



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL LARVICIDA DIPEL® 8L, A BASE
DE *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* SOBRE LAS LARVAS DE TERCER,
CUARTO Y QUINTO ESTADIO DE *Hylesia metabus* Crammer
(Lepidoptera: Saturniidae)

TIVARDY CAROLINA GUZMÁN PARRA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2008

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL LARVICIDA DIPEL® 8L, A BASE
DE *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* SOBRE LAS LARVAS DE TERCER,
CUARTO Y QUINTOESTADIO DE *Hylesia metabus* Crammer
(Lepidoptera: Saturniidae)

APROBADO POR:

Prof. Mariolga Berrizbeita
Asesora

Prof. Melfran Herrera
Jurado

Prof. María Tovar
Jurado

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN.....	vii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	8
Población Estudiada.....	8
Recolección Y Transporte De Las Muestras.....	8
Mantenimiento De Las Larvas En El Laboratorio	9
Tratamiento Experimental.....	9
Preparación De Los Distintos Tratamientos Con El Larvicida Dipel® 8L A Base De Btk	9
Preparación De Los Discos De Hojas De <i>L. Racemosa</i> (Mangle Blanco).....	10
Colocación De Las Larvas Y Discos De Hojas De <i>L. Racemosa</i> En Los Recipientes	10
Comportamiento De Alimentación De Las Larvas.....	11
Análisis Estadísticos	12
Aplicación De La Fórmula De Abbott	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
CONCLUSIONES	30
RECOMENDACIONES.....	31
BIBLIOGRAFÍA	32

DEDICATORIA

A

Elena Parra, mi madre, sin cuyo esfuerzo y sacrificio jamás podría haber logrado este sueño.

Rafael Guzmán, mi padre, a quien quiero y respeto.

Mis hermanos: Roddy, Mariela, Cruz Alejandro, Florangel, Eudys y Elennys, quienes estuvieron apoyándome para lograr este triunfo.

Mis sobrinos: Francisco, Mirielys, Alejandro y Rodolfo, espero serviles de ejemplo para sus futuras metas.

Todos mis tíos, tías y primos, especialmente; Mirian Parra y su hijo Carlos Ramón, por su cariño, confianza y estímulo para lograr esta meta.

Mis amigos: Fabiana, Antonio, Eliosmar, Finordys, Indira, Maira, Dulce y Milena, de ustedes he recibido, entregado y compartido amor, cariño y comprensión.

AGRADECIMIENTO

A

Dios todopoderoso, por guiarme y acompañarme en todo momento, gracias Señor.

La Dra. Frances Osborn, mi asesora, por su orientación, confianza y apoyo incondicional para culminar este trabajo.

La ilustre Universidad de Oriente, por darme la oportunidad de hacerme profesional y ser útil.

Todo el personal que trabaja en el Instituto de Investigación en Biomedicina y Ciencias Aplicadas, en especial la a Licda. Sandra Díaz, por la ayuda otorgada para la realización de este trabajo.

Todos aquellos que de una u otra forma contribuyeron para alcanzar este gran éxito.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de la Correlación de Spearman entre el porcentaje de mortalidad y la concentración del Dipel® 8L, a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>Kurstaki</i> en las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de <i>H. metabus</i>	21
Tabla 2. Resultados de la prueba Chi-Cuadrado (x^2) en relación al comportamiento de alimentación de las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de <i>H. metabus</i> durante un período de 24 horas y la mortalidad final de las mismas.	23
Tabla 3. Resultados del análisis Probit para determinar la concentración letal (CL ₅₀) del producto Dipel® 8L, a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , sobre las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de <i>H. metabus</i>	25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>H. metabus</i>	2
Figura 2. Mapa de las estaciones de captura de las larvas <i>H. metabus</i>	8
Figura 3. Efectividad del larvicida Dipel® 8L, a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> sobre las larvas de tercer estadio de <i>H. metabus</i> , durante un período de seis días.	14
Figura 4. Porcentaje de mortalidad de las larvas de tercer estadio de <i>H. metabus</i> en función a las concentraciones del larvicida Dipel® 8L.	15
Figura 5. Comportamiento de alimentación de las larvas de tercer estadio de <i>H. metabus</i> infectadas por diferentes concentraciones de Dipel® 8L en un período de 24 horas.	16
Figura 6. Efectividad del larvicida Dipel® 8L, a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> sobre las larvas de cuarto estadio de <i>H. metabus</i> , durante un período de seis días.	16
Figura 7. Porcentaje de mortalidad de las larvas de cuarto estadio de <i>H. metabus</i> en función a las concentraciones del larvicida Dipel® 8L.	17
Figura 8. Comportamiento de alimentación de las larvas de cuarto estadio de <i>H. metabus</i> infectadas por diferentes concentraciones de Dipel® 8L en un período de 24 horas.	18

Figura 9. Efectividad del larvicida Dipel® 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre las larvas de quinto estadio de *H. metabus*, durante un período de seis días. 19

Figura 10. Porcentaje de mortalidad de las larvas de quinto estadio de *H. metabus* en función a las concentraciones del larvicida Dipel® 8L. 20

Figura 11. Comportamiento de alimentación de las larvas de quinto estadio de *H. metabus* infectadas por diferentes concentraciones de Dipel® 8L en un período de 24 horas. 20

Figura 12. Porcentaje de mortalidad de larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *H. metabus* en función a las concentraciones del larvicida Dipel® 8L. 25

RESUMEN

Se evaluó la eficacia de una formulación comercial de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, (Btk) Dipel® 8L, (líquido), sobre las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *Hylesia metabus*, en cinco concentraciones de 4, 16, 64, 256 y 1024 ppm. Se cortaron 150 discos de hojas de *Laguncularia racemosa* de 1 cm de diámetro, se sumergieron 25 discos de hojas para cada una de las soluciones preparadas para el tratamiento. Luego cada disco se colocó en los recipientes plásticos estériles de 100 ml y se colocaron las larvas individualmente en los mismos. Transcurridas 24 horas del tratamiento, se anotó la cantidad de disco de hoja comida y se expresó en porcentaje. Además se registró diariamente el porcentaje de mortalidad y el comportamiento de alimentación de las larvas. En las larvas de tercer estadio, los porcentajes de mortalidad fueron 18,7 y 72,0% para las concentraciones 4 y 1024 ppm; mientras que para las larvas de cuarto estadio fueron de 2,7 y 48,0% respectivamente y en las larvas de quinto estadio se registró una mortalidad de 56,0% en la menor concentración y de 100,0% en la concentración más alta. Existió correlación entre el porcentaje de mortalidad y la concentración del Dipel® 8L, a base de Btk sólo en las larvas de cuarto estadio de *H. metabus* ($p < 0,05$), sin embargo, en las larvas de tercer y quinto estadio no existió correlación entre estas dos variables ($p > 0,05$). En las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio, la CL50 fue de 86,77 ppm, 1314 ppm, y 2,95 ppm, respectivamente. La mayoría de las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio comieron desde 1 a 50% del disco de hoja infectada con el producto. No hubo relación entre el comportamiento de alimentación y la mortalidad de las larvas de tercer estadio entre concentraciones, prueba de Chi- Cuadrado (χ^2) $p > 0,05$. En las larvas de cuarto estadio sólo existió relación entre el comportamiento de alimentación y la mortalidad final sólo en las concentraciones 64 y 1024 ppm, y en las larvas de quinto estadio en la concentración de 4 ppm, prueba de Chi- Cuadrado (χ^2) $p < 0,05$; además, en las larvas se percibió una disminución del apetito hasta dejar de alimentarse a medida que aumentaba la concentración. Por lo tanto, el larvicida Dipel® 8L a base de Btk, tiene mayor efecto sobre las larvas de quinto, seguido por las de tercer estadio con una concentración de 1024 ppm, pero menor efectividad sobre las larvas de cuarto estadio.

INTRODUCCIÓN

Hylesia metabus, comúnmente conocida como la palometa peluda, es una mariposa nocturna de la familia Saturniidae, la cual se caracteriza en el estado adulto por tener un tamaño de 1,7 a 2,4 cm y tener una expansión alar de 5,4 a 6,4 cm, su color varía entre gris oscuro y marrón amarillento, su cuerpo es robusto y densamente cubierto de setas. Por otra parte, la larva es de color marrón oscuro a negro, presenta en cada segmento de su cuerpo grupos de setas urticantes arregladas en arcos dorsolaterales, la cabeza es de color ámbar brillante y las setas del protórax emergen como una corona en su parte posterior. Su tamaño en completo desarrollo varía entre 4,3 a 4,8 cm (Vásquez, 1990; Vásquez, 1994).

El género *Hylesia* se distribuye geográficamente sólo en el continente americano, en los países: México, Costa Rica, Surinam, Brasil, Uruguay, Argentina, Perú, Trinidad, Guayana Francesa, Guayana Inglesa y Venezuela (Dinehart *et al.*, 1985).

En Venezuela, *H. metabus* se encuentra distribuida principalmente en el oriente del país, abarcando en el estado Sucre la zona del golfo de Paria, que comprende a los municipios Mariño, Cajigal, Benítez, Libertador; en el estado Monagas, los municipios Bolívar, Maturín y Sotillo; en el estado Delta Amacuro, la zona comprendida entre Pedernales y Tucupita, y en el estado Nueva Esparta, la isla de Coche. Además se han encontrado, pero en menor proporción, en los estados Miranda y Zulia (Vásquez, 1994).

Este lepidóptero, en su estado larval, se alimenta de diversas plantas, de las cuales se han reportado hasta ahora catorce especies, entre las hospederas principales, se tiene *Rhizophora mangle* (Mangle rojo), *Avicennia germinans* (Mangle negro) y

Laguncularia racemosa (mangle blanco), lo que ha restringido su distribución en la región nor-oriental de Venezuela a las zonas de manglar, y también es capaz de utilizar como hospedero a otras especies de plantas, pero en bajos porcentajes como: Aguacate, Bucare, Guásimo, Guayaba y Jabillo entre otras, ya que éstas constituyen el medio ecológico propio donde la palometa cumple su ciclo de vida (Osborn *et al.*, 2001).

La duración del ciclo biológico de este satúrnido varia entre 97 y 105 días, desde su estado embrionario hasta su estado adulto; en donde el período embrionario tarda alrededor de 26 días; el estado larval 57 días aproximadamente, el cual pasa por siete instares donde el primero dura 7 días y el último 9 días, estos estadios se diferencian por el tamaño de la cápsula encefálica de la larva; la pupa tarda 21 días y el período de adulto dura 4 días respectivamente (Vásquez, 1990) (Figura1).

