

## Evaluación de aislamientos de baculovirus para el control de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (LEP.: NOCTUIDAE), plaga clave del maíz en el noroeste argentino

Marta G. Yasem de Romero\*, Eduardo R. Romero\*\*, Daniel Sosa Gómez\*\*\*  
y Eduardo Willink\*\*\*\*

### RESUMEN

Para el control de *Spodoptera frugiperda* (Smith), plaga clave del maíz en el noroeste argentino (NOA), se utilizan insecticidas químicos que muestran en muchas ocasiones, una baja efectividad. Los baculovirus constituyen una alternativa biológica para el manejo del gusano cogollero. El propósito de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad de estadios larvales de *S. frugiperda* a distintas concentraciones de tres aislamientos del *Nucleopolyhedrovirus* de diferentes procedencias. Los resultados obtenidos permitieron constatar que la mortalidad de las orugas de *S. frugiperda* aumentó con el incremento de la concentración viral y que la susceptibilidad larval al virus decreció con el aumento de la edad del insecto. Se determinó una concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de  $7,6 \times 10^4$  y  $4,5 \times 10^5$  poliedros/ml en larvas de tres y cinco días respectivamente, para el VPN aislamiento Leales (Tucumán, Argentina). Con niveles similares se ubicó el aislamiento Oliveros (Santa Fe, Argentina), cuya CL<sub>50</sub> fue de  $8,6 \times 10^4$  poliedros/ml y  $4 \times 10^5$  poliedros/ml, respectivamente. Por último, el aislamiento oriundo de Brasil presentó CL<sub>50</sub> igual a  $5,9 \times 10^5$  poliedros/ml para larvas de tres días, y  $1,5 \times 10^6$  poliedros/ml para orugas de cinco días. El aislamiento local demostró la mayor virulencia en la población nativa de larvas de *S. frugiperda*, registrando para larvas jóvenes (tres y cinco días de edad) y a los valores de concentración letal media, un tiempo medio de mortalidad de seis días, resultando siete días para el aislamiento Oliveros y nueve días para el aislamiento Brasil. Considerando los resultados obtenidos, el VPNSf aislamiento Leales tuvo el mejor desempeño y sería conveniente continuar los estudios destinados a desarrollar un bioinsecticida para uso local, ya que evidencia una adecuada virulencia. Además, al ser un aislamiento nativo, su empleo sería el más apropiado en términos de impacto ambiental.

**Palabras clave:** bioinsecticida, gusano cogollero, *Nucleopolyhedrovirus*.

### ABSTRACT

**Evaluation of baculovirus strains to control the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (LEP.: NOCTUIDAE), a key corn pest in North Western Argentina**

Chemical insecticides are used for *Spodoptera frugiperda* control, a key pest affecting corn crops in North Western Argentina. These insecticides, however, frequently show low effectiveness. The baculoviruses are a biological alternative to control the fall armyworm. The objective of this research was to assess *Nucleopolyhedrovirus* native and foreign strains as regards their effectiveness in controlling *S. frugiperda*. The results showed that *S. frugiperda* larvae death rate rose with increasing viral concentrations, while viral susceptibility of larvae decreased with insect age. LC<sub>50</sub> (lethal concentration for 50% of the tested sample) of  $7.6 \times 10^4$  and  $4.5 \times 10^5$  polyhedra/ml for three and five day-old larvae, respectively, were determined for the nuclear polyhedrosis virus (NPV) isolated in Leales (Tucumán, Argentina). Similar control levels were determined for the NPV isolated in Oliveros (Santa Fe, Argentina), with lethal viral concentrations (LC<sub>50</sub>) of  $8.6 \times 10^4$  and  $4.0 \times 10^5$  polyhedra/ml, respectively. The Brazilian isolate was characterized by LC<sub>50</sub> levels of  $5.9 \times 10^5$  and  $1.5 \times 10^6$  polyhedral/ml for three-day-old and five-day-old larvae, respectively. The local isolate (VPNSf - Tucumán) showed the most lethal effect on the native population of young *S. frugiperda* (three to five-day-old) larvae, with an average lifespan of six days at LC<sub>50</sub> levels, while the Oliveros and Brazil isolates showed an average lifespan of seven and nine days, respectively. The VPNSf - Leales isolate was therefore selected as the object of study for this research. Moreover, being a native isolate, it was considered the best alternative from the environmental impact standpoint.

**Key words:** biological insecticides, fall armyworm, *Nucleopolyhedrovirus*.

\* Cátedra Fitopatología, FAZ - UNT. e-mail: [romeroyasem@arnet.com.ar](mailto:romeroyasem@arnet.com.ar).

\*\* Sección Caña de Azúcar, EEAOC.

\*\*\* EMBRAPA Soja - Londrina, Paraná, Brasil.

\*\*\*\* Sección Zoología Agrícola, EEAOC.

## INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de alternativas para la implementación de programas de manejo integrado de plagas, los entomopatógenos y especialmente el grupo de los baculovirus, juegan un rol importante. En este contexto, un requisito fundamental es determinar la virulencia de las cepas patógenas candidatas, escogiendo las más promisorias. En referencia a los virus de la poliedrosis nuclear, se comprobó que la mortalidad varía según las especies y las cepas consideradas (Lobo de Souza y Lecuona, 1996).

