

EVALUACIÓN EN CAMPO DE FORMULACIONES DE *BACILLUS THURINGIENSIS* CONTRA *DIATRAEA* SP.

LILIA H. MORALES RAMOS*, NINFA M. ROSAS GARCÍA**, JUAN F. PÉREZ DOMÍNGUEZ***, LUIS J. GALÁN WONG*

El descubrimiento de *Bacillus thuringiensis* como insecticida microbiano permitió que, en la década de 1930, se comenzara a usar en Europa como agente de control de insectos. Durante las dos siguientes décadas se realizaron pruebas de campo contra varios insectos lepidópteros en Europa y Estados Unidos.¹ Esto condujo a la investigación, desarrollo y comercialización de productos a base de esta bacteria. Básicamente, *B. thuringiensis* produce cristales proteicos llamados δ -endotoxinas, los cuales deben ser ingeridos por el insecto para que actúen sobre el intestino medio formando canales iónicos que permiten el libre flujo de iones y líquidos causando finalmente la muerte.³ La mezcla de estos cristales con las esporas producidas por esta bacteria se ha utilizado como ingrediente activo en este tipo de bioinsecticidas. Actualmente existe una gran variedad de formulaciones de *B. thuringiensis* comercialmente disponibles que han adquirido un inusitado protagonismo en el campo de la sanidad vegetal, por su manifiesta especificidad para insectos e inocuidad para depredadores y parasitoides. Además, como su toxicidad para vertebrados es casi nula,^{4,7} *B. thuringiensis* es considerado como uno de los insecticidas más seguros, autorizándose su empleo sobre los más diversos cultivos, incluso sin imposición de plazo de seguridad. En términos generales, la mayor aplicación de estos productos se ha dirigido al control forestal y agrícola de lepidópteros.⁶ Una de las plagas de lepidópteros más importantes en México es *Diatraea sp.*, que ataca el cultivo de caña de azúcar. Esta gramínea ocupa el cuarto lugar en importancia económica, después del

maíz, frijol y sorgo. La superficie sembrada es de un poco más de 600,000 hectáreas, con una producción de casi 45,000,000 de toneladas al año. La zafra del período 2000-2001 produjo 4,923,000 toneladas de azúcar y se molieron 44,977,000 toneladas de caña.⁵ El daño que este lepidóptero causa se debe a que las larvas cavan galerías dentro de los tallos, lo que reduce el crecimiento y debilita la planta, al grado de que algunas pueden quebrarse o morir, especialmente con vientos fuertes.² Por este motivo es de considerable importancia combatir esta plaga mediante una alternativa de control biológico, utilizando *B. thuringiensis*. Por lo que los objetivos del presente trabajo fueron:

- Evaluar la efectividad y eficiencia biológica de una cepa de *B. thuringiensis* formulada en forma granular y asperjable en el control de especies de *Diatraea*.
- Evaluar el efecto de la dosis con base en *B. thuringiensis* sobre el daño causado por *Diatraea*.

Metodología

Selección del área del experimento

Se tomó una muestra de 25 cañas individuales en un lote de 1 ha, tomando de cada diez surcos una muestra de seis cañas al azar, eliminando los efec-

*Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, San Nicolás de los Garza, N.L. E-mail: lmorales@ccr.dsi.uanl.mx

** Centro de Biotecnología Genómica, IPN. Reynosa, Tamps.

***Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Centro de Jalisco, Ocotlán, Jal.

tos de orilla. Este muestreo se realizó en lotes de diversas localidades del municipio de Ameca, Jalisco, que ya presentaban los canutos formados. Si las cañas tenían ya formada la sección 8-10, se cortaba la planta completa y si era menor de nueve meses, se cortaba la parte superior a la mitad del tallo. Las muestras se revisaron cuidadosamente para buscar larvas recién eclosionadas presentes en las hojas jóvenes o en la inserción de éstas con el tallo. También se buscaron señales de daños (lesiones frescas o heces que implicaran la presencia de larvas) y perforaciones recientes. Con cualquiera de estos indicadores de la presencia de larvas penetrantes fue considerada esa caña como infestada. El índice de infestación se obtuvo registrando el total de la muestra como el 100%. La localidad donde el índice de infestación fue del 20% o mayor, se consideró adecuada para realizar las aplicaciones.

Evaluación de las poblaciones de barrenadores

Los tallos muestreados en cada unidad experimental fueron disectados longitudinalmente, y se determinaron las larvas encontradas por especie a nivel de tallo y de entrenudo, los registros de poblaciones fueron tomados a los 5, 38 y 64 días después de la aplicación de los tratamientos.

