



**Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Agronomía**

**Título: Efectividad del nucleopoliedrovirus de
Spodoptera frugiperda (SfMNPV) en mezcla
con sustancias coadyuvantes en condiciones
de campo**

Autor: Lester Daniel Cruz Camejo

Sancti Spíritus, 2017



**Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Agronomía**

**Título: Efectividad del nucleopoliedrovirus de
Spodoptera frugiperda (SfMNPV) en mezcla
con sustancias coadyuvantes en condiciones
de campo**

Autor: Lester Daniel Cruz Camejo

**Tutor: Dr.C Marcos Tulio García González
Ing. Jorge Luís Ayala Sifonte**

Sancti Spíritus, 2017

La naturaleza no cambia, pero sin embargo invariablemente cambia con el tiempo la forma de mirarla. No importa la época, la agricultura natural existe desde siempre como fuente de la agricultura.

Masanobu Fukuoka

Dedicatoria:

A mi familia, especialmente mis padres por dedicar tiempo y sacrificio, y por ser los pilares de toda mi vida estudiantil, a mi tía Isabel por su ayuda y apoyo incondicional y por último, a mi tío Carlos por compartir conmigo consejos llenos de sabiduría.

Agradecimientos:

A mis tutores, especialmente al Dr.C Marcos Tulio García González por guiarme con confianza en el innovador camino de la investigación.

Al Ing. Jorge Luís Ayala Sifonte por su colaboración con la UNISS “José Martí” y por su ayuda en el laboratorio del Instituto Provincial de Sanidad Vegetal.

A todos mis amigos, compañeros y profesores que de una forma u otra prestaron su colaboración en esta investigación.

Muchas Gracias

Resumen

El presente trabajo presenta los resultados obtenidos tras aplicar diferentes dosis del virus de la Poliedrosis Nuclear Múltiple de *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV) en el cultivo del maíz sembrado sobre un suelo Pardo Sialítico sin Carbonatos. Para ello se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con seis tratamientos y cuatro réplicas divididas por parcelas de 5 surcos con 7 metros de largo con un área experimental estimada de 17 x 47 m (799 m²). Se determinaron los porcentajes de infestación y la intensidad expresada en índices de larvas por plantas; los porcentajes de muertes causado y la eficacia del SfMNPV en el control de la plaga en los tratamientos en estudios. Se pudo comprobar que el SfMNPV mezclado con ácido bórico y OleoNim disminuye la infestación y la intensidad de larvas por plantas con dosis inferiores a 10¹² CI ha⁻¹; además, el SfMNPV en mezcla con ácido bórico y OleoNim aumenta la mortalidad de las larvas en 2,5 y 2,16 veces respectivamente. La mezcla del ácido bórico y OleoNim con el SfMNPV mejora significativamente su eficacia en el control poblacional de la plaga.

Summary

The present work presents the results obtained after applying different doses of the Multiple Nuclear Polyhedrosis virus of *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV) in the cultivation of maize sown on a Brown Soil without Carbonates soil. For this, an experimental design of random blocks with six treatments and four replications divided by plots of 5 rows with 7 meters in length with an estimated experimental area of 17 x 47 m (799 m²) was used. The percentages of infestation and the intensity expressed in indices of larvae per plants were determined; the percentages of deaths caused and the effectiveness of the SfMNPV in the control of the pest in the treatments in studies. It was found that the SfMNPV mixed with boric acid and OleoNim decreases the infestation and the intensity of larvae by plants with doses lower than 1012 CI ha⁻¹; In addition, the SfMNPV in mixture with boric acid and OleoNim increases larval mortality by 2.5 and 2.16 times respectively. The mixture of boric acid and OleoNim with SfMNPV significantly improves its effectiveness in the population control of the pest.

Índice

Capítulo 1

1. INTRODUCCIÓN	1
-----------------	---

Capítulo 2

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
---------------------------	---

2.1 Origen del Maíz	5
2.1.1 Características botánicas	5
2.1.2 Taxonomía	5
2.2 Condiciones agroecológicas del cultivo	6
2.2.1 Clima	6
2.2.2 Suelo	6
2.3 Principales fitófagos del maíz en Cuba	6
2.3.1 Palomilla del maíz o gusano cogollero del maíz	7
2.4 Métodos de control	9
2.4.1 Control Químico	9
2.4.2 Control Biológico	9
2.5 Virus entomopatógenos	10
2.5.1 Generalidades	10
2.5.2 Taxonomía	12
2.5.3 Estructura de los virus entomopatógenos	12
2.6 Ciclo de infección y patología	13
2.6.1 Sintomatología	13
2.7 Genoma y variabilidad genética	14
2.8 Hospederos y especificidad	15
2.9 Entrada del virus a la célula	16
2.10 Inmunidad del insecto: barreras para los baculovirus	17
2.11 Como determinar la eficacia de la aplicación	19

Capítulo 3

3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
-------------------------	----

3.1 Determinación de los porcentajes de infestación y la intensidad expresada en índices de larvas de <i>S. frugiperda</i> por plantas	21
3.1.1 Determinación de los porcentajes de infestación por <i>S. frugiperda</i> en los tratamientos en estudios	21
3.1.2 Determinación de la intensidad expresada en índices de larvas de <i>S. frugiperda</i> por plantas en los tratamientos en estudios	22
3.2 Determinación los porcentajes de muertes causado por el SfMNPV en los tratamientos en estudios	22
3.3 Determinación de la eficacia del SfMNPV en el control de <i>S. frugiperda</i> en los tratamientos en estudios	24

Capítulo 4

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
---------------------------	----

4.1 Determinación de los porcentajes de infestación y la intensidad expresada en índices de larvas de <i>S. frugiperda</i> por plantas	25
--	----

4.1.1 Determinación de los porcentajes de infestación en los tratamientos en estudios	25
4.1.2 Determinación de la Intensidad de larvas de <i>S. frugiperda</i> por planta de maíz bajo el efecto de los diferentes tratamientos en estudio	27
4.2 Determinación los porcentajes de muertes causado por el SfMNPV en los tratamientos en estudios	29
4.3 Determinación de la eficacia del SfMNPV en el control de <i>S. frugiperda</i> en los tratamientos en estudios	31
CONCLUSIONES	33
RECOMENDACIONES	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de los principales cuatro cultivos en el mundo, el maíz es uno de los más importantes, con más de 900,00 millones de toneladas producidas anualmente. El mayor productor es Estados Unidos, con alrededor de 300,00 millones de toneladas por año, le siguen China, Brasil, México y Argentina (FAO, 2002).

Fue fundamental en la dieta de las comunidades indígenas cubanas y actualmente se cultiva en todas las provincias del país, y está situado dentro de las prioridades agrarias del estado a pesar de enfrentar limitantes en su producción, las incidencias de las plagas y enfermedades disminuyen considerablemente los rendimientos (González, 2015).

Aunque los esfuerzos realizados por la agricultura cubana tienen carácter ascendente para potenciar los rendimientos del cultivo, las producciones solo presentan una media nacional de 2,25 t ha⁻¹, distante de la media mundial, con valores alrededor de las 5.69 t ha⁻¹ (FIRA, 2016).

Entre las principales causas de los bajos rendimientos está la incidencia de plagas, donde *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (palomilla del maíz), es la que más daños provoca en regiones tropicales y subtropicales de América, ocasionando pérdidas entre un 15 y 75 % de la cosecha. Esta plaga se alimenta además de una amplia diversidad de plantas hospederas, entre las que se encuentran el sorgo, arroz, trigo, papa, soya y distintos cereales. Para el control de la palomilla los agricultores habitualmente realizan varias aplicaciones de insecticidas sintéticos. Los más utilizados para el son los organofosforados: paratión metílico, metamidofos y clorpirifos (Martínez *et al.*, 2012).

El uso de plaguicidas químicos para enfrentarlos se contrapone a la demanda mundial de alimentos sanos y con menores niveles de residuos químicos (Andorno *et al.*, 2016).

El desarrollo de una agricultura sustentable requiere la búsqueda de alternativas a los insecticidas químicos de amplio espectro por agentes de control biológico inofensivos para los organismos no blanco. Entre los microorganismos utilizados como agentes de biocontrol, los baculovirus son excelentes candidatos a emplear debido a su alta virulencia, especificidad, factibilidad de producción y compatibilidad con otras medidas de manejo de plagas (Martínez *et al.*, 2012).

Los virus entomopatógenos son microorganismos que producen enfermedades a los insectos sin buscar de forma activa a su presa, siendo el agente causal muy diverso. Penetran en la especie plaga a través del tubo digestivo o del tegumento dando lugar a la expresión de la enfermedad que provoca la muerte del hospedante (Badii y Abreu, 2006).

Las enfermedades producidas por virus están entre las infecciones de invertebrados con mayor estudio. Se conocen más de 1 100 especies de virus, que afectan a un importante número de insectos pertenecientes a más de 13 órdenes. Se han definido como entidades infecciosas, estrictamente intracelulares, con un solo tipo de ácido nucleico recubiertos por una envoltura de proteína o cápside, la cual puede estar a su vez protegida por una bicapa lipídica formando una estructura que se conoce como virión. Algunos virus a su vez pueden estar incluidos en una matriz proteica conocida como cuerpo de inclusión (CI), que protege a los viriones cuando éstos son liberados al ambiente; donde las familias Baculoviridae, Entomopoxviridae y Reoviridae son los únicos que presentan esta característica (Cuartas y Villamizar, 2011).