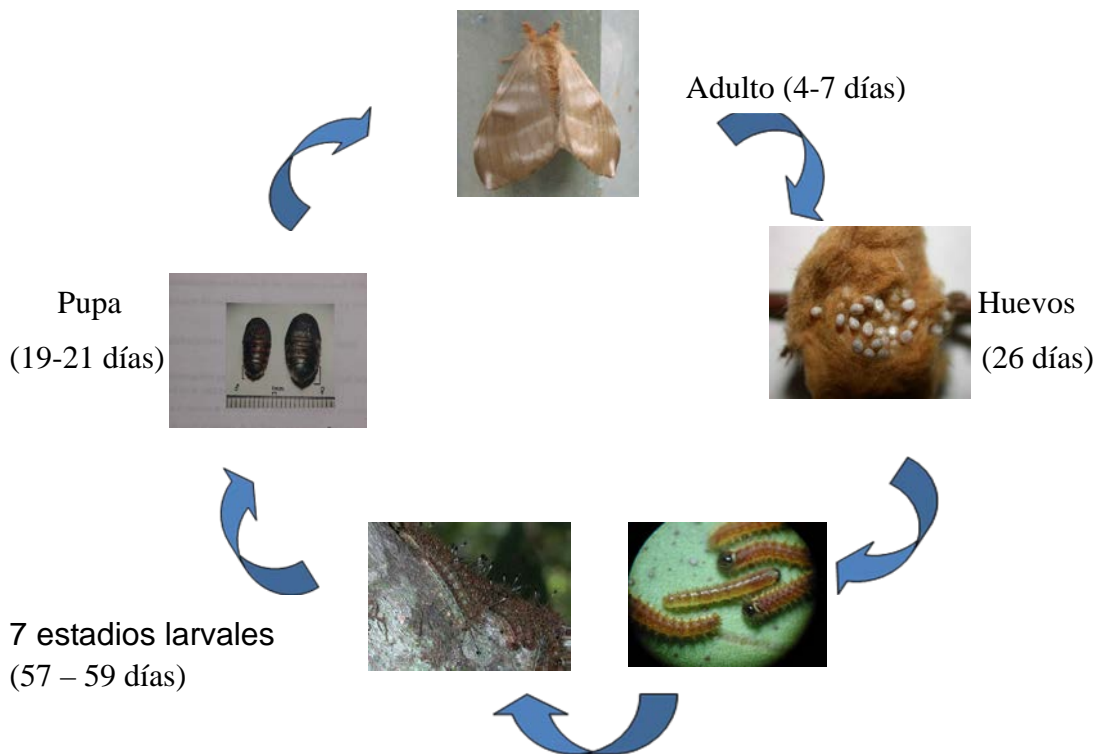


Figura 1. Ciclo biológico de *H. metabus*

Fuente: foto proporcionada por la Dra. Frances Osborn

El insecto vuela habitualmente en horas comprendidas de 7:30 a 10:00 pm, durante este tiempo y aún en el día, las hembras depositan sus masas de huevos en las ramas de plantas hospederas, las paredes y los postes de alumbrado público (Lundberg *et al.*, 2002). La hembra puede oviponer 376 huevos, aproximadamente, a los cuales cubre con los diferentes tipos de setas desprendidas de su abdomen protegiéndolos, así de sus enemigos naturales (Rodríguez *et al.*, 2004).

El primer registro escrito sobre polillas del género *Hylesia* se remonta al año 1937, cuando se presentó un brote de esa polilla en Caripito, estado Monagas (Martínez, 1986). Este autor señala que dicha información fue reportada en la Revista Farol. Sin embargo, esta referencia es confusa debido a que Fornés y Hernández realizaron revisiones exhaustivas de los primeros años de la revista y no se encuentra la referencia mencionada, por la cual no se sabe con exactitud cual es la primera evidencia escrita sobre *Hylesia* en Venezuela (Fornés y Hernández, 2001).

En Venezuela, los primeros reportes sobre la incidencia de polillas del género *Hylesia* son aquellos divulgados por los pobladores de las áreas afectadas por el insecto en los poblados de Yaguaraparo e Irapa (estado Sucre), donde las personas de avanzada edad relatan que mariposas nocturnas se acercaban al alumbrado público y aquellas personas que se encontraban cerca de ellas manifestaban posteriormente una dermatitis en las áreas de la piel expuestas (Fornés y Hernández, 2001). Además señalaron como época de incidencia fuerte de la palometa correspondientes a los años 1960-64, 1970-73 y 1980-87 (Vásquez, 1994).

Los registros que existen sobre la incidencia de esta polilla durante sus picos poblacionales, los cuales generaron serios problemas de salud pública en su momento, se presentaron en febrero de 1947, en donde el Wolfcreek, un barco que

había estado cargando petróleo en Caripito estado Monagas, fue invadido por cientos de polillas del género *Hylesia* (Hill *et al.*, 1948). En el año 1952, en el Golfo de Paria (estado Sucre), se hace mención de por lo menos tres banqueros petroleros que sufrieron las invasiones nocturnas de *Hylesia*, causando graves molestias a la tripulación, estos banqueros fueron; el R. G. Stewart de la flota Esso, el Joseph Seep y el W. C. Teagle (Vicente, 1952).

El contacto con las setas causa dermatitis severa en los humanos, descrita en forma de pápulas generalizadas, salientes, muy circunscritas, pruriginosas, comparables con la urticaria eritematosa y con edemas de grado variable (Benaím *et al.*, 1998). La reacción alérgica observada ocurre en las personas que en alguna ocasión reciben el contacto directo con este lepidóptero, o bien con sus setas urticantes, ya que estas últimas suelen desprenderse con facilidad del cuerpo del insecto y ser acarreadas por el viento; estas son liberadas al medio por miles de hembras que son atraídas por la luz eléctrica del alumbrado público cuando revolotean alrededor de los bombillos durante los periodos de invasión a los poblados (Vassal, 1993).

Las setas urticantes son sensibles al roce y determinan un prurito debido a la fractura que sufren los dardos que contienen la sustancia irritativa, la cual es liberada cuando éstos se entierran en la piel al ser presionados (Germanetto, 1982). En algunos casos suelen observarse manifestaciones extracutáneas tales como síntomas respiratorios, conjuntivitis, malestar general, artralgia, incluso repercusiones psicológicas, tales como insomnio y depresión en personas nerviosas (Jorg, 1969).

Las molestias causadas por este insecto traen consigo interrupción de la mayoría de las actividades que los pobladores de las regiones afectadas realizan, especialmente la pesca, la agricultura, la educación, las actividades deportivas, sociales, culturales, religiosas, entre otras; es por ello que *H. metabus*, ha

representado un problema de importancia ecológica, ambiental y de salud para los pobladores de la región nor-oriental de Venezuela, en particular la zona del golfo de Paria del estado Sucre (Vásquez, 1990).

Uno de los factores que pueden contribuir a solventar este problema es el manejo integrado de esta plaga. Las tácticas para el control de insectos y plagas en general son diversas, así como los insecticidas químicos son ampliamente utilizados, se encuentran otras alternativas tales como: uso de microorganismos, parasitoides, prácticas culturales, entre otros, para tratar de contrarrestar el efecto dañino de las plagas (Ferrer, 2001).

Los insecticidas químicos han sido utilizados extensivamente para disminuir los daños provocados por algunos organismos. Sin embargo, la toxicidad elevada de algunos de ellos, su resistencia, residualidad y el mal manejo, han llevado a un replanteo de las técnicas de control de plagas, el cual persigue reducir y adecuar el uso de los productos químicos e implementar métodos de control que tomen en cuenta al ecosistema en general. Entre las técnicas que incluyen el manejo integrado de plagas se encuentra el control biológico, el cual es definido por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (del inglés USDA: *United States Department of Agriculture*) como:

“El uso o manejo de enemigos naturales nativos, introducidos o genéticamente modificados (depredadores, parásitos, parasitoides y patógenos) y otros organismos beneficiosos seleccionados (antagonistas, competidores y alelopáticos) y sus productos, para reducir las poblaciones y los efectos de la plaga” (Lecuona, 1996).

El uso de microorganismos ha resultado una alternativa viable para combatir los brotes invasivos de *H. metabus*, siendo los bioinsecticidas a base de la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) los mayormente utilizados para controlar

insectos del orden Lepidoptera. Esta bacteria es aeróbica, Gram positiva y se caracteriza por la producción de un cristal proteico durante su fase de esporulación, el cual contiene las proteínas insecticidas (Schnepf y Whiteley, 1985).

El cristal proteico de la bacteria al ser ingerido por las larvas de *H. metabus*, se convierten en una toxina activa (β -endotoxina) en el intestino de éstas, el cual produce un desbalance osmótico en las células afectadas y la destrucción del epitelio intestinal causando finalmente la muerte del insecto (Höfte *et al.*, 1989).

La elevada mortalidad de las larvas es el efecto más deseado en una cepa promisorias para el control del insecto, su influencia sobre el crecimiento de las mismas puede ser también de gran importancia. En efecto, un deterioro del desarrollo de las larvas, está directamente relacionado con su capacidad para completar exitosamente el proceso de metamorfosis, influyendo así directamente sobre su viabilidad y consecuentemente en perjuicio de la población del insecto (Ibarra *et al.*, 1997).

El control biológico, por acción de la bacteria entomopatógena Btk se realiza a través de un insecticida comercial formulado sobre la base de los cristales de β -endotoxina y las esporas producidas por este microorganismo, cuya aplicación resulta sumamente costosa (Tovar, 2001). Además, es importante señalar que es necesario continuar con la búsqueda de cepas promisorias para el control de estos insectos y generar así un banco de cepas con el fin de disponer de un potencial genético necesario para permitir un manejo apropiado de la generación de resistencia hacia Btk (Ramos *et al.*, 2004)

El uso de los productos comerciales a base Btk ha sido exitoso, pero en los últimos años, se ha observado la generación de insectos resistentes hacia los mismos, lo cual en algunos casos, es debido a la aplicación de dosis subletales, por lo tanto,

fue importante realizar trabajos de laboratorio para determinar las dosis apropiadas para asegurar la eficacia de la formulación del producto actualmente utilizado para controlar a las larvas de *H. metabus*. El objetivo primordial de este trabajo fue evaluar la efectividad del larvicida Dipel® 8L a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *Hylesia metabus*.

