

**CONTROL BIOLÓGICO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith),
CON EL NEMATODO: *Neoaplectana carpocapsae* EN MAÍZ
(*Zea mays*).**

Por: Josué Landazabal A. (*)
Fablo Fernández A. (**)
Adalberto Figueroa P. (***)

I – INTRODUCCION

Uno de los mayores problemas que afronta la agricultura moderna es el intenso choque de plagas devastadoras, incrementadas por el empleo desmedido y sin técnica de potentes agroquímicos.

La gran toxicidad de los insecticidas modernos ha creado un desequilibrio entre insectos nocivos y sus enemigos naturales. Los insectos adquieren a cada nueva generación una resistencia superior al efecto producido por los insecticidas, siendo necesario emplear cada vez que se requiere atacar una plaga, mayor número de tratamientos y dosis más elevadas, aumentando al mismo tiempo la potencia tóxica del insecticida.

El empleo de estos productos de represión, aparte de destruir la mayoría de los enemigos naturales de los insectos, representan para animales salvajes, domésticos, aves, peces y aún el hombre mismo, un peligro mortal.

El uso desmedido de insecticidas residuales en frutales, hortalizas y productos de consumo directo, representan un grave peligro de envenenamiento paulatino para el consumidor.

Todos los anteriores inconvenientes, incluyendo el elevado costo de los productos insecticidas, han obligado a los investigadores agrícolas a buscar otros medios de represión en el control integrado. Otros métodos de represión buscados están encaminados a descubrir los enemigos naturales de las plagas y de las enfermedades (bacterias, hongos y nemátodos), que atacan las plantas cultivadas.

Los métodos empleados para lograr esta forma de combate están basados en la propagación de insectos entomófagos, hongos, bacterias, virus y nemátodos benéficos en grandes cantidades y bajo condiciones de laboratorio, para luego ser liberados o aplicados directa o indirectamente sobre poblaciones de insectos dañinos.

Entre los microorganismos patógenos ó insectos perjudiciales que más resultados satisfactorios han dado, están el hongo *Bauveria bassiana*, la bacteria (*Bacillus thuringiensis*) y más recientemente el nemátodo portador de bacterias *Neoaplectana carpocapsae*.

(*) (**) Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional. Facultad de Ciencias Agropecuarias Palmira.

El control biológico por medio de nemátodos portadores de bacterias fué descubierto en forma casual en octubre de 1954 en los Estados Unidos por el doctor Walther Hough, quien observó una gran mortalidad entre la larva de las polillas del manzano, *Carpocapsa pomonella*, sobre las bandas colocadas en los árboles de manzano, en un huerto de la ciudad de Stevens en Virginia.

El estudio detallado de las muestras en el laboratorio, dió como resultado que contenían nemátodos asociados en forma muy característica, con bacterias.

El nemátodo *Neoplectana carpocapsae*, ha presentado gran efectividad cuando ataca larvas de lepidópteros y coleópteros (Tang, 19).

El presente trabajo se realizó con el objeto de comprobar el comportamiento y el grado de ataque del nemátodo contra poblaciones de larvas de lepidópteros, específicamente en el cogollero del maíz: *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), bajo condiciones de laboratorio y campo.

Los experimentos fueron desarrollados en los laboratorios y campos experimentales del CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) y de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de Palmira, durante el lapso comprendido entre los meses de agosto de 1972 y julio de 1973.

II – REVISIÓN DE LITERATURA

A – Historia.

El nemátodo *Neoplectana carpocapsae*, fué descubierto en octubre de 1954 por el doctor Walther Hough, quien observó una fuerte mortalidad entre las larvas de la polilla del manzano, *Carpocapsa pomonella*, sobre las bandas colocadas en los árboles del manzano, en un huerto de la ciudad de Stevens en Virginia. El doctor Hough envió unas muestras de estas larvas al laboratorio de Patología de insectos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. El doctor Dutky, patólogo de esta sección, luego de examinar las muestras encontró que contenían nemátodos en forma muy característica, asociados con bacterias. (Tang 19).

B – Clasificación.

Bonnemaison (1), anota que existen probablemente cerca de 40.000 especies de nemátodos en la naturaleza, de los cuales sólo una sexta parte ha sido descrita.

Estos nemátodos tienen una biología muy variada, el mayor número está en el mar, otros viven en las aguas terrestres ó en la tierra; en este último caso la densidad de población está estrechamente relacionada con la humedad del suelo. Hay corrientemente de 50 a 400 millones de nemátodos libres por hectárea, pero a veces, se han hallado 6 millones de nemátodos por metro cuadrado.

Tang (19), refiere que los estudios taxonómicos de estos nemátodos están siendo hechos por el Dr. Steiner. Por ahora el nemátodo ya mencionado ha sido definido solamente como un miembro de la familia Steinermatidae.

Tarjan (20), considera la clasificación del nemátodo de la siguiente manera:

- PHYLUM — Nemata
- CLASE — Secementea
- ORDEN — Rhabditida
- SUPERFAMILIA — Rhabditoidea
- FAMILIA — Neoplectanidae
- GENERO — Neoplectana
- ESPECIE — *Neoplectana carpocapsae*.

Poinar (15), afirma que representantes de esta familia se incluyen como nemátodos parásitos de insectos, desde que algunas especies se puedan cultivar en medio artificial, sin embargo no hay noticia de alguna especie que se desarrolle en la naturaleza aparte de los insectos hospedantes.

Los nemátodos neoplectánidos ofrecen un futuro promisorio como agentes de control biológico ya que tienen un amplio rango de hospedantes.

Poinar (15), agrega que cerca de 18 especies de neoplectánidos se han descrito como enemigos naturales de coleopteros y lepidopteros sin embargo, poco se conoce acerca de la incidencia natural del parasitismo por miembros de este género.

C — Ciclo biológico.

Poinar (9), anota que la etapa infectiva (tercera etapa juvenil) de este nemátodo usualmente entra a la cavidad del cuerpo del hospedante rompiendo a través de la pared intestinal; después de entrar al hemocele, los jóvenes se desarrollan rápidamente, se aparean y depositan los huevos en la larva muerta o moribunda. Estos adultos de la primera generación son generalmente más o menos grandes, especialmente las hembras, las cuales producen masas de huevo y algunas veces incuban dentro del cuerpo de la larva.

Poinar, (11), señala que dependiendo de las dosis de infección inicial, algunas de estas jóvenes (provenientes de las hembras de la primera generación) llegarán a la etapa adulta, se aparean y producen una nueva generación. Estos adultos de la segunda generación son más pequeños que aquellos de la primera y las hembras producen más huevos y los jóvenes criados a partir de las hembras de la segunda generación, junto con algunos de la primera generación, no completan su desarrollo, pero forman la tercera etapa infectiva, la cual eventualmente abandona el cadáver de la larva. Las etapas infectivas pueden permanecer por largo tiempo en el ambiente sin alimento, hasta que lo encuentran en un hospedante conveniente.

Poinar (9), hace notar que uno de los aspectos interesantes de estos nemátodos, es su asociación con una bacteria específica, la cual juega un papel muy importante en la nutrición de ellos. Por ejemplo, la mayoría de los estados infectivos de la raza DD-136 de *Neoplectana carpocapsae* contienen células de una bacteria específica, identificada como *Achromobacter nematophilus*, en la porción ventricular de su cavidad intestinal.

Poinar (12), agrega que poco después de que el nemátodo llega al hemocele del insecto parasitado, las células bacteriales pasan desde el intestino a través del ano, dentro de la hemolinfa. Ellas rápidamente se multiplican en el cuerpo del hospedante, causando una fatal septicemia. En la mayoría de los casos es la bacteria la que generalmente mata al hospedante dentro de las primeras 48 horas; sin embargo el nemátodo sin la asociación con la bacteria también es capaz de matar al hospedante en un corto tiempo.

