlate, tetraciclina y las vitaminas. Se homogeniza bien y se vierte la dieta sobre una bandeja cubierta de papel de aluminio. Se tapa y se mantiene en refrigeración. Al enfriarse toma consistencia y ya está lista para dividirla en trozos pequeñas y alimentar a las larvas.

## ANEXO 2

### DESCRIPCION DE LOS COMPONENTES DE LA DIETA

#### **Proteínas:**

Son esenciales para el crecimiento y fecundidad de los insectos. Entre las proteínas se encuentran la caseína y la albúmina, ya que contienen todos los aminoácidos esenciales y trazas de vitaminas. Otras fuentes de proteínas son la harina de soya, germen de trigo y levadura de cerveza. El germen de trigo aporta además carbohidratos, lípidos, vitaminas, minerales y enzimas.

#### **Vitaminas:**

Los insectos necesitan del complejo B y en ciertos casos del ácido ascórbico o vitamina C.

#### **Carbohidratos:**

Son fuente de energía, los más utilizados son la sacarosa y glucosa que son además fago estimulantes.

#### **Lípidos:**

Estos pueden ser sintetizados a través de proteínas y carbohidratos. Los más comunes son el ácido linoleico, el colesterol y el aceite de germen de trigo.

#### **Sales minerales:**

La exigencia en cuanto a éstos es mínima. En el comercio ya existen preparados de mezclas, como las sales de Wesson.

#### **Agar:**

Es importante para darle consistencia a la dieta. Existen otros gelificantes como es la harina de tuza de maíz molida que provee un porcentaje de consistencia de la dieta, cuando es acompañado de otra proporción de agar.

#### **Antioxidantes y sustancias que eviten contaminación:**

El antioxidante más común es el ácido ascórbico que además previene contaminaciones en las dietas. Otras sustancias se agregan para evitar la contaminación por hongos, bacterias, virus y otros microorganismos. Entre estos se pueden mencionar el metil parahidroxibenzoato de sodio y el ácido sórbico.

#### **Agua:**

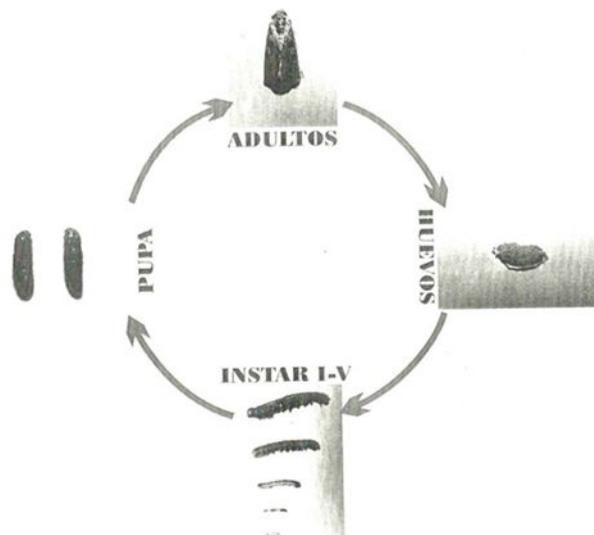
La proporción de agua en las dietas debe ser apropiada, ya que si se excede en proporción podrían favorecer la contaminación. La mayoría de insectos fitófagos toman agua directamente de sus alimentos, (Lecouna, 1996).

### ANEXO 3



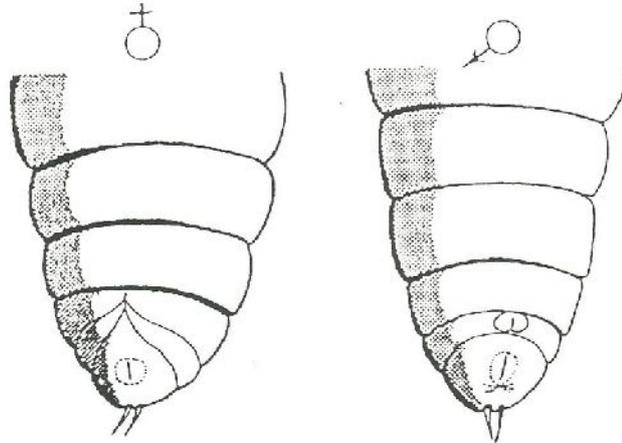
Recipiente de vidrio (confitero) usado para los adultos de la especie *S. frugiperda*, conteniendo alimento a base de miel y agua al 10% para estimular la oviposición