El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) es una plaga polífaga de gran importancia agrícola. Su significación no se asocia solamente a los daños que provoca, sino especialmente a las dificultades que plantea su control (dos Santos *et al.*, 2001). En el noroeste argentino es la plaga clave del maíz (Willink *et al.*, 1991), además de afectar otros cultivos.

En países donde el gusano cogollero es una plaga importante, se realizaron bioensayos a fin de determinar su susceptibilidad al virus de la poliedrosis nuclear (VPN) (Agudelo *et al.*, 1983; García *et al.*, 1983; Valicente *et al.*, 1989; Valicente y Cruz, 1991; Nascimento *et al.*, 1995), para así proponer su uso como biocontrol.

La selección de un aislamiento viral como agente biocontrolador requiere que distintas variantes geográficas sean ensayadas en la población de insectos de la localidad en la cual el programa funcionará (Berreta *et al.*, 1998; Arce Gómez *et al.*, 1999). La teoría de nuevas asociaciones aplicada en la selección de enemigos naturales para el control biológico, propone que hospedantes (plagas) que han estado largo tiempo asociados con sus enemigos naturales, son más aptos para desarrollar resistencia o estrategias para evadir la depredación o el parasitismo por los enemigos nativos. Por lo tanto, la teoría argumenta que las asociaciones establecidas tendrán una menor probabilidad de ser exitosas en un programa de biocontrol que nuevas asociaciones enemigos - víctima. Sin embargo, la validez de la teoría de las nuevas asociaciones ha sido cuestionada (Escribano *et al.*, 1999; Fuxa, 1987).

En los Estados Unidos de Norteamérica, se determinó la dosis letal media para aislamientos geográficos del virus de la poliedrosis nuclear (VPN) en larvas de *S. frugiperda* provenientes de varias localidades del Hemisferio Occidental, demostrando que las poblaciones del gusano cogollero de sitios cercanos (por ejemplo, tres colonias mejicanas) tuvieron similares respuestas a los aislamientos virales, mientras que una población distante (Brasil) tuvo diferente respuesta que aquellas del norte del Ecuador (Fuxa, 1987). La virulencia de los aislamientos geográficos de VPN a su hospedero fue inversamente proporcional a la distancia entre los lugares de origen de ambos. Lo opuesto fue encontrado respecto de la reacción de *Kutochalia junodi* (Heylaerts) a los aislamientos geográficos de su VPN. En este caso, se consideró que esto

ocurrió probablemente debido a la adquisición de resistencia por el insecto local a su virus nativo, o bien a la pérdida de virulencia del patógeno hacia su hospedador autóctono (Arce Gómez, 1995).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad diferencial de larvas de distintas edades de *S. frugiperda*, a concentraciones crecientes de poliedros de aislamientos de diferente procedencia del virus de la poliedrosis nuclear.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos fueron planificados para evaluar y comparar la virulencia de tres aislamientos de distinto origen, Oliveros (Santa Fe) y Leales (Tucumán) de la Argentina y Sete Lagoas (Minas Gerais) de Brasil, del virus de la poliedrosis nuclear de *Spodoptera frugiperda* (VPNSf), en orugas de edades diferentes. Se utilizaron larvas de *S. frugiperda* libres de patógenos y con bajo índice de mortalidad natural, en grupos de igual edad y similar tamaño, criados con dieta artificial en el insectario de la Sección Zoología Agrícola de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC).

La dieta para la cría constó de los siguientes elementos: 112,5 g de poroto molido; 26,1 g de trigo; 225 g de levadura de cerveza, 30 g de agar; 4,5 g de ácido ascórbico; 0,75 g de ácido sórbico; 1,5 g metilparahidroxibenzoato (nipagín) y 1,5 ml de formaldehído. Para la multiplicación viral y para los bioensayos, la dieta constó de los mismos elementos, excepto el formol.

Para realizar la cría, se colocaron en vasos plásticos de 350 cm<sup>3</sup> listones de dieta y cuatro grupos de posturas. Se desarrollaron aproximadamente 400 orugas por vaso, a temperatura ambiente (24–26°C). Las orugas emergidas se transfirieron con pincel en forma individual a cada tubo de ensayo con dieta, donde permanecieron hasta que empuparon. Las pupas (40) se colocaron en cajas de Petri de 15 cm de diámetro, con un tubo de plástico envuelto en tres o cuatro capas de papel, donde los adultos realizaron las posturas. En la base, se colocó un recipiente pequeño con algodón embebido en agua azucarada.

La dieta para la cría de *S. frugiperda* constó de los siguientes elementos: 112,5 g de poroto molido; 26,1 g de trigo; 225 g de levadura de cerveza; 30 g de agar; 4,5 g de ácido ascórbico; 0,75 g de ácido sórbico; 1,5 g de metilparahidroxibenzoato (nipagín) y 1,5 ml de formaldehído. Para la multiplicación viral y para los bioensayos, la dieta constó de los mismos elementos, excepto el formol.

Se realizaron tres bioensayos, los cuales se describen a continuación. En todos los casos, durante el período de incubación, la temperatura se mantuvo a 27 ± 1°C y el fotoperíodo fue de 12 horas.