Sin el *Achromobacter nematophilus* o un sustituto conveniente, el *Neoplectana carpocapsae* está incapacitado para reproducirse. También sin el nemátodo, la bacteria es incapaz de penetrar dentro del hemocele del insecto por lo tanto la relación entre *Achromobacter nematophilus* y el *Neoplectana carpocapsae*, se debe considerar de tipo mutualista, o sea benéfica para ambos organismos.

Poinar (10), anota que el éxito de por lo menos algunos de los neoplectánidos como patógenos de un amplio espectro de insectos, se le puede atribuir a esta asociación interesante con la bacteria. El único hábito verdaderamente parasítico de estos nemátodos es su movilidad para encontrar y penetrar dentro del hemocele de un hospedante. Después de la penetración su desarrollo se hace paralelo a aquél de sus antepasados que vivían libremente, alimentándose de materia en descomposición en el suelo, excepto su asociación con una bacteria específica.

D — Ecología.

Según Dutky (3), los nemátodos han probado ser notablemente resistentes a las temperaturas moderadas (60 a 80°F ó sea entre 15.5 y 26.6°C.). El clima seco parece ser el factor limitante en el uso exitoso de los nemátodos para controlar los insectos que se alimentan de las partes expuestas de las plantas.

Las condiciones de humedad son importantes porque los nemátodos se alimentan y se movilizan en una película de agua y no sobreviven a la sequía. Sin embargo pueden vivir durante largos períodos sin lluvias, permaneciendo en el insecto huésped, en el suelo, en la corteza de los árboles ó en los tallos de las plantas donde existe cierta humedad. En su estado infeccioso el nemátodo puede sobrevivir largos períodos sin alimento. Esto permite la sobrevivencia cuando faltaren hospedantes.

Anota Thomson (4), que un factor limitante del nemátodo es la humedad requerida durante el período en que las formas juveniles son libres ó móviles. Se ha encontrado que en áreas de alta humedad, las aplicaciones hechas al atardecer (después de que el rocío empieza a formarse) son efectivas contra insectos tales como el picudo del algodón, *Anthonomus vestitus*, mientras que aplicaciones hechas durante el día, han sido ineficaces. Sin embargo, aplicaciones durante el día, de una suspensión de nemátodos en agua, han sido efectivas, quizás a causa de que los nemátodos pueden entrar rápidamente en un medio ambiente húmedo. Una vez en el interior del insecto, la temperatura exterior así como la humedad son de pequeña importancia, aunque temperaturas por encima de 90°F (32.2°C), tendrían un efecto adverso sobre aquéllos.

Según Poinar (15), el comportamiento infectivo en el suelo todavía no está conocido completamente y se necesitan estudios adicionales para predecir el éxito o el fracaso de los nemátodos en diferentes medios ecológicos.

Dutky (3), señala que hasta ahora las pruebas han indicado que los nemátodos pueden pasar a través de una boquilla de aspersión de alta presión, sin sufrir gran mortalidad. Estos dos hechos hacen posible que los nemátodos y los insecticidas puedan usarse simultáneamente como agentes en el control integrado de las plagas.

E — Capacidad infectiva.

Poinar (15), afirma que el nemátodo *Neoaplectana carpocapsae*, ataca más de 90 especies de insectos bajo condiciones de laboratorio.

Weser y Koehler (21), informaron que hasta un 33^o/o de las pronifas de *Acontholyda nemoralis*, fueron atacadas por *Neoaplectana carpocapsae* y un 25^o/o de las larvas de *Cambus simplex* recolectadas en Nueva Zelanda fueron parasitadas por este nemátodo.

Jourdheuil (7), muestra que nemátodos identificados como miembros de la familia *Steinemematidae* y de otras fuentes que tienen el hábito de los neoaplectánidos fueron recolectados de *Cuthorrynchus* spp, *Phyllotreta* y *Meligethes* sp.

Poinar (16), indica que el porcentaje de infección llegó hasta el 89^o/o de algunas poblaciones de insectos y los nemátodos fueron recolectados de diferentes regiones de Francia.

El proceso infectivo se estudió con el DD-135 que es una raza de *Neoaplectana carpocapsae*, con larvas de *Galleria mellonella*, que es la polilla de los panales.

Tang (19), señala que trabajos realizados por el Plan Nemátodos, con algunos insectos dieron el siguiente resultado:

Gusano de seda, *Bombyx mori*: Hasta la fecha se han efectuado 50 inoculaciones a un total de 10.269 gusanos de seda, siendo la mortalidad del 100^o/o a las 24 horas de efectuada la inoculación. Todos demostraron gran susceptibilidad.

Polilla de la cera, *Achroa grisella* (F): Se han efectuado 5 inoculaciones a un total de 2.500 larvas con un promedio de mortalidad del 100^o/o a las 48 horas.

Tang (19) registra algunos trabajos realizados por el Comité de Defensa Técnica del algodón en el Perú, con los siguientes resultados:

Heliothis virescens: Gusano bellotero: Una pequeña prueba demostró una gran susceptibilidad de las larvas al ataque del nemátodo.

Anthonomus vestitus, picudo del algodón: Se efectuaron 21 inoculaciones a un total de 480 picudos adultos, registrándose una mortalidad del 100^o/o a las 72 horas. Los picudos muestran ser menos susceptibles al ataque del nemátodo.

En 1957 Slyss R., citado por Tang (19), observó en el laboratorio un 50^o/o de control de larvas del gusano rosado *Pectinophora gossypiella* (Saunders) dentro de las bellotas del algodón, este control se realizó con el nemátodo DD-136 y su

bacteria asociada; las bellotas verdes fueron tratadas con una suspensión que contenía aproximadamente 50.000 nemátodos por centímetro cúbico de agua. Se aplicó una pequeña aspersión de 1.5 galones a una presión de 30 libras por pulgada cuadrada. Utilizando el método del laboratorio y larvas del gusano rosado, se encontró que en concentraciones tan bajas como 1.000 nemátodos por centímetro cúbico daban un porcentaje de mortalidad igual al obtenido con 50.000 nemátodos por centímetro cúbico.

F — Crianza.

Algunos neoaplectánidos han sido cultivados en medios artificiales. Glaser (5), fué el primero en este estudio y exitosamente cultivó *Neoaplectana glaseri* en platos de agar con una infusión de carne común, que contenía 1^o/o de destrosa y una suspensión acuosa de levadura en fermentación activa.

Según House (6), la producción aumentó a cerca de 12.000 nemátodos por centímetro cúbico, cuando usó un medio consistente en carne picada de ternera con preservativos.

De acuerdo con Swain et al (18), el método descrito por Glaser (5), dá un costo de producción de aproximadamente un dólar por millón de nemátodos.

Poinar (15), muestra como el *Neoaplectana carpocapsae* se puede propagar en la cera de una larva de la polilla de *Galleria mellonella* como hésped. Cada larva puede producir cerca de 150.000 nemátodos, que pueden mantenerse en el cuerpo del hésped ó en recipientes con agua pura, siempre que sean refrigerados o aireados.

La casa comercial Nutritive Products, Inc, Lakeview, California, citada por Poinar (15), ha establecido un programa de alimentación masal, usando razas de *Neoaplectana carpocapsae*. Aseguran además que un técnico puede manejar cerca de 200 cajas de petri en un medio de alimento canino cada día, los cuales producen cerca de cien millones de nemátodos por semana, con un costo (principalmente mano de obra) de cerca de 100 dólares. Las pruebas sobre patogenicidad en los mamíferos han sido conducidas, dándoles a éstos nemátodos un total de 25 ratas, sin observarse ningún daño en los animales tratados.