La familia Baculoviridae es sin duda la de mayor interés agrícola, con gran éxito en el control de insectos plaga, pertenecientes a los órdenes lepidóptera, díptera e himenóptera (Cuartas y Villamizar, 2011).

Las cualidades de los virus de esta familia, particularmente, su alta especificidad, seguridad en su empleo, su capacidad de persistir en la naturaleza y crear epizootias, los hacen atractivos para incorporarlos en los programas de manejo de plagas en Cuba. En la provincia de Sancti Spíritus el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, con la colaboración del Instituto de Horticultura Sostenible de la Universidad Politécnica de Kwantlen, dan continuidad a trabajos iniciados por la década de los 90 del pasado siglo con la participación de estudiantes y profesionales cubanos y canadienses. El programa abarca trabajos con los virus de la poliedrosis nuclear de *S. frugiperda* (SfMNPV) y de *S. exigua* (SeMNPV), y la búsqueda de aislamientos nativos de baculovirus en *Plutella xylostella* (Ayala y Deborah, 2017).

Situación problemática

Trabajos realizados en Cuba han determinado dosis efectivas del virus de la poliedrosis nuclear múltiple de *S. frugiperda* (SfMNPV) en laboratorio, pero la problemática que impone el canibalismo que practica esta especie hacen difícil y relativamente costosa la producción masiva del virus en estas condiciones. Al mismo tiempo las dosis utilizadas en campo son altas, por lo que es conveniente evaluar la adición de sustancias coadyuvantes que no sean insecticidas químicos orgánicos sintéticos, que permitan reducir las dosis a utilizar del virus pero faciliten la creación de epizootias que reduzcan la población de la plaga.

Problema científico

¿Qué influencia podría tener la mezcla de sustancias coadyuvantes sobre la reducción de la dosis y el aumento de la efectividad del SfMNPV en condiciones de campo?

Hipótesis

A partir de la mezcla del SfMNPV con sustancias coadyuvantes se podría disminuir la dosis y al mismo tiempo aumentar su efectividad condiciones de campo.

Objetivo General

Determinar la efectividad del SfMNPV en mezcla con sustancias coadyuvantes en condiciones de campo.

Objetivo Específicos

1. Determinar la intensidad expresada en índices de larvas de *S. frugiperda* por plantas y los niveles de infestación en los tratamientos en estudios.
2. Determinar los porcentajes de muertes causado por el SfMNPV en los tratamientos en estudios.
3. Determinar la eficacia del SfMNPV en el control de *S. frugiperda*. en los tratamientos en estudios.

2. Revisión bibliográfica

2.1 Origen del Maíz

El maíz es una planta cultivada desde la antigüedad, hace más de 7000 años. Su origen parece situarse en Mesoamérica, particularmente en la zona de México, donde se encuentran los vestigios más antiguos. Aunque hay varias plantas emparentadas con el maíz, solo una es capaz de cruzarse con él espontáneamente, se trata del Teosintle que se encuentra en México y Guatemala. El Teosintle, según algunos investigadores, es la fuente del germoplasma de los maíces actuales (Ortas, 2008).

2.1.1 Características botánicas

El maíz es una planta C-4, monocotiledonea, perteneciente a la familia Gramineae, Tribu Maydae, con dos géneros: *Zea* ($2n=20$) y *Tripsacum* ($2n=36$). El género *Zea* tiene además de la especie *Z. Mays* (maíz común), cuatro especies conocidas como Teosintles (*Z. mexicana*, *Z. luxurians*, *Z. diploperennis* y *Z. perennis*). Es una gramínea anual, robusta, de 1-4 m de altura, normalmente con un solo tallo, hojas alternas, paralelinervias, situadas en ambos lados del tallo, pubescentes en parte superior y glabras en parte inferior, con flores masculinas en espiga superior y femeninas en jilotes laterales. La mazorca está cubierta por hojas y presenta granos en hileras encrustados en el olote (López, 2002).

2.1.2 Taxonomía

La clasificación taxonómica del maíz está bien estudiada (González, 2015).

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Liliopsida.

Orden: Poales.

Familia: Poaceae.

Género: *Zea*.

2.2 Condiciones agroecológicas del cultivo

2.2.1 Clima

El maíz es un cultivo de crecimiento rápido (3-5 meses), que proporciona mayor rendimiento con temperaturas entre 24,4 a 35,6 °C, con una media de 32 °C de temperatura ideal para lograr una óptima producción. Es exigente a la luz solar, bajando sus rendimientos en los climas húmedos. La temperatura debe estar entre los 15 a 27 °C para que se produzca la germinación en la semilla. El clima ideal para el maíz, es un ambiente con días soleados, noches frescas y temperaturas y vientos moderados (Cruz, 2013).

2.2.2 Suelo

El cultivo de maíz necesita suelos profundos, fértiles, permeables, de textura franca, estructura granular, de buena capacidad de retención de agua, libre de inundaciones y encharcamientos, de alto contenido de materia orgánica y un pH entre 5,5 y 6,5. Otros aspectos relacionados con el suelo que pueden reducir la expresión del potencial productivo son la falta de cobertura, la pendiente del terreno y las condiciones químicas (salinidad, acidez) y físicas (capas endurecidas, infiltración, escorrentía) (Gobernación de Antioquía, 2015).

2.3 Principales fitófagos del maíz en Cuba

En los agroecosistemas cubanos, la planta de maíz sustenta poblaciones de 56 especies de insectos fitófagos. De ellas, cinco pertenecen al orden Thysanoptera (8,9 %), 13 al Hemiptera (23,2 %), 15 al Coleoptera (26,8 %), 19 al Lepidoptera (33,9 %), tres al Diptera (5,4 %) y una al Hymenoptera (1,9 %). De estos insectos fitófagos, son considerados de importancia alta y permanente a *S. frugiperda* en el follaje, *H. zea* en los granos tiernos y *S. zeamays* en los granos almacenados, que se manifiestan en altas poblaciones en todos los agroecosistemas del país (Vázquez, 2010). Por su parte Padrón (2008), reporta al delfácido *Peregrinus maidis* como un fitófago de gran importancia en Cuba en las siembras de la época poco lluviosa debido a su alto potencial en la trasmisión de virus fitófagos.

2.3.1 Palomilla del maíz o gusano cogollero del maíz

S. frugiperda es conocido como el gusano cogollero del maíz y es la plaga más importante del cultivo, se encuentra ampliamente distribuido y reduce los rendimientos de la cosecha hasta un 35 %. La reproducción comienza cuando la hembra oviposita un promedio de 1044 huevos a lo largo de su vida, los cuales se depositan en masas o grupos compactos que promedian de 100 a 150 huevos. Los huevos preferentemente son depositados en el envés de las hojas y en algunas ocasiones en la zona basal de las mismas (Ruiz, 2015).

El ciclo completo de la plaga depende de las temperaturas, puede durar entre 30 y 70 días, siendo más corto en condiciones de mayor temperatura y viceversa. En cada generación, el ciclo de la plaga está dividido en cuatro estados. La duración de los mismos varía:

- 1- como huevo, entre 2-5 días
- 2- como larva, entre 17 a 32 días (Pioneer, 2015).
- 3- como pupa (apenas enterradas en el suelo o sobre los rastrojos), dura entre 6-13 días;
- 4- como adulto, 6 a 20 días;

El primer alimento de las larvas es el corion de los huevos, después, si el hospedero no es el adecuado, migran a través de un hilo de seda en busca de alimento. Las más jóvenes comen durante el día mientras que en los últimos estadios son más activas de noche. Las larvas de insectos sufren las mudas durante su desarrollo en consecuencia de distintos cambios hormonales, lo que causa variaciones en el tamaño, en su comportamiento y morfología, para completar su desarrollo, las larvas consumen un promedio total de 179,7 cm² de superficie foliar y dejan de alimentarse justo antes de alcanzar el último estadio larval (Ruiz, 2015).

Las larvas o gusanos pueden alimentarse de 28 especies vegetales cultivadas, entre las que se destacan el maíz, el sorgo (*Sorghum bicolor* L.), el algodón

(*Gossypium herbaceum* L.), la soya (*Glycine max* L.), la higuera (*Ricinus communis* L.), el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), el ajonjolí (*Sesamum indicum* L.), el arroz (*Oryza sativa* L.), el maní (*Arachis hypogaea* L.), el melón (*Cucumis melo* L.) y el girasol (*Helianthus annuus* L.) (Arévalo *et al.*, 2007).

La pupa es de color caoba y mide de 14 - 17 mm de longitud, con su extremo abdominal que termina en dos espinas. Esta fase se desarrolla en el suelo, el insecto permanece en reposo de 8 – 10 días hasta que emerge el adulto. La mariposa es de coloración gris oscura, las hembras tienen alas traseras de color blancuzco, mientras que los machos tienen arabescos o figuras irregulares llamativas en las alas delanteras y las traseras son blancas. En reposo doblan sus alas sobre el cuerpo, formando un ángulo agudo que permite la observación de una prominencia ubicada en el tórax. Permanecen escondidas entre las malezas, o en otros sitios sombreados durante el día y son activas al atardecer o durante la noche cuando son capaces de desplazarse a varios kilómetros de distancia (Amaguña, 2012).