**Bioensayo 1:** se efectuó en cámaras climatizadas del insectario de la Sección Zoología Agrícola de la EEAOC,

trabajando con el VPNSf procedente de Oliveros. Se evaluaron, en larvas de 3, 5, 7, 9 y 11 días de desarrollo, los efectos de las siguientes concentraciones de VPNSf: 0;  $2 \times 10^4$ ;  $2 \times 10^5$ ;  $2 \times 10^6$ ;  $2 \times 10^7$ ;  $2 \times 10^8$  y  $2 \times 10^9$  poliedros por ml de agua estéril. En cada tratamiento (edad de larva y concentración), se inocularon 60 larvas.

**Bioensayo 2:** se realizó en cámaras climatizadas del Centro de Investigaciones sobre el Control de Poblaciones de Organismos Nocivos (CIRPON), dependiente de la Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura (FECIC) y la Fundación Lillo. Se evaluaron las respuestas de larvas de *S. frugiperda* de 3, 5, 7, 9 y 11 días de desarrollo, a la aplicación de las siguientes concentraciones de VPNSf procedentes de Oliveros y de Leales: 0;  $8 \times 10^3$ ;  $8 \times 10^4$ ;  $8 \times 10^5$ ;  $8 \times 10^6$ ;  $8 \times 10^7$  y  $8 \times 10^8$  poliedros por ml de agua estéril. En cada tratamiento se inocularon 60 larvas.

**Bioensayo 3:** se llevó a cabo en el laboratorio de la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Agronomía y Zootecnia (FAZ) de la Universidad Nacional de Tucumán (UNT), comparando los aislamientos del VPNSf procedentes de Oliveros, Leales y Sete Lagoas. Se determinó la mortalidad de larvas de *S. frugiperda* de tres y cinco días de desarrollo, tratadas con las siguientes concentraciones: 0;  $1 \times 10^2$ ;  $1 \times 10^3$ ;  $1 \times 10^4$ ;  $1 \times 10^5$ ;  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^7$  poliedros por ml de agua estéril. Se inocularon 100 larvas por tratamiento (edades, concentraciones y aislamientos) y este ensayo fue replicado en dos oportunidades, con idénticas características.

### Ejecución de los bioensayos

Se llevó a cabo la inoculación del VPNSf en los tres bioensayos, usando la metodología de Valicente *et al.* (1989). A tal efecto, se trabajó con hojas jóvenes de maíz, variedad Leales 25, frescas y libres de agroquímicos, las que fueron lavadas con hipoclorito de sodio al 0,5% y en agua destilada estéril después. Posteriormente, trozos foliares sin nervadura central se sumergieron durante 15 segundos en la suspensión del inóculo correspondiente a cada una de las concentraciones evaluadas en cada bioensayo, permaneciendo en la cámara de flujo laminar hasta eliminarse el exceso de humedad.

Se ofreció el alimento así inoculado a las larvas, colocadas individualmente en tubos de ensayo cerrados con algodón y mantenidas allí por un período de 24 horas. Después, se transfirió cada larva con un pincel estéril a otro tubo de ensayo adecuadamente identificado, suministrándole dieta artificial no contaminada, para continuar con su alimentación.

Las larvas testigo fueron tratadas de manera idéntica, sumergiendo las hojas de maíz en agua destilada estéril.

Se colocaron todas las orugas en cámaras para su incubación, a una temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ . Al cuarto día desde la inoculación, se separaron las larvas muertas y se

recontaron las vivas a fin de iniciar las evaluaciones de mortalidad, siguiendo el criterio de Moscardi (comunicación personal, 1994), quien sostiene que la mortalidad registrada en los primeros días no suele ser imputable al virus.

A partir de entonces, se observaron las larvas diariamente hasta su muerte o hasta la fase de prepupa, para registrar la evolución de la mortalidad, como así también para realizar la provisión adicional de dieta.

Conforme las larvas morían, se diagnosticaba la causa de la muerte mediante la observación de la sintomatología externa de los cadáveres y, en los casos donde era necesario, a través de un examen microscópico de una muestra de hemolinfa. Se conservaron las larvas muertas a causa de la poliedrosis a  $-20^\circ\text{C}$ , para proceder posteriormente a la extracción y purificación del virus. Sobre la base del recuento diario de las larvas muertas por el VPNSf, efectuado a partir del quinto día desde el tratamiento, se estableció la mortalidad acumulada. La mortalidad en los testigos no superó en ningún caso el 10%, y la mortalidad de los tratamientos fue corregida por la fórmula de Abbott (Alves, 1998).

Se utilizó el análisis Probit para establecer la "concentración letal media" ( $CL_{50}$ ) y los límites de confianza específicos de cada tratamiento. Para la realización del análisis Probit, se utilizó el Programa Polo-PC (LeOra Software 1987), utilizado por el Departamento Entomología de la ESALQ/USP (Haddad, 1998).

Además, se determinó para cada caso el **tiempo medio de mortalidad** (TMM), que es el tiempo promedio que las orugas tardan en morir a causa del patógeno, estimado a partir del cálculo de la media ponderada.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento del VPNSf aislamiento Oliveros (Santa Fe, Argentina)

Se presentan para el VPNSf aislamiento Oliveros, los valores de  $CL_{50}$ , los límites de confianza,  $\chi^2$  y la pendiente (b) de la ecuación de la recta, obtenidos en los distintos bioensayos con larvas de diferentes edades (Tabla 1).