G — *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), Generalidades.

Según Crumb (2), su cuerpo mide de 30 a 34 mm. de largo por 4.5 mm. de diámetro; la piel presenta diminutos gránulos redondeados y convexos, el color generalmente varía de rosado amarillento, oliváceo o gris oscuro a casi negro. En la fase de color oscuro el dorso es más pálido que el área supra-espíracular; línea media dorsal amplia.

Una línea amarilla fuerte ventral del tubérculo setífero II. Área supra-espíracular más oscura dorsalmente, particularmente en un salpicado marginal en la parte anterior de los segmentos abdominales. Espíraculos pálidos sobre una mancha blanquecina. Faja sub-ventral amplia y bien definida de color amarillento blanquecino,

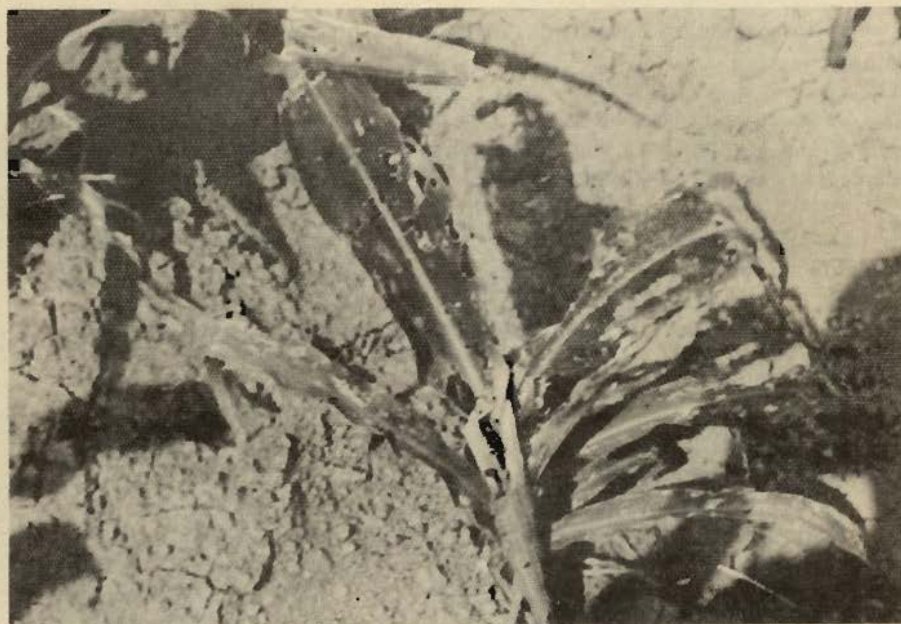


FIGURA 1.— Daño característico, causado por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en maíz *Zea mays*.

más o menos moteada de ferruginoso. Tubérculos setíferos grandes, casi planos, oscuros. Cabeza grisácea, amarillenta o parduzca, áreas adfrontales y márgen adyacentes blancos; arcos sub-medianos y reticulación ferruginosas o parduzcas, más oscuros dorsalmente.

III.— MATERIALES Y METODOS.

A — Pruebas de laboratorio.

1.- Crianza de los hospedantes más convenientes para la propagación del nemátodo.

Se colectaron masas de huevos adheridas a las hojas del maíz, como también larvas de las siguientes especies: *Diatraea saccharalis* (Fabricius), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Heliothis virescens* (Fabricius) y *Agrotis ypsilon* (Hufnagel).

Las larvas colectadas en el campo se colocaron en dieta artificial, en cajas de aluminio y en forma individual.

La dieta artificial está basada principalmente en fríjol Calima, según la siguiente fórmula:

Fríjol Calima	200 gms.
Levadura de Cerveza	30 gms.
Acido ascórbico	3 gms.
Methyl-para-Hidroxy-benzoato	2 gms.
Acido sórbico	1 gm.
Formoldeido (40 ^o /o)	2 c.c.
Agar	12 gms.
Agua destilada	650 c.c.

En el procedimiento para la preparación de la dieta, se remojan los fríjoles por 12 horas. Todos los ingredientes menos el agar se mezclan en 400 c.c. de agua durante 10 segundos.

Los fríjoles se cocinan en agua, se dejan escurrir y se agregan a la mezcla, la cual se vuelve a mezclar en un batidor especialmente diseñado para el caso, por un minuto. El agar es disuelto en 250 c.c. de agua a una temperatura de 70°C y llevado inmediatamente a la mezcla para ser batido durante 30 segundos. El medio así caliente es vaciado en una botella plástica y después vaciado nuevamente el contenido en los envases de crianza.

Nota: Los fríjoles fueron llevados hasta ebullición y se retiraron cuando presentaban un estado blando al tacto, después de un tiempo de cocción de una hora y 30 minutos.

En la batidora se usa la máxima velocidad en todos los tiempos, 14.000 R.P.M.

Las posturas colectadas en el campo se colocaron en cajas de petri de 10 cms. de diámetro, que contenían papel filtro previamente humedecido. Luego de la eclosión, las larvas obtenidas se sometieron al mismo procedimiento de aquéllas obtenidas en el campo, teniendo la precaución de hacer cambios de dieta cuando ésta presentaba pérdidas de humedad.

2 — Propagación masiva del nemátodo.

Una vez obtenidas las larvas por los métodos ya descritos se efectuó una infestación masiva de las larvas de *Diatraea saccharalis* y *Spodoptera frugiperda*, descartándose las larvas de *Heliothis virescens* y *Agrotis ypsilon*.

La infestación se realizó colocando 10 larvas por caja de petri, las cuales contenían en su base papel filtro humedecido con 3.c.c. de agua destilada, agregando luego 5 gotas de una suspensión que contenía aproximadamente 10.000 nemátodos.

Como medio preventivo contra los posibles ataques de ácaros y hongos se utilizó en las diferentes cajas de petri, una solución de formolina al 0.02^o/o en agua destilada.

Transcurridos 8 días, las larvas parasitadas fueron colocadas sobre una caja de petri invertida, la cual fué cubierta con un pedazo de paño humedecido con el objeto de que el nemátodo en el segundo estado juvenil (forma móvil) se desplace de la larva parasitada al medio líquido contenido dentro de un recipiente con agua destilada, más formalina al 0.02^o/o.

La población de nemátodos fué recolectada del recipiente por medio de una pipeta, luego filtrada para evitar las impurezas y finalmente almacenados en un frasco Erlenmeyer bajo refrigeración a una temperatura que puede oscilar entre 7 y 10^o C.

3. Prueba de efectividad del *Neoalectana carpocapsae* sobre el *Spodoptera giperda* (J. E. Smith).

Esta prueba se realizó con el fin de observar el tiempo requerido por el nemátodo para producir la muerte de las larvas.

Para ésto, se infestaron 160 larvas de *Spodoptera frugiperda*, en los dos últimos instares de crecimiento.

Cada larva fué colocada en una caja de petri con papel filtro. Posteriormente se impregnaron las larvas con 2 c.c. de la suspensión de nemátodos, de acuerdo con cada tratamiento.

Se efectuaron 4 tratamientos compuestos cada uno de ellos por 40 larvas y éstos a su vez divididos en 4 grupos de 10 larvas cada uno, para facilitar su manipulación y conteo posterior.

Los tratamientos fueron los siguientes:

1. 4.000 nemátodos por larva.
2. 2.000 nemátodos por larva.
3. 1.000 nemátodos por larva.
4. Agua destilada.

a) Método de evaluación.

Para los conteos de evaluación se consideraron como muertas aquéllas larvas que no respondieron a ningún estímulo externo. Las lecturas se hicieron a partir de las 24 horas de efectuado el tratamiento y luego a las 48 y 72 horas.