Registro de la fenología de la planta

Se cuantificó el desarrollo fenológico del cultivo en relación a la altura de planta y número de tallos cosechables.

Aplicación

Las aplicaciones de las formulaciones se realizaron cuando la población de barrenadores se encontró en estado de "larva penetrante". Los formulados asperjables se aplicaron al follaje con aspersora de líquidos, y los formulados granulares con saleros, a cada unidad experimental. Los tratamientos (tabla I) se aplicaron de acuerdo al croquis que se elaboró mediante el sorteo de parcelas, según se muestra en la figura 1.

Después de la aplicación, se evaluó el efecto de las dosis de *B. thuringiensis* en la densidad poblacional de larvas. El tamaño utilizado para los muestreos de daño y de larvas se definió de acuerdo a los resultados del muestreo para determinar el nivel inicial de infestación de plaga antes de la aplica-

Tabla I. Orden de los tratamientos aplicados

Número de tratamiento	Aplicación
1	Testigo sin aplicación
2	Blanco granular
3	Blanco asperjable
4	Granular 3%
5	Granular 7%
6	Granular 10%
7	Asperjable 3%
8	Asperjable 7%
9	Asperjable 10%
10	Testigo comercial (Lepinox)

37	¹⁰	38	⁷	39	³	40	⁵	41		42	
36	⁸	35	⁹	34	⁴	33	⁷	32	⁶	31	²
25	²	26	³	27	¹	28	⁸	29	⁵	30	⁹
24	⁶	23	¹	22	⁸	21	¹⁰	20	¹	19	⁴
13	⁵	14	⁴	15	⁷	16	⁶	17	⁹	18	³
12	¹⁰	11	²	10	⁶	9	²	8	⁴	7	¹⁰
1	⁷	2	¹	3	⁵	4	⁹	5	³	6	⁸

Fig. 1. Croquis elaborado para realizar las pruebas de campo. Los números del 1 al 42 corresponden a la numeración de las parcelas, los números del 1 al 10 en letra cursiva corresponden a la aplicación de los tratamientos.

ción. Los tallos dañados de cada unidad experimental fueron partidos en forma longitudinal y cuantificados.

Evaluación del daño ocasionado por los barrenadores

Se cuantificaron las cepas con tallos cosechables dañados por barrenadores, esto es, el "corazón muerto". Los muestreos se realizaron a los 5, 38 y 64 días de la aplicación, y se evaluó el número de cepas con tallos dañados tanto por la mordedura

directa de la larva, así como por la coloración roja que produce la toxina del muermo rojo *Physalospira tucumanensis*, siempre que ésta sea producida por el daño del barrenador.

Evaluación de la fitotoxicidad de las formulaciones al cultivo

Para determinar el grado de fitotoxicidad de las formulaciones, se aplicó la escala de puntuación propuesta por la European Weed Research Society (EWRS), según se muestra en la tabla II. La evaluación se realizó al primero y al quinto día después de la aplicación de las formulaciones.

Tabla II. Escala de puntuación propuesta por la European Weed Research Society para determinar el grado de fitotoxicidad.

Valor	Efecto sobre el cultivo
1	Sin efecto
2	Síntomas muy ligeros
3	Síntomas ligeros
4	Síntomas que no se reflejan en el rendimiento
5	Daño medio
6	Daños elevados
7	Daños muy elevados
8	Daños severos
9	Muerte completa

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar. Cada tratamiento fue repetido cuatro veces. La información obtenida fue sometida a ANOVA para detectar diferencias debidas a los tratamientos. Cuando el análisis detectó diferencias significativas, se utilizó la técnica de contrastes ortogonales para diferenciar efectos de los tratamientos y grupos de tratamientos, como se muestra en la tabla III.

Resultados

La localidad adecuada para realizar las aplicaciones fue una parcela con cultivo de caña de azúcar *Saccharum officinarum*, variedad MEX-801410, ubicada en la localidad de La Escalera, municipio de Ameca, Jal., a 1,300 msnm. La unidad experi-

Tabla III. Contrastes ortogonales en la comparación de tratamientos y grupos de tratamientos.