Se destaca la similitud de las  $CL_{50}$  obtenidas en los distintos bioensayos para las mismas edades (3, 5, 7, 9 y 11 días), a pesar de haberse empleado diferentes concentraciones virales en cada caso. No hubo sobreposición en los límites de confianza al 95% de la  $CL_{50}$  en larvas de menor edad (hasta siete días), lo cual indica diferentes niveles de susceptibilidad al patógeno. En cambio, sí la hubo entre las orugas más grandes, lo que demuestra que estas presentan similar susceptibilidad al patógeno. Para matar al 50% de las larvas de 9 y 11 días se requieren elevadas concentraciones de partículas virales ( $8,5 \times 10^6$  y  $1,7 \times 10^6$  a  $1,9 \times 10^7$  poliedros/ml, respectivamente).

Comparando las  $CL_{50}$  de VPNSf aislamiento Oliveros para larvas de 3 y 11 días, se evidenció que las

más desarrolladas fueron 19 veces menos susceptibles a su VPN que las más pequeñas en el primer bioensayo, mientras que en el segundo, cuando fue menor la concentración viral ensayada, las larvas fueron 227 veces menos susceptibles (Tabla 1). Este comportamiento se explicaría por lo que se denomina **inmunidad de maduración**, la cual, cuando se presenta, se desarrollaría antes o durante la prepupación y podría deberse a un cambio en la susceptibilidad de las células por la metamorfosis y/o la presencia de un inhibidor viral (Arce Gómez, 1995; Valicente y Cruz, 1991).

Las rectas de regresión manifiestan pendientes suaves, y la tendencia a la variabilidad a que están sujetos estos ensayos se verifica analizando la amplitud de los intervalos de confianza de las concentraciones letales medias (Arce Gómez, 1995).

Se presentan el porcentaje de mortalidad y el tiempo medio de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* de distintos días de desarrollo, según las concentraciones extremas de poliedros de VPNSf aislamiento Oliveros utilizadas en los bioensayos (Tabla 2).

Se observa que los porcentajes de mortalidad, en todos los casos, decrecieron con el incremento de la edad de las orugas. Lo opuesto sucedió con el tiempo medio de

mortalidad, ya que en general las larvas tardaron más en morir con las menores concentraciones virales y con su mayor edad al momento de la ingestión de los poliedros.

El tiempo medio de mortalidad se incrementó con la edad larval, desde un valor de 4,4 días para larvas de tres días, a valores de 7,2 días para larvas de 9 y 11 días, a la máxima concentración evaluada en estos bioensayos.

Estos resultados evidencian la disminución del porcentaje de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* con la reducción en la concentración de poliedros y con el incremento de la edad larval al momento de ingerir el virus, lo cual coincide con lo expresado por Valicente y Cruz (1991) y Nascimento *et al.* (1995).

Los porcentajes de mortalidad obtenidos fueron similares a los determinados por Nascimento *et al.* (1995), pero menores que los obtenidos por Valicente *et al.* (1989) y Valicente y Cruz (1991), aunque en este último caso el método utilizado fue diferente.

Independientemente de la edad del insecto y de la concentración de poliedros utilizada, las larvas murieron, en promedio, a los 6,7 días después de la ingestión del virus, coincidiendo este valor con el de siete días obtenido por Valicente y Cruz (1991).

Comparando los resultados con los obtenidos por

**Tabla 1. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>), límites inferior y superior de los intervalos de confianza al 95% de probabilidad,  $\chi^2$  (prueba de Chi-cuadrado) y pendiente de la recta con su error estándar, correspondientes a los bioensayos realizados con el VPNSf aislamiento Oliveros, Santa Fe, en larvas de *Spodoptera frugiperda* de distintos días de desarrollo.**

Edad (días)	Bioensayos	CL <sub>50</sub>	g.l.	$\chi^2$	Pendiente (b)
3	1	<b>89.376,00</b> (44.413,5 - 158.858,5)	4	2,223 n.s.	0,580 ± 0,051
	2	<b>84.159,10</b> (43.866,0 - 147.129,6)	4	1,597 n.s.	0,538 ± 0,045
	3	<b>88.746,40</b> (65.983,2 - 120.020,5)	4	1,747 n.s.	0,689 ± 0,033
5	1	<b>445.594,90</b> (194.661,0 - 895.852,0)	4	1,159 n.s.	0,385 ± 0,036
	2	<b>415.155,10</b> (262.372,9 - 642.531,8)	4	3,120 n.s.	0,660 ± 0,047
	3	<b>420.435,60</b> (289.289,2 - 630.038,0)	4	2,217 n.s.	0,542 ± 0,029
7	1	<b>2.029.602,70</b> (1.189.108,6 - 3.379.621,7)	4	1,793 n.s.	0,521 ± 0,039
	2	<b>2.026.143,20</b> (1.318.072,8 - 3.108.184,0)	4	1,107 n.s.	0,667 ± 0,045
9	1	<b>8.619.238,70</b> (4.990.364,1 - 15.036.814,6)	4	1,813 n.s.	0,475 ± 0,037
	2	<b>8.486.061,20</b> (5.666.127,6 - 12.857.498,5)	4	1,276 n.s.	0,733 ± 0,049
11	1	<b>17.16.278,2</b> (10.110.424,8 - 29.914.336,8)	4	2,453 n.s.	0,495 ± 0,038
	2	<b>19.144.643,80</b> (11.547.421,2 - 33.157.968,0)	4	2,764 n.s.	0,545 ± 0,041

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad y tiempo medio de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* de distinto desarrollo, según las concentraciones virales extremas de VPNSf aislamiento Oliveros, utilizadas en los diferentes bioensayos.

