

# Efecto del VPN *Galleria mellonella* (L.) sobre larvas de *Plutella xylostella* (L.)<sup>1</sup>

Alexis Espinoza<sup>2</sup>, Andrew Cherry<sup>3</sup> y Ronald D. Cave<sup>4</sup>

**RESUMEN.** Se expusieron larvas de *Plutella xylostella* (L.) a hojas de repollo inoculadas con el VPN *Galleria mellonella* (L.) para estudiar en el laboratorio la relación entre la dosis aplicada y el tamaño de la larva en la aparición de síntomas y mortalidad. Se encontró un mayor porcentaje de larvas con síntomas en larvas de tercer instar versus segundo instar. Mortalidad fue similar entre larvas de segundo y tercer instar. La mayor mortalidad ocurrió con las concentraciones de  $8.65 \times 10^6$  y  $8.65 \times 10^7$  PIB/ml. La mortalidad de 95% de larvas ocurrió a las 120 horas después de inoculación.

**Palabras claves:** virus de poliedrosis nuclear, tamaño de larva, mortalidad, síntomas

**ABSTRACT.** Larvae of *Plutella xylostella* (L.) were exposed to cabbage leaves inoculated with *Galleria mellonella* (L.) NPV in order to study in the laboratory the relationship between the dosage applied and the size of the larva in the appearance of symptoms and mortality. A greater percentage of larvae with symptoms was found in third instar larvae versus second instar larvae. Mortality was similar between second and third instar larvae. Greater mortality occurred with concentrations of  $8.65 \times 10^6$  and  $8.65 \times 10^7$  PIB/ml. Ninety-five percent larval mortality occurred at 120 hours after inoculation.

**Key words:** nuclear polyhedrosis virus, larval size, mortality, symptoms

## INTRODUCCION

La palomilla dorso de diamante (PDD), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), es una plaga ampliamente distribuida en las regiones repolleras del mundo. Su éxito como plaga se debe en parte a su capacidad para desarrollar resistencia, siendo actualmente resistente a más de 46 insecticidas incluyendo carbamatos, organofosforados y piretroides (Miyata *et al.*, 1986).

El uso de patógenos de insectos (como los virus) es una herramienta potencialmente importante para el control de PDD (Abdul

Kadir, 1984). Para lograr un buen control, es importante manejar adecuadamente las dosificaciones de virus aplicadas según los tamaños de las larvas.

El estudio se realizó con los objetivos para determinar la relación entre dosis aplicada del virus poliedrosis nuclear de *Galleria mellonella* (L.) (VPN *Gm*) y tamaño de larva en la aparición de síntomas y mortalidad, determinar el tamaño de larva más adecuado para producción de virus y determinar el tiempo de incubación necesario para un buen desarrollo de la enfermedad.

## MATERIALES Y METODOS

El experimento se realizó en el laboratorio, aplicando tres concentraciones de VPN *Gm*:

<sup>1</sup>Publicación DPV/EAP No. 616  
<sup>2</sup>Ing. Agrónomo, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano  
<sup>3</sup>PhD., Natural Resources Institute, (Reino Unido)  
<sup>4</sup>PhD., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

$8.65 \times 10^7$  ( $CL_{50} \times 100$ ),  $8.65 \times 10^6$  ( $CL_{50} \times 10$ ) y  $8.65 \times 10^5$  PIB/ml ( $CL_{50}$ ) (obtenidas mediante bioensayos). A la suspensión viral se le agregó 0.5% de Tween como agente humectante. Se cortaron discos de hojas de repollo de 7 a 8 cm de diámetro, y se sumergieron en la suspensión viral. Luego se dejaron secar a la sombra y se colocaron dentro de platos petri de 9 cm de diámetro.

Se utilizaron 50 larvas de segundo ínstar y 50 larvas de tercer ínstar por tratamiento con tres repeticiones. Larvas de primer ínstar son muy susceptibles a los virus y al estrés causado por el manejo, resultando en una alta mortalidad de larvas muy pequeñas debida a factores ajenos a los tratamientos. Larvas mayores del tercer ínstar llegarían a empupar en un período muy corto que no es suficiente para que la infección viral se desarrolle y sea observada. Se colocaron cinco larvas por disco. Después de dos días, cuando los discos se volvieron en verde pálido o amarillo, se transfirieron las larvas a discos no-inoculados. Posteriormente se proporcionaron discos frescos a las larvas cuando los discos viejos se cambiaron a verde pálido o amarillo

Se midió diariamente el porcentaje de larvas que presentaron síntomas típicos de infección viral, y el porcentaje de mortalidad de larvas. Se determinó el tiempo (horas) después de la inoculación (hdi) en que se obtuvo 50% y 95% de larvas con síntomas y de mortalidad para cada tamaño de larva y concentración.

