

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE FORMULADOS DE *B. THURINGIENSIS* CONTRA *DIATRAEA SACCHARALIS*

ERICK DE LUNA SANTILLANA*, HIRAM MEDRANO R.***, LUIS J. GALÁN WONG*, KATIUSHKA ARÉVALO NIÑO*, LILIA H. MORALES R.**



Actualmente las plagas de insectos de cultivos agrícolas y árboles forestales representan un gran problema para todos los países, por tal motivo, para llevar a cabo un control de éstas, se aplican anualmente 2.5 millones de toneladas de productos químicos.⁷ Recientemente la humanidad, preocupada por solucionar los problemas de contaminación ambiental ocasionados por el uso indiscriminado de insecticidas químicos para el combate de plagas, ha implementado un programa de manejo integral de plagas, del cual forma parte importante del control biológico, definido como "el manejo de enemigos naturales (depredadores, parásitos, y patógenos de plagas) y enemigos benéficos selectos (ciertos antagonistas y alelopatas) y sus productos, para reducir poblaciones de plagas y sus efectos".⁶ Las perspectivas de éxito del control biológico son alentadoras, de manera que gran cantidad de investigaciones se están realizando enfocadas en llevar a cabo la producción comercial a gran escala de bioinsecticidas, para la protección de los cultivos

agrícolas.^{6,7} Dentro del control biológico microbiano se conocen alrededor de 10,000 especies de microorganismos, dentro de los cuales están 2,000 microorganismos patógenos de insectos. *Bacillus thuringiensis* sobresale entre los bioinsecticidas de más éxito comercial, ya que actualmente representa el 90 % de los bioinsecticidas usados.⁴ Aunque su uso es limitado, comparado con los insecticidas convencionales, existe un creciente interés en el manejo integral de plagas (MIP), debido a un menor riesgo de desarrollo de resistencia a políticas nacionales sobre el uso de los pesticidas convencionales y a los altos costos de desarrollo de nuevos insecticidas químicos.⁶

Cabe destacar que en la actualidad no existen formulaciones de *Bacillus thuringiensis* con actividad tóxica contra *Diatraea saccharalis*, sin embargo hay reportes exitosos acerca de la existencia de productos con actividad tóxica contra otras plagas, como en el caso de *Ostrinia nubilalis*, *Galleria mellonella*, *Plodia interpunctella* y *Anagasta kuehniella*, los cuales pertenecen a la familia Pyralidae, al igual que *D. saccharalis*. Esto nos hizo postular la hipótesis de que

□ El presente artículo está basado en la investigación «Desarrollo de formulaciones de *Bacillus thuringiensis* a partir de gelatina y/o pectina y evaluación tóxica contra el barrenador del tallo de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* fabricius», galardonado con el Premio de Investigación UANL 2002 en la categoría de Ciencias Naturales, otorgado en sesión solemne del Consejo Universitario de la UANL, en septiembre de 2003.

*Departamento de Química-Bioquímica del Instituto Tecnológico de Durango, Durango, Dgo.

**Laboratorio de Microbiología Industrial y del Suelo. Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Manuel L. Barragán Esq. Pedro de Alba S/N. Cd. Universitaria. C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, N.L. Telefax (01-81-8376-45-37).
ericklusan@yahoo.com, Imorales@ccr.dsi.uanl.mx.

Diatraea saccharalis podría ser susceptible a ser controlada por *Bacillus thuringiensis*.

El insecto barrenador del tallo de la caña de azúcar *D. saccharalis* es la plaga más importante que ataca a los cultivos como la caña de azúcar, maíz, sorgo, arroz y zacates forrajeros. El impacto que presenta este insecto radica en su amplia distribución a lo largo del Continente Americano, llegando a causar índices de infestación de entre el 30- 35% de los cultivos de caña de azúcar y maíz a nivel nacional.³ En México, el gusano barrenador del tallo de la caña de azúcar (Lepidóptera: Pyralidae) se encuentra distribuido en todas las áreas donde se siembran estas gramíneas; sin embargo, sólo en dos lugares alcanza niveles de daño muy importantes, Sinaloa y Tamaulipas.³ Los ingenios de Sinaloa presentan índices de daño que varían del 15% al 30% de los entrenudos barrenados, lo que ocasiona pérdidas de dos a diez toneladas de caña por hectárea.³