B — Pruebas de Campo.

1.- Prueba de efectividad del *Neoplectana carpocapsae* sobre el *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en maíz.

Esta prueba se efectuó con el fin de determinar el comportamiento del nemátodo en condiciones de campo para nuestro medio.

Para tal efecto se sembró maíz H-207. El diseño que se empleó para efectos de análisis de varianza fué el de bloques al azar con 5 tratamientos y 3 repeticiones, incluidos un testigo absoluto y un testigo químico: Dipterex 80 a 1.5 kgs. producto comercial, por hectárea.

Para el ensayo se demarcaron 45 parcelas con una longitud de 10 metros de largo por 2 metros de ancho, contando con 3 surcos cada parcela, a una distancia de siembra de 60 cms. entre plantas, por 30 cms. entre surcos, quedando un total de 75 plantas por parcela.

Las labores culturales realizadas en el ensayo fueron dos desyerbas a mano y dos riegos por gravedad.

Los tratamientos fueron realizados a los 8, 15 y 30 días de emergido el maíz. Estos períodos de aplicación fueron seleccionados por considerarse críticos para este cultivo.

Los tratamientos aplicados fueron:

1. 4.000 nemátodos por planta.
2. 2.000 nemátodos por planta.
3. 1.000 nemátodos por planta.
4. Testigo absoluto.
5. Testigo químico (Dipterex 80, 1.5 Kf./Ha. producto comercial).

Las aspersiones se hicieron con bomba de espalda a una presión aproximada de 60 lb./pulg.² debidamente calibrada para el caso. Estas aplicaciones fueron efectuadas en las últimas horas de la tarde.

a) Método de evaluación.

El método de evaluación consistió en hacer inicialmente conteos de larvas en cada una de las parcelas a tratar.

Al cabo de 48, 72 y 96 horas respectivamente se efectuaron nuevos conteos en base al número de larvas encontradas vivas.

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis estadísticos, comparando los diversos tratamientos con los testigos y entre sí, lo mismo que las diferentes épocas de aplicación.

De las parcelas se tomaron larvas muertas para efectuar posteriormente, análisis en el laboratorio.

El presente trabajo fué realizado bajo las siguientes condiciones ambientales:

1. Humedad relativa: 69^oo.
2. Precipitación anual: 1.009 mm.
3. Temperatura media: 23.7^oC.
4. Altura sobre el nivel del mar: 1.006 mts.

IV. — RESULTADOS Y DISCUSION.

A. — Pruebas de Laboratorio.

1.- Crianza de los hospedantes más convenientes para la propagación del nemátodo.

De las 4 larvas de insectos de Lepidopteros: *Diatraea saccharalis*, *Spodoptera frugiperda*, *Heliothis virescens* y *Agrotis ypsilon*, que se usaron como hospedantes para la propagación masiva del *Neoplectana carpocapsae*, se seleccionaron las dos primeras mencionadas, por su gran habilidad de adaptación a la dieta artificial y su baja mortalidad en condiciones de laboratorio diferentes a su medio natural. Para escoger dichas especies se tuvo además en cuenta la facilidad que presentan para la recolección de posturas y larvas en el campo.

No se continuaron utilizando las larvas descartadas, aunque presentan buen comportamiento a nivel de laboratorio, debido a la baja población encontrada en el campo en el momento de realizar este trabajo.

2.- Propagación del nemátodo en forma masiva a nivel de laboratorio.

El nemátodo mostró buen comportamiento para su multiplicación y desarrollo, con base en las larvas de *Diatraea saccharalis* y *Spodoptera frugiperda*., bajo condiciones de laboratorio.

Para la obtención de nuevas poblaciones se requirió un tiempo aproximado de 7 a 8 días, durante los cuales se pueden obtener de 80.000 a 100.000 nemátodos en el interior de cada larva, siendo luego recobrados usando el método de la caja de

La población obtenida por este método y almacenada durante 2 meses a una temperatura que puede oscilar entre 7 y 10°C, no presentó ninguna variación en cuanto a mortalidad se refiere.

3.- Prueba de efectividad del *Neoplectana carpocapsae* sobre el *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).

Los resultados de esta prueba muestran como el tiempo de evaluación de la respuesta está estrechamente relacionado con el incremento de la concentración; así el porcentaje de mortalidad para 4.000 nemátodos después de 48 horas es muy semejante al porcentaje de mortalidad para 2.000 nemátodos después de 72 horas de la aplicación, observándose una clara tendencia de mayor efectividad, a medida que aumenta la concentración de los tratamientos y el tiempo transcurrido. Al cabo de 72 horas el tratamiento de mayor concentración (4.000 nemátodos) presentó un nivel de mortalidad del 100%. (Tabla I).

Los resultados de las pruebas de laboratorio se toman como base para las evaluaciones posteriores en las pruebas de campo.

En el tratamiento usado como testigo se presentó una mortalidad de 2.5% en *Spodoptera frugiperda*, atribuible a otras causas (posibles larvas atacadas directamente en el campo por otros factores).

B — Prueba de Campo.

1.- Prueba de efectividad del *Neoplectana carpocapsae*, sobre el *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en maíz.

Para esta prueba los autores consideraron importante efectuar un análisis sobre la distribución inicial de la población insectil, en las parcelas a tratar, el incremento de la población insectil de acuerdo a la edad del maíz, como también las poblaciones resultantes una vez efectuados los tratamientos.

a. Análisis de poblaciones iniciales.

Se observa como la variabilidad de la población, o sea su distribución entre cada una de las parcelas es inicialmente homogénea y se va haciendo cada vez menos uniforme, con el transcurso del tiempo. Esto puede observarse en las tablas II, III y IV de conteos iniciales para las diferentes edades del maíz, en donde se indican la medida, la varianza y la desviación standar respectivamente.

Los resultados de los conteos iniciales muestran al comienzo una marcada uniformidad en la distribución de la población insectil con tendencia a incrementarse los valores medios y la variabilidad proporcionalmente con la edad del maíz.

b. Incremento de la población insectil.

Con base en lo expuesto anteriormente y con el ánimo de hacer una mayor claridad, los autores consideraron conveniente calcular el incremento de larvas por día, en el período de 8 a 30 días de edad del maíz.

TABLA - I.

Resultados de mortalidad (%) de larvas de *Spodoptera frugiperda* para la prueba de efectividad del nemátodo en el laboratorio.

Tratamientos Nemátodos por larva	Promedio de mortalidad (%) después de:								
	24 horas			48 horas			72 horas		
1 4,000	2 ⁺	17.5	1*	9	85.0	8	10	100.0	10
2 2,000	2	10.0	1	7	55.0	4	9	87.5	7
3 1,000	1	5.0	1	6	50.0	4	9	70.0	5
4 Agua destilada	0	0	0	0	0	0	1	2.5	0

* límite superior.

• límite inferior.

TABLA. II

Registro del conteo inicial de larvas para Maíz de 8 días de edad.

TRATAMIENTO Nemátodos por Planta		REPETICIONES		
		I	II	III
1.	4,000	10	11	10
2.	2,000	10	10	9
3.	1,000	9	11	9
4.	Testigo absoluto	10	10	10
5.	Testigo químico	10	11	10

$$\bar{X} = \frac{\sum X^2}{n} = 10.0$$

$$S^2 = \frac{\sum (X-X)^2}{n-1} = 0.42$$

$$S = 0.65$$

X_1	F_1
9	3
10	9
11	3

X_1 = Número de larvas por parcela.

F_1 = Frecuencia absoluta

TABLA III

Registro del conteo inicial de larvas para Maíz de 15 días de edad.

