

Bacillus thuringiensis Berliner en el control de *Colias lesbia* (F.) (Lep. Pieridae)

A. E. MARCHERITIS¹

(Recibido : 14 de agosto, 1970)

RESUMEN

Se dan a conocer resultados de diferentes ensayos de campo para luchar contra la oruga de la alfalfa *Colias lesbia* (F.) mediante el empleo del *Bacillus thuringiensis* Berliner. Además se analiza la relación entre las dosis de aplicación, los volúmenes de agua aplicados por hectárea y la influencia que poseen en la eficiencia del *Bacillus thuringiensis* Berliner los distintos volúmenes de agua para poder aconsejar dosis eficientes y económicas.

SUMMARY

This paper reports the results of field trials against the alfalfa caterpillar, *Colias lesbia* (F.) with *Bacillus thuringiensis* Berliner.

The relationship between application doses and water volume by hectare and the influence of various water volumen on the efficiency of the *Bacillus thuringiensis* Berliner were determined, to advise on efficient and economic dosage.

INTRODUCCION

En trabajos sobre el control biológico de insectos, por medio de bacterias, se estableció que las más importantes para este tipo de lucha, son aquellas que al esporular forman cristales proteicos tóxicos (DE BACH, 1968; STEINHAUS, 1959).

Bacillus thuringiensis Berl. es una bacteria que esporula formando este tipo de cristales tóxicos, los cuales están formados por más de una decena de aminoácidos, produciendo también una sustancia diferente al cristal, que es tóxica a los insectos cuando se les inyecta (McCONNEL y RICHARDS, 1959).

Los cristales antedichos resultan sumamente nocivos para muchos insectos, en especial las formas jóvenes de lepidópteros, como son las "orugas", "isocas", "lagartas", etc., por lo que se los consideró como una posible arma de lucha biológica (STEINHAUS, 1951).

Este microorganismo es un acrobio estricto y cada célula produce una sola espora muy resistente, pues tolera la desecación, el congelamiento y variados agentes bactericidas.

Entre las múltiples ventajas que ofrece *B. thuringiensis* Berl. se cuentan: a) no destruye de modo indiscriminado a todos los insectos, pues no actúa sobre abejas, abejorros, avispas u otros polinizadores, ni tampoco sobre insectos predadores; b) no deja residuos tóxicos en sustancias alimenticias, de modo que puede aplicarse en los cultivos en presencia del ganado y c) no es un patógeno

¹ Profesor asociado del Departamento de Agricultura, orientación Zoología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad de Buenos Aires.

para homeotermos, incluso el hombre (STEINHAUS, 1957), considerándose además como remota, la probabilidad de originar formas mutantes patógenas (STEINHAUS, 1959).

Dado el grave daño que causan las isocas en los cultivos, como los alfalfares, y siendo el *B. thuringiensis* Berl. una bacteria que ha demostrado poseer notables propiedades orugicidas, se realizaron experimentos destinados a determinar el grado de eficiencia de formulaciones hechas sobre la base de sus esporos, contra una plaga que afecta a los alfalfares, *Colias lesbia* (F.).

Otra razón que indujo a efectuar este plan, es la de los consabidos inconvenientes que presentan los insecticidas químicos, algunos de los cuales podrían ser obviados si se utilizara esta bacteria, que como ya se manifestó, carece de toxicidad hacia los animales homeotermos, es inocua frente a insectos polinizadores y predadores, no es fitotóxica y otros.

En la Argentina, el *B. thuringiensis* Berl. fue ensayado por FALDINI y PASTRANA (1952), FELDMAN (1967), QUINTANA (1968) y continuado por diferentes investigadores, mas, desafortunadamente pocos resultados fueron dados a conocer, de ahí que la bibliografía sea reducida.

MATERIAL Y METODOS

En este plan se buscó determinar no sólo la eficiencia de cada preparado sobre la base del número de esporos aplicados por hectárea, sino también la eficacia de distintas dosis cuando se aplican con diferentes caudales de agua por hectárea.

Alfalfares: del Campo Experimental de la Facultad de Agronomía y Veterinaria en San Pedro (Prov. de Bs. Aires) durante los meses de enero y febrero de 1968, 1969 y 1970.

Los alfalfares donde se trabajó se hallaban en estado de floración y se eligieron los intensamente atacados por larvas de *Colias lesbia* (F.), conocidas popularmente como "orugas o isocas de la alfalfa".