En fin, *S. frugiperda* es una especie polífaga, que afecta principalmente los cultivos de maíz y sorgo. Durante los primeros días de desarrollo de la planta, la larva puede actuar cortando la planta cerca del suelo, o defoliándola parcial o totalmente, lo que puede causar la muerte de la planta. Durante el período de desarrollo vegetativo (seis hojas en adelante) el daño generalmente se circunscribe al cogollo. En la última etapa del cultivo puede afectar la panoja, estigmas y granos. Los maíces sembrados en zonas cálidas son los más afectados por esta plaga, así como los tardíos en zonas templadas (Pioneer, 2015).

2.4 Métodos de control

2.4.1 Control Químico

La agricultura moderna con la implementación de monocultivos e insecticidas químicos a gran escala ha provocado varios problemas, en cuanto a enfermedades y plagas resistentes en las plantas cultivadas. La utilización excesiva de plaguicidas pertenecientes a los grupos: organoclorados, organofosforados, piretroides y carbamatos de origen químico sin previa asistencia técnica, en vez de resolver el problema, causa fuertes daños a la productividad de la agricultura, al ser humano y a la naturaleza. La aplicación permanente de sustancias químicas implica que los insectos y otros organismos muestren resistencia y requieran una dosis cada vez mayor (Brechelt, 2004).

2.4.2 Control Biológico

El control biológico es consecuencia de la acción de enemigos naturales (parasitoides, depredadores y patógenos) en el mantenimiento de la densidad de otro organismo a un nivel más bajo del que se produciría en ausencia de ellos. Incluso, se pueden distinguir dos situaciones: el control biológico natural, que se produce sin intervención del hombre y el control biológico aplicado que consiste en la manipulación de los enemigos naturales de las plagas por parte del hombre. Este último es el método de mayor perspectiva en la agricultura a la vista de los problemas derivados del uso de productos químicos (Martin, 2017).

Las ventajas del uso de bioinsecticidas frente a los insecticidas químicos son muchas. Su acción de alta especificidad, no contaminan el medio ambiente y no son tóxicos para el resto de los insectos beneficiosos, plantas, animales terrestres o acuáticos, ni para el hombre. Esto hace que los productos basados en patógenos sean ecológicamente muy deseables y compatibles con la mayoría de los agentes de control por lo que constituyen una interesante alternativa dentro de cualquier programa de control de plagas (García, 2011).

Uno de los elementos claves dentro del modelo agrícola alternativo que actualmente se implementa en Cuba es el desarrollo y aplicación de técnicas de manejo de plagas y malezas, que tienen como fundamento la reducción o eliminación del uso de plaguicidas sintéticos. Con el desarrollo de los sistemas agrícolas intensivos en la década de los 60 y principio de los 70, surgió la necesidad del establecimiento de normas de consumo de plaguicidas que antes no existían y se abrió un nuevo renglón de importación para el país. En este periodo el control de los organismos plaga estuvo basado casi exclusivamente en el uso de plaguicidas sintéticos (Núñez y Romero , 2004).

2.5 Virus entomopatógenos

2.5.1 Generalidades

La primera cita científica de una enfermedad en insectos causada por un virus de la poliedrosis nuclear fue, probablemente, la descripción de la ictericia del gusano de seda realizada en 1808. Años después, se hicieron estudios microscópicos y se observaron cuerpos cristalinos altamente refractivos en el núcleo de las células en los gusanos con ictericia. En 1913 se sugirió que la causa del “marchitamiento del gusano de seda” era viral y en 1918 se comprobó su etiología vírica (Romero, 2011).

Un virus es una entidad microbiológica, no celular, que tiene un genoma (helicasa p-143) con capacidad de replicarse y adaptarse a los cambios ambientales. Sin embargo, se caracterizan por no poder capturar y almacenar energía libre y no ser funcionalmente activos fuera de las células de sus huéspedes. En este sentido, se puede definir como un biosistema elemental que, en su forma más sencilla, está constituido por un ácido nucleico protegido por una cápsida proteica. Los virus son patógenos obligados, pero no son considerados como genuinos microorganismos de vida libre. Actualmente, se conocen más de 1 000 virus patógenos de invertebrados que afectan a un importante número de especies, la mayoría de las cuales son insectos pertenecientes a 13 órdenes distintos (Caballero y Williams, 2008).

Existen más de 700 de estas entidades que tienen capacidad para infectar especies de insectos de varios órdenes. El primer insecticida viral comercializado en los EEUU se desarrolló en 1961, con el virus de *Heliothis* spp., utilizado principalmente en algodón, y en otros cultivos como soya, maíz, sorgo y tomate. En Brasil, se produce desde 1979 el virus aislado de *Anticarsia gemmatalis* (Hubner.) para el control de *A. gemmatalis* en soya. También se produce el Virus de la Poliedrosis Nuclear de *S. frugiperda* (SfMNPV) para el control de *S. frugiperda* en maíz. Uno de los más utilizados para el control de plagas es el Virus de la poliedrosis nuclear (VPN) (Rizo y Narváez, 2001).

Los virus entomopatógenos utilizados para el control de plagas pertenecen a la familia *Baculoviridae*. Esta familia, por su especificidad para invertebrados y seguridad para la salud humana es la más estudiada hasta el momento. Los baculovirus son una diversa familia de virus ocluidos que poseen ADN de doble cadena. Su genoma está empacado en viriones con forma de bastón y ocluidos dentro de una matriz proteica conocida como cuerpo de inclusión, que los protege de las condiciones ambientales. Los viriones se presentan en dos formas importantes: viriones derivados de cuerpos de inclusión y viriones brotados (VB), estos son similares en la estructura de su nucleocápside pero difieren en su origen, composición de las envolturas y rol en el ciclo infectivo del virus. (Gómez y Villamizar, 2013).

2.5.2 Taxonomía

Los análisis filogenéticos para la clasificación de los baculovirus se basan principalmente en la comparación de las secuencias de los genes más conservados de los baculovirus, el de la poliedrina y el de la granulina y de los genes lef-8 y lef-9 (factores de expresión tardíos). En el octavo reporte del Comité Internacional de Taxonomía de Virus ICTV, la familia Baculoviridae se dividió en dos grandes grupos: los NPV y los granulovirus (GV) (Lange *et al.*, 2004).

Los NPV se han aislados principalmente de hospederos lepidópteros y de otros órdenes como dípteros e himenópteros, mientras que los GV solo de lepidópteros. Gracias a la disponibilidad de secuencias completas de genomas de los baculovirus y su análisis filogenético, se propuso una nueva clasificación, en la que se reconocen cuatro grandes grupos: los Alfabaculovirus (NPV de lepidópteros), los Betabaculovirus (GV de lepidópteros), los Gammabaculovirus (NPV de himenópteros) y los Deltabaculovirus (NPV de dípteros) (Posse *et al.*, 2010).

2.5.3 Estructura de los virus entomopatógenos

Estos microorganismos están compuestos internamente por una capa de proteínas llamada cápside, que protege el ácido nucleico (formado por ADN o ARN), este conjunto se denomina nucleocápside. Las nucleocápsides están solas o en grupos, rodeadas por una envoltura lipoprotéica, construida a partir del material celular del insecto infectado. La envoltura proteica en asociación con las nucleocápsides se denomina virión o partícula viral que constituye la unidad infectiva del virus. Los viriones están envueltos por una matriz proteica formando el cuerpo de inclusión (Rizo, 2001).

2.6 Ciclo de infección y patología

Las partículas virales se encuentran en el ambiente en forma de cuerpos de inclusión. Las larvas del insecto consumen estos CI que se disuelven en el intestino medio del insecto por el pH alcalino que oscila entre 9 y 11 liberando los viriones. Una vez liberados, deben atravesar la membrana peritrófica del intestino y se unen por fusión a las microvellosidades de las células epiteliales del intestino medio, ingresando a las células (Caballero *et al.*, 2001).

Una vez producida la fusión, las nucleocápsides penetran en el citoplasma de las células y se dirigen al núcleo, donde comienza la transcripción de los genes virales, se genera la nueva progenie viral y se producen alteraciones en las funciones fisiológicas del insecto en beneficio de un mejor desarrollo de la

infección en el hospedero. Las nucleocápsides formadas son transportadas hasta la membrana celular, de donde brotan adquiriendo una envoltura de dicha membrana para formar los VB (Volkman, 2007).

Los baculovirus recién formados circulan a través de la hemolinfa diseminando la infección a los demás tejidos y órganos susceptibles según el tropismo celular del aislamiento viral como hemocitos, cuerpo graso y tráquea, entre otros, proceso conocido como infección secundaria (Caballero *et al.*, 2001). En el núcleo de estas células se lleva a cabo la replicación y transcripción viral y se ensamblan las nuevas nucleocápsides. En los estados más tardíos de la infección, las nucleocápsides son ocluidas en la matriz proteica de poliedrina o granulina, para formar los CI y ocasionar la muerte de la larva. Estos pueden ser liberados al ambiente por licuefacción de la larva infectada para comenzar un nuevo ciclo de infección (Pasarelli, 2011).

2.6.1 Sintomatología

Los síntomas aparecen después del tercer o cuarto día de infección de las larvas. Primero se observan manchas en el integumento y la piel, con un tono amarillento y apariencia oleosa; luego, la larva reduce su movilidad, deja de alimentarse y sube a la parte superior de la planta, posteriormente se cuelga de la hoja con las patas traseras y se vuelven oscuras debido a la desintegración de los tejidos internos (Narváes, 2001).

