

**SUSCEPTIBILIDAD DE LOS INSTARES DE *Spodoptera frugiperda* AL HONGO  
*Nomuraea rileyi***

Francisco J. Posada; Alex Bustillo P.\*

**RESUMEN**

El objetivo de esta investigación fue determinar la susceptibilidad de los diferentes instares de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) al hongo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. Se usó la cepa NRBI, mantenida en el laboratorio de Entomología del ICA en "Tulio Ospina", empleando una concentración de 0.87 conidias/mm<sup>2</sup>, la cual corresponde a la dosis letal media obtenida en un estudio previo. La edad promedio de las conidias fue de 20 días y el número de instares que desarrollaron las larvas de *S. frugiperda* durante el estudio fue de cinco, alimentadas con follaje de maíz proveniente de plantas de 61-90 días de edad. El follaje de maíz se asperjó con el inóculo y las larvas de los diversos instares se alimentaron del follaje tratado durante 24 horas; posteriormente se individualizaron y se les suministró alimento fresco de maíz previamente desinfectado. El experimento se planeó en un diseño completamente al azar con tres repeticiones de 30 larvas cada una. Los promedios de mortalidad causados por *N. rileyi* en los diversos instares de *S. frugiperda* fueron: 83.33% para el primer instar, 95.50% para el segundo, 48.83% para el tercero, 62.16% para el cuarto y 3.33% para el quinto. Se encontraron diferencias significativas ( $P = 0.05$ ) entre la mortalidad del primero y segundo instar. El tiempo letal medio (TL<sub>50</sub>) fue de 10.20 y 15.46 días para los instares cuarto y primero, respectivamente. En conclusión, el segundo instar fue el más susceptible al *N. rileyi*.

**Palabras Claves Adicionales:** Maíz, entomopatógenos, control microbiológico.

**ABSTRACT**

**Instar Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* to the Fungus *Nomuraea rileyi***

The objective of this research was to determine the susceptibility of the different instars of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) to the fungus *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. The strain NRBI of *N. rileyi* was used at a concentration of 0.87 conidia/mm<sup>2</sup>, which is the median lethal dosage obtained in a previous study. The average age of the used conidia was 20 days, and the instar number of *S. frugiperda* was five when fed on corn foliage from plants 61-90 days old. The corn foliage was sprayed with the fungus and larvae were left one per cage, and fresh untreated foliage was provided. The experimental design consisted of a complete randomized one with three replications and 30 larvae per instar. Average mortality caused by *N. rileyi* in each of *S. frugiperda* instars was as follows; 83.33% for the first instar, 95.5% for the second, 48.83% for the third, 62.16% for the fourth and 3.33% for the fifth. There were significant differences ( $P = 0.05$ ) in mortality between the first and second instar. The TL<sub>50</sub> was 10.2 and 15.46 days for the fourth and first instar, respectively. In conclusion, the second instar was the most susceptible one to *N. rileyi*.

**Additional Index Words:** Corn, entomopathogens, microbial control.

\* I.A. Sección Entomología ICA, CRI "Caribia", A.A. 654, Santa Marta; I.A. M.S. Ph.D., Sección Entomología ICA, E.E. "Tulio Ospina", A.A. 51764, Medellín, Colombia.

El hongo *Nomuraea rileyi* (Hyphomycetos) es un parásito de varias especies de lepidópteros (Ignoffo, 5; Posada y Bustillo, 6) que se podría aprovechar como agente de control microbial del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Noctuidae). A pesar de que en Colombia el hongo fue registrado por primera vez en este huésped en 1963 (Thomas y Poinar, 8), sólo recientemente se han llevado a cabo estudios sobre su patogenicidad (6) y evaluaciones de su participación en el control natural de poblaciones de *S. frugiperda* en maíz (Torres y Uribe, 9; Bustillo y Franco, 3).

En estudios recientes sobre la patogenicidad de una cepa nativa aislada en Bello (Antioquia) y denominada NRBI, se logró determinar que era virulenta en larvas de *S. frugiperda* y por consiguiente, promisoría para el control microbial de esta plaga (6).