Insecto: fue el estado larval de "cucuna" o "pirpinto", *C. lesbia* (F.), lepidóptero diurno de la familia de los Piéridos.

Producto: los preparados a base de esta bacteria fueron: Polvos mojables, que contenían treinta mil millones de esporas por gramo de producto, estando el material microbiano finamente combinado con un inerte; Suspensiones acuosas, con treinta mil millones de esporas por gramo de producto mezclado con hidrocarburos de petróleo como vehículo y Suspensiones en caldo de carne, con una concentración de esporas de seiscientos millones por gramo de producto. Los envases eran de vidrio color caramelo, mantenidos en lugares frescos y al amparo de la luz. En las suspensiones acuosas con petróleo como vehículo, los envases eran de plástico y conservados en las mismas condiciones que los anteriores.

Aplicación: máquina pulverizadora tipo herbicida, provista de un tanque de 500 litros de capacidad, traccionada por un tractor y con un botellón que cubría una franja de 12 m de ancho en su recorrido. La presión con que se trabajó fue desde 1 a 2,5 atmósferas por centímetro cuadrado; la velocidad de marcha osciló entre 8 y 12 km/hora y la cantidad de picos varió entre 6 y 14. Estas distintas presiones, velocidades y picos se adaptaron de acuerdo con los diferentes caudales de agua que se arrojaron por hectárea.

Parcelas: cada dosis se aplicó en parcelas con tres repeticiones tomadas al azar. Las parcelas medían 25 m de ancho por 50 m de largo, separadas entre sí por fajas sin tratar de 20 m de ancho por 50 m de largo.

Testigos: parcelas distribuidas al azar y de área igual a las tratadas.

Cuenta de orugas: en todos los casos se realizó un conteo previo a los tratamientos en cada parcela, incluso en las testigos y luego se efectuaron tres más, posteriores a aquellos a las 24 hs., 48 hs. y 96 hs., respectivamente. En las cuentas o "conteos", se consideraron las pertenecientes desde el

segundo al quinto estadio larval. Las larvas del primer estadio fueron desestimadas porque dada su extrema pequeñez, dificulta enormemente los conteos y no influyen en los resultados, ya que siempre integran un porcentaje entre 0,1 % a 1 % de la población total de orugas que se cazan con la red de arrastre o red caza-orugas.

Durante las pruebas se utilizaron tres redes de arrastre de 40 cm de diámetro por 60 cm de alto, y con el concurso de 2 ayudantes, se daban 150 golpes de red por parcela o sea 50 golpes por persona. De esta manera se consiguió contar no menos de 300 orugas por parcela, hasta llegar en ocasiones a obtener hasta 1500 orugas en una sola parcela.

Porcentaje de mortalidad: Se estableció utilizando la fórmula de SUN y SHEPARD (1947)

$$\frac{P_t \pm P_{ck}}{100 \pm P_{ck}} \times 100$$

siendo: P_t , el % de mortalidad de acuerdo con la diferencia de insectos vivos (orugas) en las parcelas tratadas antes y después de las aplicaciones

de los productos; P_{ck} , el % de aumento o disminución de los insectos en las parcelas testigo antes y después de los conteos. El signo es positivo cuando aumenta la población en los testigos y es negativo cuando aquella disminuye.

El cuadro 1 expone el número de esporos, caudales y gramos aplicados por hectárea en los ocho ensayos realizados, desechándose o anulándose el ensayo nº 2 porque una lluvia caída 24 horas después de las aplicaciones, malogró ese experimento.

CUADRO 1. — *Esporos, caudales y gramos aplicados por hectárea*

Ensayos N°	Esporos/ha	Litros/ha	Gramos de producto/ha
1.....	30.000 × 10 ⁹	250 litros	1.000
2.....	30.000 × 10 ⁹	250 »	1.000
3.....	30.000 × 10 ⁹	65 »	1.000
4.....	30.000 × 10 ⁹	65 »	1.000
5.....	45.000 × 10 ⁹	250 »	1.500
6.....	45.000 × 10 ⁹	250 »	1.500
7.....	105.000 × 10 ⁹	500 »	3.500
8.....	12.000 × 10 ⁹	500 »	400

RESULTADOS

CUADRO 2. — *Porcentaje de mortalidad a las 24 horas*

Parcela N°	Ensayo 1	Ensayo 3	Ensayo 4	Ensayo 5	Ensayo 6	Ensayo 7	Ensayo 8
1.....	38	4	14	54	45	97	30
2.....	43	2	25	56	50	98	47
3.....	40	6	15	68	49	96	73
Σ.....	121	12	54	178	144	291	150
\bar{X}	40	4	18	59	48	97	50