METODOLOGÍA

Población Estudiada

El estudio que se realizó fue de tipo experimental y se estableció un área de recolecta de las larvas en las zonas de manglar y otras especies de plantas que utiliza como hospedero alrededor del municipio Benítez, específicamente en; Paradero, los Barrancos, Caño Sicaina y La Hormiguera de la Parroquia Unión y en Puerto Caliche, Parroquia el Pilar, del estado Sucre, durante el período comprendido desde abril de 2006 a abril de 2007. (Figura 2)



Figura 2. Mapa de las estaciones de captura de las larvas *H. metabus*.

Fuente: foto proporcionada por el profesor Melfran Herrera.

Recolección Y Transporte De Las Muestras

Se recolectó una cantidad aproximada de 1 500 larvas vivas de *H. metabus* de los segundo, tercer y cuarto instar, y se colocaron en bolsas plásticas con suficientes hojas de *Laguncularia racemosa* (mangle blanco). Se trasladaron al Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCA), de la Universidad de Oriente, en tres cavas de anime dentro de las cuales se colocaron las larvas junto con hojas frescas de *L. racemosa* (mangle blanco), cada cava con larvas de una misma edad, caracterizándose éstas por el tamaño de su cápsula encefálica.

Mantenimiento De Las Larvas En El Laboratorio

Las larvas se mantuvieron en el laboratorio en cavas de anime en condiciones ambientales de 26°C y con una humedad relativa de 70 a 80%. Diariamente se limpiaron las cavas y se les cambió las hojas de *L. racemosa* (mangle blanco). Para realizar los experimentos se esperó hasta el día luego del cambio de instar y se seleccionaron las larvas con la misma edad, además se anotaron las fechas de cambios de estadio de las larvas.

Tratamiento Experimental

Preparación De Los Distintos Tratamientos Con El Larvicida Dipel® 8L A Base De Btk

Se prepararon las diferentes soluciones del larvicida Dipel® 8L a base de Btk, el cual contenía 3,5% de ingrediente activo, complejo espora cristal, las soluciones fueron preparadas a la concentración de 4, 16, 64, 256 y 1024 partes por millón (ppm) en agua destilada.

Cálculos de los ppm

$$\text{ppm} = \% \text{IA} * n$$

Donde;

ppm: partes por millón

%IA: ingrediente activo del producto, según el fabricante /100

n: gramos (g) o mililitros (ml) del producto dependiendo de su presentación.

$$1024 \text{ ppm} = 3,5/100 \times n$$

$$n = 1024/0,035$$

$$n = 29\,257 \mu\text{l}$$

$$n = 29,257 \text{ ml}$$

Se midieron 29,3 ml de larvicida Dipel® 8L y se colocaron en un cilindro graduado de 1000 ml, se enrasó con agua destilada hasta alcanzar la capacidad del cilindro y así se obtuvo la concentración del producto de 1024 ppm. A partir de esta solución madre se obtuvieron las otras concentraciones de 256, 64, 16 y 4 ppm, mediante la siguiente fórmula:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Preparación De Los Discos De Hojas De *L. Racemosa* (Mangle Blanco)

Se cortaron 150 discos de hojas de *L. racemosa* de 1 cm de diámetro con un cortador de hojas especial, los cuales fueron previamente lavados con agua destilada. Se sumergieron 25 discos de hojas *L. racemosa* para cada una de las disoluciones preparadas (4, 16, 64, 256 y 1024 ppm) para el tratamiento. Para los controles se utilizó los otros 25 discos de las mismas hojas, pero se sumergieron en agua destilada solamente. Luego los discos de hojas *L. racemosa* se les escurrió el exceso de solución y se secaron por evaporación por separado para cada tratamiento.

Colocación De Las Larvas Y Discos De Hojas De *L. Racemosa* En Los Recipientes

Se utilizaron 25 potes de plástico limpios de 100 ml de capacidad para cada tratamiento y para cada estadio. Se utilizaron un total de 25 larvas para cada tratamiento las cuales fueron colocadas individualmente en los potes plásticos con la ayuda de dos pinceles suaves. Después cada disco con el tratamiento, se colocó en los recipientes plásticos, esto se realizó para cada tratamiento del larvicida Dipel® 8L a base de Btk por separado y para los tres estadios. Realizando un total de tres repeticiones independientes para las larvas de tercer y cuarto estadio, y para las larvas de quinto estadio se realizaron dos repeticiones, debido a las limitaciones del material biológico.

Transcurridas 24 horas del tratamiento se anotó la cantidad de disco de hojas comidas por las larvas, para ello se asignó el porcentaje estimado de hoja comida por las larvas utilizando la siguiente escala:

Comportamiento De Alimentación De Las Larvas

- 0: larvas que comieron 0% de disco de hoja
- 1: larvas que comieron 1 a 25% de disco de hoja
- 2: larvas que comieron 26 a 50% de disco de hoja
- 3: larvas que comieron 51 a 75% de disco de hoja
- 4: larvas que comieron >75% de disco de hoja.

Posteriormente las larvas fueron alimentadas con hojas frescas y limpias de *L. racemosa*, es decir sin tratamiento por cinco días. Además se anotó diariamente y a la misma hora la mortalidad y comportamiento de alimentación de las larvas durante todo el período después del tratamiento y al transcurrir los 5 días se determinó el porcentaje de mortalidad las larvas.

Análisis Estadísticos

Los resultados fueron analizados utilizando una regresión Probit para determinar la concentración letal del producto necesaria para matar el 50% de las larvas (CL_{50}) (Moermans y Hecke, 1995). El análisis probit, es un método de regresión logarítmico-lineal que permite hacer predicciones sobre los valores de cierta variable Y (dependiente) ajustados a la media de la desviación estándar, a partir de los de otra X (independiente) transformados a logaritmo base 10, entre los que existe una relación Dosis-Respuesta.

Se aplicó la prueba de Chi-cuadrado (χ^2) para determinar si existió una relación entre el comportamiento de alimentación de las larvas (comió o no comió el disco de hoja en las primeras 24 horas de ensayo) y la mortalidad final de las mismas, las pruebas se realizaron con 95% de confiabilidad. La prueba Chi cuadrado (χ^2) nos da una medida de la diferencia entre la distribución teórica y la experimental, lo que nos permite decidir, con la probabilidad de error que queramos, si hay asociación o no entre las variables (Siegel y Castellan, 1988). Ambas pruebas se realizaron utilizando el programa computacional SPSS versión 10 (SPSS, 1996).

Además, se aplicó la prueba de Correlación de Spearman para determinar si existió una correlación entre el porcentaje de mortalidad y concentración del producto Dipel® 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. (Siegel y Castellan, 1988).

Aplicación De La Fórmula De Abbott

Esta fórmula se utiliza para la corrección del control en los casos que la mortalidad se ubique entre el 5-20%, según Abbott (1925). Cuando la mortalidad del control es menor al 5% esta fórmula no se utiliza porque se considera que no es

significativa la mortalidad; mientras que cuando ésta se excede del 20% en los controles, hay que repetir la experiencia, ya que no se puede discriminar la causa de mortalidad.

$$\% \text{mortalidad corregida} = (X - Y / X) \times 100$$

Donde;

X: % de larvas vivas en el control

Y: % de larvas vivas en el tratamiento

En esta experiencia fue necesaria la utilización de esta fórmula sólo en las larvas de los controles de quinto instar, ya que en éstas excedió el 5% de mortalidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las figuras 3 y 4 muestran el porcentaje de mortalidad de las larvas de tercer estadio de *Hylesia metabus*, luego de la aplicación de diferentes concentraciones del larvicida Dipel[®], durante 24 horas. Al estudiar el efecto de cada una de estas concentraciones sobre el total de larvas de tercer estadio de *H. metabus*, se encontró que con la mayor concentración de 1024 ppm, el porcentaje de mortalidad causado por este larvicida fue de 72,0%, durante los seis días de ensayo, con la mayor tasa de mortalidad entre el tercer y el quinto día (Figura 3). Esta fue seguida por las concentraciones de 256 y 64 ppm que mostraron tasas de mortalidades muy similares, con mortalidades finales de 54,6% y 53,3%, respectivamente (Figuras 2 y 3). Además, se observó que a medida que disminuyó la concentración del producto disminuyó la mortalidad, encontrándose la menor mortalidad en la concentración de 4 ppm con un 18,6%. Las larvas utilizadas como control se mantuvieron vivas durante los seis días de experimento.

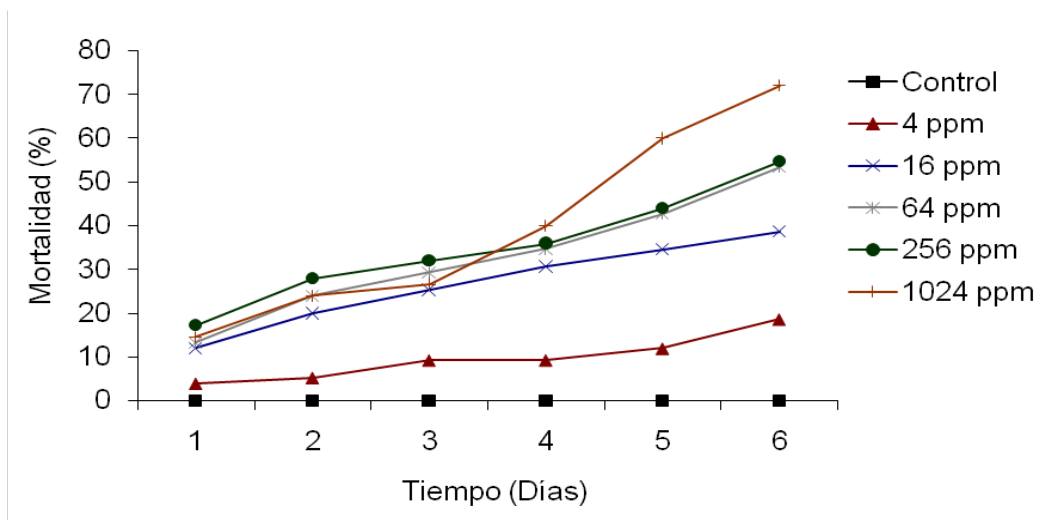


Figura 3. Efectividad del larvicida Dipel[®] 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre las larvas de tercer estadio de *H. metabus*, durante un período de seis días.