TRATAMIENTO		REPETICIONES		
		I	II	III
Nemátodos por planta				
1.	4.000	15	17	16
2.	2.000	14	16	18
3.	1.000	16	17	13
4.	Testigo absoluto.	16	14	17
5.	Testigo químico.	13	16	14

$$\bar{X} = \frac{\sum X^2}{n} = 15.4$$

$$s^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1} = 2.41$$

$$s = 1.55$$

X_1	F_1
13	2
14	3
15	1
16	5
17	3
18	1

X_1 = Número de larvas por parcela.

F_1 = Frecuencia absoluta.

TABLA IV.

Registro del conteo inicial de larvas para Maíz de 30 días de edad.

TRATAMIENTO Nemátodos por Planta		REPLICACIONES		
		I	II	III
1.	4.000	20	21	25
2.	2.000	23	24	20
3.	1.000	25	22	22
4.	Testigo absoluto	24	23	24
5.	Testigo químico	22	24	24

$$\bar{X} = \frac{\sum X^2}{n} = 22,8$$

$$S^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1} = 2,19$$

$$S = 1,47$$

X_1	F_1
20	2
21	1
22	3
23	2
24	5
25	2

X_1 = Número de larvas por parcela.

F_1 = Frecuencia absoluta.

El diagrama de dispersión presentaba una clara tendencia lineal, por lo cual se calculó el coeficiente de regresión lineal simple entre el número de larvas vivas por parcela (Y_1) y la edad del maíz (X_1).

Los resultados obtenidos muestran que la rata de crecimiento de la población de *Spodoptera frugiperda* dentro de las parcelas a tratar fué de 0,563 larvas por día (Tabla V, Figura 2).

c. Análisis de poblaciones finales.

En vista de la uniformidad en la distribución de la plaga, en conteos iniciales se consideró conveniente analizar los conteos finales como un índice de efectividad del tratamiento, ya que a menor valor (mayor mortalidad), mayor efectividad.

TABLA V.

Cálculo del incremento del número de larvas por día.

	X_1	Y_1	\bar{Y}_1
	8	10,0	10.63
	15	15.4	14.57
	30	22.8	22.99
Total	53,0	48,2	

X_1 = Edad del maíz (en días).

\bar{Y}_1 = Promedio de larvas por parcela.

\bar{Y}_1 = Promedio estimado de larvas por parcela.

$$B = \frac{\sum X_1 Y_1 - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{n}}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}$$

B = 0.563 Larvas por parcela/día (en el período de 8 a 30 días de edad del maíz).

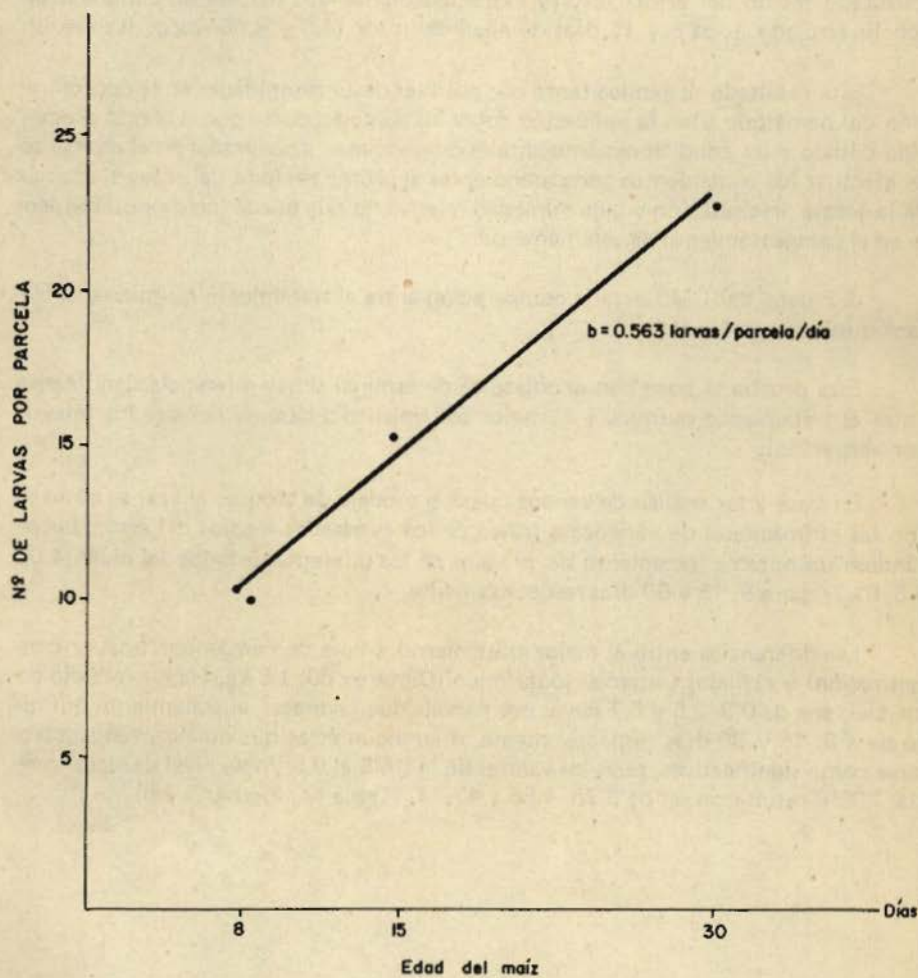


FIG. Nº 2 - RELACION ENTRE EL Nº DE LARVAS POR PARCELA Y EDAD DEL MAIZ

El análisis de varianza en los conteos finales para cada uno de los estados de crecimiento fué realizado conforme al diseño de bloques al azar, el cual detecta diferencias entre tratamientos para los períodos correspondientes a 8 y 15 días de edad del maíz, notándose una reducción en la población insectil a mayor concentración del nemátodo como se puede observar en las tablas VI, VII y VIII y en las Fig. 3 y 4 respectivamente.

El análisis de varianza correspondiente a las lecturas finales para 30 días no mostró diferencia significativa entre los tratamientos. A esta edad del maíz el CME (cuadrado medio del error) resultó extremadamente alto (61.68) en comparación con lo arrojado a los 8 y 15 días de edad del maíz (4.0 y 6.66 respectivamente).

Este resultado se explica tanto por posibles desuniformidades en la concentración del nemátodo y en la aplicación sobre las parcelas, como por el efecto producido debido a las condiciones ambientales diferenciales, presentadas en el momento de efectuar los tratamientos correspondientes al último período del ensayo, además de la escasa precipitación y baja humedad relativa, lo que puede incidir notablemente en el comportamiento de este nemátodo.

d.-Prueba del DMS para la comparación entre el tratamiento químico y el tratamiento con nemátodos.

Esta prueba se hace con el objeto de determinar si hay diferencia significativa entre el tratamiento químico y el mejor tratamiento a base de nemátodos (mayor concentración).

En base a los análisis de varianza para el modelo de bloques al azar se obtuvieron las estimaciones de varianza a través de los cuadrados medios del error, observándose un notable incremento de su valor en los diferentes estados del maíz (4.0, 6.6, 61.7), para 8, 15 y 30 días respectivamente.

Las diferencias entre el mejor tratamiento a base de nemátodos (mayor concentración) y el mejor tratamiento químico (Dipterex 80, 1.5 kg./Ha.), producto comercial, son de 0.3, 2.5 y 8.7 larvas por parcela que favorecen el tratamiento químico para 8, 15 y 30 días respectivamente, diferencias éstas que no alcanzan a detectarse como significativos, pues los valores de la DMS al 0.5% de nivel de significancia: 2CME resultaron ser de 3.75, 4.85 y 17.74. (Tabla IX, Figuras 5 y 6).