### ANEXO 4



Ciclo de Vida de *Spodoptera frugiperda*

## ANEXO 5



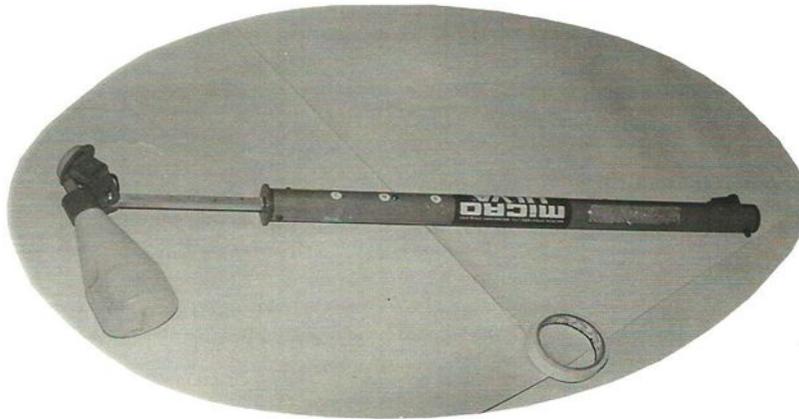
Dimorfismo Sexual de pupas de *Spodoptera frugiperda*

## ANEXO 6



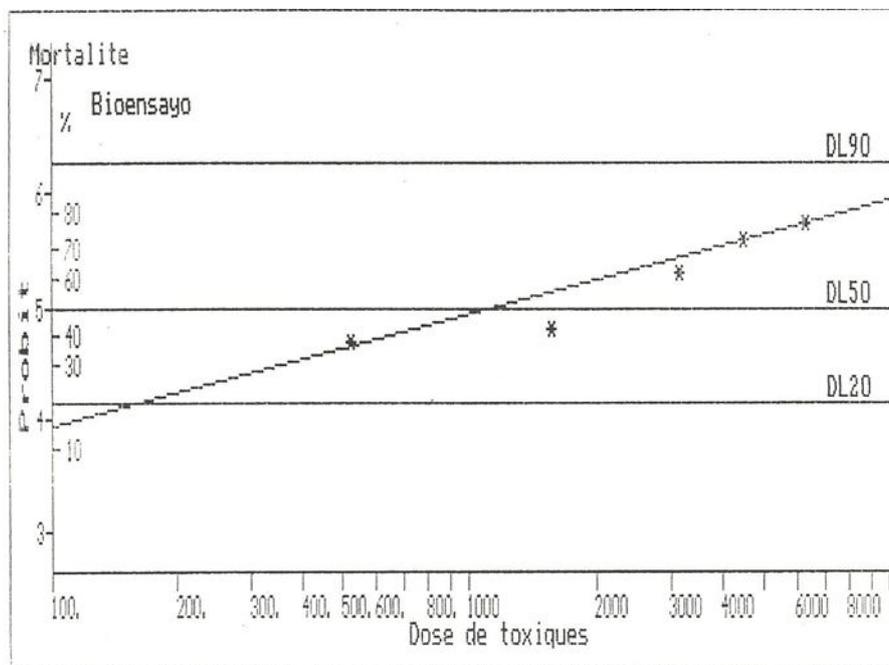
Bioensayo en larvas del II instar de *Spodoptera frugiperda* con Virus codificado Como SfVPN, OX-2, introducido de Inglaterra

## ANEXO 7



**Aparato de Ultra Bajo Volumen (Micro-Ulva, utilizado para aplicar los diferentes tratamientos en ensayos de campo para determinar efectividad del Virus SfVPN, OX-2 en la especie *Spodoptera frugiperda*)**

## ANEXO 8



**Dosis Letal Cincuenta para *Spodoptera frugiperda* con el virus SfVPN,OX-2**