Al relacionar el porcentaje de mortalidad de las larvas de tercer estadio con las concentraciones del producto (Figura 4), se observa que a medida que aumenta la concentración del producto (Dipel® 8L) a base de Btk, aumenta la mortalidad, sin embargo, no existió correlación entre estas dos variables ($r = 0,78$) ($p > 0,05$).

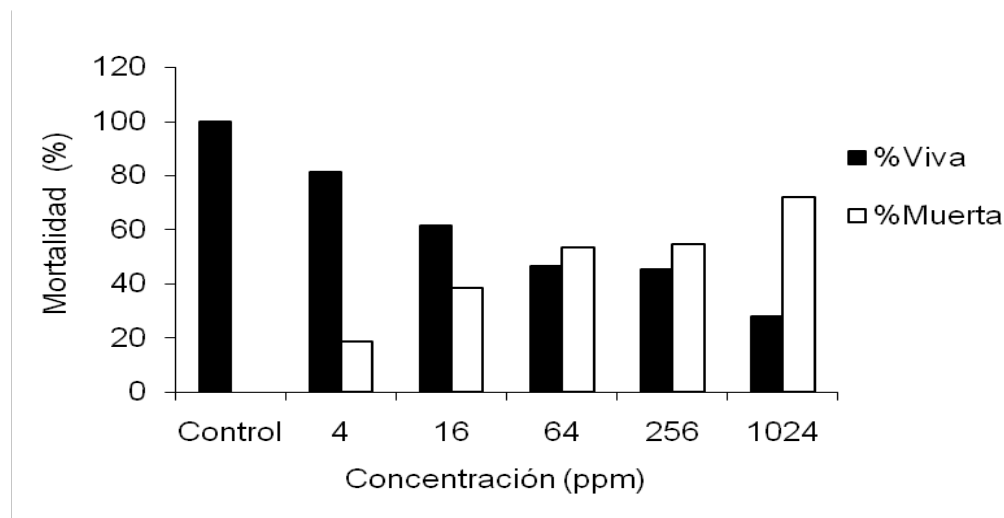


Figura 4. Porcentaje de mortalidad de las larvas de tercer estadio de *H. metabus* en función a las concentraciones del larvicida Dipel® 8L.

El comportamiento de alimentación de las larvas del tercer estadio de *H. metabus* en función a las concentraciones de Dipel® 8L se muestra en figura 5, en donde se indica que la mayoría de las larvas no comieron del disco de hoja, tanto en los tratados con el producto antes mencionado como en los controles durante las primeras 24 horas de ensayo. Sólo el 30,7% de las larvas del control comieron de 1 a 25% del disco de hoja de *L. racemosa* y las larvas tratadas entre 22,7% (concentración 1024 ppm) y 46,7% (4 ppm). Un pequeño porcentaje menor de 3,0% de las larvas de control, 4 y 16 ppm comieron de 26 a 50% del disco de hoja. No hubo larvas del control ni de las concentraciones que comieran más del 50,0% del disco de hoja, esto pudo deberse a que las larvas de los primeros estadios son muy pequeñas, por lo tanto, no comen grandes cantidades de hojas.

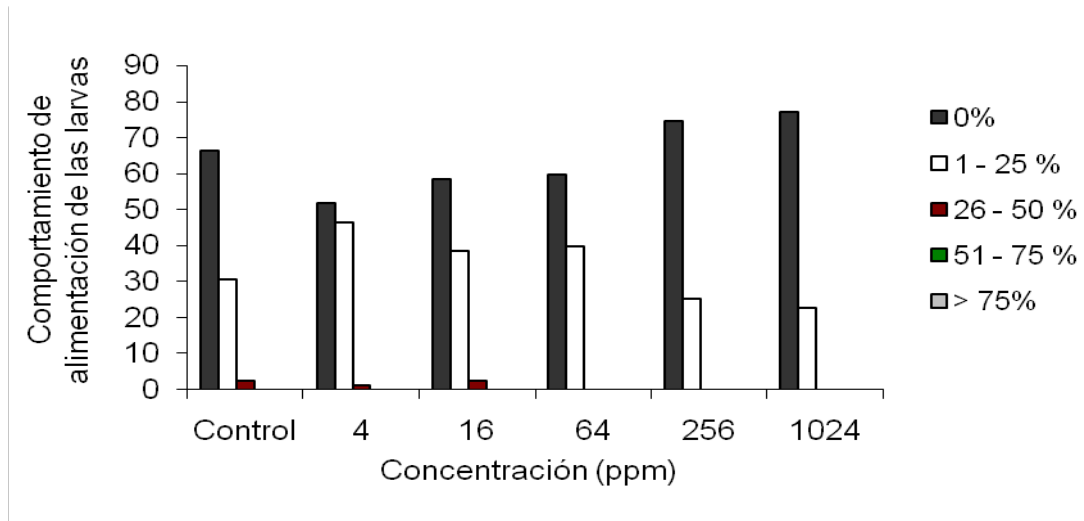


Figura 5. Comportamiento de alimentación de las larvas de tercer estadio de *H. metabus* infectadas por diferentes concentraciones de Dipel® 8L en un período de 24 horas.

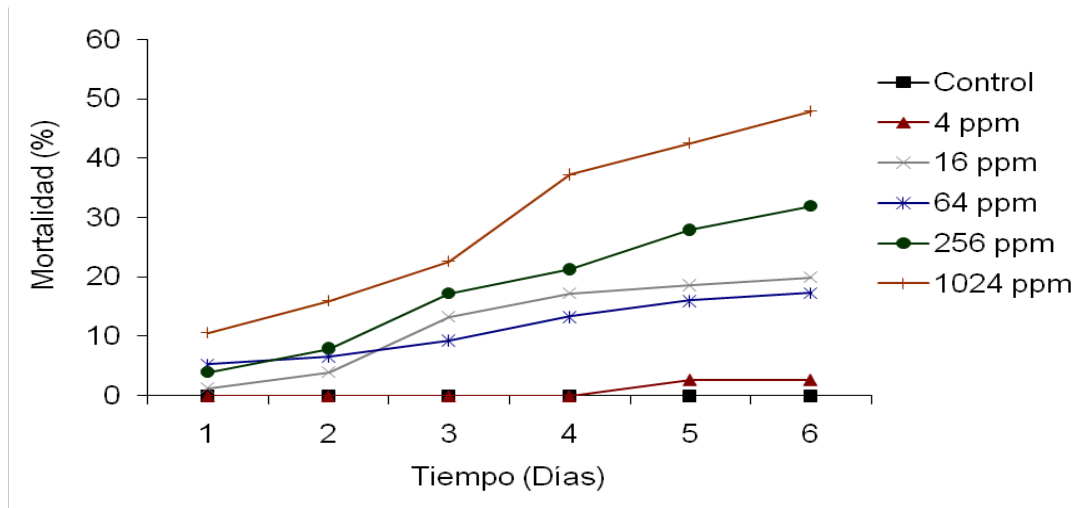


Figura 6. Efectividad del larvicida Dipel® 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre las larvas de cuarto estadio de *H. metabus*, durante un período de seis días.

La figura 6, muestra la mortalidad en porcentajes de las larvas del cuarto estadio de *H. metabus* durante un período de seis días. La mayor mortalidad de 48% se obtuvo en la concentración más alta (1024 ppm). La concentración de 16 ppm

señala una tasa de mortalidad de 20%, la cual es mayor a la concentración de 64 ppm (17,3%). Además se observa que las larvas de la concentración 4 ppm presentaron un comportamiento similar a las larvas del control durante los primeros cuatro días de ensayo, después del cuarto día las larvas de la concentración 4 ppm comenzaron a presentar mortalidad alcanzando una tasa de 2,6% en su totalidad, al compararla con las otras concentraciones de 16, 64, 256 y 1024 ppm, se pudo observar que éstas presentaron su mayor tasa de mortalidad entre el tercer y quinto día de experimento.

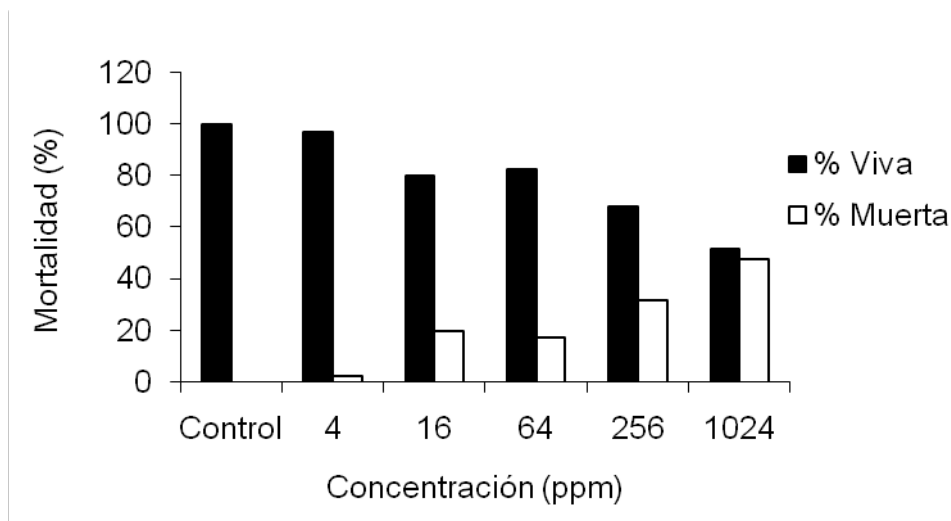


Figura 7. Porcentaje de mortalidad de las larvas de cuarto estadio de *H. metabus* en función a las concentraciones del larvicida Dipel® 8L.

En la figura 7, se puede observar la mortalidad de las larvas de cuarto estadio de *H. metabus* en función a la concentración del larvicida Dipel® 8L, en ésta se ilustra claramente que hubo una menor mortalidad de las larvas de este estadio con respecto a la mortalidad de las larvas de tercer estadio, sin embargo, al igual que las larvas de tercer estadio la mortalidad aumentó progresivamente a medida que aumentaba la dosis del producto, en este caso hubo correlación entre el porcentaje de mortalidad de las larvas de cuarto estadio y la concentración del producto Dipel® 8L a base de Btk ($r = 0,89$) ($p < 0,05$).