Materiales y métodos

Implementación de la cría masiva de D. saccharalis

Se implementó la cría de *D. saccharalis* con la dieta artificial de Shorey. Dada la existencia de varias dietas específicas reportadas para la cría masiva de *Diatraea saccharalis* tales como Pan, Y. S. 1961; Wongsiri, T. 1962; Miskiem, G. W. 1965; Salama, H. S. 1967; Bailey, D. L. 1968, por comparación con éstas, se hicieron modificaciones a la dieta de Shorey. La cría se estableció a partir del estadio pupal. Conforme se implementó la cría se optimizaron las condiciones ambientales y operacionales.

Evaluación preliminar del efecto tóxico de extractos espora cristal de B. thuringiensis contra D. saccharalis. Para seleccionar una cepa de *B. thuringiensis* con actividad tóxica contra *D. saccharalis* se probaron cepas nativas y de colección, mediante bioensayos de incorporación a la dieta bajo las dosis de 50 y 500 µg de extracto de *B. thuringiensis* por ml de dieta, utilizando larvas de *Diatraea saccharalis* de dos días. Los resultados se analizaron por un ANOVA simple.

Determinación de la dosis letal media (CL₅₀) de B. thuringiensis contra D. saccharalis. De la o las cepas anteriores que presentaron una actividad tóxica mayor al 60% en contra de *Diatraea saccharalis*, se les realizó un bioensayo utilizando ocho concen-

traciones para determinar la concentración letal media (CL₅₀). Los extractos de *B. thuringiensis* fueron incorporados a la dieta artificial en las dosis de 10, 25, 35, 55, 65, 75, 85 y 100 µg/ml. Los resultados fueron analizados mediante un análisis probit, y se seleccionó la cepa más tóxica.

Determinación del tiempo letal media (TL₅₀) de B. thuringiensis contra D. saccharalis. A la cepa que presentó la mayor actividad tóxica a una DL₅₀ baja, se le determinó el tiempo letal medio contra *D. saccharalis*, mediante un bioensayo de incorporación a la dieta, donde se adicionó el extracto de *Bacillus thuringiensis* a la concentración letal media (CL₅₀), determinado anteriormente. La mortalidad se registró diariamente por espacio de siete días consecutivos.

Bioensayo de preferencia alimenticia. Para hacer los bioensayos de preferencia para *D. saccharalis* se elaboraron soportes de formulación granulares a partir de pectina, gelatina, una mezcla de gelatina y pectina en proporción 1:1 y 1:2 como matrices encapsulantes, solos o en combinación con un aditivo fagoestimulante como la melaza, polvo de maíz (panoja), polvo de zanahoria y coax, en una proporción del 4%. Los soportes se elaboraron sin extracto de *B. thuringiensis* por el método descrito por Morales y cols., 1998. En total se elaboraron 20 soportes. Para hacer el bioensayo de preferencia de alimentación para *D. saccharalis* se usó el método de dos alternativas descrito por Bartlett y cols., 1990. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza simple.

Formulación de Bacillus thuringiensis. Posteriormente se desarrollaron formulados granulares y asperjables con el soporte y aditivo más aceptado por *D. saccharalis*, usando *B. thuringiensis* al 7%. Los formulados granulares se elaboraron de acuerdo al método reportado por Morales L., 1996. Para elaborar los formulados asperjables, se utilizó el método descrito por De Luna S., E., 1998.

Evaluación de los formulados a nivel de laboratorio. Una vez obtenidos los formulados se realizaron bioensayos en laboratorio para determinar la actividad tóxica de *B. thuringiensis* en los formulados.

Para los formulados granulares se utilizó el método reportado por Dunkle y Shasha, 1988. Además fueron evaluadas una formulación comercial de *B. thuringiensis*, de nombre Lepinox® y otra formula-

ción bioquímica a base de ácidos grasos saponificables de soya, de nombre Biodux®, comercializados por Abott Labs. y Duxon APS, respectivamente. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA. Para los formulados asperjables, se calculó la cantidad del formulado seco a reconstituir en agua estéril, para incorporarse a la dieta artificial para *D. saccharalis* a las dosis de 50 y 500 µg de *B. thuringiensis* / ml de dieta. Además, fueron evaluadas a las dosis antes mencionadas, dos formulaciones comerciales. La mortalidad se registró a los siete días y fueron analizados mediante un ANOVA.