Es muy poco lo que se conoce acerca de la susceptibilidad de los diversos huéspedes de *N. rileyi* (Putler et al, 7) y los estudios existentes no dan una idea exacta sobre el tema, ya que en el caso de *N. rileyi* la patogenicidad es influenciada por la cepa, la especie huésped, el instar evaluado y la concentración del inóculo utilizado (Boucias et al, 2; Ignoffo et al, 4; Ignoffo, 5).

Para *Trichoplusia ni* (Hubner) se sabe que los instares más susceptibles son el primero y el segundo, y para *Heliothis zea* el tercero y quinto, lo que muestra la variación de la susceptibilidad de los instares de acuerdo con la especie (Ignoffo, 5). Con relación al cogollero del maíz, no se tiene ninguna información y en este trabajo se presentan los resultados de la exposición de los diversos instares de la plaga a la cepa NRBI de *N. rileyi* para medir su susceptibilidad.

## MATERIALES Y METODOS

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Entomología (23°C, 70-80% HR) de la Estación Experimental "Tulio Ospina" del ICA, en Bello (Antioquia). En este estudio se empleó la cepa NRBI, de *N. rileyi* mantenida y multiplicada en el laboratorio en larvas de *S. frugiperda* de cuarto instar. Las larvas infestadas se colocaron en una "cámara de obtención de conidias" cons-

tituida por un plato de petri dentro del cual se dispuso un soporte metálico y encima una malla plástica. Las larvas se colocaron sobre la malla y con un algodón se suministraba la humedad necesaria para que el hongo completara su conidiogénesis; terminada la cual, las conidias se desprendían y se recolectaban del fondo del plato con poca posibilidad de contaminación, y luego se almacenaban en frascos de vidrio en una nevera a 7°C.

La concentración del inóculo empleada fue de 0.87 conidias/mm<sup>2</sup> (c/mm<sup>2</sup>), obtenida como concentración letal media (CL 50) en un estudio previo (6). El inóculo se preparó de una solución madre que contenía 6646.8 c/ml y cuya concentración se determinó con un hemocitómetro. Para obtener una solución de conidias homogénea se adicionó 0.05% de Tween 20.

Previo desinfección del follaje, con una solución al 0.5% de hipoclorito de sodio durante cinco min, se aplicó con un dosificador 0.1 ml de solución a cada lado de una hoja de maíz con un área promedio de 1764 mm<sup>2</sup>, correspondiente a 0.87 c/mm<sup>2</sup> de área foliar.

El tratamiento de las larvas de diversos instares al inóculo se programó de acuerdo con la duración promedio de cada instar y se realizó a las 48 horas de haber ocurrido la ecdisis. Desde el primero hasta el tercer instar se colocaron 10 larvas en cada plato de petri, ya que hasta esta edad no se presentan problemas de canibalismo. Las larvas de cuarto y quinto instar se expusieron individualmente. A las larvas se les permitió alimentarse del follaje de maíz asperjado con *N. rileyi* durante 24 horas. Posteriormente todas las larvas se mantuvieron en platos de petri con papel de filtro húmedo y dentro de un desecador a una humedad cercana a la saturación y temperatura media de 22.87 ± 0.46°, con el fin de favorecer la germinación de las conidias y la invasión del hongo.

Al cabo de 24 horas las larvas se colocaron individualmente en platos de petri desinfectados, proporcionándoles follaje aséptico sin tratamiento, el cual fue cambiado cada dos días. El experimento se organizó en un diseño completamente al azar con seis tratamientos (testigo, primero, segundo, tercero, cuarto y quinto instar) y tres repeticiones, cada una con 30 larvas. Se hicieron observaciones de mortalidad diaria para calcular