La figura 8, representa el comportamiento de alimentación de las larvas del cuarto estadio de *H. metabus* durante un período de 24 horas de ensayo, la cual indica que el 42,6% de las larvas de control comieron de 51 a 75% de disco de hojas de *L. racemosa*, y la mayoría de las larvas de la concentración 4 ppm no comieron del disco de hoja infectada con el larvicida Dipel® 8L, un pequeño porcentaje (26,7%, 2,7% y 1,4%) de las larvas usadas en las concentraciones 4, 16 y 64 ppm comieron de 26 a 50% de disco de hoja infectado con el producto y la mayoría de las larvas que se encontraban en contacto con las concentraciones de 16, 64, 256, y 1024 ppm comieron entre 1 a 25% del disco de hoja infectado. Algunas larvas expuestas a la concentración de 4 ppm llegaron a comer de 51 a 75% del disco de hoja; solamente el 4% de las larvas del control comieron más del 75% de disco de hoja y ninguna larva expuesta a las diferentes concentraciones del producto llegó a comerse más del 75% del disco de hoja infectado.

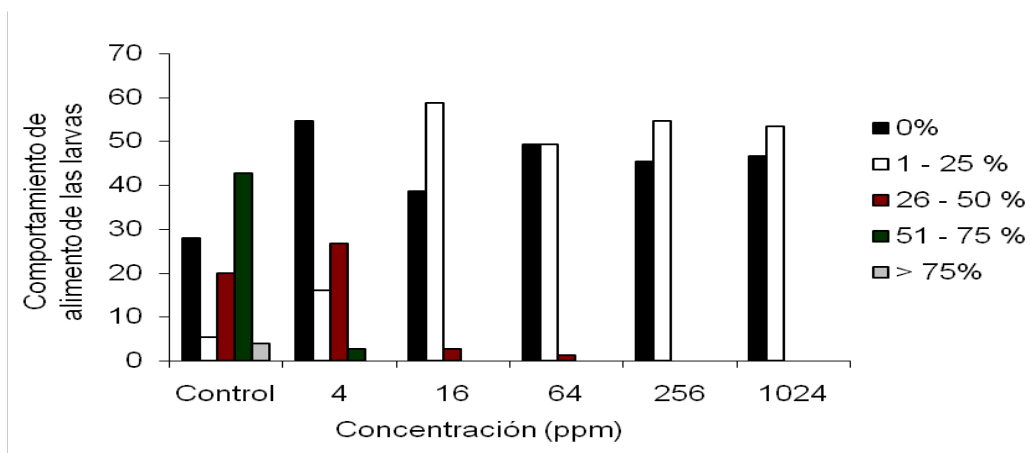


Figura 8. Comportamiento de alimentación de las larvas de cuarto estadio de *H. metabus* infectadas por diferentes concentraciones de Dipel® 8L en un período de 24 horas.

El porcentaje de mortalidad de las larvas del quinto estadio de *H. metabus*, se visualiza en las figuras 9 y 10. La concentración de 1024 ppm causó una mortalidad del 100,0% de las larvas y la menor mortalidad se reflejó en la concentración de 4

ppm con 56,0%. Además, se observa que la concentración de 16 ppm causó la muerte de un 78% de las larvas, ésta es mayor a la mortalidad de la concentración de 64 ppm (70%). En todas las concentraciones se registró la mayor tasa de mortalidad desde el primer día de ensayo hasta el tercer día (Figura 9). También se puede observar que en las larvas usadas como control hubo una mortalidad del 10%, la cual empezó a registrarse a partir del quinto día de ensayo, por lo tanto, en este estadio los porcentajes de mortalidad de los controles se corrigieron de acuerdo a la fórmula de Abbott (Abbott, 1925). Además, al igual que las larvas de tercer y cuarto estadio la mortalidad aumentó progresivamente a medida que aumentaba la dosis del producto, sin embargo, no existió correlación entre las dos variables ($r = 0,79$) ($p < 0,05$).

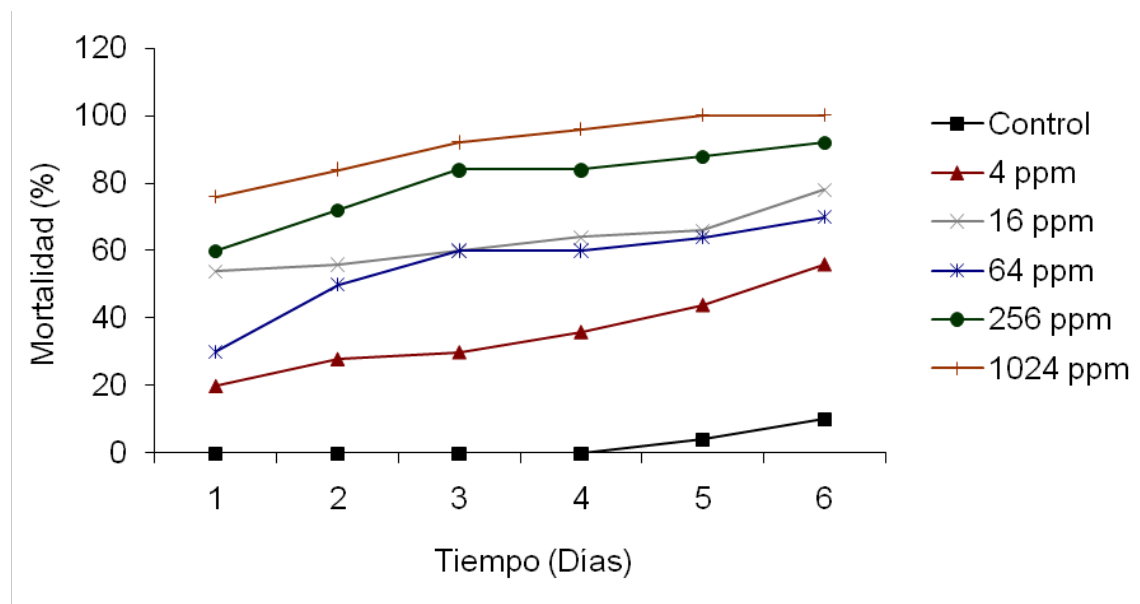


Figura 9. Efectividad del larvicida Dipel® 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre las larvas de quinto estadio de *H. metabus*, durante un período de seis días.

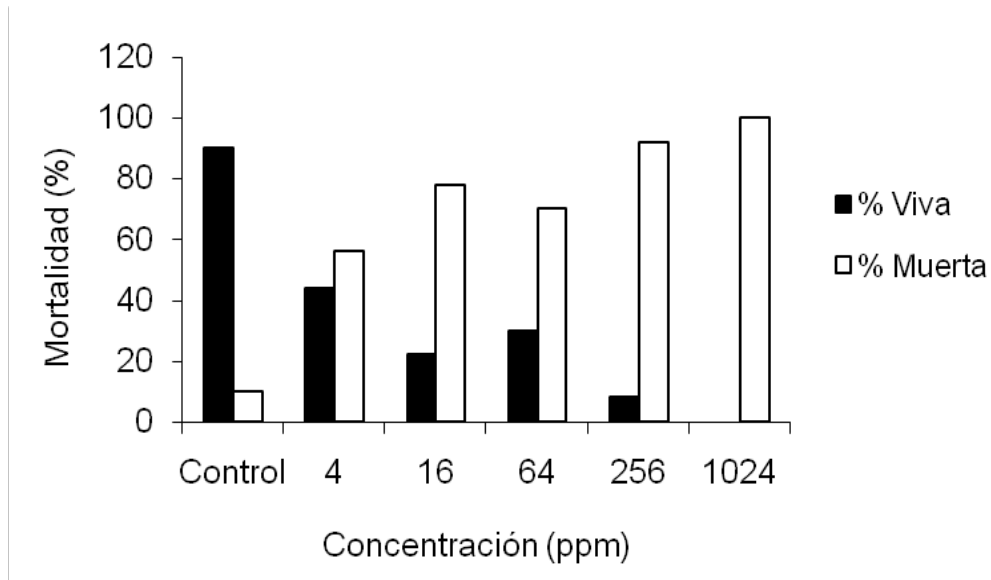


Figura 10. Porcentaje de mortalidad de las larvas de quinto estadio de *H. metabus* en función a las concentraciones del larvicida Dipel® 8L.

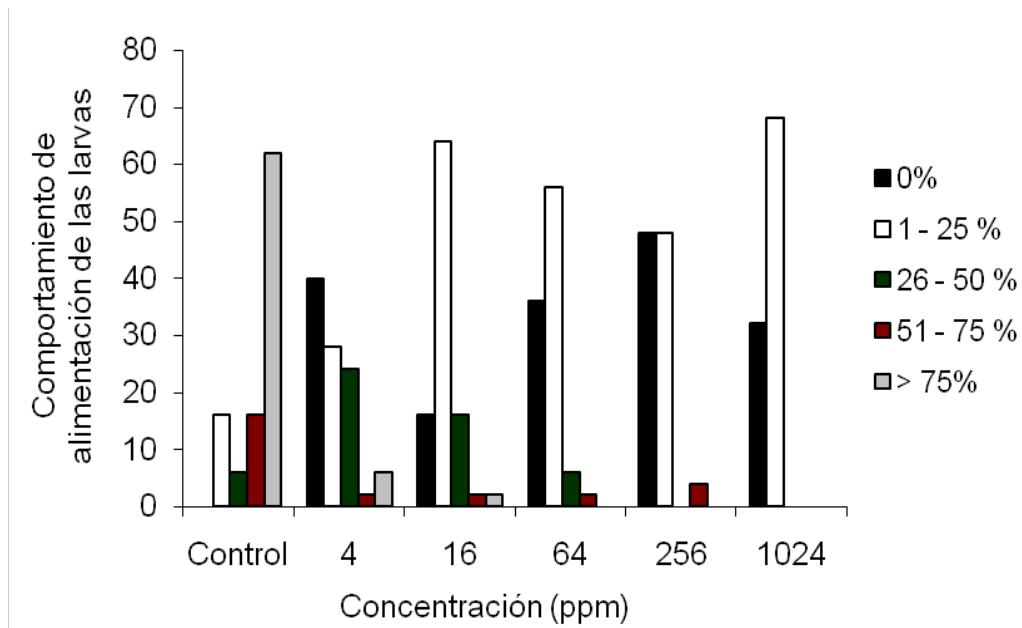


Figura 11. Comportamiento de alimentación de las larvas de quinto estadio de *H. metabus* infectadas por diferentes concentraciones de Dipel® 8L en un período de 24 horas.