2.7 Genoma y variabilidad genética

Los baculovirus tienen genoma ADN circular de doble cadena de tamaño entre 90 y 180 kpb. Tienen entre 90 y 181 marcos abiertos de lectura y más de 800 genes diferentes. Los genomas de baculovirus secuenciados han demostrado que existen 37 genes conservados en todas las especies, considerados como el grupo de genes núcleo de los baculovirus, que pertenecen a varias categorías funcionales y están involucrados en la replicación, la transcripción, el ensamblaje de los viriones y la infectividad oral. Esto sugiere que los baculovirus han

coevolucionado con sus insectos hospederos y se han diversificado genéticamente con el tiempo (Jehle *et al.*, 2006).

La organización del genoma es más conservada en los GVs que en los NPVs (Lange *et al.*, 2004), pero en general se observa alta variabilidad genotípica en los baculovirus. Dicha variabilidad se encuentra tanto entre aislamientos colectados de la misma especie hospedera en diferentes sitios geográficos, como entre aislamientos colectados en el mismo lugar e inclusive en un único individuo (Cory y Myers, 2003).

En Nicaragua se han aislado SfMNPV con nueve genotipos mezclados difiriendo de otros encontrados en Colombia con 12 genotipos diferentes de virus. Inclusive los GV, que tienen menor probabilidad de variabilidad genética, se han hallado mezclas de genotipos en un solo aislamiento viral, como se reportó para el GV de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) (PhopGV) (Espinel *et al.*, 2010).

Estos casos demuestran que la variabilidad de los baculovirus está limitada a regiones hipervariables, más que a una variación de todo el genoma. La variabilidad genética puede deberse a las altas tasas de recombinación, demostradas en cultivos celulares con frecuencia superior al 50 % entre genotipos cercanamente relacionados a mutaciones puntuales, a la duplicación de secuencias y a la transferencia horizontal entre baculovirus, sus hospederos y otros patógenos del hospedero (Espinel *et al.*, 2010).

La diversidad viral proporciona ventajas para la selección natural. Pequeños cambios en el genoma pueden originar modificaciones significativas en las características biológicas del virus como la patogenicidad, la virulencia y la productividad, que pueden favorecer la adaptación al hospedero o a las condiciones ambientales. Este es el caso del SfMNPV, en el que se demostró que un único genotipo tiene desempeño biológico inferior que la mezcla de los nueve

genotipos naturales, indicando que la variabilidad genética se mantiene porque puede maximizar la probabilidad de infección sobre un hospedero específico o la supervivencia en el ambiente (Simon *et al.*, 2005).

2.8 Hospederos y especificidad

Los estudios acerca del rango de hospederos de baculovirus permiten clasificarlos como altamente susceptibles, semi permisivos y no permisivos. La clasificación propone dos tipos de rangos: el fisiológico que se basa únicamente en las observaciones de la infección en laboratorio y el ecológico, correspondiente al conjunto de especies con las que un agente patógeno interactúa para dar lugar a una progenie viable (Takatsuka *et al.*, 2007).

El rango de hospederos de un virus está limitado por su capacidad de entrar a las células de un organismo, replicar su genoma, ensamblar nuevas partículas virales y liberar la progenie infecciosa. Está limitado a un orden y la mayoría a una única familia con pocas especies. Por ejemplo, el NPV de *Autographa californica* (AcNPV), puede infectar 39 especies de larvas de Lepidópteros, pertenecientes a 13 familias y replicarse en sus líneas celulares derivadas, aunque cada especie varía en susceptibilidad. En contraste el NPV del gusano de seda (*Bombyx mori*) (Lepidoptera: Bombycidae) (BmNPV), muy cercano taxonómicamente al AcNPV, tiene un rango de hospederos más estrecho infectando solo siete familias de Lepidópteros (Thiem y Cheng, 2009).

El NPV de *Anagrapha falcifera* (Lepidoptera: Noctuidae) (AfNPV) infecta 31 especies de lepidópteros de 10 familias. El NPV de *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) (MbNPV) puede infectar 32 especies de cuatro familias de lepidópteros. En el caso de los granulovirus, estos no han sido estudiados al detalle, aunque la evidencia disponible sugiere que tienen un estrecho rango de hospederos, incluso que la mayoría pueden ser monoespecíficos o infectivos en un solo género (Harrison, 2009).

2.9 Entrada del virus a la célula

El primer paso crítico para producir infecciones efectivas es la entrada en la célula hospedera. La primera barrera para la infección viral es la membrana peritrófica (MP) semipermeable que delinea el intestino medio del insecto, está compuesta de microfibras de quitina, proteoglicanos y proteínas y tiene como función proteger al intestino medio de la abrasión del material vegetal consumido, de microorganismos y sustancias químicas. Su grosor se ve influenciado por el tipo de follaje consumido por los insectos, lo que puede afectar la capacidad de ingreso de los baculovirus, los cuales usan la actividad de sus proteínas quitinasas y enhancinas para romper la membrana y de esta forma iniciar la infección de las células intestinales (Plymale *et al.*, 2008).

Una vez dentro del intestino, el virión es capaz de atravesar la MP, debe unirse a las células epiteliales del intestino medio. Aunque en la mayoría de los virus la entrada a la célula está determinada por la presencia de receptores específicos que facilitan la unión del virus, en el caso de los baculovirus este mecanismo no se encuentra bien dilucidado. Estudios realizados confirman que los baculovirus poseen un factor sinérgico que aumenta y facilita la entrada a las células del intestino medio (Kost y Condreay, 2002)

Luego de la unión de los viriones a las células y su replicación, los BV deben salir de las células del intestino medio para diseminar la infección. En este sentido, la siguiente barrera que deben atravesar es la lámina basal, un conjunto de capas delgadas y flexibles ubicadas en el lado basal de las células epiteliales, compuestas por proteínas como colágeno, laminina y proteoglicano (Pasarelli, 2011).

Si los virus son capaces de atravesar la lámina basal, se establecerá una infección exitosa gracias a la tráquea, que posee un factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) que le permite ramificarse y alcanzar diferentes tejidos (Detvisitsakun *et al.*, 2006).

Los baculovirus son los únicos que también presentan un factor proteico FGF codificado por el gen *fgf* viral (*vfgf*), que se encuentra conservado en los alfa y beta baculovirus pero no en los gamma y los delta baculovirus que solo infectan el intestino medio del insecto, lo que sugiere su incapacidad para atravesar la lámina basal. Además, existe una alta correlación entre la presencia de *vfgf* en el genoma viral y la capacidad de generar infecciones sistémicas, sugiriendo que este factor puede tener un efecto diferente en cada tejido y ser un factor clave de especificidad (Detvisitsakun *et al.*, 2006).

2.10 Inmunidad del insecto: barreras para los baculovirus

Los insectos presentan múltiples mecanismos de defensa que deben ser atravesados por los baculovirus con el fin de multiplicarse en el hospedero. Cada uno podría imponer la selectividad en el sistema y esto ha sido descrito como el “modelo de defensa”. La resistencia de los insectos a los baculovirus se encuentra bien documentada, tanto en poblaciones de laboratorio como de campo (Sparks *et al.*, 2008).

Las barreras físicas y fisiológicas representan la primera línea de defensa de los insectos antes las infecciones virales. Como se describió anteriormente, la primera barrera que deben atravesar los baculovirus para establecer infecciones sistémicas eficientes es el intestino medio. El insecto emplea múltiples defensas innatas para proteger las células columnares de esta infección, como la MP, la muda de las células del intestino medio y la excreción de proteasas y lipasas con actividad antiviral (Cory y Myers, 2003; Sparks *et al.*, 2008).

Posteriormente, el insecto puede ejercer defensas relacionadas con la inmunidad celular, como la habilidad para reconocer los tejidos infectados y eliminarlos sin causar daños mayores. Los insectos reconocen los tejidos normales de los infectados basados en la presencia o ausencia de una correcta estructura de la lámina basal, la cual es importante para la respuesta inmune de los hemocitos. En

el caso de infecciones virales, la replicación de los virus puede dar lugar a la distensión de la membrana basal, generando un reconocimiento por parte del insecto (McNeil *et al.*, 2010).

Otro mecanismo de defensa del hospedero es la apoptosis, que es activada por las caspasas del hospedero. Sin embargo, estas enzimas pueden a su vez ser inactivadas por proteínas de los baculovirus, definiendo de esta forma el rango de hospederos. Se cree que la inducción de la apoptosis en el insecto también puede estar dada por la expresión de las proteínas necesarias para la síntesis del ADN viral (Sparks *et al.*, 2008).

Las diferencias en la respuesta inmune de hospederos permisivos y no permisivos pueden estar relacionadas con diferencias genéticas de los insectos. Por ejemplo, (Guo *et al.*, 2005) demostraron que la diferencia genética entre poblaciones de (*Bombyx mori*)(Lepidoptera: Bombycidae), altamente susceptibles y poco susceptibles a la infección con el AcNPV, es la presencia de un gen dominante anti-AcNPV o un conjunto de genes relacionados que previenen la infección. Una posibilidad es que este factor impida la propagación del virus, por la inhibición de la transcripción y la expresión de genes virales esenciales para el proceso de infección. Otra posibilidad es que estos factores generen mecanismos de defensa (Popham *et al.*, 2010).

2.11 Eficacia de la aplicación

Si la aplicación fue eficaz, dos días después de esta, las larvas mostrarán mayor lentitud, coloración pálida y disminución del apetito hasta dejar de comer (Rizo y Narváez, 2001).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la estación Experimental del Tabaco en Cabaiguán, perteneciente al Ministerio de la Agricultura (MINAG), entre los meses comprendidos de mayo a agosto del 2017. El suelo predominante y sobre el cual se realizó la investigación fue Pardo Sialítico sin Carbonato (Hernández *et al.*, 1999).