el tiempo letal medio (TL 50) siguiendo la metodología de Ignoffo et al (4) y de Posada y Bustillo (6), que consistió en la extrapolación del porcentaje de mortalidad acumulada para los instares que superaron el 50% de muertes.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se encontraron diferencias significativas ( $P = 0.05$ ) en la susceptibilidad de los diversos instares de *S. frugiperda* a *N. rileyi* (Tabla 1). El instar más susceptible fue el segundo (95.50%), seguido por el primero (83.33%) y el cuarto (62.16%). El menos susceptible fue el quinto (3.33%). La mortalidad del tercer instar (48.33%) mostró una tendencia a alcanzar la mortalidad media. Se esperaba que esta mortalidad se presentara en este instar y confirmó que fue correcto el cálculo de la dosis empleada de 0.87 c/mm<sup>2</sup> en los tratamientos y obtenida como CL 50 cuando se evaluaron las concentraciones de 0.3; 3.1 y 3.6 c/mm<sup>2</sup> sobre larvas de tercer instar (6).

La mortalidad diaria presentó una distribución variable de acuerdo con el instar (Figura 1). El primero, tercero y cuarto instar tuvieron la mayor mortalidad el día 9 con diferentes porcentajes. La mortalidad empezó a producirse a partir del quinto día en el tercer instar; en el segundo y cuarto se inició el día 6; en el primero, el día 7 y en el quinto, el día 12 y se extendió hasta el día 32 en el primer instar, después de expuestas las larvas al inóculo. Comparando estos resultados con los 24 días que duró el estado de larva en el testigo, se encontró que el 2.22; 1.11; 5.55; 53.33 y 3.33% de las larvas tratadas que murieron por el ataque del hongo presentaron una prolongación del es-

tado de larva de 10, 6, 7, 5 y 16 días en el primero, segundo, tercero, cuarto y quinto instar, respectivamente.

La prolongación del estado de larva se debe, probablemente, a la facultad que tienen las toxinas producidas por *N. rileyi* en el proceso de la infección de retardar la metamorfosis cuando no causan la muerte rápida de las larvas (5). El proceso de la muda en las larvas atacadas por el hongo se presentó normalmente, aunque pudo ocurrir una mayor duración de cada instar, sobre todo en las larvas en las que la infección no desencadenó la muerte rápidamente y presentaron prolongación del estado de larva.

El tiempo letal medio (TL 50) de los diferentes instares de *S. frugiperda* expuestas a 0.87% c/mm<sup>2</sup> se muestra en la Figura 2 y se obtuvo mediante extrapolación de la mortalidad acumulada para los instares primero y cuarto que superaron el 50% de muerte. No se calculó para el segundo instar debido a que la mortalidad sobrepasó el 50% en un solo día y en el tercero y quinto no alcanzó el 50%. El TL 50 en el cuarto fue menor (10.2 días) que en el primero (15.4 días), aunque presentó mayor mortalidad.

En conclusión, este estudio prueba que en condiciones de laboratorio el segundo instar es el más susceptible, ya que presentó una alta mortalidad en un tiempo corto y el menos susceptible, el quinto instar. Desde el punto de vista práctico es indispensable realizar estudios bajo condiciones de campo para comprobar los resultados obtenidos y demostrar que *N. rileyi* puede llegar a ser un agente de control microbioal de *S. frugiperda*.

TABLA 1. Porcentaje de mortalidad en los instares de *S. frugiperda* expuestas a *Nomuraea rileyi*, usando la concentración de 0.87 conidias/mm<sup>2</sup> de área de maíz.

Instar	Número de larvas	Porcentaje de mortalidad	
		<i>N. rileyi</i>	Otras causas
Primero	90	83.33 b*	1.11
Segundo	90	95.50 a	4.44
Tercero	90	48.83 c	14.44
Cuarto	90	62.16 c	3.33
Quinto	90	3.33 d	2.22
Testigo	90	0.00 f	0.00

\* Datos seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes ( $P = 0.05$ ), de acuerdo con la nueva prueba de intervalos múltiples de Duncan.