Se utilizó un diseño completamente al azar de dos factores, con el factor B (concentraciones) dividido en A (tamaños de larvas). Los datos fueron transformados mediante la fórmula  $\text{sen}^{-1}y$ . Se realizó una prueba de rango múltiple de Duncan para los tratamientos con diferencias significativas. Para determinar el tiempo a 50% y 95% de larvas con síntomas ( $TS_{50}$  y  $TS_{95}$ , respectivamente) y el tiempo a 50% y 95% de mortalidad ( $TL_{50}$  y  $TL_{95}$ , respectivamente) se realizó un análisis probit y un análisis de regresión del tiempo de incubación contra la mortalidad y presencia de síntomas en las larvas.

**RESULTADOS Y DISCUSION**

Se encontró significativamente ( $P < 0.05$ ) mayor porcentaje de larvas con síntomas en larvas de tercer ínstar comparadas con larvas de segundo ínstar a más de 48 hdi, para las tres concentraciones aplicadas (Fig. 1). En larvas de segundo ínstar, el mayor porcentaje de larvas con síntomas se observó con  $8.65 \times 10^6$  PIB/ml a las 144 hdi. En larvas de tercer ínstar el mayor porcentaje de larvas con síntomas se observó con  $8.65 \times 10^7$  PIB/ml a las 120 y 144 hdi. La máxima concentración causó alta mortalidad durante las primeras 72 hdi (Fig. 2), reduciendo de esta manera el número de larvas con posibilidades de desarrollar síntomas de la enfermedad.

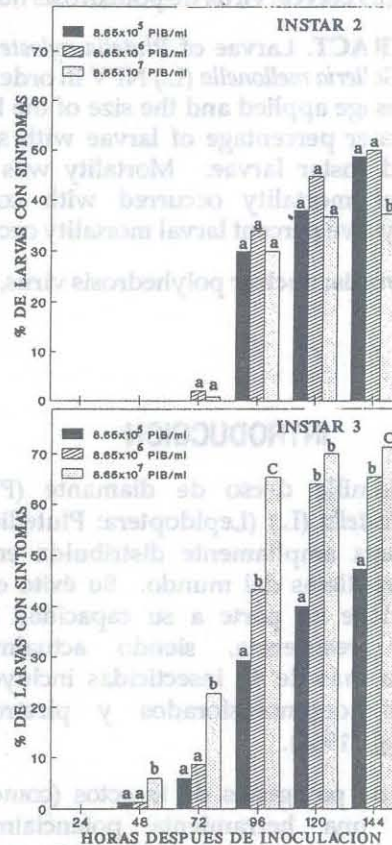
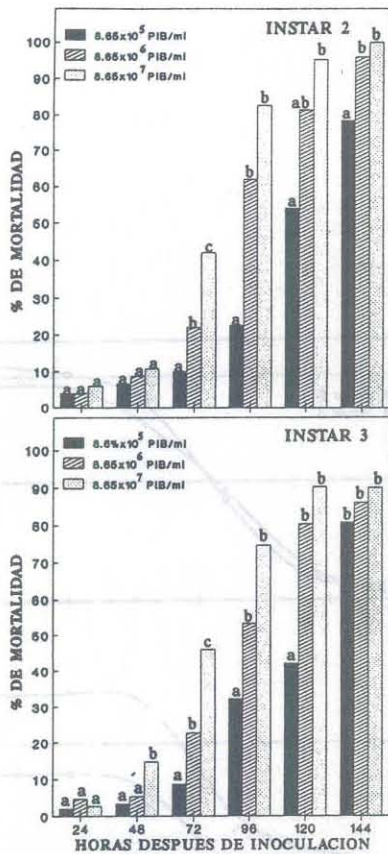


Figura 1. Porcentajes promedios acumulados de síntomas virales en larvas de segundo y tercer ínstar de PDD sobre hojas de repollo inoculadas con tres concentraciones de VPN Gm. Tratamientos con diferente letra a la misma hora después de inoculación son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).



**Figura 2.** Porcentajes promedio acumulados de mortalidad en larvas de segundo y tercer instar de PDD sobre hojas de repollo inoculadas con tres concentraciones de VPN Gm. Tratamientos con diferente letra a la misma hora después de aplicación son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

Estos resultados son similares a los encontrados por otros autores. Asayama (1986) encontró que larvas de tercer instar mostraron síntomas de virus granulosis (VG) 48-144 hdi a 26°C y 72-144 hdi a 22°C. Abdul Kadir (1984) encontró síntomas de VG en larvas de segundo instar 72-96 hdi. Larvas de tercer instar probablemente consumen mayor cantidad de partículas virales en menor tiempo, por lo que el desarrollo de síntomas es más rápido. Además, los síntomas son más difíciles de observar en larvas más pequeñas.