La situación geográfica del ecosistema en estudio, corresponde con el cinturón climático tropical, al igual que todo el archipiélago y pertenece a la subregión climática Caribe-Occidental, con vientos estacionales en calma e influencia de la continentalidad.

Las variables climáticas temperatura y humedad relativa media fueron obtenidas del Centro Meteorológico Provincial y los datos de la propia estación experimental, al igual que las precipitaciones que se obtuvieron de pluviómetros ubicados en dicha entidad.

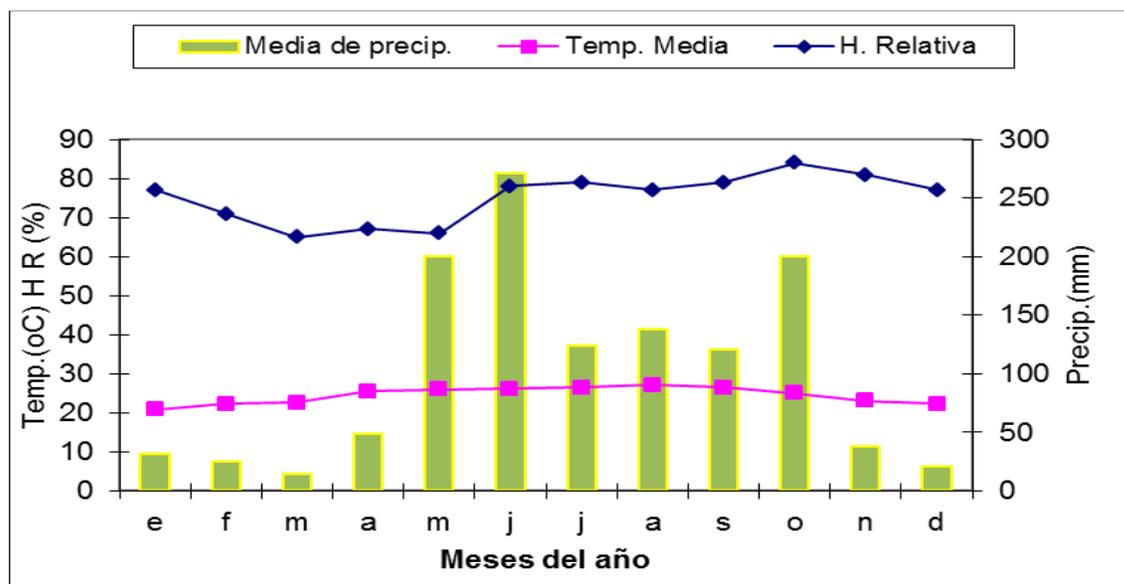


Figura 1. Centro Meteorológico Provincial (CMP) de Sancti Spiritus-CITMA. Instituto de Recursos Hidráulicos S.S.

El diseño metodológico de la investigación se estructuró en fases que dieron salida cronológicamente y de manera sistémica a los objetivos específicos del estudio, empleándose los siguientes métodos de investigación:

- La observación
- La medición
- El experimento

La preparación del suelo se realizó según las normas del instructivo técnico del maíz: roturación, mullido, cruce, mullido y surcado; todo con tracción animal excepto la rotura que se realizó de forma mecanizada. A los 35 días, se realizó un aporque entre surco, con tracción animal. La fertilización fue con fórmula completa (9-13-17) en la siembra y una segunda aplicación (9-13-17) a los 35 días, coincidiendo con la labor de aporque.

En el montaje del experimento (Tabla 1) se utilizó un diseño de bloques al azar con seis tratamientos y cuatro réplicas, el tamaño de las parcelas fue de 5 surcos con 7 metros de largo (44,3 m²) con área experimental total estimada de 17 X 47 m=799 m². La distancia de siembra fue a doble surco de 0,90m x 030mx 0,45m a dos granos por nido y previa pre germinación. La variedad empleada fue Canilla.

Tabla 1. Distribución espacial de los tratamientos y sus réplicas

5	3	4	6	2	1
3	2	1	4	6	5
6	5	2	1	4	3
4	1	5	2	3	6

Los tratamientos utilizados fueron:

- 1.- SfMNPV 10^{12} CI por ha⁻¹
- 2.- SfMNPV $2,5 \times 10^{11}$ CI por ha⁻¹
- 3.- SfMNPV $2,5 \times 10^{11}$ CI por ha + Ácido Bórico 1%.
- 4.- SfMNPV $2,5 \times 10^{11}$ CI por ha + OleoNim 80 $0,25$ L ha⁻¹
- 5.- OleoNim $0,25$ L ha⁻¹
- 6.- Testigo sin tratar

3.1 Determinación de los porcentajes de infestación y la intensidad expresada en índices de larvas de *S. frugiperda* por plantas

3.1.1 Determinación de los porcentajes de infestación por *S. frugiperda* en los tratamientos en estudios

El porcentaje de infestación por *S. frugiperda* se determinó por la fórmula recomendada por Padrón (2000).

$$\% I = \frac{P_i}{P_m} \cdot 100$$

$\% I$: porcentaje de infestación
 P_i : plantas infestadas
 P_m : plantas muestreadas

Los muestreos se realizaron según la metodología descrita por el CNSV (2009), cada siete días después de germinada la semilla hasta una infestación superior al 10 %, momento en el cual se realizó la primera aplicación y se realizaron dos aplicaciones más con una frecuencia semanal para garantizar una epizootia. Los muestreos se realizaron al azar, en forma de bandera inglesa.

Las plantas a evaluar se tomaron en la zona central de cada parcela en tres grupos (tres, tres y cuatro plantas consecutivas al azar), donde se registró la cantidad de masas de huevos y larvas presentes por planta infestada y el estadio de desarrollo, pero sin romper los cogollos de las plantas, por simple inspección.

Los porcentaje de infestación se transformaron por $\left(2\arcsen\sqrt{P/100}\right)$ para que se ajusten a la curva normal de probabilidad. Con los datos promedio se realizó un ANOVA de un factor, para lo cual se empleó el paquete estadístico SPSS – versión 21 para Windows. Los valores de las medias fueron comparadas por la prueba de rango múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.1.2 Determinación de la intensidad expresada en índices de larvas de *S. frugiperda* por plantas en los tratamientos en estudios

La intensidad de insectos por planta se calculó mediante la siguiente fórmula recomendada por Padrón (2000)

$$I = \frac{Ti}{Pm}$$

Donde: I: intensidad de insectos por planta; Ti: total de insectos; Pm: plantas muestreadas

La metodología de muestreo es la utilizada en el acápite 3.1.1. El conteo de los insectos se realizó de forma visual. Con los datos promedio se realizó un ANOVA de un factor, para lo cual se empleó el paquete estadístico SPSS – versión 21 para Windows. Los valores de las medias fueron comparadas por la prueba de rango múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.2 Determinación los porcentajes de muertes causado por el SfMNPV en los tratamientos en estudios

En el diseño experimental, la cuarta réplica no se evaluó, solo se utilizó para recoger 28 larvas por variante de los surcos centrales por cada tratamiento y llevarlas al Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal (LAPROSAV), para verificar la mortalidad del virus y otras causas después de la primera aplicación. La observación se realizó durante una semana.

Los parámetros evaluados fueron:

1. Larvas muertas por SfMNPV
2. Porcentaje de muerte por SfMNPV

3. Muertes por causas desconocidas
4. Muerte por parasitismo
5. Vivas
6. Porcentaje total de muertes

Los parasitoides se identificaron en el Laboratorio de Entomología perteneciente al Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de la Provincia de Sancti Spíritus, utilizando métodos convencionales de diagnóstico como observación directa, uso de microscopio estereoscópico y empleo de claves y descripciones de especies.



Fig. 2. Medios utilizados para la cría de *S. frugiperda* sobre la superficie de la dieta artificial

Las larvas fueron alimentadas en dieta artificial formulada a partir de lo recomendado por Armas, J.L.; Ayala, J.L (1990).

Tabla 2. Dieta artificial formulada a partir de lo recomendado por Armas y Ayala (1990)

No.	Ingrediente	Cantidad (g ó ml)
1	Harina de soya	60
2	Polvo de arroz	34
3	Levadura torula	31
4	Polvo de plantas hospedantes (frutos de tomate)	8
5	Ácido ascórbico	3.3
6	Ácido sórbico	1
7	Metil parabeno	2
8	Formaldehido 37-40 %	1
9	Estreptopenicilina (LABIOFAM)	0.1
10	Agar-agar	15
11	Agua destilada	900

3.3 Determinación de la eficacia del SfMNPV en el control de *S. frugiperda* en los tratamientos en estudios

Se calculó la efectividad técnica de cada tratamiento después de las aplicaciones. Para ello se utilizó la fórmula de Henderson-Tifton, tomada de Ciba-Geigy (1981).

$$E = (1 - Td/Cd \cdot Ca/Ta) \cdot 100$$

Donde: Ta: Infestación en parcela tratada antes del tratamiento

Td: Infestación en parcela tratada después del tratamiento

Ca: Infestación en parcela testigo antes del tratamiento

Cd: Infestación en parcela testigo después del tratamiento

Los porcentajes de la eficacia se transformaron por $\left(2 \arcsen \sqrt{P/100}\right)$ para que se ajusten a la curva normal de probabilidad. Con los datos promedio se realizó un ANOVA de un factor, para lo cual se empleó el paquete estadístico SPSS – versión 21 para Windows. Los valores de las medias fueron comparadas por la prueba de rango múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Determinación de los porcentajes de infestación y la intensidad expresada en índices de larvas de *S. frugiperda* por plantas

4.1.1 Determinación de los porcentajes de infestación en los tratamientos en estudios

El análisis estadístico a la afectación por *S. frugiperda* al cultivo del maíz durante los tres muestreos realizados mostró diferencias para la interacción entre los tratamientos en estudio (Tabla 2).