Evaluación de los formulados a nivel de invernadero. Para evaluar los formulados en el invernadero se usaron plantas de maíz var. Hualahuises de 15- 25 días de edad. La eficacia de los formulados granulares y asperjables desarrollados para el control de *D. saccharalis* fue evaluada aplicando las formulaciones granulares en el cogollo a razón de 100 mg del formulado/ planta, mientras que las formulaciones asperjables se aplicaron por aspersión cubriendo todo el follaje. Los tratamientos se infestaron de manera artificial con diez larvas de *Diatraea saccharalis* de dos días. Los tratamientos evaluados los conformaron 12 lotes de 15 plantas cada uno. El daño se evaluó por la longitud de los túneles que *D. saccharalis* hizo en los tallos de maíz, para lo que se cortaron desde la base las 15 plantas de cada tratamiento (M. McGuire y cols., 1994).

Resultados y discusiones

Inicialmente se realizó una comparación en base a la composición de las dietas para la cría específica de *D. saccharalis* y la dieta artificial de Shorey. En base a esto, se analizó que todas las fuentes nutricionales básicas estuvieran presentes tanto en las dietas específicas como la de Shorey. Solamente dos de los componentes de las dietas específicas estaban en mayor proporción, estos componentes eran la sacarosa y el agar, los que se incrementaron de 13 a 25gr y de 14 a 20 gramos, respectivamente.

La cría fue implementada en nuestro laboratorio a partir del estadio pupal, con 30 pupas donadas por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, en Weslaco, Texas. El ciclo del insecto criado bajo condiciones de laboratorio de 26- 27°C, 70-80% de H. R. y un fotoperíodo de 12/12 h fue de 36- 40 días, correspondientes a cinco días para el paso del huevecillo a larva, 20- 24 días del paso de



Etapas del desarrollo de *B. saccharalis*.

larva a pupa, 7-9 días del paso de pupa a adulto y 3-4 días de adulto.

Una vez establecida la cría de *Diatraea saccharalis* por cinco generaciones se procedió a probar el efecto tóxico de 12 cepas de *Bacillus thuringiensis*, de las cuales tres son cepas nativas y nueve de la colección H.D. Entre las cepas ensayadas estuvieron la GM 7, GM 10, GM 34, HD2, HD 9, HD 29, HD 37, HD 59, HD73, HD133, HD137 y HD551, las que fueron seleccionadas en base a su toxicidad contra lepidópteros y el contenido de proteínas Cry. Al evaluar el efecto de toxicidad que presentaron estas cepas seleccionamos a la GM34, HD 133, HD 551, GM7 y GM10, ya que ocasionaron más del 60 % de mortalidad bajo a la concentración de 50µg/ml (tabla I).

Tabla I. Ensayo preliminar del efecto tóxico de cepas de *Bacillus thuringiensis* contra *Diatrea saccharalis*

Cepa ^N	µ ± σ del número de larvas muertas bajo la dosis de 50 µg de <i>B. t.</i> / ml.	µ ± σ del número de larvas muertas bajo la dosis de 500 µg de <i>B. t.</i> / ml.	Porcentaje de mortalidad
GM 7	10.67 ± 2.08ab	20.33 ± 1.15abc	62
GM 10	13.33 ± 2.08ab	21.00 ± 1.00ab	67
GM 34	17.33 ± 2.08a	21.33 ± 3.06ab	77
HD 2	2.67 ± 1.53c	15.67 ± 1.15c	37
HD 9	2.33 ± 1.53c	3.33 ± 1.53c	11
HD 29	6.33 ± 2.52bc	22.00 ± 0.00ab	57
HD37	2.67 ± 0.58c	18.67 ± 0.58abc	43
HD59	2.67 ± 1.53c	18.00 ± 0.00bc	41
HD73	7.00 ± 0.00bc	18.33 ± 2.89bc	51
HD 133	12.33 ± 2.08ab	23.33 ± 2.08a	71
HD137	8.00 ± 2.00bc	21.33 ± 2.08ab	59
HD551	12.33 ± 5.77ab	21.33 ± 0.58ab	67
control	0.00 ± 0.00c	0.00 ± 0.00c	0