Datos transformados en grados Bliss

1.....	38,1	11,5	220	47,3	42,1	80,0	33,2
2.....	41,0	8,1	30,0	48,4	45,0	81,9	43,3
3.....	39,2	14,2	22,8	55,6	44,4	78,5	58,5
Σ.....	118,3	33,5	74,4	151,3	131,5	240,4	135,2
\bar{X}	39,4	11,2	24,9	50,4	43,8	80,1	45,1
σ.....	2,07	4,32	6,23	6,37	2,15	2,41	18,7
C. V.....	5,3	38,6	25,0	12,6	5,0	3,0	40,3

CUADRO 3. — Porcentaje de mortalidad a las 48 horas

Parcela N°	Ensayo 1	Ensayo 3	Ensayo 4	Ensayo 5	Ensayo 6	Ensayo 7	Ensayo 8
1	93	15	40	82	93	98	49
2	80	19	40	87	97	98	65
3	91	20	46	86	98	98	87
Σ	264	54	126	255	288	294	201
\bar{X}	88	18	42	85	96	98	67

Datos transformados en grados Bliss

1	74,7	22,8	39,2	64,9	74,7	81,9	44,4
2	63,4	25,8	39,2	68,9	80,0	81,9	53,7
3	72,5	26,6	42,7	68,0	81,9	81,9	68,9
Σ	210,6	75,2	121,1	201,8	236,6	245,7	167,0
\bar{X}	70,6	25,1	40,4	67,3	78,8	81,9	55,7
σ	8,47	2,83	2,85	2,96	5,27	0	17,50
C. V.	12,1	11,3	7,0	4,44	6,7	0	31,4

CUADRO 4. — Porcentaje de mortalidad a las 96 horas

Parcela N°	Ensayo 1	Ensayo 3	Ensayo 4	Ensayo 5	Ensayo 6	Ensayo 7	Ensayo 8
1	87	66	74	85	99	98	85
2	88	67	97	89	98	98	94
3	95	83	99	99	97	98	91
Σ	270	216	270	273	294	294	270
\bar{X}	90,0	72	90,0	91	98	98	90

Datos transformados en grados Bliss

1	68,9	54,3	59,9	67,2	84,3	81,0	67,2
2	69,7	54,9	80,0	70,6	81,9	81,9	75,8
3	77,1	65,6	84,3	84,3	80,0	81,9	72,5
Σ	215,7	174,8	223,6	222,1	246,2	0	215,5
\bar{X}	71,8	58,3	74,5	74,0	82,1	81,9	71,8
σ	6,38	8,98	18,9	12,8	3,05	0	6,13
C. V.	8,8	15,4	27,5	17,2	3,07	0	7,1

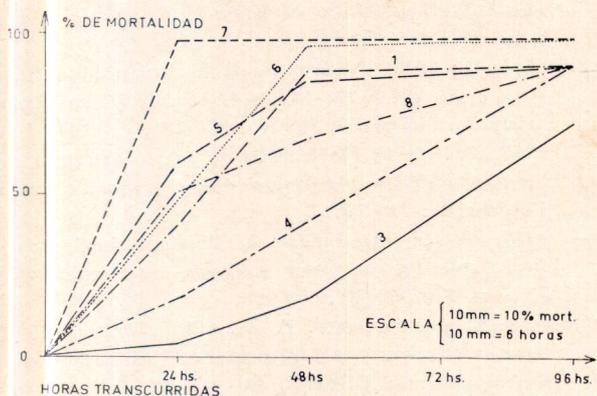


Fig. 1. — Distintos porcentajes de mortalidad a las 24 hs., 48 hs. y 96 hs. después de las aplicaciones

DISCUSION

De acuerdo con lo observado en los cuadros 2, 3 y 4 se infiere que:

A las 24 horas, a) El mejor ensayo fue el nº 7 (Ens. 7), que dio diferencias significativas con todos, siguiéndole el Ens. 5.

b) Los ensayos nº 8 y nº 3 variaron mucho.

c) El más reducido promedio fue el Ens. 3, que dio diferencias muy significativas con Ens. 7, Ens. 5, Ens. 6 y Ens. 1, no así con Ens. 8 y 4.

d) Los ensayos nº 1, nº 5 y nº 6 se pueden considerar con similares resultados, pues sus diferencias no son significativas.