Tabla 3. Porcentaje de infestación causado por *S. frugiperda* al cultivo del maíz bajo los diferentes tratamientos en estudio

Tratamientos	Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3	
	X (%)	X Transf.	X (%)	X Transf.	X (%)	X Transf.
10 ¹² OBs ha ⁻¹	76,6	2,13ab	70,0	1,98c	3,33	0,35c
2,5 x 10 ¹¹ CI ha ⁻¹	60,6	1,78c	73,3	2,05bc	6,66	0,52b
2,5 x 10 ¹¹ CI ha + Ácido Bórico 1%.	80,0	2,21a	70,0	1,98c	10,0	0,64b
2,5 x 10 ¹¹ CI+ OleoNim 80 0,25 L ha ⁻¹	73,3	2,05b	76,6	2,13b	3,33	0,35c
OleoNim 0,25 L ha ⁻¹	76,6	2,13ab	83,3	2,30a	10,0	0,64b
Testigo sin tratar	80,0	2,20a	80,0	2,21ab	20,0	0,92a
CV		7,3		6,04		37,6
EE		0,36		0,30		0,50

Letras desiguales en las columnas para las medias de la interacción difieren para $p \leq 0,05$ según prueba de rango múltiple de Tukey

En el primer muestreo (7dda) la mayor infestación por *S. frugiperda*, no mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos 10¹² CI ha⁻¹, OleoNim 0,25 L ha⁻¹, 2,5 x 10¹¹ CI ha + Ácido Bórico 1% y testigo respectivamente. Los incrementos en la infestación en relación al tratamiento menos afectado (2,5 x 10¹¹

CI ha⁻¹) fue de 1,19; 1,23 y 1,24 (Tabla 3). Es válido señalar que a pesar de existir diferencias estadísticas entre los tratamientos en estudio, el efecto causado por el SfMNPV a los 7 dda no es muy marcado.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Aquesolok (2011), en su estudio sobre la producción de un bioinsecticida artesanal a base de baculovirus en el control de *S. frugiperda* en Perú, donde no existieron diferencias marcadas entre los tratamientos en estudios en los primeros 7 dda.

Los valores de infestación en el muestreo dos no difieren en gran medida a los del uno, y en algunos tratamientos los valores aumentan. Como se muestra en la tabla 3, los tratamientos 10¹² CI ha⁻¹ (uno), 2,5 x10¹¹ CI ha⁻¹ (dos) y 2,5 x 10¹¹ CI ha + Ácido Bórico 1% (tres), fueron los de menor infestación sin diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) entre ellos, pero sí con los más infestados como el Oleo Nim 0,25 L ha⁻¹ y testigo respectivamente, donde este último alcanzó el mayor valor numérico. Los incrementos promedios en la infestación estuvieron en el orden de 1,09 y 1,13 según orden ascendente en la tabla 3 para los tratamientos uno, dos y tres.

En el tercer muestreo se observa una marcada disminución en la infestación para todos los tratamientos en estudio (tabla 3). El testigo fue el de mayor infestación con un incremento de 2,62 veces respecto a los tratamientos menos infestados como el uno y el cuatro sin diferencias estadísticas entre ellos. Los tratamientos dos, tres y cinco no presentaron diferencias ($p \leq 0,05$) estadísticas entre ellos con valores superiores al tratamiento uno y cuatro, pero inferiores al testigo.

Los resultados antes descritos concuerdan con los informados por Troya (2011), en su estudio sobre la evaluación de cepas de nucleopoliedrovirus (NPV), donde a los 7 dda no existieron marcadas diferencias entre los tratamientos, sin embargo, a los 14 y 21 dda los mayores valores se obtuvieron en el testigo. Los valores informados por este autor en cuanto a porcentaje de infestación del testigo en la

segunda y tercera semana (57.2 %), se muestran superiores a los obtenidos en el presente trabajo (20 %).

De igual manera se demuestra lo informado por Martínez *et al.* (2012), que las poblaciones de *S. frugiperda* son afectadas por el SfMNPV y este patógeno ha mostrado un claro potencial para el control de esta plaga.

Experimentos en campo realizados en México y Honduras por Williams *et al.* (1999), demostraron que la aplicación del SfMNPV a una concentración de 6×10^{12} CI ha⁻¹ de maíz provocó aproximadamente el 40 % de mortalidad de *S. frugiperda*, mientras que este trabajo demuestra que con menores dosis del virus solo y con sustancias coadyuvantes se pueden obtener mortalidades superiores al 60 %.

4.1.2 Determinación de la Intensidad de larvas de *S. frugiperda* por planta de maíz bajo el efecto de los diferentes tratamientos en estudio

El índice de larvas de *S. frugiperda* por planta de maíz mostró interacción entre las medias para todos los tratamientos y muestreos realizados (Figura 3). En el primer muestreo, los tratamientos uno y seis fueron los de mayor índice con 2,50 y 2,46 larvas por planta respectivamente sin diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) entre ellos. Por su parte los tratamientos dos y cuatro presentaron los valores más bajo de larvas por planta sin diferencia estadísticas ($p \leq 0,05$), con un índice de 1,62 larvas menos que los tratamientos anteriores.

Intensidad de larvas por plantas

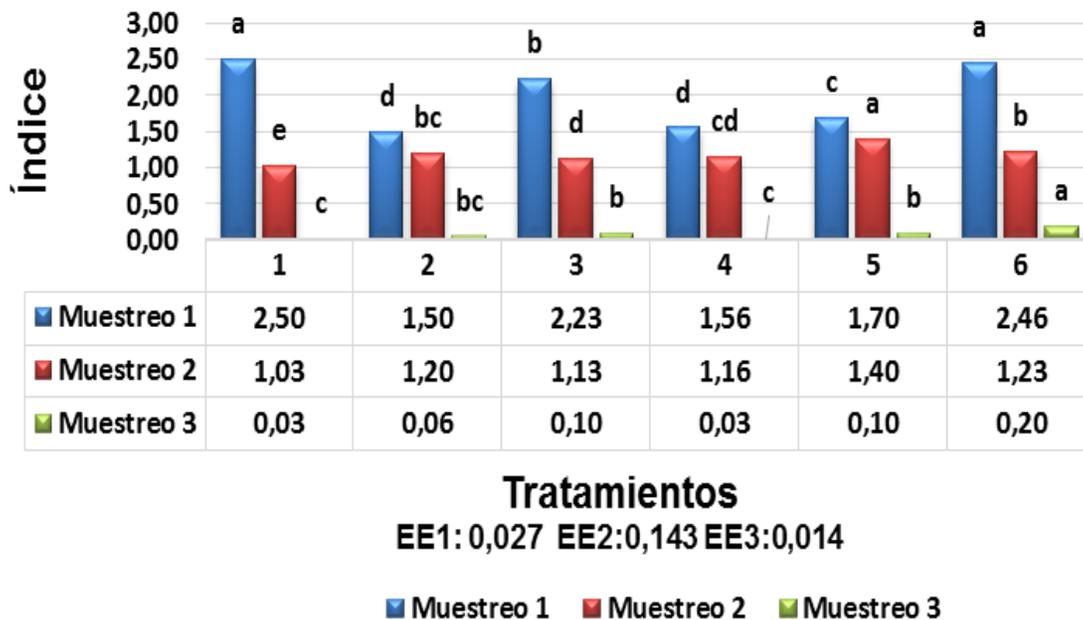


Figura 3. Intensidad de larvas *S. frugiperda* por planta bajo los diferentes tratamientos en estudio
Letras desiguales para las medias difieren para $p \leq 0.05$ según prueba de rango múltiple de Tukey

Como se muestra en la figura 3, el índice en el muestreo dos, presenta valores inferiores al anterior, con una tendencia como promedio de 1,69 larvas de *S. frugiperda* menos por planta de maíz. El tratamiento con menor número de larvas por planta lo presentó la dosis mayor de SfMNPV (10^{12} CI ha⁻¹), seguido del tratamiento tres y cuatro sin diferencias entre ellos. Por su parte el índice de larvas por planta mayor lo presentó el tratamiento cinco, seguido del testigo. Estos tratamientos superaron como promedio en 1,35 y 1,19 larvas por planta respectivamente al tratamiento con dosis de 10^{12} CI ha⁻¹.

Como se puede apreciar en la figura 3 el número de larvas por planta disminuyó para todos los tratamientos en mayor o menor medida, incluyendo el testigo sin aplicación, resultado similar fue informado por Troya (2011), en su estudio sobre la evaluación de cepas de SfMNPV en Ecuador. Este autor informa que obtuvo como

promedio 1,1 larvas a los 7 dda, aunque con dosis muy superiores a las aplicadas en este estudio que van desde los 2,5 hasta 5×10^{12} CI ha⁻¹ y con un tamaño de parcela de 20 m², inferior al utilizado en este trabajo (44,3 m²).