El comportamiento de alimentación de las larvas de quinto estadio de *H. metabus*, en función a la concentración del larvicida Dipel® 8L a base de Btk en un período de 24 horas se muestra en la figura 11, el 16% de las larvas del control comieron entre el 1 a 25% del disco y el 62,0% de éstas comieron más del 75% del disco de hoja. En las concentraciones 4 y 16 ppm un 40,0% y 16,0% de las larvas no comieron el disco de hojas infectado con el producto, sin embargo, el resto de larvas comieron desde 1 a 25% hasta más del 75% de éste, en estas concentraciones. El 56,0% y 48,0% de las larvas de las concentraciones 64 y 256 ppm comieron de 1 a 25% de disco de hoja infectado y sólo el 2 y 4% de las mismas comieron de 51 a 75% de disco infectado. El 68% de las larvas expuestas a la concentración de 1024 ppm comió de 1 a 25% del disco de hoja infectado. A partir de las concentraciones 64 ppm hasta 1024 ppm no hubo larvas que comieran más del 75% del disco infectado.

Tabla 1. Resultados de la Correlación de Spearman entre el porcentaje de mortalidad y la concentración del Dipel® 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* en las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *H. metabus*.

Estadios	Variables	r	Significancia
Tercer	Mortalidad V _s Concentración	0.78	NS
Cuarto	Mortalidad V _s Concentración	0.89	*
Quinto	Mortalidad V _s Concentración	0.79	NS

NS = No significativo

* indica correlación significativa (p<0.05).

La prueba de correlación de Spearman mostró que existió una correlación entre el porcentaje de mortalidad de las larvas y la concentración del Dipel® 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, sólo en las larvas de cuarto estadio de *H. metabus* (p< 0,05) (Tabla 1). Sin embargo, en las larvas de tercer y quinto estadio no existió correlación entre el porcentaje de mortalidad de las larvas y la concentración del producto Dipel® 8L (p>0,05).

Al comparar el comportamiento de alimentación de las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio (Figuras, 5, 8 y 11), se observa claramente que las larvas expuestas a las concentraciones de 4 ppm comían más del disco infectado, pero la mortalidad era menor. Esto pudo deberse a que la solución estaba muy diluida y la cantidad del complejo espora cristal que se encuentra distribuido en el disco es menor, en comparación con los discos de las concentraciones más altas, pero se pudo observar en todos los estadios larvales y en cada concentración, que una vez que las larvas estaban en contacto con el producto comenzaron a presentar ciertos síntomas como: decoloración, pérdida de la movilidad, pérdida del apetito, flacidez y secreciones por la boca y ano. Gueldner *et al.*, (1992) explicó que cuando una larva ingiere follaje que contenga *B. thuringiensis*, por lo general deja de alimentarse, debido a una parálisis intestinal, lo que por consecuencia no permite el desarrollo larval y afecta el fenómeno de alimentación, producto de la intoxicación bacteriana, tal como lo reportan Navon *et al.*, 1992 y Stapel *et al.*, 1998.

La tabla 2, muestra los resultados de la prueba Chi-Cuadrado (χ^2) en relación al comportamiento de alimentación de las larvas (comieron o no comieron del disco de hoja infectado durante las primeras 24 de ensayo) y la mortalidad de las mismas, en la cual se visualiza que no hubo relación entre el comportamiento de alimentación de las larvas de tercer estadio y la mortalidad en las concentraciones 4, 16, 64 y 256 ppm, Prueba de Chi-cuadrado (χ^2) ($p > 0,05$). No obstante, hubo un aumento de la mortalidad con un aumento en la concentración del producto y a su vez, hubo una tendencia de las larvas a comer menos con un aumento de la concentración del producto (Figura 5). Por lo tanto, el porcentaje de mortalidad de las larvas pudo deberse a la susceptibilidad de las larvas de este estadio al producto Dipel® 8L a base de Btk y no a la cantidad de hoja comida con éste.

Tabla 2. Resultados de la prueba Chi-Cuadrado (χ^2) en relación al comportamiento de alimentación de las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *H. metabus* durante un período de 24 horas y la mortalidad final de las mismas.

Estadios	4 ppm	16 ppm	64 ppm	256 ppm	1024 ppm
Tercer	0,18	4,12 ⁻⁰⁵	2,00	1,94	----
Cuarto	----	0,22	10,91*	3,72	7,22*
Quinto	7,06*	----	0,61	----	----

* indica diferencia significativa, según Prueba de Chi – Cuadrado (χ^2) ($p < 0,05$).

---- indica valores teóricos demasiado pequeños, no se aplica la Prueba de Chi – Cuadrado (χ^2) no se puede asegurar la fiabilidad de los resultados.

La prueba del Chi-cuadrado (χ^2) mostró que hubo una relación entre el comportamiento de alimentación de las larvas de cuarto estadio y la mortalidad de las mismas sólo en las concentraciones de 64 y 1024 ppm, ($p < 0,05$) (Tabla 1). Por lo tanto, existió una mayor probabilidad que las larvas que comieron más de lo esperado del disco de hoja infectada murieran en comparación con las que no comieron, esto se ve reflejado en la figura 7; sin embargo, en las larvas de quinto estadio sólo se registró relación entre el comportamiento de alimentación de las larvas y la mortalidad de las mismas en la concentración de 4 ppm, ($p < 0,05$), sin embargo, no hubo una relación en el comportamiento de alimentación en el resto de las larvas y la mortalidad en las otras concentraciones, tanto de cuarto y quinto estadio ($p > 0,05$). Igualmente en algunos casos (----) los valores teóricos no cumplían con los parámetros para aplicar la prueba estadística (Tabla 1).

Se esperaba que el complejo espora cristal fuera ingerido para que produjera un efecto tóxico, o fuera, capaz de producir un deterioro en el desarrollo de las larvas de *H. metabus*, hasta provocar la muerte de las mismas; pero se pudo observar en la presente investigación que las larvas eligen no comer cuando la hoja está infectada con el producto, lo cual pasaba mayormente con las larvas que se encontraban en

contacto con los discos de mayor concentración, sin embargo, se registró mortalidad de las larvas, aún comiendo menos de lo esperado del disco de hoja infectado con el producto durante las primeras 24 horas de ensayo.

El porcentaje de mortalidad de quinto estadio fue mayor en comparación a las larvas de tercer estadio, que a su vez mayor que el porcentaje de mortalidad de las larvas de cuarto estadio (Figura 11). Las larvas de quinto estadio deberían de ser más resistentes en comparación a las larvas de tercer y cuarto estadio por su tamaño; sin embargo, estas larvas se exponen más a las condiciones del medio ambiente en busca de comida (hojas frescas de *L. racemosa*) para su sobrevivencia, por lo tanto, estas larvas poseen menor cantidad lisozimas, la cual es una defensa innata, según Motaban *et al.*, (2000). Además estas larvas tienden a comer mayor cantidad de disco infectado con la mayor probabilidad de ingerir mayor cantidad del complejo espora cristal, el cual se activa en el intestino de la larva produciendo un desequilibrio osmótico del mismo.

En la Figura 12, se visualiza que la mortalidad de las larvas de tercer estadio es mayor que la de cuarto estadio. Las larvas de tercer estadio son más sensibles porque tienen poco tiempo de desarrollo, a pesar de que estas larvas comieron una pequeña cantidad del disco de hoja infectado, la mortalidad es mayor en comparación con la cantidad de disco infectado que comieron las larvas del cuarto estadio. El menor porcentaje de mortalidad del cuarto estadio, posiblemente pudo deberse a que en este estadio larval existieron los mecanismos de resistencia, donde las larvas comienzan a desarrollar factores inmunitarios, como ejemplo las lisozimas, las cuales son los factores humorales mejor conocidos en las defensas del insecto.

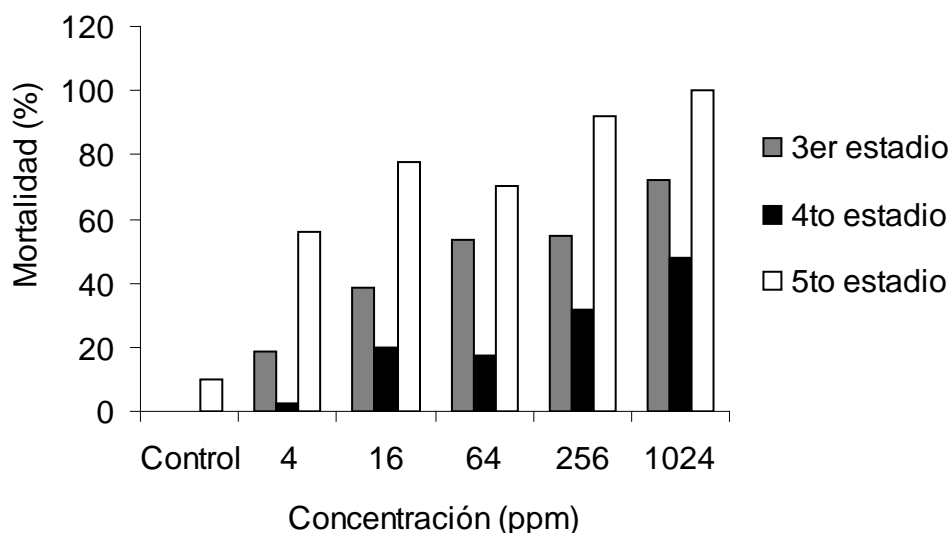


Figura 12. Porcentaje de mortalidad de larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *H. metabus* en función a las concentraciones del larvicida Dipel[®] 8L.

Las regresiones entre el logaritmo de las dosis y las mortalidades larvarias (Probit), permitieron analizar en detalle las susceptibilidades de los diferentes estadios larvales de *H. metabus* (Tabla 3). Las larvas de cuarto estadio fueron menos sensibles a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* con una CL_{50} de 1314 ppm, las larvas de tercer estadio fueron más susceptibles con un CL_{50} de 86,77 ppm, por último las larvas de quinto estadio fueron las más susceptibles con un CL_{50} de 2,95 ppm.

Tabla 3. Resultados del análisis Probit para determinar la concentración letal (CL_{50}) del producto Dipel[®] 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, sobre las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *H. metabus*.