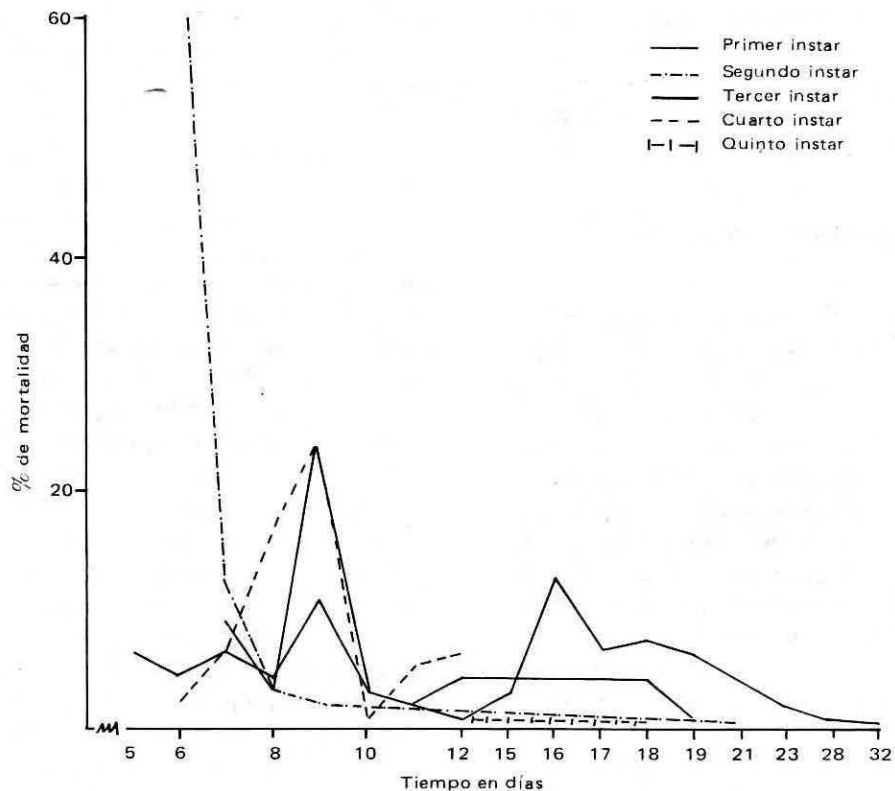


FIGURA 1. Porcentaje de mortalidad diaria de los diferentes instares de *Spodoptera frugiperda* infectados con *Nomuraea rileyi*.