En la tercera semana después de la primera aplicación los valores de intensidad fueron muy bajos si lo comparamos con el muestreo uno y dos (figura 3), estos resultados están en correspondencia con la infestación ya discutida en la tabla 2. El índice presentó un comportamiento similar al muestreo anterior, donde el tratamiento 10^{12} CI ha⁻¹ fue el de menor larvas por planta con valor de 0,03. Mientras que el testigo fue el de mayor índice con 0,20 larvas por plantas. El resto de los tratamientos presentaron valores superiores a el tratamiento 10^{12} CI ha⁻¹, pero inferior al testigo.

Es válido señalar que para la tercera semana después de la primera aplicación el índice de larvas por planta descendió a niveles insignificantes, lo que demuestra lo expresado por Caballero *et al.* (2009), que el SfMNPV presenta un alto potencial para el control de las poblaciones *S. frugiperda*.

4.2 Determinación de los porcentajes de muertes causado por el SfMNPV en los tratamientos en estudios

El tratamiento con la mayor dosis de baculovirus fue el que presentó la mortalidad más elevada con un valor de 89,3 %. El resto de los tratamientos donde utilizó la dosis del virus a razón de $2,5 \times 10^{11}$ CI ha⁻¹ solo y con sustancia coadyuvantes presentaron resultados que oscilaron entre un 21,4 y 53,7 %. Como se puede apreciar en la tabla 4, el baculovirus presentó un alto grado de infectación, que como resultado las parcelas testigos y las del tratamiento con OleNim 0,25 Lha⁻¹, también tuvieron un porcentaje elevado de muertes por este.

Otras de las causas de muertes en las parcelas lo constituyó el parasitismo, con valores relevantes como en el tratamiento dos (con siete larvas) para un 25 % de muertes, aspecto este de gran importancia para reducir las poblaciones plagas y

donde la combinación con los baculovirus pudiera ser una alternativa de control efectiva y sin daños al ambiente. Estos resultados reafirman lo informado por Bideshi *et al.* (2010), al demostrar que una de las vías de infección por baculovirus pudiera comenzar por el ingreso tras la picadura de la avispa y diseminación de las partículas virales en el insecto infectado. Continúa con la transmisión a nuevos hospederos a través de hembras de avispas parasitoides que se contaminan de partículas virales al introducir su ovipositor en las larvas infectadas, transmitiéndolas horizontalmente a nuevos hospederos, con una eficiencia estimada del 80 %.

Este resultado demuestra la inocuidad del SfMNPV para el resto de la entomofauna asociada al maíz y su alto grado de especificidad que lo hace atractivo para utilizarlo en el manejo agroecológico de *S. frugiperda*, aspectos estos resaltados por Badii y Abreu (2006), al informar que por su alta especificidad, alta virulencia, compatibilidad con otros métodos de control, facilidad de producción, estabilidad en el almacenamiento, seguridad (inocuo al hombre y otros animales) y la ventaja de no afectar el balance natural del agroecosistema son agentes promisorios para ser utilizados como insecticidas biológicos en programas de biocontrol.

Tabla 4. Mortalidad de larvas en las parcelas en estudio

Tratamientos	Total Larvas	Muertas SfMNPV	%MV	Muerte causas descon	Parasitadas.	Vivas	% MT
10¹² CI ha⁻¹	28	25	89,3		1*	2	92,9
2,5 x10¹¹ CI ha⁻¹	28	6	21,4	3	7**	12	57,14
2,5 x 10¹¹ CI ha + Ácido Bórico 1%.	28	15	53,7	2	1*	10	64,28
2,5 x 10¹¹ CI + OleoNim 80 0,25 L ha⁻¹	28	13	46,4		1*	14	50
OleoNim 0,25 L ha⁻¹	28	6	28,7	1	3*	18	35,71
Testigo sin tratar	28	7	28	3	4*	14	50
Total	168	72	42,85	9	17	70	58,33

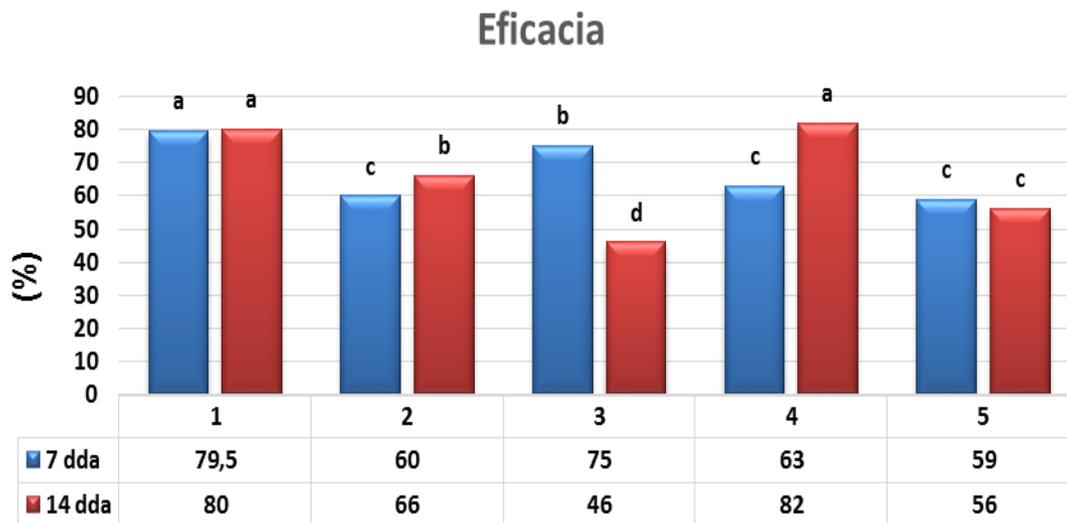
**Chelonus* sp
** *Euplectus* sp

Las especies de parasitoides reportadas durante el presente trabajo fueron *Chelonus insularis* pertenecientes al orden Hymenoptera, super familia Ichneumonoidea, familia Braconidae y *Euplectrus plathypenae* del propio orden y familia *Eulophidae* (Tabla 4). Ambas especies constituyen controles naturales de gran efectividad en la regulación de *S. frugiperda*. Estos insectos se han reportado por varios autores en la literatura entre los que se destaca Bernal (2007).

Igualmente se pudo comprobar que la mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* aumentó cuando el tratamiento $2,5 \times 10^{11}$ CI ha⁻¹ de SfMNPV fue mezclado con el ácido bórico y el OleoNim en 2,50 y 2,16 veces respectivamente (Tabla 4), lo que demuestra que cuando el virus es mezclado con sustancias coadyuvantes mejora su control. Estos resultados coinciden con los informados anteriormente por autores como Vargas (2006), donde logró efectos superiores en 1.6 veces al virus solo, utilizando óxido de zinc y glicerina. Igualmente, (Coello, 2002) demostró en bioensayos de laboratorio que el uso del ácido bórico al 2%, incrementó la mortalidad del SfMNPV en dos veces en larvas del cuarto instar.

4.3 Determinación de la eficacia del SfMNPV en el control de *S. frugiperda* en los tratamientos en estudios

La eficacia calculada a los 7 y 14 dda mostró interacción entre todos los tratamientos en estudio (Figura 4). A los 7dda el tratamiento de la dosis del virus (10^{12} CI ha⁻¹) obtuvo el mejor resultado, con un 79,5 %, superando en 1,34, 1,32 y 1,26 veces el valor a los tratamientos cinco (OleoNim 0,25 L ha⁻¹), dos ($2,5 \times 10^{11}$ CI ha⁻¹) y cuatro ($2,5 \times 10^{11}$ CI + OleoNim 80 0,25 L ha⁻¹) respectivamente y con diferencias estadísticas. Por su parte el tratamiento $2,5 \times 10^{11}$ CI ha⁻¹ + Ácido Bórico 1% mostró una eficacia inferior al tratamiento uno, pero superior al dos, cuatro y cinco (figura 4).



Tratamientos
 CV 7dda: 9,89 CV 14dda: 16,23

Figura 4. Eficacia de los diferentes tratamientos en estudio sobre *S. frugiperda*
 Letras desiguales para las medias difieren para $p \leq 0.05$ según prueba de rango múltiple de Tukey

De igual manera a los 14 dda los tratamientos con mayor eficacia y sin diferencias estadísticas entre ellos fueron el cuatro ($2,5 \times 10^{11}$ CI + OleoNim 80 0,25 Lha⁻¹) y el uno (10^{12} CI ha⁻¹) con un incremento promedio al resto de los tratamientos en 1,49; 1,31 y 1,18 veces el valor, según orden ascendente de los tratamientos en la figura 4. Este resultado demuestra como el SfMNPV en mezcla con el OleoNim logra una efectividad con valores a la dosis mayor del virus.

La eficacia obtenida en este trabajo fue inferior a la reportada por Villamizar *et al.* (2014), en su estudio sobre compatibilidad del SfMNPV con agroquímicos en Colombia. Este autor informa eficacia en el orden de 88,6 hasta un 100 % en mezcla con insecticidas y fungicidas y con una concentración del virus de 10^7 CI ha⁻¹.

CONCLUSIONES

1. El SfMNPV mezclado con Ácido bórico y OleNim disminuyen la infestación y la intensidad de larvas por plantas con dosis inferiores a 10^{12} CI ha⁻¹.
2. El SfMNPV en mezcla con Ácido bórico y OleNim aumenta la mortalidad de las larvas en 2,5 y 2,16 veces respectivamente.
3. La mezcla del Ácido bórico y OleNim con el SfMNPV mejoran significativamente su eficacia.