No se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en mortalidad entre los dos tamaños de larvas a ninguna hora después de inoculación

(Fig. 2). Resultados similares fueron encontrados por Biever & Andrews (1984) en larvas de primer y tercer instares de *Trichoplusia ni* (Hübner) inoculadas con VPN de PDD. Por lo tanto, se pueden utilizar larvas de segundo o tercer instar para la producción de virus. Sin embargo, se observó que las larvas de segundo instar mueren de un tamaño más pequeño, lo que podría resultar en una menor cantidad de virus producido por larva.

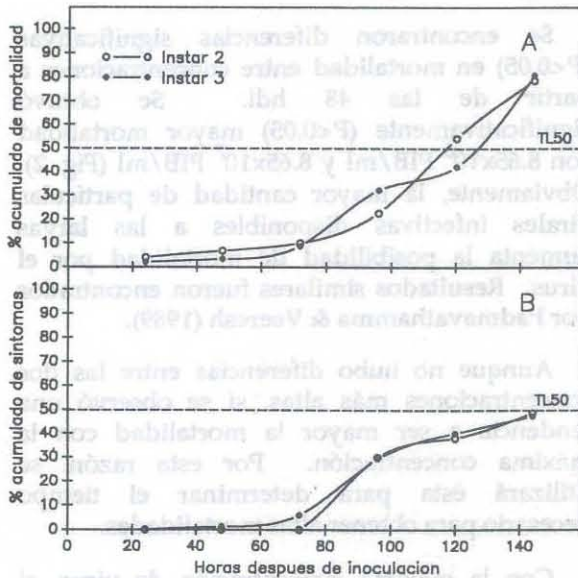
Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en mortalidad entre concentraciones a partir de las 48 hdi. Se obtuvo significativamente ( $P < 0.05$ ) mayor mortalidad con  $8.65 \times 10^6$  PIB/ml y  $8.65 \times 10^7$  PIB/ml (Fig. 2). Obviamente, la mayor cantidad de partículas virales infectivas disponibles a las larvas aumenta la posibilidad de mortalidad por el virus. Resultados similares fueron encontrados por Padmavathamma & Veeresh (1989).

Aunque no hubo diferencias entre las dos concentraciones más altas, sí se observó una tendencia a ser mayor la mortalidad con la máxima concentración. Por esta razón, se utilizará ésta para determinar el tiempo necesario para obtener altas mortalidades.

Con la máxima concentración de virus, el  $TL_{50}$  en larvas de segundo instar varió de 76 a 85 hdi con un promedio de 81 hdi (Fig. 3A). En larvas de tercer instar el  $TL_{50}$  varió de 79 a 91 hdi con un promedio de 85 hdi. El  $TL_{95}$  varió de 106 a 126 hdi con un promedio de 116 hdi para larvas de segundo instar, mientras que en larvas de tercer instar varió de 131 a 166 hdi con un promedio de 147 hdi (Fig. 3A). Las mayores tasas de incremento en mortalidad se observaron entre las 48 y 96 hdi, con incrementos mayores de 30% para ambos tamaños de larvas.

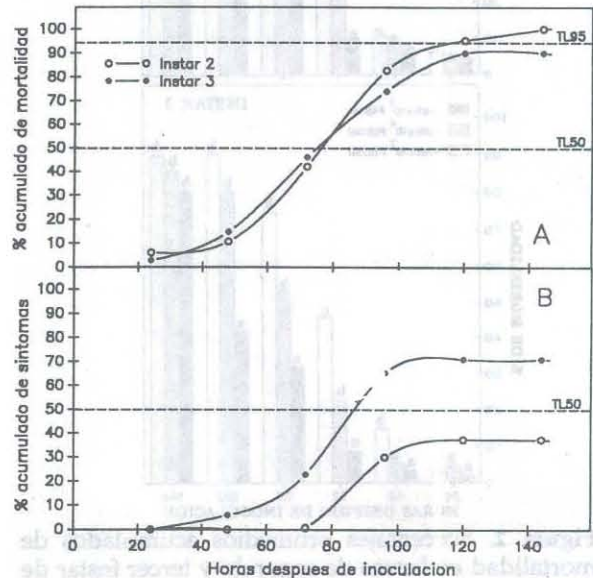
El  $TS_{50}$  para larvas de tercer instar varió de 75 a 151 hdi con un promedio de 106 hdi (Fig. 3B). El  $TS_{95}$  para larvas de tercer instar, al igual que el  $TS_{50}$  y  $TS_{95}$  para larvas de segundo instar, no se pudieron calcular debido a que los porcentajes de larvas con síntomas fueron muy bajos. Las mayores tasas de incremento se observaron entre las 72 y 96 hdi, con un aumento de 42% en larvas

de tercer ínstar comparado con 30% en larvas de segundo ínstar.