TABLA VI.

Resultados de lecturas finales para Maíz de 8 días de edad
después de 96 horas de aplicación.

TRATAMIENTOS Nemátodos por planta	REPETICIONES			TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III		
1. 4.000	5	4	4	13	4.33
2. 2.000	6	6	3	15	5.0
3. 1.000	8	9	6	23	7.66
4. Testigo absoluto	10	10	8	28	9.33
5. Testigo químico.	3	5	4	12	4.0
TOTAL	32	34	25	91	6.06

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F_c	$F_t (0.05)$
Repeticiones	2	8.94	4.47		
Tratamientos	4	64.94	16.27	4.067	3.84
Error experimental	8	31.06	4.0		
TOTAL	14	104.94			

TABLA VII.

Resultados de lecturas finales para Maíz de 15 días de edad
después de 96 horas de aplicación.

TRATAMIENTOS Nemátodos por Planta	REPETICIONES			TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III		
1. 4.000	9	8	7	24.0	8.0
2. 2.000	7	10	7	24.0	8.0
3. 1.000	11	12	8	31.0	10.33
4. Testigo absoluto.	16	14	13	43.0	14.33
5. Testigo químico.	4	5	5	14.0	4.66
TOTAL	47	49	40	136.0	9.06

Fuentes de Variación	G'L.	S.C.	C.M.	F_c	$F_{\alpha} (0.05)$
Repeticiones	2	8.94	4.47		
Tratamientos	4	152.94	38.23	5.74	3.84
Error experimental.	8	53.06	6.66		
TOTAL	14	214.94			

TABLA VIII.

Resultados de lecturas finales para 30 días de edad del Maíz después de 96 horas de aplicación.

TRATAMIENTOS Nemátodos por Planta	REPETICIONES			TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III		
1. 4.000	15	13	17	45	15.0
2. 2.000	20	16	15	51	17.0
3. 1.000	22	20	21	63	21.0
4. Testigo absoluto.	24	25	24	73	24.3
5. Testigo químico.	6	6	9	21	7.0
TOTAL	87	80	86	253	16.86

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F _c	F _t (0.05)
Repeticiones	2	12.20	6.1		
Tratamientos	4	52.77	13.19	0.214	3.84
Error experimental	8	493.43			
TOTAL	14	558.40			

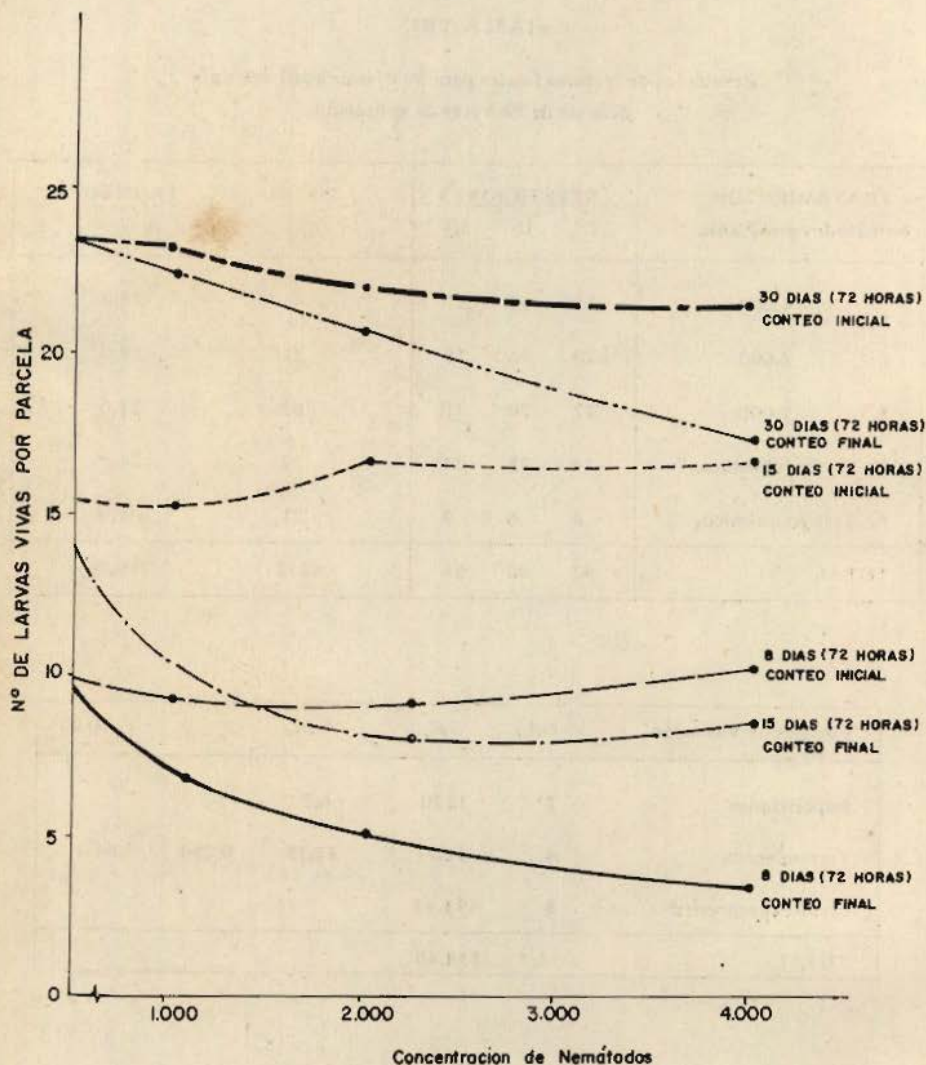


FIG. Nº 3- RELACION ENTRE EL Nº DE LARVAS VIVAS Y LA CONCENTRACION DE NEMATODOS DESPUES DE 72 HORAS DE APLICACION PARA CONTEOS INICIALES Y FINALES.