.Estadios	CL_{50}	Pendiente \pm DS	LC
Tercer	86,77 ppm	0,54 \pm 0,08	49,30 – 159,83
Cuarto	1 314,0 ppm	0,61 \pm 0,09	289 - 2 198 683
Quinto	2,95 ppm	0,77 \pm 0,17	0,59 – 6,64

CL_{50} = concentración letal 50%, DS = desviación estándar, LC = límite de confianza.

El larvicida Dipel[®] 8L, a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, ofrece mayor potencialidad en las larvas de quinto estadio de *H. metabus*, pues en éstas se logró un 56,0% de la mortalidad las larvas con la concentración mas baja (4 ppm), hasta alcanzar un 100% de mortalidad de las mismas en la concentración de 1024 ppm; siguiendo su efectividad en las larvas de tercer estadio con un 72% de mortalidad en la concentración de 1024ppm; mientras que en las larvas de cuarto estadio se presentó la menor eficacia del producto, por lo tanto, para causar más del 50,0% de mortalidad de estas larvas se necesita una gran cantidad de producto. Estas diferencias en la susceptibilidad de las larvas reducen las ventajas para la aplicación del Dipel[®] 8L a base de Btk, y resalta la necesidad de conocer el estadio de la población larval antes de asperjar el producto, para poder aplicar la dosis necesaria para causar mortalidad efectiva en las larvas de cuarto estadio.

Según Motaban *et al.*, (2000), en un estudio realizado con larvas sanas y tratadas de *H. metabus*, midieron los niveles de lisozimas después de 6, 12 y 24 horas post-infección, obteniéndose concentraciones menores en el quinto instar y mayores el tercero instar, y Tovar (2001), en el estudio de microscopía electrónica sobre las larvas de *H. metabus*, sugiere que las altas concentraciones de lisozimas presentes en algunos instares larvales, pudieran ser uno de los factores, que permitió que los daños causados por la bacteria patógena fueran más leves en algunas larvas en comparación con los otros estadios. Aunque no se han encontrado estudios sobre las cantidades de lisozimas presentes en larvas de cuarto estadio de *H. metabus*, posiblemente estas enzimas se encuentran aumentada en este estadio larval, es por ello que las larvas de cuarto estadio presentan mayor resistencia al producto aplicado.

Los efectos causados a las larvas de *Hylesia metabus*, por la acción de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, fueron similares a los encontrados en otras especies de lepidópteros. En un estudio realizado por Ramos *et al.*, 2004, en Lara y Portuguesa, Venezuela, evaluaron cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* mediante

bioensayos frente a *Diatraea saccharalis*, la cual conforma una de las plagas más importantes del cultivo de la caña de azúcar. La cepa más tóxica, presentó un 73% de mortalidad en las larvas. Además, señalaron que *B. thuringiensis* presenta mayor toxicidad en los primeros instares larvarios de los insectos susceptibles. El presente estudio no coincide con el trabajo antes mencionado debido a que en este estudio se encontró que las larvas de quinto estadio son más susceptibles a la bacteria patógena del producto comercial Dipel® 8L.

En siete períodos evaluados entre los años 1985 y 1986, *Bacillus sp* produjo el 78,5% y 84,5% de mortalidad en las larvas de *H. metabus* del Golfo de Paria (Vásquez y Olivares 1984), y a nivel de laboratorio, lograron erradicar en un 100% a las larvas de este satúrnido, este planteamiento concuerda con lo establecido en las larvas de quinto estadio del presente trabajo. En fase experimental en el campo, la bacteria también causa niveles de mortalidad mayor de 80%. No obstante, las larvas de *H. metabus* son afectadas por la bacteria entre el tercer y quinto instar, lo que reduce sustancialmente el tiempo efectivo de ésta y baja su eficiencia como agente de control (Vásquez, 1994).

Delgado (1996), en su estudio de implicaciones ecofisiológicas de la introducción de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* como controlador biológico de *Anopheles aquasalis*, plantea que la bacteria, al estar suspendida en el agua es ingerida por las larvas durante el proceso de alimentación, por lo que la eficacia o el efecto letal de la toxina bacterial sobre la larva dependerá básicamente de la cantidad de toxina ingerida en un tiempo determinado. En el presente estudio que se realizó a nivel de laboratorio se pudo determinar que las larvas de *H. metabus*, no necesariamente tienen que consumir grandes cantidades del producto Dipel a base la bacteria Btk que se encuentra distribuida sobre el disco de hoja de mangles, para que le produzca un efecto letal sobre las mismas, por lo tanto debe existir un mecanismo por el cual la bacteria se activa en el interior de las larvas y puede ser por la absorción

cutánea o por inhalación traquear, ya que, este último es el mecanismo de respiración de las larvas.

En general, Btk es el organismo entomopatógeno más utilizado para el control de insecto plaga del orden lepidóptera, debido a que presenta un tipo de proteína que tiene actividad contra las larvas de este orden, y esta es una de las razones principales por las que se realizan bioensayos para comprobar la eficacia que tiene sobre las larvas de diferentes especies de lepidóptera. Carmona (2002), realizó bioensayos con esta bacteria, sobre las larvas del primer instar de gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera), utilizando el complejo espora cristal, donde comprobó la eficacia de 90,0% de mortalidad. Además, este insecto es una plaga importante en el cultivo de maíz y otros de interés económico, tales como pimentón, tomate y algodón (Apablaza y Vaughhan, 1990).

También se evaluó la susceptibilidad de varias poblaciones de *Plutella xylostella* a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, Los resultados se sometieron a análisis Probit, el cual permitió analizar en detalle la susceptibilidad de las poblaciones, en donde la población de Paine fue menos sensible a *B. thuringiensis*, con una CL₅₀ de 63 ppm. Sin embargo, esta CL₅₀ no sobrepasa la mayor dosis recomendada; las larvas de Quillota y La Pintana fueron más susceptibles, con CL₅₀ de 10,0 y 18,0 ppm, respectivamente (Garrido y Araya, 1997).

Por otra parte García (1991), determinó el efecto de tres productos insecticidas, Deltametrina, Diazinón y *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, en el control de larvas de *Plutella xylostella* y *Leptophobia aripa*, en cultivos de repollo, en la estación experimental Cataurito, estado. Aragua, utilizando un diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones. Los mejores productos insecticidas resultaron ser *B. thuringiensis* y la Deltametrina, mientras que Diazinón mostró poco efecto en el control de las plagas.

Estudios sobre el modo de acción de la bacteria revelan que el órgano de ataque primario es el epitelio del intestino medio de las larvas de *H. metabus* donde los sistemas enzimáticos (proteasas), favorecido por las condiciones altamente alcalinas, transforman la protoxina en toxina verdadera (Lacey, 1985); esto provoca una hipertrofia disruptiva de la integridad de la membrana plasmática con la consecuente lisis de las células que conforman el tejido epitelial (Margalit, 1989).

En el año 2001, Tovar planteó que en las larvas de *H. metabus* infectadas los cambios presentados fueron disminución de las microvellosidades, aumento en el número y tamaño de las vacuolas en el citoplasma, pérdida de la integridad celular, entre otros, estos daños fueron más graves en las larvas del quinto instar en comparación con las larvas del tercer instar que sufrieron menos daños. En el presente estudio, la acción del producto a base de *B. thuringiensis* se presentó mayormente las larvas del quinto estadio, seguido del tercer y por último las larvas de cuarto fueron las menos susceptibles. Por lo tanto, se recomienda el uso de *B. thuringiensis* tomando en consideración los estadios larvarios en el campo, ya que hasta los momento no se tiene información sobre los mecanismos de defensa de las larvas de cuarto estadio.

CONCLUSIONES

Los estudios realizados a las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *H. metabus* han permitido demostrar:

El larvicida Dipel® 8L a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, tiene mayor efecto sobre las larvas de quinto, seguido por las de tercer estadio con una concentración de 1024 ppm, pero menor efectividad sobre las larvas de cuarto estadio.

La mortalidad de las larvas no se produce necesariamente por la ingesta de grandes cantidades de discos de hoja infectadas con el producto, a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*.

No se pudo determinar las causas de la falta de efectividad del larvicida Dipel® 8L a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* en las larvas de cuarto estadio.

RECOMENDACIONES

Profundizar más las respuestas inmunológicas de las larvas de cuarto estadio de *H. metabus* frente al patógeno *B. thuringiensis*.

Realizar estudios sobre aislados nativos de *B. thuringiensis* con actividad tóxica para el control de estos insectos.

Mejorar el monitoreo de las poblaciones de *H. metabus* en todos sus estadios larvales, para permitir un manejo apropiado de la aplicación del producto Dipel® 8L a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*.

La aplicación del larvicida Dipel® 8L, a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, debe hacerse con precaución sobre las larvas de cuarto estadio de *H. metabus*.

BIBLIOGRAFÍA

Abbott, W. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*, 18: 265-267.

Apablaza, J. y Vaughan, M. 1990. Plagas de las hortalizas. Manual de manejo integrado. B. Latorre (ed.) Oficina Regional de la FAO. Chile.

Benaím, C.; Rosales, B. y Peralta, R. 1991. Dermatitis caused by moths of *Hylesia* genus (Lepidoptera: Saturniidae) in northeastern states of Venezuela: I. Bioecology of *Hylesia metabus* Crammer. Clinical features of lepidopterism determined by this species. *American Journal of Contact Dermatitis*, 2(4): 213-221.

Carmona, A. 2002. Aislamiento y caracterización parcial de una cepa de *Bacillus thuringiensis* tóxica a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bioagro*, 14(1): 3-10.

Delgado, N. 1996. Implicaciones ecofisiológicas de la introducción de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* como controlador biológico de *Anopheles aquasalis* (Diptera: culicidae). Tesis de Doctorado. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.

Dinehart, S.; Archer, M.; Wolf, J.; McGaveran, M.; Reitz, C. y Smith, E. 1985. Caripito Itch: dermatitis from contact with *Hylesia* moths. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 13: 734-747.

Ferrer, F. 2001. Biological control of agricultural insect pests in Venezuela; advances, achievements, and future perspectives. *Biocontrol News and Information*, 22 (3): 67-74.

Fornés, L. y Hernández, J. 2001. Reseña histórica e incidencia en la salud pública de *Hylesia metabus* Crammer (Lepidoptera: Saturniidae) en Venezuela. *Entomotropica*, 16(2): 137-141.