N= 1800 larvas, n= 75, a= mortalidad ocasionada por la dosis de *B. thuringiensis* de 50µg/ml; valores seguidos por letras iguales, no son diferentes significativamente; letras en gris corresponden al análisis de las variables número de larvas muertas bajo la dosis de bajo la dosis de 50 µg de *B. t.* / ml y tipo de cepa; letras en negro corresponden al análisis de las variables número de larvas muertas bajo la dosis de bajo la dosis de 500 µg de *B. t.* / ml y tipo de cepa

Posteriormente, teniendo seleccionadas las cepas microbianas útiles para controlar a *D. saccharalis*, la siguiente fase consistió en seleccionar la cepa más tóxica. Para ello se procedió a llevar a determinar la concentración letal media (CD_{50}) para las cepas GM7, GM10, GM34, HD133, HD551 y para las combinaciones equimolares de las cepas GM10/GM34 y HD133/ HD551.

Las concentraciones letales medias obtenidas fueron de 95,99 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la cepa GM7, 104,99 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la GM10, 33,21 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la GM34, 85,63 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la HD133, 67,22 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la HD551, 65,91 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la combinación GM10/GM34 y 67,68 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para la combinación HD133/HD551 (figura 1). Basándose en estos resultados la cepa GM34 de *B. thuringiensis* fue seleccionada, ya que resultó ser la más tóxica, dado que se requiere

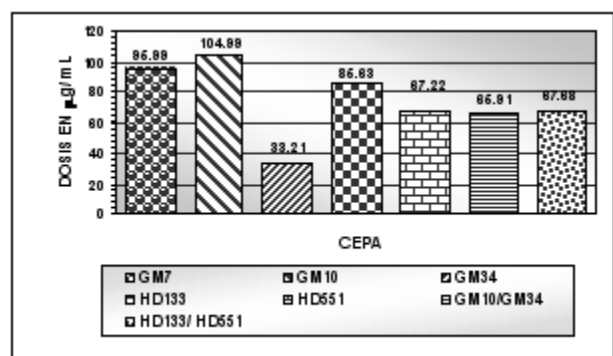


Fig.1. Determinación de la CL_{50} para cepas de *Bacillus thuringiensis* Tóxicas contra *D. saccharalis*.

de una dosis baja para matar el 50% de la población.

Una vez seleccionada la cepa microbiana más tóxica, se llevó a cabo la determinación del tiempo letal medio (TL_{50}), siendo estos tiempos letales medios de 3.9, 3.6, 4.7, 4.7, 5.4 y 5.0 días, resultando como TL_{50} promedio $4.55 \pm 0.667\text{d}$ para esta cepa contra *D. saccharalis*. Teniendo caracterizada toxicológicamente la cepa más tóxica, la siguiente estrategia consistió en diseñar un soporte de encapsulación del ingrediente activo microbiano, que tuviera un efecto fagoestimulante para *D. saccharalis*. Para ello se diseñaron 20 soportes a partir de cuatro matrices encapsulantes y cuatro aditivos fagoestimulantes, los cuales se evaluaron contra trozos de 0.25 cm^2 . De estos los tratamientos mayormente aceptados fueron los compuestos de gelatina panoja (GI-pan) en primer lugar, y la caña de azúcar y gelatina

melaza (GI- mel); en segundo, presentando como Medias \pm D. Std. 4.59 ± 1.99 , 3.85 ± 1.90 y 3.14 ± 1.85 larvas atraídas, respectivamente (tabla II).