Bioensayos	Características	Edad de las larvas (días)				
		3	5	7	9	11
1	<b>Concentración menor: <math>2,0 \times 10^4</math></b>					
	Mortalidad (%)	45	30	17	11	9
	Tiempo medio de mortalidad (días)	6,1	5	6,1	6,5	7
	<b>Concentración mayor: <math>2,0 \times 10^9</math></b>					
	Mortalidad (%)	100	94	95	90	85
	Tiempo medio de mortalidad (días)	4,4	5,9	6,8	7,2	7,2
2	<b>Concentración menor: <math>8,0 \times 10^3</math></b>					
	Mortalidad (%)	30	15	6	4	4
	Tiempo medio de mortalidad (días)	7,2	6,8	8,6	10	10,3
	<b>Concentración mayor: <math>8,0 \times 10^8</math></b>					
	Mortalidad (%)	99	100	96	95	81
	Tiempo medio de mortalidad (días)	4,3	4,7	6,4	8	8,3
3	<b>Concentración menor: <math>1,0 \times 10^2</math></b>					
	Mortalidad (%)	4,5	2	---	---	---
	Tiempo medio de mortalidad (días)	9	12	---	---	---
	<b>Concentración mayor: <math>1,0 \times 10^7</math></b>					
	Mortalidad (%)	92	78	---	---	---
	Tiempo medio de mortalidad (días)	5,4	6,4	---	---	---

Valicente *et al.* (1989), quienes emplearon el mismo método que el expuesto en este trabajo, a iguales valores de concentración en la suspensión viral ( $2 \times 10^5$  poliedros/ml), en larvas de tres y siete días de edad, se obtuvieron porcentajes de mortalidad inferiores (63 y 28%) respecto a los 100 y 70% citado por los investigadores brasileiros.

Estas diferencias podrían deberse, entre varios factores, a la diferente susceptibilidad larval, la mayor virulencia de la cepa de Brasil evaluada y/o a las diferencias en los materiales disponibles en cada laboratorio para la realización de los bioensayos (Abot *et al.*, 1995).

### Comportamiento del VPNSf aislamiento Leales (Tucumán, Argentina)

Para el VPNSf aislamiento Leales, se presentan los valores de  $CL_{50}$ , los límites de confianza,  $x^2$  y la pendiente (b) de la ecuación de la recta, obtenidos en larvas de distintas edades (Tabla 3).

Los valores de  $CL_{50}$  obtenidos en larvas de tres y cinco días en los bioensayos 2 y 3 (Tabla 3), utilizando diferentes concentraciones virales ( $8 \times 10^3$  a  $8 \times 10^8$  y  $1 \times 10^2$  a  $1 \times 10^7$  poliedros/ml respectivamente), presentan gran similitud.

Se destaca que la  $CL_{50}$  de VPNSf aislamiento Leales para larvas de tres días, fue 430 veces menor que la  $CL_{50}$  para larvas de 11 días en el bioensayo 2. No hubo superposición entre los límites de confianza al 95%, lo que

indica diferentes niveles de susceptibilidad al virus según el desarrollo larval.

La tendencia a un incremento en la cantidad de poliedros virales requeridos para provocar una infección en orugas de mayor tamaño que se puso en evidencia en los aislamientos Oliveros y Leales, enfatiza la importancia del momento de aplicación del baculovirus para el control de *S. frugiperda*. Asimismo, destaca que las orugas de escaso desarrollo manifiestan una elevada susceptibilidad, requiriéndose una menor concentración de inóculo para lograr el mismo nivel de control.

Se presentan los porcentajes de mortalidad y el tiempo medio de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* de distinto desarrollo, tratadas con diferentes concentraciones de poliedros de VPNSf aislamiento Leales (Tabla 4).

Se destaca que con la concentración viral de  $8 \times 10^3$  poliedros/ml, el porcentaje de mortalidad se redujo en larvas de diferente tiempo de desarrollo.

Cuando larvas de tres días consumieron hojas de maíz con suspensiones de  $8 \times 10^8$  poliedros VPNSf aislamiento Leales/ml, el 100% de estas murió, en promedio, a los tres días. Las orugas de 11 días en las mismas condiciones, alcanzaron un 74% de mortalidad y murieron a los 6,2 días.

Con la concentración de poliedros más baja evaluada ( $1 \times 10^2$  poliedros/ml) se registró un 1% de mortalidad en larvas de tres días. En cambio, se alcanzó más de

Tabla 3. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>), límites inferior y superior de los intervalos de confianza con 95% de probabilidad,  $\chi^2$  y pendiente de la recta, correspondientes a los bioensayos realizados con el aislamiento de la poliedrosis nuclear de *S. frugiperda* procedente de Tucumán, y larvas con distintos días de desarrollo.