A las 48 horas, a) El mejor ensayo fue el Ens. 7 pero las diferencias con Ens. 5 y Ens. 6 no son significativas.

b) El Ens. 8 tuvo mucha variación.

c) El ensayo de más bajo promedio fue el Ens. 3.

d) Los ensayos nº 5 y nº 6 se comportaron en forma similar, ya que sus diferencias no son significativas.

A las 96 horas, a) Los mejores ensayos fueron los nº 6 y nº 7, pero las diferencias con el Ens. 1 y el Ens. 8 no son significativas.

b) El Ens. 4 tuvo mucha variación.

c) El ensayo de más bajo promedio fue el Ens. 3.

d) Los ensayos nº 1, nº 6, nº 7 y nº 8 se pueden considerar de resultados similares.

CONCLUSIONES

Del análisis de los resultados obtenidos, se infiere que los factores más importantes para tomar en cuenta este tipo de aplicaciones son: a) el caudal de agua arrojado por hectárea; b) el número de esporos viables aplicados en igual superficie y c) el porcentaje de mortalidad, que es conveniente calcularlo más allá de las 72 horas posteriores a las aplicaciones, pues las suspensiones de esporas de *B. thuringiensis* Berl. son siempre de acción lenta.

La cantidad mínima de esporos por hectárea, fue estimada en 3×10^{13} vehiculizados en 65 litros de agua o quizá menos si pueden asegurarlo futuras experiencias. Menor cantidad de esporos también resultó eficiente (Ens. 8) pero con mucha mayor cantidad de agua, lo que incide en el tiempo de aplicación y en los costos, por consiguiente no es aconsejable para las condiciones usuales en el agro, donde se trabaja con caudales menores.

Con 3×10^{13} esp/ha se obtuvo 90% o más de mortalidad (excepto en el Ens. 3) que es la mínima que debería aconsejarse o admitirse para controlar una plaga del elevado potencial biótico como es *Colias lesbia* (F.).

Estadísticamente, la diferencia entre el Ens. 3 y los restantes ensayos (excepto Ens. 7), no es significativa (ver Resultados) a las 96 horas, pero desde el punto de vista de la Terapéutica Vegetal, no es conveniente aconsejar un producto que sólo controlará algo más del 70% de la población de larvas de una especie con las características de la "isoca de la alfalfa".

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la cátedra de Microbiología de esta Casa de Estudios y a las firmas Stauffer Arg. S.A.I.C. y Ganados S.A., por los preparados de *B. thuringiensis* Berl. y al Ing. Agr. G. Seminario Rosas, del Centro de Radiobiología de esta Facultad, por la interpretación estadística de los resultados.

BIBLIOGRAFIA

- DE BACH, P., 1968. *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*. Traduct.: C. M. Castaños, México, Comp. Edit. Continental, S. A., 950 p.
- FALDINI, J. y PASTRANA, J., 1952. *Bacillus thuringiensis como agente entomófago de Colias lesbia*. *Revta. argent. Agron.* 19 (3): 154-165.
- FELDMAN, I., 1963. *Nuevos insecticidas para el control de la isoca de la alfalfa (Colias lesbia Fabricius)*. *Idia* 191: 10-12.
- MCCONNELL, E. and RICHARDS, A. G., 1959. *The production by Bacillus thuringiensis Berl. of heat stable substance toxic for insects*. *Can. J. Microbiol.* 5: 161-168.
- QUINTANA, F. J., 1968. *Ensayos de control químico y microbiológico de la isoca de la alfalfa Colias lesbia (F.) (Lep. Pier.) en cultivos de trébol rojo y alfalfa en Balcarce*. *Idia* 245: 39-54.
- STEINHAUS, E., 1951. *Possible use of Bacillus thuringiensis Berl. as an aid in the biological control of the alfalfa caterpillar*. *Hilgardia* 20 (18): 359-381.
- 1957. *Concerning the harmless of insect pathogens and the standarization of microbial control products*. *J. econ. Ent.* 50 (6): 715-720.
- 1959. *On the improbability of Bacillus thuringiensis Berl. mutating to forms pathogenic for vertebrates*. *J. econ. Ent.* 52 (3): 506-508.
- STEINHAUS, E. and JERRELL, E. A., 1954. *Further observations on Bacillus thuringiensis Berl. and other spore forming bacteria*. *Hilgardia* 23: 1-23.
- SUN, Y. and SHEPARD, H., 1947. *Methods of calculating and correction the mortality of insects*. *J. econ. Ent.* 40 (3): 710-715.