Tabla II. Selección de soportes de formulación para *Bacillus thuringiensis* con carácter fagoestimulante para *Diatraea saccharalis*

Soporte ^N	$\mu \pm \sigma$ del número de larvas muertas bajo la dosis de 500 μg de <i>B. t.</i> / ml.		$\mu \pm \sigma$ del número de larvas muertas bajo la dosis de 500 μg de <i>B. t.</i> / ml.	Porcentaje de mortalidad
GI Pan	4.59 \pm 1.99 a	1°	GI Coa	1.72 \pm 1.43ghij 7°
Caña	3.85 \pm 1.90ab	1°	GI:Po 1:2 Zan	1.53 \pm 1.27ghijk 7°
GI Mel	2.85 \pm 1.75cd	2	Po Coa	1.51 \pm 1.47ghijk 7°
GI Zan	2.85 \pm 1.75cd	3°	Po Mel	1.58 \pm 1.25ghijk 7°
GI:Po 1:2 Pan	2.81 \pm 1.62cd	3°	GI:Po 1:1 Coa	1.51 \pm 1.23ghijk 7°
GI:Po 1:1 Pan	2.59 \pm 1.62cdef	3°	GI	1.37 \pm 1.60hijk 8°
Po Pan	2.62 \pm 1.73cde	3°	GI:Po 1:1	1.14 \pm 1.22ijk 9°
GI:Po 1:2 Mel	2.13 \pm 1.67defgh	4°	Po Zan	1.11 \pm 1.03ijk 9°
GI:Po 1:1 Mel	2.18 \pm 1.62defg	4°	GI:Po 1:2	1.05 \pm 1.03jk 10°
GI:Po 1:2 Coa	1.91 \pm 1.55efgh	5°	Po	0.83 \pm 0.90k 11°
GI:Po 1:1 Za	1.84 \pm 1.45fghi	6°		

N= 2100 comparaciones, n= 100 comparaciones; valores seguidos por letras iguales no son diferentes significativamente; letras en gris corresponden al análisis de las variables tipo de soporte contra número de larvas atraídas; R. P.= rango de preferencia; Po= pectina, GI= gelatina, GI:Po= gelatina- pectina, pan= panoja, mel= melaza, coa=coax, zan= zanahoria.

Al comprobar el efecto que tienen los soportes con fagoestimulantes y los que carecen de ellos, evaluando como parámetro de comparación con trozos de caña de azúcar, se aprecia que los soportes que poseen fagoestimulantes comparten el primer lugar de preferencia en comparación con los que carecen de estos aditivos (tabla III).

Una vez teniendo seleccionada la cepa más tóxica de *Bacillus thuringiensis* y los soportes de formulación más aceptados, mediante preferencia alimenticia, se procedió a elaborar las formulaciones, que

Tabla III. Efecto de la presencia o ausencia de fagoestimulantes en los soportes de formulación para *B. thuringiensis* contra *D. saccharalis*

Soporte	$\mu \pm \sigma$ del número de larvas atraídas	Rango de preferencias
Caña de azúcar ⁿ¹	3.85 \pm 1.90 a	1°
Soporte c/ fagoestimulantes ⁿ²	2.23 \pm 1.76 a	1°
Soporte s/ fagoestimulantes ⁿ³	1.10 \pm 1.23 b	2°

N= 2100 comparaciones, n¹= 100, n²= 1600, n³= 400; valores seguidos por letras iguales, no son diferentes significativamente; letras en gris corresponden al análisis de las variables soporte con/ sin fagoestimulante contra número de larvas atraídas

consistieron en hacer la mezcla de la matriz encapsulante, del aditivo fagoestimulante al 4% y del extracto espora- cristal de *B. thuringiensis* al 7%.

En la elaboración de las formulaciones granulares y asperjables se utilizaron los soportes compuestos de: gelatina- panoja y gelatina- melaza. Las formulaciones desarrolladas fueron cuatro, estando constituidas de gelatina panoja y gelatina- melaza como formulaciones blanco, y de gelatina- panoja *B. t.* 7% y gelatina melaza *B. t.* 7%, como formulaciones con ingrediente activo para el biocontrol.

Se evaluaron en el laboratorio cuatro formulaciones granulares desarrolladas contra dos formulaciones biológicas comerciales. La formulación más efectiva resultó ser la constituida por gelatina-panoja-B.t.7% en primer lugar con 100% de mortalidad, en segundo lugar quedó el Lepinox®, con 88% de mortalidad, y comparte el primer y segundo lugar el tratamiento gelatina-melaza-B.t. 7%, por lo que las formulaciones desarrolladas resultaron más efectivas que las comerciales, esto debido a que el diseño adecuado del soporte de formulación ocasiona que nuestros formulados sean más efectivos (tabla IV).