**Figura 3.** Porcentaje acumulado de mortalidad (A) y porcentaje acumulado de larvas con síntomas (B) en larvas de segundo y tercer ínstar de PDD inoculadas con  $8.65 \times 10^7$  PIB/ml de VPN Gm.

Con la concentración de  $8.65 \times 10^6$  PIB/ml, las mayores tasas de incremento de larvas con síntomas se observaron entre las 72 y 120 hdi, con aumentos mayores de 57% en ambos tamaños de larvas (Fig. 4). La mortalidad se incrementó en este mismo período 42.7 y 55.3% en larvas de segundo y tercer ínstar, respectivamente. Se observaron la máxima mortalidad y presencia de larvas con síntomas a las 144 hdi en larvas de tercer ínstar, mientras que en larvas de segundo ínstar no se alcanzó el máximo porcentaje de larvas con síntomas y mortalidad a este tiempo.



**Figura 4.** Porcentaje acumulado de mortalidad (A) y porcentaje acumulado de larvas con síntomas (B) en larvas de segundo y tercer ínstar de PDD inoculadas con  $8.65 \times 10^6$  PIB/ml de VPN Gm.

Con la menor concentración, las mayores tasas de incremento de larvas con síntomas se observaron entre las 96 y 120 hdi (Fig. 5) con aumentos mayores de 36% en ambos tamaños de larvas, observándose los valores máximos aproximadamente a las 144 hdi. La mortalidad se incrementó en más de 48% en ambos tamaños de larvas entre las 96 y 144 hdi, manteniendo a las 144 hdi una tendencia a aumentar,

## CONCLUSIONES

En conclusión las concentraciones de  $8.65 \times 10^6$  y  $8.65 \times 10^7$  PIB/ml son las más adecuadas para producción de virus. La presencia de síntomas virales es mayor en larvas de tercer ínstar que en larvas de segundo ínstar, aunque la mortalidad es igual para las dos edades. Se pueden utilizar igualmente larvas de segundo y tercer ínstar para la producción de virus. La mortalidad de 95% de larvas infectadas con virus ocurre hasta las 120 hdi.

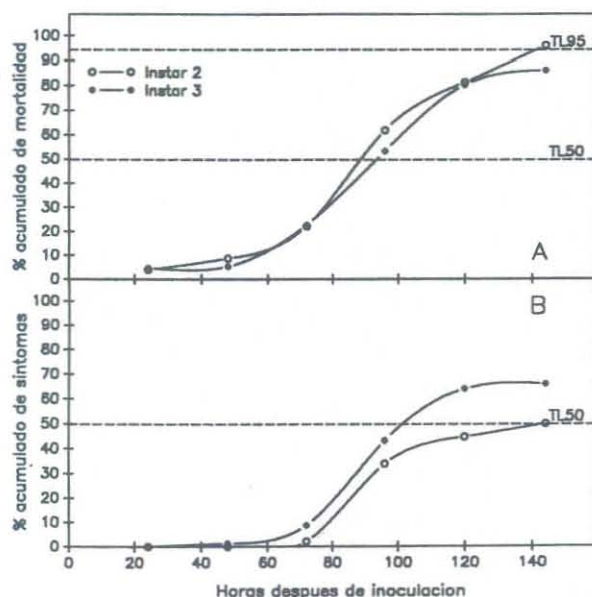


Figura 5. Porcentaje acumulado de mortalidad (A) y porcentaje acumulado de larvas con síntomas (B), en larvas de segundo y tercer ínstar de PDD inoculadas con  $8.65 \times 10^5$  PIB/ml de VPN Gm.

## LITERATURA CITADA

- Abdul Kadir, H.B. 1984. The granulosis virus of *Plutella xylostella*. En: M.Y. Hussein & A.G. Ibrahim (eds.). Biological Control in the Tropics. Proc. First Reg. Symp. Biol. Control. Penerbit University, Pertanian, Malaysia.
- Asayama, T. 1986. Pathology and morphogenesis of a granulosis virus of the diamondback moth. En: N.S. Talekar & T.D. Griggs (eds.). Diamondback Moth Management: Proceedings of the First International Workshop. Shanhua, Taiwan.
- Biever, K.D. & P.L. Andrews. 1984. Susceptibility of lepidopterous larvae to *Plutella xylostella* nuclear polyhedrosis virus. J. Invert. Pathol. 44: 117-119.
- Miyata, T., T. Saito & V. Noppun. 1985. Studies on the mechanism of diamondback moth resistance to insecticides. En: N.S. Talekar & T.D. Griggs (eds.). Diamondback Moth Management: Proceedings of the First International Workshop. Shanhua, Taiwan.
- Padmavathamma, K. & G.K. Veeresh. 1989. Effect of contamination of eggs of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus), with nuclear polyhedrosis virus. J. Biol. Control 3(1): 73-74.