RECOMENDACIONES

1. Continuar los estudios de las mezclas de estas sustancias coadyuvantes con el SfMNPV.
2. Ampliar el tamaño de las parcelas experimentales para evitar la contaminación de los tratamientos.
3. Introducir nuevas sustancias con estas propiedades.

Bibliografía

- Amaguña, I. C. (2012). *Control del gusano cogollero (Spodoptera frugiperda) en el cultivo del maíz*. Ambato.
- Arévalo, H., Mejía, R., & de Polanía, Z. (2007). The fall armyworm *S. frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and some transgenic plants. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas.*, 103-113.
- Ayala Sifontes, J., & Deborah, H. (2017). Potencial de los Baculovirus para el manejo de plagas agrícolas en Cuba. *Centro Agrícola*, 80-87.
- Badii, M., & Abreu Quintero, J. L. (2006). Control biológico: una forma sustentable de control de plagas., (pág. 8). San Nicolás, Mexico.
- Brechelt, A. (2004). *Manejo ecológico de plagas y enfermedades*. República Dominicana: RAP-AL.
- Caballero, P., & Williams, T. (2008). Virus entomopatógenos. *Control biológico de plagas*, 121-135.
- Caballero, P., López- Ferber, M., & Williams, T. (2001). *Los basculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Madrid: Phytoma.
- Coello, V. A. (2002). *Efecto del Ácido Bórico, Neem y Tinopal en la dieta de Spodoptera frugiperda sobre la Tasa de Infectividad por el Virus de la Poliedrosis Nuclear*. Honduras: Ciencia y Producción Agropecuaria.
- Cory, J., & Myers, J. (2003). The ecology and evolution of insect baculoviruses. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics.*, 239-272.
- Cruz, O. (2013). *El cultivo del maíz. Manual para el cultivo del maíz en Honduras*. Honduras, C.A.: DICTA.
- Cuartas Otálora, P., & Villamizar Rivero, L. (2011). Interacciones de los virus entomopatógenos y su efecto sobre la actividad biológica. *Facultad de Ciencias Básicas*, 7, 19.
- Detvisitsakun, C., Hutfless, E., Berreta, M., & Passarelli, L. (2006). Analysis of baculovirus lacking a functional viral fibroblast growth factor homolog. *Virology*, 258- 265.

- Espinel-Correal, C., Villamizar, L., & Cortés, A. (2010). Genetic and biological analysis of colombian Phthorimaea operculella granulovirus isolated from Tecia solanivora (Lepidoptera: Gelechiidae). *Applied and Environmental Microbiology*, 156-168.
- FIRA (Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura. (2016). *Panorama agroalimenticio*. Brasilia: FIRA.
- García González, M. T. (2015). *Empleo de policultivos en el manejo de plagas en el maíz (Zea mays L)*. Universidad Central Martha Abreu de la Villas: Feijoo.
- García Gutiérrez, C., González-Maldonado, M., & Cortéz-Mondaca, E. (2012). Uso de enfermedades naturales y biorreguladores para el control de plagas del maíz. *Ra-Ximhai*, 69.
- García, R. T. (2011). *Evaluación de cepas de nucleopoliedrovirus(NPV) para el control de Spodoptera frugiperda en maíz*. Los Ríos. Ecuador.
- Gobernación de Antioquia. (2015). *Manual técnico del cultivo de maíz bajo buenas prácticas agrícolas*. Medellín: Antioquia.
- Gómez Valderrama, J., & Villamizar, L. (2013). Baculovirus: hospederos y especificidad. *Revista colombiana de biotecnología*, 52.
- González, M. T. (2015). *Empleo de policultivos para el manejo de plagas en el cultivo maíz*. Santa Clara.
- Guo, T., Wang, S., Guo, X., & Lu, C. (2005). Productive infection of Autographa californica nucleopolyhedroviruses in silk worm Bombyx mon strain Haoyve due to the absence of a host antiviral factor. *Virology*, 231-237.
- Harrison, R. (2009). Structural divergence among genomes of closely related baculoviruses and its implications for baculovirus evolution. *Journal of Invertebrate Pathology*, 181-186.
- Henández, I. C. (2015). Productos biológicos para el control de Spodoptera frugiperda. *Revista Colombiana de Entomología*, 200-204.
- Jehle, J., Lange, M., & Hauschild, R. (2006). Molecular identification and phylogenetic analysis of baculoviruses from Lepidoptera. 180-183.
- Kost, T., & Condreay, P. (2002). Recombinant baculoviruses as mammalian ceel gene- delivery vectors. *Trends in biotechnology*, 173-185.

- Lange, M., Wang, H., Zhihong, H., & Jehle, J. (2004). Toward a molecular identification and classification system of lepidopteran-specific baculoviruses. *Virology*, 36-47.
- López, M. F. (2002). *El cultivo del maíz en Guatemala, una guía para su manejo agronómico*. Guatemala: ICTA.
- López, M. R. (2002). *El cultivo del maíz en Guatemala*. Guatemala: ICTA.
- Marina Rizo, C., & Narváez, C. (2001). Uso y producción de virus de la poliedrosis nuclear en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*, 90-96.
- Martin, V. P. (2017). *Bioinsecticidas*. Facultad de ciencias, sección biología, Buenos Aires.
- Martínez, A., Pineda, S., Figueroa, I., Chavarrieta, J. M., & Williams, T. (2012). Los basculovirus como insecticidas: evaluación de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* en México y Honduras. *56 Ciencia Nicolaita*, 13.
- McNeil, J., Cox- Foster, D., Slavicek, J., & Hoover, K. (2010). Contributions of immune responses to developmental resistance in *Lymantria dispar* challenged with baculoviruses. *Journal of insect Physiology*, 1165-1177.
- Morales, N. B. (2009). *Manual de recomendaciones técnicas: cultivo maíz*. San José: INTA.
- Narváez, C. (2001). Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. *Manejo Integrado de Plagas*, 90-96.
- Núñez Sosa, D., & Romero Peñate, I. (2004). *Sostenibilidad en la agricultura cubana. Empleo de principios y técnicas agroecológicas*. Matanzas: FCA.
- Ortas, L. (2008). El cultivo del maíz: fisiología y aspectos generales. *Agrigan, S.A.*, 4.
- Pasarelli, L. (2011). Barrier to success: how baculoviruses establish efficient systemic infections. *Virology*, 383-392.
- Pioneer. (2015). *Manejo de gusano cogollero en cultivos de maíz*. Buenos Aires: Pioneer.
- Plymale, R., Grove, M., Cox- Foster, D., & K., H. (2008). Plant- mediated alteration of the peritrophic matrix and baculovirus infection in lepidoptera larvae. *Journal of Insect Physiology*, 737-749.

- Popham, H., Grasela, J., Goodman, C., & McIntosh, A. (2010). baculovirus infection influences host protein expression in two established insect cell lines. *Journal of Insect Physiology*, 1237-1245.
- Posse, R., Griffiths, C., Hitchman, R., & Chambers, A. (2010). Baculoviruses: biology, replication and exploitation. *Insect Virology*, 435.
- R., H. (2009). Structural divergence among genomes of closely related baculoviruses and its implications for baculovirus evolution. *Journal of Invertebrate Pathology*, 181-186.
- Romero, Y. d. (2011). *Características morfológicas del Nucleopoliedrovirus de Spodoptera frugiperda*. Buenos Aires.
- Ruiz, L. Q. (2015). *Uso de baculovirus como alternativa de control biológico de S. frugiperda en el cultivo del maíz. Una revisión conceptual y de avances en su aplicación*. Villa Vicencio.
- Simon, O., Williams, T., Caballero, P., & Lopez- Ferber, M. (2005). Functional importance of deletion mutant genotypes in an insect nucleopolyhedrovirus population. *Applied and Environment Microbiology*, 254-262.
- Sparks, W., Bartholomay, L., & Bonning, B. (2008). Insect Immunity to Viruses. *Insect Immunology*, 209-242.
- Takatsuka, J., Okuno, S., Ishii, T., Nakai, M., & Kunimi, Y. (2007). Host range two multiple nucleopolyhedroviruses isolated from *Spodoptera litura*. *Biological Control*, 264-271.
- Thiem, S., & Cheng, X. (2009). Baculovirus Host Range. *Virologica Sinica*, 436-457.
- Troya García, R. D. (2011). *Evaluación de Cepas de Nucleopoliedrovirus (NPV) Patógenos para el control del cogollero Spodoptera frugiperda en maíz en la zona de Babahoyo*. Los Rios. Ecuador: Universidad Técnica de Babahoyo.
- V. Andorno, A., H. Hernández, C., M. Cuello, E., & N. Votto, E. (2016). Resumen de la jornada de actualización e intercambio en control biológico, comportamental y genético de plagas agropecuarias. *Resumen de la*

jornada de actualización e intercambio en control biológico, comportamental y genético de plagas agropecuarias (pág. 22). Buenos Aires: INTA.

Vargas Téllez, S. d. (2006). *Actividad insecticida contra larvas de Spodoptera exigua de dos formulaciones de virus de poliedrosis nuclearar (VPN) usando oxido de zinc y glicerina*. León: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

Volkman, L. (2007). Baculovirus infectivity and the actin cytoskeleton. *Current Drug Targest*, 175-183.