La mortalidad ocasionada a las 24 horas es baja,

Tabla IV. Evaluación a nivel laboratorio de la actividad tóxica de las formulaciones granulares de *B. thuringiensis* contra *Diatraea saccharalis*.

Soporte	24 horas			7 días	
	$\mu \pm \sigma$ del No. de larvas muertas	% de mortalidad ¹	R. de T.	% de mortalidad	R. de T.
Gelatina-panoja-B. t.	8.00 ± 1.41 a	40 %	1°	100%	1°
Gelatina-melaza-B. t.	6.40 ± 1.34 ab	32 %	1°	92%	2°
Lepinox ®	5.20 ± 2.77 b	26 %	2°	88%	3°
Biodux ®	0.40 ± 0.55 c	2 %	3°	8%	4°
Gelatina-panoja-Bco.	0.00 ± 0.00 c	0%	3°	0%	5°
Gelatina-melaza-Bco.	0.00 ± 0.00 c	0%	3°	0%	5°

N= 600, n¹= 100, n²= 25; valores seguidos por letras iguales, no son diferentes significativamente; letras en gris corresponden al análisis de las variables; tipo de formulación contra número de larvas muertas; R. de T.= rango de toxicidad

aunque ésta se incrementa considerablemente a los siete días, ya que el TL₅₀ es de 4.55 ± 0.67 días.

A continuación, con la finalidad de corroborar la eficiencia de los formulados a nivel de laboratorio, los formulados fueron ensayados en invernadero, utilizando plantas de maíz de la variedad Hualahuises. Fueron evaluados 12 tratamientos: cuatro formulaciones granulares (dos blanco y dos con *B. thuringiensis*), cuatro formulados asperjables (dos blanco y dos

con *B. thuringiensis*), Biodux®, Lepinox® asperjable, Lepinox® granular y un control. Los tratamientos menos afectados debido a la protección producida por los formulados son el de gelatina- melaza- *B. t.*- asperjable, gelatina- panoja- *B. t.*- asperjable, Lepinox®- asperjable y gelatina- panoja- *B. t.*- granular presentando 0.00 ± 0.00, 0.06 ± 0.26, 0.87 ± 1.68 y 1.73 ± 2.34 entrenudos afectados respectivamente, correspondiéndoles el 0, 1, 13 y 27% de entrenudos afectados (tablaV).

Además, en la tabla anterior se aprecia que las formulaciones asperjables son más efectivas que las

Tabla V. Evaluación a nivel invernadero de la actividad tóxica de las formulaciones contra *Diatraea saccharalis*.

Formulado ^a	$\mu \pm \sigma$ del número de entrenudos afectados	Porcentaje de daño	Rango de protección
Gel-mel-B.t.-Asp.	0.00 ± 0.00 a	0%	1°
Gel-pan-B.t.-Asp.	0.07 ± 0.26 a	1%	1°
Lepinox ®-Asp.	0.87 ± 1.68 a	13%	1°
Gel-pan-B.t.-Gran.	1.73 ± 2.34 ab	27%	1°, 2°
Gel-mel-B.t.-Gran.	3.80 ± 2.81 bc	59%	2°, 3°
Biodux ®	3.87 ± 4.26 bc	60%	2°, 3°
Lepinox ®-Gran.	4.73 ± 2.34 c	73%	3°
Gel-pan-Bco.-Gran.	4.93 ± 1.62 c	76%	3°
Gel-mel-Bco.-Asp.	5.60 ± 2.20 c	87%	3°
Control	6.33 ± 2.29 c	98%	3°
GI-pan-Bco.-Asp.	6.47 ± 2.23 c	100%	3°
GI-mel-Bco.-Gran.	6.47 ± 1.85 c	100%	3°

N= 180, n= 15; valores seguidos por letras iguales, no son diferentes significativamente; letras en azul corresponden al análisis de las variables; tipo de formulación granular con *B. thuringiensis* contra número de larvas muertas.

formulaciones granulares y dentro de cada tipo de formulado (granular o asperjable) las formulaciones desarrolladas son mejores que las comerciales.