Contraste	Tratamientos contrastados	Descripción del contraste
C1	T1 vs T2 y T3	Testigo sin aplicación contra tratamientos blancos
C2	T1 vs T4, T5, T6, T7, T8, T9 y T10	Testigo sin aplicación contra tratamientos con base en <i>B. thuringiensis</i>
C3	T4, T5 y T6 vs T7, T8 y T9	Tratamientos granulares contra tratamientos asperjables
C4	T4 vs T5 y T6	Dosis baja de granulado contra dosis media y alta de granulado
C5	T6 vs T4 y T5	Dosis alta de granulado contra dosis media y baja de granulado
C6	T7 vs T8 y T9	Dosis baja de asperjable contra dosis media y alta de asperjable
C7	T9 vs T7 y T8	Dosis alta de asperjable contra dosis media y baja de asperjable
C8	T10 vs T4, T5 y T6	Testigo comercial contra tratamientos granulares
C9	T10 vs T7, T8 y T9	Testigo comercial contra tratamientos asperjables

mental estuvo constituida por diez surcos, de 12 m con 1.2 m de distancia entre surcos. El área total por tratamiento fue de 672 m², y el experimento tuvo un área total de 6,720 m². El experimento se realizó de mayo a agosto de 2001.

La especie presente predominante fue *Diatraea considerata*, sin embargo se encontró asociada a *Eoreuma loftini*, por lo que ambas se consideraron como un complejo. Los resultados aquí expuestos se consideran únicamente para la especie de *Diatraea*. Las plantas estaban en la etapa fenológica conocida como "pelillo", esto es, los rebrotes que salen después de la siembra o de la cosecha (en el caso de soca y resoca).

Los datos obtenidos en los muestreos de daño fueron sometidos a un análisis de varianza (tabla IV). En la tabla V se aprecia que las mayores cantidades de cepa con incidencia de daño ocurrieron en la etapa inicial del experimento, esto es, el día de la aplicación. Al aplicar la técnica de contrastes a los tratamientos el día de la aplicación, el análisis

Tabla IV. Resultados del análisis de varianza en la cantidad de cepas, con daño ocasionado por barrenadores del tallo en cada unidad experimental. La Escalera, Ameca, Jal. 2001.

	0 días	5 días	38 días	64 días
Cuadrado medio del error	37.058	18.575	5.1083	2.8833
F calculada	0.97	5.41	0.08	0.33
Probabilidad	0.4845	0.0002	0.9998	0.9575
R cuadrada	0.22514	0.61857	0.02248	0.09043
Coefficiente de variación	57.02	46.72	108.92	102.9114
Significancia entre tratamientos	No hay	Si hay	No hay	No hay

Tabla V. Promedio de cepas dañadas por tratamiento

T	Media ± DS							
	0 días		5 días		38 días		64 días	
1	11 ± 8.86	11 ± 3.56	1.75 ± 0.95	1.5 ± 1				
2	10.25 ± 5.91	13.5 ± 2.51	2.25 ± 2.63	1.25 ± 1.89				
3	10.5 ± 7.14	10 ± 2.94	1.75 ± 2.36	2.25 ± 1.70				
4	10 ± 4	16 ± 7.61	2.75 ± 3.20	2.25 ± 2.21				
5	12.2 ± 3.86	12.2 ± 5.19	1.75 ± 2.06	1.75 ± 2.21				
6	5.5 ± 4.43	12.5 ± 1.73	2.25 ± 2.87	1.25 ± 1.5				
7	17.25 ± 1.81	4.25 ± 1.5	2 ± 2.16	0.75 ± 0.95				
8	8.25 ± 0.5	4.25 ± 2.06	2 ± 2.16	2 ± 1.82				
9	10 ± 2.31	4 ± 2.16	2.25 ± 2.21	1.5 ± 1.29				
10	11.75 ± 5.73	2.5 ± 1.29	2.0 ± 0.81	2.0 ± 1.82				

Tabla VI. Análisis de varianza de contrastes, con relación al muestreo de daño por barrenadores, el día de la aplicación. La Escalera, Ameca, Jal. 2001.

Contraste	gl	SC	CM	Fc	P
C1 T1 vs. T2 y T3	1	1.041	1.041	0.03	0.8680
C2 T1 vs. T4, T5, T6, T7, T8, T9 y T10	1	0.285	0.285	0.01	0.9306
C3 T4, T5 y T6 vs. T7, T8 y T9	1	40.041	40.041	1.08	0.3069
C4 T4 vs. T5 y T6	1	3.375	3.375	0.09	0.7649
C5 T6 vs. T4 y T5	1	84.375	84.375	2.28	0.1418
C6 T7 vs. T8 y T9	1	176.041	176.041	4.75 *	0.0373
C7 T9 vs. T7 y T8	1	20.167	20.167	0.54	0.4664
C8 T10 vs. T4, T5 y T6	1	18.750	18.750	0.51	0.4824
C9 T10 vs. T7, T8 y T9	1	0.020	0.020	0	0.9812

* Diferencia significativa (P>0.001).