Edad (días)	Bioensayos	CL <sub>50</sub>	g.l.	$\chi^2$	Pendiente (b)
3	2	<b>71.145,80</b> (31.927,3 - 137.895,1)	4	2,741 n.s.	0,448 ± 0,04
	3	<b>82.388,80</b> (62.627,9 - 108.706,1)	4	2,3643 n.s.	0,777 ± 0,037
5	2	<b>429.810,90</b> (257.650,7 - 694.960,0)	4	2,423 n.s.	0,575 ± 0,042
	3	<b>483.037,90</b> (365.909,5 - 645.429,1)	4	2,4647 n.s.	0,810 ± 0,043
7	2	<b>1.561.983,40</b> (921.977,3 - 2.618.799,9)	4	1,415 n.s.	0,510 ± 0,038
9	2	<b>7.415.398,00</b> (4.731.914,7 - 11.821.612,3)	4	2,2186 n.s.	0,621 ± 0,043
11	2	<b>30.593.484,40</b> (16.801.555,3 - 60.650.182,8)	4	1,137 n.s.	0,455 ± 0,038

Tabla 4. Porcentaje de mortalidad y tiempo medio de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* de distinto desarrollo, según las concentraciones extremas de VPNSf aislamiento Tucumán, utilizadas en los diferentes bioensayos.

Bioensayos	Características	Edad de las larvas (días)				
		3	5	7	9	11
2	<b>Concentración menor: 8,0 x 10<sup>3</sup></b>					
	Mortalidad (%)	38	20	13	5	4
	Tiempo medio de mortalidad (días)	5	5,6	7,4	8,6	8,8
	<b>Concentración mayor: 8,0 x 10<sup>8</sup></b>					
3	Mortalidad (%)	100	98	93	92	74
	Tiempo medio de mortalidad (días)	3,3	4,7	5,7	7,4	6,2
	<b>Concentración menor: 1,0 x 10<sup>2</sup></b>					
	Mortalidad (%)	1	0	---	---	---
3	Tiempo medio de mortalidad (días)	12,5	---	---	---	---
	<b>Concentración mayor: 1,0 x 10<sup>7</sup></b>					
	Mortalidad (%)	94	86	---	---	---
	Tiempo medio de mortalidad (días)	5,6	6,3	---	---	---

90% de mortalidad en orugas de hasta nueve días de desarrollo, al aplicarse 8 x 10<sup>8</sup> poliedros/ml (Tabla 4).

**Comportamiento del VPNSf aislamiento de Sete Lagoas, Brasil**

Los resultados obtenidos al evaluar al aislamiento del VPNSf procedente de Brasil se presentan a continuación (Tabla 5).

En larvas de tres y cinco días, CL<sub>50</sub> de 5,9 x 10<sup>5</sup> y 1,5 x 10<sup>6</sup> poliedros/ml, respectivamente, del aislamiento de VPNSf proveniente de Brasil, se determinaron niveles que

resultan mayores a los determinados con los aislamientos argentinos y sin sobreposición en los intervalos de confianza, lo que implica una diferente susceptibilidad al virus.

Los porcentajes de mortalidad y el tiempo medio de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* que ingirieron el inóculo en distintas edades se presentan en la Tabla 6.

Se observa que la mortalidad fue prácticamente nula en la menor concentración; en cambio, con 1 x 10<sup>7</sup> poliedros/ml, la mortalidad se elevó a 79,5 y 74% para larvas de tres y cinco días, respectivamente, las que en promedio murieron entre los 7,5 y 8 días.

Tabla 5. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) en cuerpos poliédricos de inclusión/ml de suspensión, límites inferior y superior de los intervalos de confianza con 95% de probabilidad,  $\chi^2$  y pendiente de las rectas, correspondientes a bioensayos realizados con el aislamiento del virus de la poliedrosis nuclear de *S. frugiperda* procedente de Sete Lagoas, Brasil, en larvas de distintos días de desarrollo.

Edad (días)	CL <sub>50</sub>	g.l.	$\chi^2$	Pendiente (b)
3	591.324,30 (418.354,8 - 859.367,8)	4	2,571 n.s.	0,612 ± 0,033
5	1.534.404,10 (1.112.885,1 - 2.185.352,7)	4	1,604 n.s.	0,744 ± 0,044

Tabla 6. Porcentaje de mortalidad y tiempo medio de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* de distinto desarrollo, según las concentraciones extremas de VPNSf aislamiento Brasil utilizadas en los bioensayos.