Conclusiones

Se logró implementar la cría de *Diatraea saccharalis* en el laboratorio, donde el ciclo completo del insecto fue de 32 a 36 días, bajo las condiciones de 26-27°C, 70-80% de humedad y un fotoperiodo de 12/12 horas luz. Se adecuó la dieta artificial de Shorey, modificando la cantidad de azúcar de la dieta de 13 a 25 gr./ L y la cantidad de agar de 14 a 20 gr./ L de dieta. Las cepas de *Bacillus thuringiensis* más tóxicas contra *Diatraea saccharalis*, son la GM34, HD133, GM10, HD551 y GM7, causando un 77%, 71%, 69%, 67% y 62% de mortalidad, respectiva-

mente, a la concentración de 50 µg/ml. La concentración letal media de las cepas GM34, HD133, GM10, HD551, GM7, GM7/GM34 y HD133/HD551 son 33.21 µg/ml, 85.63 µg/ml, 104.99 µg/ml, 67.22 µg/ml, 95.99 µg/ml, 65.91 µg/ml y 67.68 µg/ml, respectivamente.

El tiempo letal medio para la cepa GM34 contra *Diatraea saccharalis* es de 4.55 ± 0.67 días. Los soportes de formulación que presentan el más alto carácter fagoestimulante son los constituidos de gelatina- panoja y gelatina melaza, presentando como Medias \pm D. Std. 4.59 ± 1.99 y 3.14 ± 1.85 larvas atraídas. Las formulaciones granulares más tóxicas contra *Diatraea saccharalis* a nivel laboratorio son las constituidas de gelatina- panoja- B.t., gelatina- melaza- B.t. y Lepinox®, causando un 40, 32, y 26% de mortalidad a las 24 horas, incrementándose a 100, 92 y 88% de mortalidad a los siete días. Los formulados más efectivos a nivel invernadero son las conformadas por gelatina- melaza- B.t.- asperjable, gelatina- panoja- B.t. – asperjable y Lepinox® asperjable, produciendo el menor número de tallos afectados y de entrenudos afectados, reflejándose en un mayor desarrollo de las plantas.

Los mejores tratamientos para llevar a cabo un control efectivo lo conforman los formulados asperjables.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al CONACYT, por el apoyo recibido para esta investigación, a través del proyecto 29365 B. Asimismo, los autores agradecen el apoyo recibido de la Universidad Autónoma de Nuevo León, a través de los proyectos PAICYT (CN160-99, CN312-00).

Resumen

Para desarrollar una formulación de *Bacillus thuringiensis* para el control de *Diatraea saccharalis* establecimos la cría masiva de *D. saccharalis* en el laboratorio. El ciclo de desarrollo consta de 36- 40 días bajo las condiciones operacionales de 26-27°C, una humedad relativa del 80% y un fotoperíodo de 12/ 12 horas. Se probó el efecto tóxico de las cepas GM7, GM10, GM34, HD2, HD9, HD29, HD37, HD59, HD73, HD133, HD137 y HD551, cuyas mortalidades bajo la dosis de 50 mg/ ml fueron de 62%, 69%, 77%, 37%, 11%, 57%, 43%, 41%, 51%, 71%, 59% y 67% respectivamente. Las cepas más

tóxicas por orden de intensidad fueron la GM34, HD133, GM10, HD551 y GM7. Las LD₅₀ obtenidas fueron: 33.21 mg/ ml para la cepa GM34, 67.22 mg/ ml para la cepa HD551, 85.63 mg/ ml para la cepa HD133, 95.99 mg/ ml para la cepa GM7, 104.99 mg/ ml para la cepa GM10, 65.91 mg/ ml para la combinación de cepas GM10/ GM34 y 67.68 mg/ ml para la combinación de cepas HD133/ HD551. Con esto la cepa más tóxica de *Bacillus thuringiensis* resulta ser la GM34. El TL₅₀ para esta cepa fue de 4.55 ± 0.67 días. Los soportes con la mayor acción fagoestimulante fueron la gelatina-panoja y gelatina- melaza. Las formulaciones granulares más tóxicas a nivel laboratorio son las constituidas de gelatina- panoja- B.t., gelatina- melaza- B.t. y Lepinox®, causando un 40, 32, y 26% de mortalidad a las 24 horas, incrementándose a 100, 92 y 88% de mortalidad a los siete días. A nivel invernadero, los formulados más efectivos fueron los conformados por gelatina- melaza- B.t.- asperjable, gelatina- panoja- B.t.- asperjable y leptinox® asperjable, produciendo el menor número de tallos afectados y de entrenudos afectados, reflejándose en un mayor desarrollo de las plantas.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, *Diatraea saccharalis*, Control biológico, Caña de azúcar, Formulados.