Tabla VII. Análisis de varianza de contrastes con relación al muestreo de daño por barrenadores, cinco días después de la aplicación. La Escalera, Ameca, Jal. 2001.

Contraste	gl	SC	CM	Fc	P
C1 T1 vs. T2 y T3	1	1.500	1.500	0.08	0.7782
C2 T1 vs. T4, T5, T6, T7, T8, T9 y T10	1	26.4687	26.4687	1.42	0.2419
C3 T4, T5 y T6 vs. T7, T8 y T9	1	610.0416	610.041	32.84 **	0.0001
C4 T4 vs. T5 y T6	1	18.375	18.375	0.99	0.3279
C5 T6 vs. T4 y T5	1	18.375	18.375	0.99	0.3279
C6 T7 vs. T8 y T9	1	0.04167	0.04167	0	0.9625
C7 T9 vs. T7 y T8	1	0.167	0.167	0.01	0.9252
C8 T10 vs. T4, T5 y T6	1	414.187	414.187	22.30 **	0.0001
C9 T10 vs. T7, T8 y T9	1	8.333	8.333	0.45	0.5081

** Diferencia altamente significativa (P>0.001).

Tabla VIII. Análisis de varianza de contrastes con relación al muestreo de daño por barrenadores, 38 días después de la aplicación. La Escalera, Ameca, Jal. 2001

Contraste	gl	SC	CM	Fc	P
C1 T1 vs. T2 y T3	1	1.1666	1.1666	0.03	0.8579
C2 T1 vs. T4, T5, T6, T7, T8, T9 y T10	1	0.54017	0.54017	0.11	0.7473
C3 T4, T5 y T6 vs. T7, T8 y T9	1	0.1667	0.1667	0.03	0.8579
C4 T4 vs. T5 y T6	1	1.500	1.500	0.29	0.5919
C5 T6 vs. T4 y T5	1	0.0	0.0	0.0	1.000
C6 T7 vs. T8 y T9	1	0.041667	0.04167	0.01	0.9286
C7 T9 vs. T7 y T8	1	0.1667	0.1667	0.03	0.8579
C8 T10 vs. T4, T5 y T6	1	0.1875	0.1875	0.04	0.8494
C9 T10 vs. T7, T8 y T9	1	0.0208	0.0208	0.0	0.9495

de varianza indicó que hubo diferencias solamente en el contraste de la dosis baja del asperjable (3%) contra las dosis media y alta del asperjable (7 y 10%), (tabla VI). No hay diferencia significativa entre el asperjable y el testigo comercial. En los tratamientos con los granulares se observó que la plaga causó los niveles de daño más altos, superando incluso al testigo sin aplicación. Al realizar contrastes entre

los tratamientos granulares y los asperjables hubo diferencias altamente significativas. También fue significativo el contraste entre los tratamientos con base en los granulares 3, 7 y 10%, contra el testigo comercial, esto se observó cinco días después de la aplicación (tabla VII). A los 38 y a los 64 días después de la aplicación no hay diferencias significativas entre ningún contraste (tablas VIII y IX).

Tabla IX. Análisis de varianza de contrastes con relación al muestreo de daño por barrenadores, 64 días después de la aplicación. La Escalera, Ameca, Jal. 2001

Contraste	gl	SC	CM	Fc	P
C1 T1 vs. T2 y T3	1	0.1667	0.1667	0.06	0.8116
C2 T1 vs. T4, T5, T6, T7, T8, T9 y T10	1	0.0714	0.0714	0.02	0.8760
C3 T4, T5 y T6 vs. T7, T8 y T9	1	0.666	0.666	0.23	0.6341
C4 T4 vs. T5 y T6	1	1.50	1.50	0.52	0.4763
C5 T6 vs. T4 y T5	1	1.50	1.50	0.52	0.4763
C6 T7 vs. T8 y T9	1	2.667	2.667	0.92	0.3439
C7 T9 vs. T7 y T8	1	0.0416	0.0416	0.01	0.9051
C8 T10 vs. T4, T5 y T6	1	0.1875	0.1875	0.07	0.8005
C9 T10 vs. T7, T8 y T9	1	1.0208	1.0208	0.35	0.5563