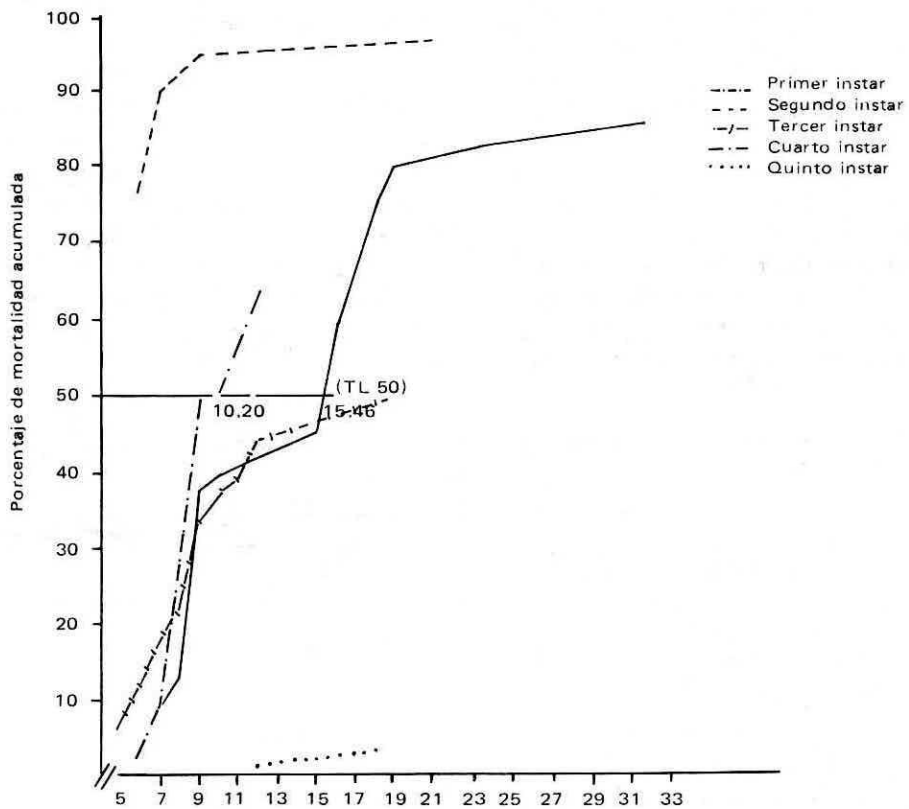


FIGURA 2. Tiempo letal medio (TL<sub>50</sub>) de *Nomuraea rileyi* en los diversos instares de *Spodoptera frugiperda*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Boucias, D.G.; Shoburg, E.A.; Allen, G.E.** 1982. The relative susceptibility of six noctuid species to infection by *Nomuraea rileyi* isolated from *Anticarsia gemmatilis*. J. Invert. Pathol. 39:238-240.
2. **Boucias, D.G.; Bradford, D.L.; Barfield, G.S.** 1984. Susceptibility of the velvetbean caterpillar and soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to *Nomuraea rileyi*: Effects of pathotype, dosage, temperature and host age. J. Econ. Entomol. 77:247-253.
3. **Bustillo, A.E.; Franco, G.J.** 1986. Parasitismo en larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos de maíz. XIII Congreso de Socolem, Resúmenes. Cali, p. 39.
4. **Ignoffo, C.M.; Putler, B.; Hostetter, D.L.; Dickerson, W.A.** 1976. Susceptibility of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, and the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*, to several isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. J. Invert. Pathol. 28:259-262.
5. **Ignoffo, C.M.** 1981. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. In: Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980 ed. H.D. Burges, p. 513-538. Acad. Press, London, 914 p.
6. **Posada, F.J.; Bustillo, A.E.** 1986. Patogenicidad de un aislamiento de *Nomuraea rileyi* sobre larvas del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*. Rev. Col. Ent. v. 12(1):5-15.
7. **Puttler, B.; Ignoffo, C.M.; Hostetter, D.L.** 1976. Relative susceptibility of nine caterpillar species to the fungus *Nomuraea rileyi*. J. Invert. Pathol. 27:269-270.
8. **Thomas, C.M.; Poinar Jr., G.O.** 1973. Report of diagnoses of diseased insects 1962-1972. Hilgardia. 42:1-359.
9. **Torres, S.; Uribe, A.** 1985. Reconocimiento e identificación de enemigos naturales del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), en el departamento de Antioquia. Tesis, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 107 p.

# MEDICINA VETERINARIA

## RESPUESTA INMUNE EN BOVINOS A PROTEINAS ESTRUCTURALES DEL VIRUS DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (RIB)

Esperanza Rueda de Clavijo; Olga C. Mariño\*

### RESUMEN

Se realizó el seguimiento de las poblaciones de leucocitos mononucleares circulantes en bovinos, obtenidas mediante gradiente de densidad y se evaluó su respuesta al estímulo ocasionado por la inoculación de una vacuna a virus vivo modificado y de un antígeno de subunidades proteicas de membrana del virus de la RIB. Los marcadores celulares seleccionados fueron los de inmunoglobulinas de superficie (Igs) para linfocitos B, formación de rosetas "E" para linfocitos T y la capacidad fagocítica para monocitos. Tres grupos de bovinos denominados grupo 1, grupo 2 y control fueron sangrados durante 18 días para el establecimiento de los niveles celulares básicos. Posteriormente los animales del grupo 1 fueron vacunados vía intranasal con vacuna viva y los animales del grupo 2 con antígeno de subunidades proteicas en adyuvante por vía intramuscular. A continuación se siguió la evaluación celular durante un mes, período al cabo del cual los animales fueron desafiados vía intranasal con virus vivo virulento y evaluados durante 20 días, para un total

\* Microbióloga M.S. y Microbióloga M.S., Ph.D. Programa de Microbiología. Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias LIMV. ICA, A.A. 29743. Bogotá, Colombia.