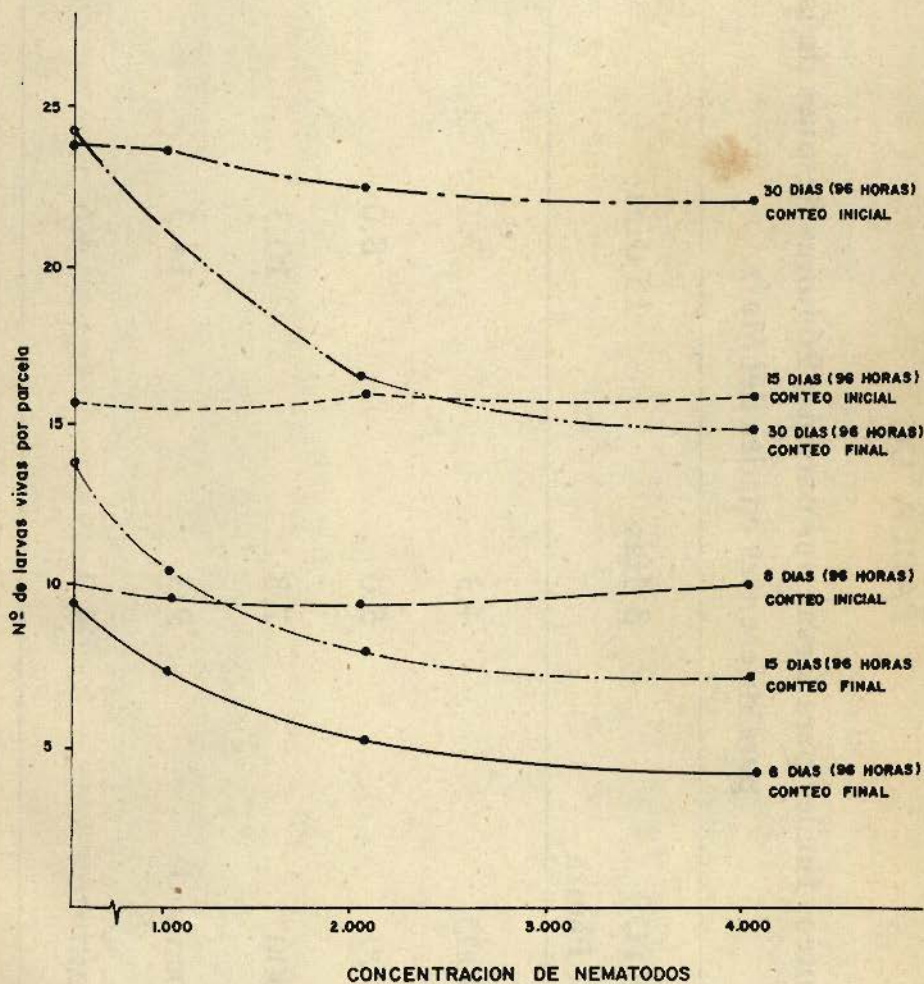


FIG. Nº 4 - RELACION ENTRE EL Nº DE LARVAS VIVAS POR PARCELA Y LA CONCENTRACION DE NEMATODOS, DESPUES DE 96 HORAS DE LA APLICACION PARA CONTEOS INICIALES Y FINALES.

TABLA IX.

Promedio de conteos finales para larvas por parcela, 96 horas después de la aplicación, para diferentes edades del Maíz.

TRATAMIENTOS		8 días	15 días	30 días
Nemátodos por Planta				
1.	4.000	4.3	7.1	15.0
2.	2.000	5.0	8.0	16.3
3.	1.000	7.3	10.3	21.0
4.	Testigo absoluto	9.3	14.3	24.3
5.	Testigo químico	4.0	4.6	6.3

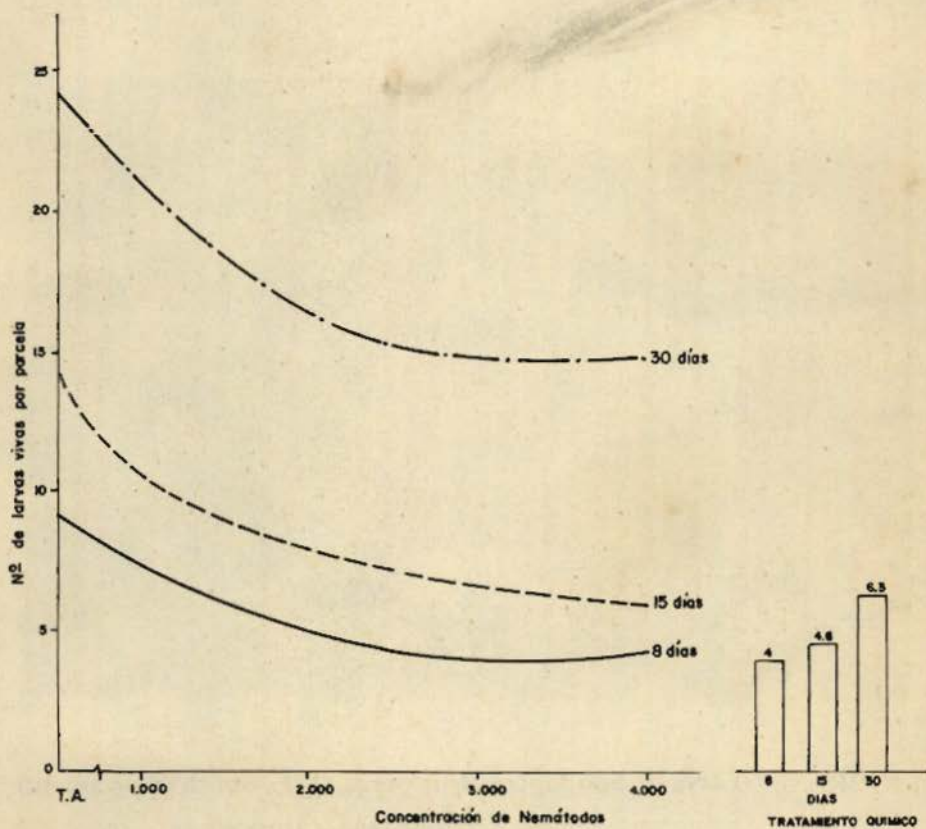


FIG. Nº 5- RELACION ENTRE EL Nº DE LARVAS VIVAS POR PARCELA Y LA CONCENTRACION APLICADA DE NEMATODOS, COMPARADA CON EL TRATAMIENTO QUIMICO.

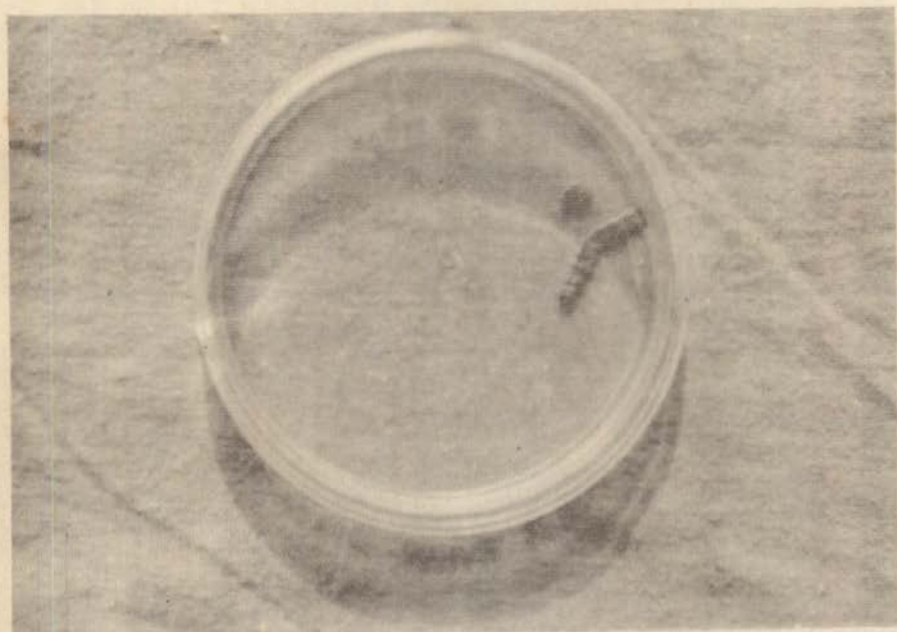


FIGURA 6.— Larva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) típicamente parasitada por *Neoplectana carpocapsae*.

V.— CONCLUSIONES.

Los resultados del presente trabajo en el cual se usó el nemátodo portador de bacterias *Neoaplectana carpocapsae* como control biológico del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) nos permiten sacar las siguientes conclusiones:

- 1.— *Spodoptera frugiperda* y el *Diatraea saccharalis* se pueden utilizar como hospedantes en la cría de este nemátodo ya que es factible criarlos en dieta artificial durante todo el año.
- 2.— El *Neoaplectana carpocapsae* mostró buen comportamiento para su multiplicación y desarrollo en condiciones de laboratorio.
- 3.— De cada larva se puede obtener una población viable promedio de 64.000 nemátodos al cabo de 8 días.
- 4.— El nemátodo puede ser almacenado a una temperatura entre 7 y 10°C por varios meses sin sufrir ninguna variación.
- 5.— El nemátodo mostró en el laboratorio su mayor efectividad de las 48 a las 72 horas sobre las larvas de *Spodoptera frugiperda*, cuando se infestaron con las mayores concentraciones.
- 6.— Bajo condiciones de campo el nemátodo logró una reducción notable de las poblaciones de *Spodoptera frugiperda* a las concentraciones de 4.000 nemátodos por planta cuando las condiciones ambientales resultaran favorables (alta humedad relativa).
- 7.— El nemátodo mostró un mal comportamiento cuando las aplicaciones se realizaron en condiciones ambientales de sequía en el campo.
- 8.— La comparación entre el tratamiento químico y el mejor tratamiento a base de nemátodos (mayor concentración), estadísticamente no detectó diferencia significativa.