Bioensayo	Características	Edad de las larvas (días)	
		3	5
3	Concentración menor: $1,0 \times 10^2$		
	Mortalidad (%)	1	0
	Tiempo medio de mortalidad (días)	14,5	---
	Concentración mayor: $1,0 \times 10^7$		
	Mortalidad (%)	79,5	74
	Tiempo medio de mortalidad (días)	7,5	8,2

**Comportamiento comparado de los tres aislamientos de VPNSf evaluados**

Se muestran las CL<sub>50</sub> obtenidas para larvas de tres días y cinco días de los tres aislamientos. Oliveros ( $8,9 \times 10^4$  poliedros/ml y  $4,2 \times 10^5$  poliedros/ml) y Leales ( $8,2 \times 10^4$  y  $4,8 \times 10^5$  poliedros/ml) fueron muy cercanos entre sí

(bioensayo 3). Con el VPNSf aislamiento Brasil, la CL<sub>50</sub> para larvas de tres días fue  $5,9 \times 10^5$ , y para orugas de cinco días,  $1,5 \times 10^6$  poliedros/ml. Es decir que este fue menos virulento y/o las orugas fueron más resistentes, ya que se requirió mayor número de poliedros para alcanzar los mismos porcentajes de mortalidad (Figura 1).

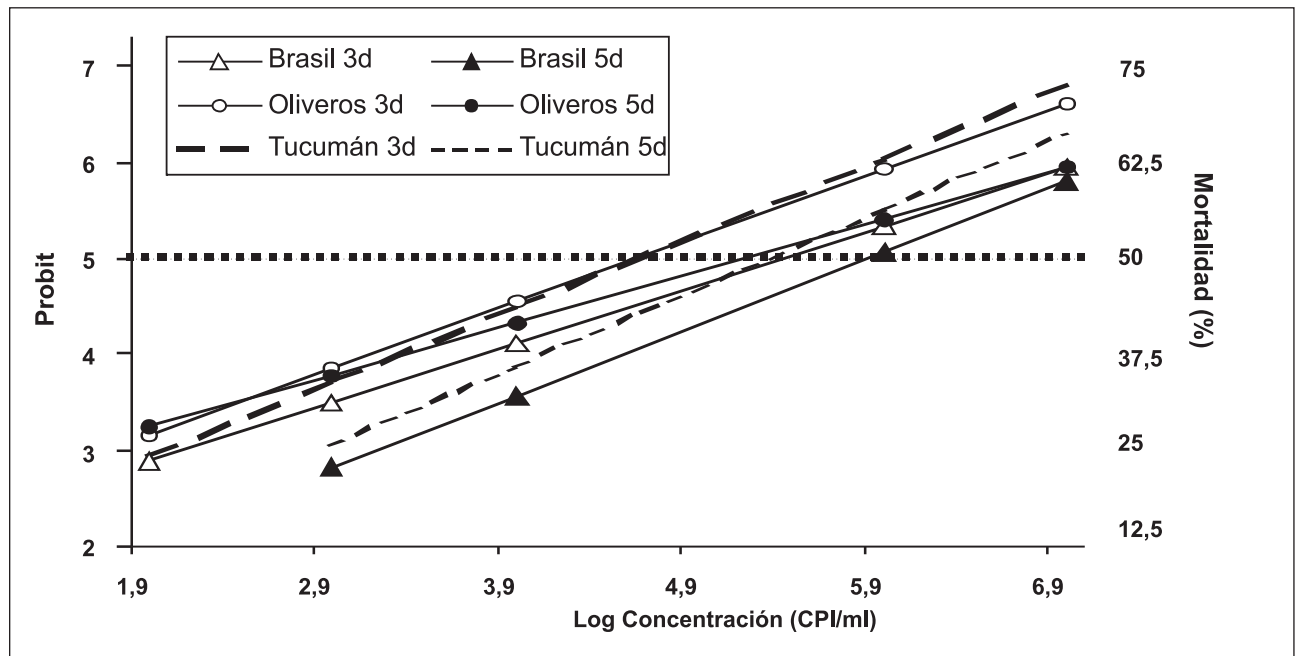


Figura 1. Rectas de regresión entre el logaritmo de la concentración de cuerpos poliédricos de inclusión/ml de suspensión de VPNSf aislamientos Oliveros, Tucumán y Brasil y la probabilidad de mortalidad (Probit) de larvas de tres y cinco días de desarrollo.

Estos resultados concuerdan con lo expresado por *Escribano et al.* (1999) y *Fuxa* (1987), respecto a que aislamientos geográficos locales conservan su infectividad hacia las poblaciones nativas y que, por lo tanto, la virulencia es inversamente proporcional a la distancia entre los lugares de origen del patógeno y la plaga hospedante.

Considerando los tres bioensayos efectuados, las  $CL_{50}$  promedio obtenidas con los aislamientos argentinos para larvas de tres y cinco días fueron muy similares. Sus valores resultaron  $7,6 \times 10^4$  y  $4,5 \times 10^5$  poliedros/ml para el aislamiento Leales y  $8,74 \times 10^4$  poliedros/ml y  $4,27 \times 10^5$  poliedros/ml para el aislamiento Oliveros. Estos fueron más virulentos que el aislamiento procedente de Brasil, con una  $CL_{50}$  de  $5,9 \times 10^5$  poliedros/ml y  $1,5 \times 10^6$  poliedros/ml, respectivamente.

Para larvas de tres y cinco días de edad, a los valores de concentración letal media, el tiempo medio de mortalidad fue de 6,3 días para el aislamiento Leales, 7,2 días para el aislamiento Oliveros y 9,3 días para el aislamiento Brasil.

Si bien los valores obtenidos de  $CL_{50}$  de los aislamientos Leales y Oliveros son similares, el tiempo medio de mortalidad del aislamiento nativo es menor en un día.