Abstract

To develop a *B. thuringiensis* formulation to control *Diatraea saccharalis* we established the rearing of *D. saccharalis* in laboratory. The development cycle is comprised of 36- 40 days under the operational conditions of 26-27°C, 80% of relative humidity and a photoperiod of 12/12 hours. The toxic effect of the stumps was tested at GM7, GM10, GM34, HD2, HD9, HD29, HD37, HD59, HD73, HD133, HD137 and HD551, whose mortalities under the dose of 50 mg/ml were 62%, 69%, 77%, 37%, 11%, 57%, 43%, 41%, 51%, 71%, 59% and 67%, respectively. The most toxic stumps were the GM34, HD133, GM10, HD551 and GM7 by order of intensity. The DL₅₀ for the stump were: 33.21 µg/ml for GM34, 67.22 µg/ml for HD551, 85.63 µg/ml for HD133, 95.99 µg/ml for GM7, 104.99 µg/ml for GM10, 65.91 µg/ml for the combination GM10/ GM34 and 67.68 µg/ml for the combination HD133/ HD551. The most toxic stump of *B. thuringiensis* results to be the GM34. The LT₅₀ for this stump was of $4.55 \pm$

0.67 days. The granules with the biggest feeding stimulant action were gelatin-corn spike and gelatin-molasses. The granular formulations with the highest toxicity in laboratory are those constituted of gelatin-corn spike-B. t., gelatin-molasses-B. t. and leptinox®, causing a 40, 32, and 26% of mortality at 24 hours, being increased to 100, 92 and 88% of mortality after 7 days. In greenhouse the best formulations were those conformed by gelatin-molasses-B. t.-sprayable, gelatin-corn spike-B. t.-sprayable and leptinox sprayable, producing the smallest number of stems affected, being reflected in greater development of the plants.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, *Diatraea saccharalis*, Biological control, Sugarcane, Formulation.

Referencias

1. Bailey, D.L., Chada, H.L. 1968. Effects of natural (sorghum) and artificial (Wheat germ) diets on development of the corn earworm, fall armyworm, and southwestern corn borer.; J. Econ. Entomol. 61(1): 257- 260.
2. Bartlett, R.J., Mc Guire, M.R., Black, D.A. 1990; Feeding stimulants for the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae): Additives to a starch-based formulation for *Bacillus thuringiensis*; Environ. Entomol., 19: 182-189.
3. Del Castillo, C.P; 1996. Promoción del desarrollo cultural de Veracruz. Oportunidades de inversión en el sector azucarero, Secretaría de Desarrollo Agropecuario y Pesquero.
4. Galán Wong, L.J. 1993. Selección de cepas nativas y extractos de fermentación de *Bacillus thuringiensis* contra *Trichoplusia ni* (Hubne) y *Heliothis virescens* (Fabricius); Tesis de doctorado en ciencias con especialidad en microbiología; F.C.B. División de Estudios de Posgrado, UANL; Mty, N.L., México.
5. Hensley, S.D., Hammond, A.M. 1968. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet.; J. Econ. Entomol. 61(6): 1742- 1743.
6. King, E.G.; 1996. Control de insectos y ácaros plaga, en Avances recientes en biotecnología de *Bacillus thuringiensis*. (Galán Wong, L.J.; Rodríguez Padilla, C.; Luna Olvera, H. A.); Ed. UANL. Monterrey, Nuevo León, México; 13- 19.
7. Matten, S. R., Milewski, E.A., Schneider, W. R.; 1993; Biological pesticides and US Environmental Protection Agency, en Advanced engineered pesticides; Ed. L. Kim Marcer Dekker Inc., 321- 355.
8. Mihm, J.A.; 1984. Técnicas eficientes para la crianza masiva e infestación de insectos, en la selección de las plantas hospedantes para resistencia a los taladores del tallo de maíz. Ed. C. I. MMYT. pp. 1-24.