Discusión

Las dosis media y alta de los formulados asperjables tuvieron significativamente mayor efectividad con respecto a la dosis baja; de acuerdo con este resultado, la dosis más adecuada para aplicar en campo es la de 7%, ya que fue igual a la de 10%. Uno de los factores que influyó en el éxito de esta formulación es que fácilmente recubre el follaje de la planta. Con los tratamientos granulares se observaron los niveles de daño más altos, superando incluso al testigo sin aplicación. Estos resultados pueden deberse posiblemente a la falta de adherencia del gránulo a la hoja de la planta, causando que las larvas se alimentaran del gránulo por un breve período de tiempo, antes de ser arrastrado por el viento o lavado por la lluvia. El formulado asperjable mostró características adecuadas para ser utilizado

en campo, y competir con los insecticidas comerciales, ya que posee una dosis más baja comparado con el comercial y causa la misma mortalidad. La persistencia en campo para el formulado asperjable fue de cinco días. El valor de fitotoxicidad fue de 1, por lo que se considera que los formulados no son fitotóxicos al cultivo, y pueden ser utilizados sin causar ningún daño a la planta.

Conclusiones

El formulado asperjable a la dosis del 7%, en base a la cepa de *B. thuringiensis* aplicado en campo, es tan eficiente como un formulado comercial (Lepinox), y es altamente competitivo, ya que posee una dosis menor. El uso de formulados granulares no es recomendable para el cultivo de caña de azúcar.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Conacyt, por el apoyo recibido para la realización de esta investigación a través del proyecto 29365B. Asimismo, los autores agradecen el apoyo recibido por la UANL, a través de los proyectos Paicyt (CN160-99, CN312-00).

Resumen

La aplicación de *Bacillus thuringiensis* para el control de barrenadores de la caña de azúcar es una buena alternativa dentro del control biológico. Formulaciones granulares y asperjables se aplicaron a cultivos de caña infestados naturalmente con *Diatraea*, en Ameca, Jal., Los formulados no fueron fitotóxicos al cultivo. Los asperjables fueron los más efectivos en las dosis de 7 y 10%, y son tan eficientes como un formulado comercial y altamente competitivos. Las parcelas con granulares tuvieron los niveles de daño más altos, superando incluso al testigo, por lo que no se recomienda su uso en cultivos de caña de azúcar.

Palabras clave: Control biológico, Formulaciones, Caña de azúcar.

Abstract

The use of *Bacillus thuringiensis* for control of sugarcane borers is a good alternative in biological control. Granular and sprayable formulations were

applied in sugarcane crops naturally infested with *Diatraea* sp. The formulations were not phytotoxic to the crop. The sprayable formulations at a 7 and 10% concentration were just as effective as a commercial formulation (Lepinox) and highly competitive. The use of granular formulations increased the level of damage caused by larvae, therefore the application is not recommended in sugarcane crops.

Keywords: Biological control, Formulations, Sugarcane.

Referencias

1. Cerón, J. A. 2001. Productos comerciales nativos y recombinantes a base de *Bacillus thuringiensis*, pp. 153-168. En: Bioinsectidas: Fundamentos y aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* en el control integrado de plagas. P. Caballero y J. Ferré [Ed]. M.V. Phytoma-España, S.L. España.
2. Davison, R. H. 1992. Plagas de pastos y cereales, pp 189-207. En: Plagas de insectos agrícolas y del jardín. Noriega [Ed.]. Limusa. México.
3. Höfte, H y H. R. Whiteley. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiol Rev. 53: 242-255.
4. Quintero Ramírez, R. 1997. Análisis técnico-económico sobre la producción de *Bacillus thuringiensis*. CamBioTec. Pp. 27 -82.
5. Quintero-Ramírez, R. 2001. Temas relacionados con transferencia de tecnología: Prospectiva tecnológica y áreas de oportunidad en México (II). Universidad Autónoma de Nuevo León y Centro de Transferencia de Tecnología.
6. Rhodes, D. 1993. Formulation of biological control agents. En Exploitation of Microorganisms. D. G. Jones [Ed] Chapman and Hall. London.
7. Santiago-Alvarez, C. y E. Quesada-Moraga. 2001. Empleo de *Bacillus thuringiensis* en los sistemas agrícolas, pp. 189-215. En: Bioinsectidas: Fundamentos y aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* en el control integrado de plagas. P. Caballero y J. Ferré [Ed]. M.V. Phytoma-España, S.L. España.