### CONCLUSIONES

Los resultados evidenciaron que, en general, la mortalidad larval de *S. frugiperda* aumentó con el incremento de la concentración viral en las edades evaluadas, y que la susceptibilidad de las orugas al virus evaluado decreció con el avance de la edad del insecto.

Los aislamientos argentinos mostraron mayor virulencia hacia la población nativa de larvas de *S. frugiperda* que el aislamiento oriundo de Brasil.

A los valores de concentración letal media de larvas de tres y cinco días de edad, el tiempo medio de mortalidad fue menor para el aislamiento Leales, seguido por el de Oliveros; el aislamiento Sete Lagoas mostró los mayores valores.

Considerando los resultados obtenidos, el VPNSf aislamiento Leales tuvo el mejor desempeño y sería conveniente continuar los estudios destinados a desarrollar un bioinsecticida para uso local. El aislamiento evidencia una adecuada virulencia; además al ser de origen local, su empleo sería el más apropiado en términos de impacto ambiental.

La aplicación del VPNSf debería estar dirigida prioritariamente a larvas jóvenes de *S. frugiperda*, para obtener niveles eficientes de control. De otra manera, la concentración viral requerida sería tan elevada que haría inviable el uso de este agente de biocontrol en estadios más avanzados. Además, debe considerarse que si las larvas son infectadas recién en esos estadios, ya habrán provocado daños de importancia, por su mayor capacidad de consumo foliar.

### BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abot, A. R.; F. Moscardi; J. R. Fuxa; D. R. Sosa Gómez and A. R. Richter. 1995.** Susceptibility of populations of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus. *J. Entomol. Sci.* 30 (1): 62-69.
- Agudelo, F.; M. Romano; H. Wassink y R. Cuello de Uzcategui. 1983.** Una poliedrosis de *Spodoptera frugiperda* en Venezuela. *Turrialba* 33 (3): 219-22.
- Alves, S. B. 1998.** Controle microbiano de insetos. 2. ed. FEALQ, Piracicaba, Brasil.
- Arce Gómez, S. 1995.** Reações de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) ao seu virus de poliedrose nuclear; respostas a isolados geográficos, suscetibilidade de instares larvais, consumo e controle em *Triticum aestivum* L. Tesis doctoral inédita. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.
- Arce Gómez, S.; F. Moscardi e D. R. Sosa Gómez. 1999.** Susceptibilidade de *Spodoptera frugiperda* a isolados geograficos de um virus de poliedrose nuclear. *Pesq. Agropec. Bras.* 34 (9): 1539-1544.
- Berreta, M.; M. Ríos and A. Sciocco de Cap. 1998.** Characterization of a nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera frugiperda* from Argentina. *J. Invertebr. Pathol.* 71: 280-282.
- Dos Santos, L.; L. Redaelli; M. Diefenbach; J. Barbosa Neto e C. Efrom. 2001.** Efeito de diferentes genotipos de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*. En: Resumos Reuniao Tecnica Anual do Milho, FEPAGRO, 46, Porto Alegre, Brasil, pp. 4.
- Escribano, A.; T. Williams; D. Goulson; R. Cave; J. Chapman and P. Caballero. 1999.** Selection of a *Nucleopolyhedrovirus* for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): structural, genetic, and biological comparison of four isolates from the Americas. *J. Econ. Entomol.* 92 (5): 1079-1085.
- Fuxa, J. R. 1987.** *Spodoptera frugiperda* susceptibility to nuclear polyhedrosis virus isolates with reference to insect migration. *Environ. Entomol.* 16 (1): 218-223.
- García, M. A.; C. F. S. Andrade; J. Lauritis and M. E. M. Habib. 1983.** Pathogenicity and histopathological studies on the nuclear polyhedrosis virus of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Abbot & Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). *Rev. Agric.* 59 (1): 71-82.
- Haddad, M. L. 1998.** Utilização do Polo-PC para análise de Probit. En: Alves, S. B. (ed.), Controle microbiano de insetos. 2. ed. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz – FEALQ, Piracicaba, Brasil, pp. 999-1014.
- Lobo de Souza, M. y R. Lecuona. 1996.** Virus entomopatógenos. En: Lecuona, R. (ed.), Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de plagas, Talleres Gráficos Mariano Mas, Buenos Aires,

Argentina, pp. 73-86.

**Nascimento, M. L.; F. Haji e I. Cruz. 1995.** Controle biológico da lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. Smith, 1797) (Lep.: Noctuidae) com uso de vírus da Poliedrose nuclear (VPN) na região do submédio São Francisco-Pe. En: Anais do Congresso de Entomologia, 15, Caxambu, MG, Brasil, pp. 1.

**Valicente, F. H. e I. Cruz. 1991.** Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o

*baculovirus*. Circular Técnica N° 15. EMBRAPA/CNPMS.

**Valicente, F. H.; M. J. Peixoto; E. Paiva e E. W. Kitajima. 1989.** Identificação e purificação de um vírus de poliedrose nuclear da lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lep.: Noctuidae). An. Soc. Entomol. Bras. 18: 71-82.

**Willink, E.; V. Osorio y M. Costilla. 1991.** El gusano "cogollero" del maíz. Avance Agroind. 12 (45): 3-7.