VI.— RESUMEN.

En los últimos tiempos se ha visto la necesidad de buscar otros medios de control de plagas para reemplazar parcialmente el uso de insecticidas químicos o complementar éstos.

Como método de control biológico se estudió la posibilidad del uso del nemátodo *Neoaplectana carpocapsae* probando su efectividad en el control del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), tanto en laboratorio como en el campo.

Los trabajos se realizaron bajo las condiciones ambientales del "CIAT" (Centro Internacional de Agricultura Tropical) y de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de Palmira, Valle del Cauca, República de Colombia.

El desarrollo y la reproducción del nemátodo a nivel de laboratorio mostró un buen comportamiento pudiéndose obtener cerca de 64.000 nemátodos por larva de *Spodoptera frugiperda* y *Diatraea saccharalis*, las que se usaron como hospedantes para la cría de ellos.

Las pruebas de laboratorio demostraron que el nemátodo es capaz de controlar al *Spodoptera frugiperda* en un tiempo que varía de 48 a 72 horas.

Las pruebas de campo utilizando las dosis de 4.000, 2.000 y 1.000 nemátodos por planta redujeron notablemente las poblaciones de dicho insecto, cuando las aplicaciones se efectuaron bajo condiciones ambientales favorables de humedad relativa. Aplicaciones efectuadas cuando se presentó sequía resultaron casi nulas.

Se aplicó un tratamiento químico de DIPTEREX 80, a 1,5 kg./Ha. producto activo que dió un buen control de las larvas en el campo, pero estadísticamente no dió diferencia significativa con respecto al mejor tratamiento con nemátodos (mayor concentración).

Deben perfeccionarse tanto las técnicas de cría como la manera de protección del nemátodo contra las condiciones ambientales desfavorables.

VII.— SUMMARY

In the last times scientists have foresighted the need of searching methods of pest control aimed to partially replace the use of chemical insecticides or to complement them.

As a method of biological control, the nematode *Neoaplectana carpocapsae* was studied here probing its effectiveness in the control of the "cogollero" *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) important pest in the corn crop.

The work was carried out under the environmental conditions of "CIAT" (Centro Internacional de Agricultura Tropical) and the Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira, Valle del Cauca, República de Colombia.

The rearing and the reproduction of the nematode at laboratory level showed a good behavior, been possible to obtain near of 64.000 nematode per larvae of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) and *Diatraea saccharalis* wich were used as hosts for the rearing of them.

The laboratory tests show that the nematode is able to control the larvae of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) in a time that varies from 48 to 72 hours.

The field test using the amount of 4.000, 2.000 and 1.000 nematodes per plant reduced notoriously the population of that insect larvae when the applications were made under favorable invironmental conditions of high relative humidity. The applications made under dry conditions were almost null.

The chemical treatment with Dipterex 80, was made in a dose of 1.5 Kg./Ha. of commercial product and gave a good control of the larvae on the field but statistically there was not significant difference with respect to the better treatment with nematodes (higher concentration).

The rearing technique in the laboratory and the manner of protecting the nematode from bad field conditions must be improved.

VIII.— BIBLIOGRAFIA

1. BONNEMAISON, L. *Enemigos animales de las plantas cultivadas y forestales*. Barcelona, Ediciones de Occidente. 1964. pp. 11—23.
2. CRUMB, S. E. *The larvae of the Phalaenidae*. Washington. U.S.D.A. Bulletin No.1135 1956. 356 p.
3. DUTKY, S. R. Note on a parasitic nematode from codling moth larvae, *Carpocapsae pomonella*. *Proce. Entom. Soc. Washington*. 57(5): 244. 1955.
4. DUTKY, S. R., THOMPSON, J. V. and HOUGH, W. S. A new nematode parasite of codling moth showing promise in insect control. Mimeographed list of insects susceptible to DD—136. Nematode of Scientific meeting, Cincinnati. Nov. 1955.
5. GLASER, R. W. The cultivation of a nematode parasite of an insect. *Science* 73: 614—615. 1931.
6. HOUSE, H. L., WELCH, H. E. and CLEUGH, T. R. Food medium of prepared dog biscuit for the mass production of the nematode DD—136 (Nematoda: Steinemematidae). *Nature* 206: 847. 1965.
7. JOURDHEUIL, P. Influence de quelques facteurs vis ecologiques sur las fluctuations de population de uneblocenose parasitaire. *Ann Epiphyt.* 11:445—658. 1960.
8. NILLAS, O. F. Die nematoden DD—136 (*Neoaplectana* sp.) und *Neoaplectana carpocapsae* Wiser 1955 (Rhabditoidea) als insecten parasiten. Eine Bundesanst land forswit Berlfn — Dahlem 124: 40. 1967.
9. POINAR, G. O. Jr. The prescence of *Achromobater nematophilus* in the infective stage of a *Neoaplectana* sp. *Oryctes rhinoceros* L. 1954—1963. South Pacific Comission (unpublished report). 1966. 12 p.
10. POINAR, G. O. Jr. Use of nematodes for the microbial control of insects and mites. New York. Academic Press, 1971. pp. 181—203.
11. POINAR, G. O. Jr. and THOMAS, G. M. A new bacterium, *Achromobacter nematophilus* sp. nov. (Achromobactericeas, Eubacteriales) associated with a nematode. *Int. Bull Nomen. Taxon.* 15: 249—252. 1965.
12. POINAR, G. O. Jr. and THOMAS, G. M. The nature of *Achromobacter nematophilus* on insect pathogen. *American Pathology*. 1967. pp. 510—514.
13. POINAR, G. O. Jr. and HIMSWORTH, P. T. *Neoaplectana* parastism of larvae of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 9:241—

14. POINAR, G. O. Jr. and LEUTENEGGER, R. Anatomy of the infective and normal third stage juveniles of *Neoaplectana carpocapsae* Weiser (Steinemematidae: Nematoda) *Journal Parasitology*. 54: 340-350. 1968.
15. POINAR, G. O. Jr. Pathogenicity studies of Neoaplectanid nematodes and their use for insect control. *Insect Pathology and Microbial Control* 6 (1): 197-199.
16. POINAR, G. O. Jr. and HEMSWORTH, P. T. Anatomy of the infective and normal third-stage juveniles of *Neoaplectana carpocapsae*. Weiser 54: 340-350. 1968.
17. SNEDECOR, G. W. and COCHRAN, W. G. Statistical methods. Ames, Iowa, The Iowa State University. 1967. pp. 299-302.
18. SWAIN, R. B. and LITTING, K. S. Studies on nematodes of the genus *Neoaplectana* factors in the biological control of the white fringed beetles. Washington. U.S.D.A. Special Report. 7-1. pp. 33.
19. TANG, J. L. Notas generales sobre nemátodos portadores como un método de control biológico. *Revista peruana de Entomología Agrícola* (Perú) 1 (1): 19-22. 1958.
20. TARJAN, A. C. Curso de nematología. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. 1970.
21. WEISER, J. and KOEHLER, W. *Neoaplectana janickii* sp. new parasite of the larvae *Acontholyda nemoralis* Thoms. in Pojand. *Roc. Nauk. Roinieu* (Czechoslovakia) 11: 93-110. 1965.