García, J. 1991. Efecto de Diazinon, Deltametrina y *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* en el control de larvas de Lepidoptera en siembra de repollo. *Boletín de Entomología Venezolana*, 6 (1): 19-25.

Garrido, C. y Araya, J. 1997. Susceptibility of several populations of *Plutella xylostella* to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Investigación Agrícola*, 17(1): 35-38.

Germanetto, P. 1982. Guyanese moth allergy (*Hylesia guyanaise*) French seventh edition. Mac Millan Publishing Co. Inc. New York.

Gueldner, R.; Snook, M.; Widstrom, N. y Wiseman, B. 1992. TLC screen for maysin, chlorogenic acid, and other posible resistance factors to the fall armyworm and the corn aerworm in *Zea mays*. *Journal Agric Food Chemycal*, 40: 1211-1213.

Hill, W.; Rubenstein, A. y Kovacs, J. 1948. Dermatitis resulting from contact with moths (Genus *Hylesia*). Report of cases. *Jama*, 138: 737-740.

Höfte, H. y Whiteley, H. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, 53: 242-255.

Ibarra J. y López, J. 1997. Desarrollo de resistencia a *Bacillus thuringiensis*. *Agrociencia*, 31: 121-131.

Jorg, M. 1969. Nódulo inflamatorio subcutáneo por espículas de *Hylesia fulviventris* (Lepidóptero). *Boletín Chileno de Parasitología*, 24: 45-150.

Lacey, L. 1985. *Bacillus thuringiensis* serotype H-14. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 6: 132 – 157.

Lecuona, R. 1996. Control microbiano utopia o realidad. *Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga*. Talleres Gráficos Mariano Mas. Buenos Aires.

Lundberg, U.; Osborn, F.; Carvajal, Z.; Gil, A.; Guerrero, B. y Arocha, C. 2002. Isolation and partial characterization of a protease with kallikrein-like activity from the egg-nest of *Hylesia metabus* Cramner 1775 (Lepidoptera: Saturniidae), Preliminary communication. *Revista científica FCV-LUZ*, 12(2): 97-102.

Margalit, J. 1989. Biological control by *Bacillus thuringiensis* subsp *israelensis* (Bti); history and presents status. *Israel Journal Entomology*, 23: 3 – 8.

Martínez, J. 1986. Informe sobre Invasión de mariposas Alergizantes. Hospital Centro de Salud Irapa.

Moermans, R. y Hecke, P. 1995. Effect of sample size and number of doses for the determination of LD50. *Journal of Applied Entomology*, 119:637-642.

Motabán, L.; Osborn, F. y Nusetti, O. 2000. Actividad lisozimica y fagocítica en larvas de *Hylesia metabus* (Lepidoptera: Saturniidae) sanas e infectadas con una bacteria patógena. *Acta Científica*, 51(2): 147.

Navon, A.; Federici, B.; Walsh, T. y Peiper, U. 1992. Mandibular adduction forte of *Heliothis virescens* (Lepidoptera. Noctuidae) larvae fed the insecticidal crystals of Bt. *Journal Economic Entomology*, 86(6): 2138 – 2143.

Osborn, F.; Motabán, L. y Gutiérrez, J. 2001. Crecimiento y supervivencia de las larvas de *Hylesia metabus* Crammer (Lepidoptera: Saturniidae) alimentadas con cuatro diferentes plantas hospederas. *Saber*, 13 (1): 14-22.

Ramos, F.; Carmona, A.; Béres, M. y Méndez, N. 2004. Evaluación de aislamientos de *Bacillus thuringiensis* tóxicos a *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Bioagro*, 16(3): 183-188.

- Rodríguez, A.; Rubiano, H.; Reyes, M. y Fernández, C. 1998. Dermatitis causada por *Hylesia metabus* (Lepidoptera: Hemileucidae) en la región costera del estado Delta Amacuro, Venezuela. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 50(3): 215-217.
- Rodríguez, J.; Hernández, J.; Fornés, L. y Lundberg, U. 2004. Exterminal morphology of abdominal setae from male and female *Hylesia metabus* adults (Lepidoptera: Saturniidae) and their function. *Florida Entomologist*, 87(1): 30-36.
- Schnept, E. y Whiteley, H. 1985. Delineation of a toxina-emoding segment of a *Bacillus thuringiensis* crystal protein gene. *Journal of Biological Chemistry*, 260: 62-73.
- Siegel, S. y Castellan N. 1988. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. London, New York. McGraw-Hill.
- SPSS. Inc. 1996. SPSS. Base 7.0 for Windows computer program manual. Statsoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA.
- Stapel, J.; Deborah, J.; Ruberson, J. y Joe, W. 1998. Development and behavior of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in choice test with food substrates containing toxins of Bt. *Biological Control*, 11(1): 29 – 37.
- Tovar, M. 2001. Estudio por microscopía electrónica de los efectos causados en el mesenterón de las larvas de *Hylesia metabus* (Lepidóptero: Saturniidae) por ingesta de *Bacillus sp.* Trabajo de Pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Vásquez, L. y Olivares, M. 1984. La palometa *Hylesia sp* un problema ecológico en la región Oriental de Venezuela. IX congreso Venezolano de Entomología. Libro de resúmenes, Resumen N° 39. San Cristóbal, Venezuela.
- Vásquez, L. 1994. Estudios bioecológicos y estrategias de control de la palometa *Hylesia metabus* Cramer, (Lepidoptera: Saturniidae) en la Región Oriental. Períodos 1985-1987 y 1991-1993. Informe final correspondiente a esta investigación.
- Vásquez, L. 1990. Estudio bioecológico y tácticas de control de la palometa *Hylesia metabus* Cramer, en el oriente de Venezuela. *Saber*, 3(1): 14-20.
- Vassal, J.; Barjae, H.; Frutos, R. y Federice, B. 1993. Isolation of *Bacillus thuringiensis* Subs. *israelensis* from diseased field collected larvae of the Saturniidae moth, *Hylesia metabus*, in French Guiana. *FEMS Microbiology Letters*, 107: 199-204.
- Vicente, S. 1952. Dermatitis producidas por mariposas. Algunas observaciones sobre un brote estudiado en Venezuela. *Acta científica*, 3: 88-90.

Hoja de Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	Evaluación de la efectividad del larvicida dipel® 8I, a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>Kurstaki</i> sobre las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de <i>Hylesia metabus</i> Cramer (Lepidoptera: Saturniidae)
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Tivardy Carolina Guzmán Parra	CVLAC	14.993.809
	e-mail	tivardy@hotmail.com
	e-mail	tivardyguzman@yahoo.es
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Hylesia metabus</i> (Palometa Peluda)
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>
Control Biológico

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se evaluó la eficacia de una formulación comercial de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, (Btk) Dipel® 8L, (líquido), sobre las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio de *Hylesia metabus*, en cinco concentraciones de 4, 16, 64, 256 y 1024 ppm. Se cortaron 150 discos de hojas de *Laguncularia racemosa* de 1 cm de diámetro, se sumergieron 25 discos de hojas para cada una de las soluciones preparadas para el tratamiento. Luego cada disco se colocó en los recipientes plásticos estériles de 100 ml y se colocaron las larvas individualmente en los mismos. Transcurridas 24 horas del tratamiento, se anotó la cantidad de disco de hoja comida y se expresó en porcentaje. Además se registró diariamente el porcentaje de mortalidad y el comportamiento de alimentación de las larvas. En las larvas de tercer estadio, los porcentajes de mortalidad fueron 18,7 y 72,0% para las concentraciones 4 y 1024 ppm; mientras que para las larvas de cuarto estadio fueron de 2,7 y 48,0% respectivamente y en las larvas de quinto estadio se registró una mortalidad de 56,0% en la menor concentración y de 100,0% en la concentración más alta. Existió correlación entre el porcentaje de mortalidad y la concentración del Dipel® 8L, a base de Btk sólo en las larvas de cuarto estadio de *H. metabus* ($p < 0,05$), sin embargo, en las larvas de tercer y quinto estadio no existió correlación entre estas dos variables ($p > 0,05$). En las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio, la CL_{50} fue de 86,77 ppm, 1314 ppm, y 2,95 ppm, respectivamente. La mayoría de las larvas de tercer, cuarto y quinto estadio comieron desde 1 a 50% del disco de hoja infectada con el producto. No hubo relación entre el comportamiento de alimentación y la mortalidad de las larvas de tercer estadio entre concentraciones, prueba de Chi- Cuadrado (χ^2) $p > 0,05$. En las larvas de cuarto estadio sólo existió relación entre el comportamiento de alimentación y la mortalidad final sólo en las concentraciones 64 y 1024 ppm, y en las larvas de quinto estadio en la concentración de 4 ppm, prueba de Chi-

Cuadrado (x^2) $p < 0,05$; además, en las larvas se percibió una disminución del apetito hasta dejar de alimentarse a medida que aumentaba la concentración. Por lo tanto, el larvicida Dipel® 8L a base de *Btk*, tiene mayor efecto sobre las larvas de quinto, seguido por las de tercer estadio con una concentración de 1024 ppm, pero menor efectividad sobre las larvas de cuarto estadio.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Mariolga Berrizbeitia	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	6 119 292
	e-mail	mberriz@yahoo.com
	e-mail	
Sandra Díaz	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	10 947 336
	e-mail	andreinacumana@yahoo.com
	e-mail	
Melfran Herrera	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	9 455 513
	e-mail	melfranh@yahoo.com
	e-mail	
María Tovar	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	12 658 556
	e-mail	mtovarsanchez@yahoo.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	04	04

Lenguaje: Spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_tivardyguzman	Application/word

Alcance:

Espacial : _____ (Opcional)

Temporal: _____ (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio:

Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

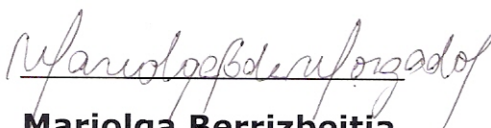
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

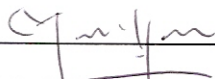
Los autores garantizamos en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir solo el resumen de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente Científicos y Educativos.



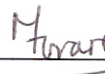
Tivardy C. Guzmán P.
AUTOR



Mariolga Berrizbeitia
TUTOR 1



Melfran Herrera
JURADO 1



María Tovar
JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:

