

EVALUACIÓN DE FLUBENDIAMIDE PARA CONTROL DEL GUSANO COGOLLERO *Spodoptera frugiperda* (LEPÍOPTERA: NOCTUIDAE) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

Juan Mayo-Hernández, Jorge Corrales-Reynaga, Agustín Hernández-Juárez, Antonio Cárdenas-Elizondo, Luis A. Aguirre-Urbe. Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro # 1923. C.P. 25315. Buenavista, Saltillo; Coahuila, México. juan_013189@hotmail.com; jcorrey@gmail.com; chinoahj14@hotmail.com; ancarel46@gmail.com; luisaguirreu@yahoo.com.mx.

RESUMEN: En la lucha química contra *Spodoptera frugiperda* (Smith) formulados químicos, al ser utilizados en forma reiterada han disminuido su efectividad para mantener a niveles tolerables la presencia de esta plaga, a raíz del sobreuso de insecticidas, este insecto ha generado tolerancia y resistencia, lo que ha ocasionado que se utilicen diferentes moléculas con distinto modo de acción; tal es el caso de flubendiamide, que actúa en los canales sensitivos de los receptores de la Ryanodina (RyR); motivo por el cual se evaluó su efectividad en *S. frugiperda* mediante dos técnicas: aplicación tópica (contacto) y en dieta envenenada (ingestión). Se utilizaron seis concentraciones y un testigo para cada forma de aplicación y en cada una de las diluciones se utilizó 15 larvas como unidad experimental. Los resultados mostraron que la aplicación del insecticida flubendiamide ocasiona en larvas parálisis maxilar y corporal; además de que la alimentación se ve interrumpida. Las larvas sobrevivientes presentaron excreción fecal en abundancia, disminución de la alimentación e interrupción del ciclo biológico. Las dos técnicas de aplicación del insecticida son útiles en el control de *S. frugiperda*; sin embargo, por vía ingestión el tiempo de exposición y la concentración necesaria para su control es menor.

Palabras clave: Contacto, diamidas, insecticida, ingestión, ryanodina.

Assessment of flubendiamide for control fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions

ABSTRACT: The formulated chemicals to control *Spodoptera frugiperda* (Smith), its repeated use have diminished its effectiveness to maintain acceptable levels the presence of this pest, as a result of overuse of insecticides, this insect has generated tolerance and resistance, which has led to different molecules are used with different mode of action; Such is the case of flubendiamide, acting on sensory channels Ryanodine receptor (RyR); the goal of this study was to evaluated flubendiamide on *S. frugiperda* using two techniques: topical application (contact) and poisoned diet (ingestion). We utilized six concentrations and a control for each method of application used and in each dilutions of 15 larvae were used as experimental units. The outcome was that the application of insecticide flubendiamide larvae causes jaw and body paralysis; in addition his feeding was interrupted. Surviving larvae showed abundant fecal excretion, reduced feeding and interruption the biological cycle. The two insecticide application techniques are useful in the control of *S. frugiperda*; nevertheless, via ingestion exposure time and concentration necessary for control is lower.

Key words: Contact, diamides, ingestion, insecticide, ryanodine.

Introducción

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) constituye la plaga de mayor importancia en varios cultivos en México (Bahena, 1998), con alrededor de 80 especies en 23 familias distintas (Andrews, 1988; Pashey, 1988), siendo su principal hospedero el maíz, causándole daño desde plántula hasta la premadurez, con pérdidas que van desde 13 hasta 60 % y en casos extremos pérdida total del cultivo (Silva-Aguayo *et al.*, 2010). Ante este problema, en nuestro país el método de control más ampliamente difundido es el uso de productos químicos sintéticos (Bahena, 1998), formulados que han jugado un rol importante en el control del cogollero del maíz, pero en el uso excesivo de ingredientes activos para el control de *S. frugiperda*, ésta ha generado tolerancia y resistencia a una gama de

insecticidas químicos de diferente grupo toxicológico (Georghiou y Mellon, 1983; Yu, 1991; Pacheco-Covarrubias, 1993) lo que ha ocasionado que la industria de agroquímicos utilice diferentes moléculas para generar nuevos insecticidas sintéticos con diferente modo de acción, tal es el caso de flubendiamide del grupo químico de las Diamidas, que actúa principalmente por vía ingestión, cuyo modo de acción es modulador de los receptores de la Ryanodina (Bayer CropScience, 2014).

El flubendiamide es el primer representante comercial de las diamidas antranílicas, representa una novedosa clase de insecticidas con muy alta actividad contra un amplio espectro de lepidópteros (Nishimatsu *et al.*, 2005; Tohnishi *et al.*, 2005) que puede ayudar a superar el creciente problema de resistencia a insecticidas.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es evaluar el insecticida flubendiamide mediante aplicación tópica (contacto) y dieta envenenada (ingestión) para el control de gusano cogollero del maíz bajo condiciones de laboratorio.

Material y Método

Para el desarrollo del trabajo se utilizaron larvas de primer y tercer estadio de *S. frugiperda* de una colonia de laboratorio de el Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, alimentadas con dieta artificial Type diet Fall Armyworm (SOUTHLAND PRODUCT INC).

Para el bioensayo de aplicación tópica se utilizaron larvas de tercer estadio (L3) y seis concentraciones del insecticida flubendiamide (BELT[®]) a razón de 5000, 1000, 500, 100, 50 y 10 ppm, las cuales se transformaron a dosis (mg/g) tomando el peso promedio de las larvas y con apoyo de una micro-pipeta se aplico 1µl de cada concentración en la parte dorsal.

En el bioensayo de dieta envenenada se utilizaron larvas de primer estadio (L1) de menos de 24 horas de edad sin alimentar, con seis concentraciones del flubendiamide: 100, 50, 10, 1.0, 0.1 y 0.01 ppm, a partir de la dosis de campo recomendada. Para este bioensayo se utilizaron 3-4 g de dieta artificial como vehículo, donde se colocaron 100 µl de cada una de las concentraciones y posteriormente se introdujeron las larvas sobre la dieta envenenada.

Para los dos bioensayos se utilizaron 15 repeticiones por cada concentración y se utilizó un testigo, al cual sólo se le aplicó agua, siguiendo el mismo procedimiento de cada bioensayo.

La mortalidad se registró diariamente por 8 días, habiéndose definido como criterio de muerte la nula o poca reacción de movimiento total del insecto al ser tocado con las cerdas de un pincel de pelo fino, con un nivel de mortalidad máxima aceptable en el testigo del 10 %.

Se realizó la evaluación de los datos mediante el uso del análisis Probit utilizando el software PcProbit ver. 1.0 (Camacho, 1990), para estimar el valor de la DL50, CL50 y el margen de fiabilidad (límite fiducial) al 95 % de significancia y las líneas de regresión de la concentración-mortalidad según correspondió a cada bioensayo.

Resultados y discusión

Los resultados del presente estudio se refieren al efecto del insecticida aplicado en forma tópica y aplicada al sustrato alimenticio, y la comparación entre ambas formas de aplicación.

Efecto por contacto. A las 24 y 48 horas después de la exposición del insecticida se aprecian porcentajes bajos de mortalidad en las dosis altas en aplicaciones tópicas (Cuadro 1), con mortalidades de 6.67, 13.33 y 26.67 % en las dosis de 23.7, 47.3 y 236.7 mg/gr respectivamente, y a las 72 horas se observó que la mortalidad presentó un incremento de 6.67, 20, 26.67 y 60 % en las mismas dosis. Es

importante señalar que se observó en las larvas parálisis mandibular y/o su alimentación se vio interrumpida, ocasionando su posterior muerte, al respecto Tohnishi *et al.*, (2005) y Masaki *et al.*, (2006) mencionan que el flubendiamide ocasiona esta parálisis en las larvas; además, las larvas muertas no alcanzaron la muda al 4^{to} estadio larval o se encontraban en plena muda y se observó excreción de heces fecales en abundancia. Después de 96 horas, se presentaron mortalidades de 6.67, 20, 60 y 80 % en dosis de 4.7, 23.7, 47.3 y 236.7 mg/gr, interrupción de la alimentación y se observaron movimientos lentos y torpes. La evaluación a las 120 horas, presentó mortalidades de 6.67, 20, 40 y 73 % en las dosis de 4.7, 23.7, 47.3 y 236.7 mg/gr. A las 144 horas de evaluación se registró un incremento en la mortalidad de 80 % en la dosis más alta (236.7 mg/gr), seguida de las dosis 47.3, 23.7 y 4.7 mg/gr con una mortalidad respectiva de 60, 27 y 13 %, estabilizándose el número de larvas muertas. Se determinó mediante un análisis Probit una DL₅₀ de 45.15 mg/gr (Cuadro 3), las dosis de 0.47 y 2.37 mg/gr no presentaron mortalidad y se observó que las larvas sobrevivientes puparon 5 días después respecto al testigo.

Cuadro 1. Mortalidad de larvas de *S. frugiperda* por exposición a diferentes dosis del insecticida flubendiamide mediante aplicación tópica.

Dosis (mg/gr)	Mortalidad (%)					
	Horas					
	24	48	72	96	120	144
0.0	0	0	0	0	0	0
0.47	0	0	0	0	0	0
2.37	0	0	0	0	0	0
4.7	0	0	6.67	6.67	6.67	13.00
23.7	6.67	6.67	20.00	20.00	20.00	27.00
47.3	13.33	13.33	26.67	33.33	40.00	60.00
236.7	26.67	26.67	60.00	60.00	73.00	80.00

Efecto por ingestión. A las 24 horas después de la exposición no se observó un efecto del insecticida sobre larvas de gusano cogollero con dieta e insecticida (Cuadro 2). Como una observación adicional, es importante señalar que en un principio, al colocar las larvas en los contenedores con la mezcla de sustrato e insecticida, se apreció que todas las larvas se desplazaron hacia la parte superior del recipiente, lo que puede entenderse como un efecto de la sensación producida al contacto con el contenedor de la dieta. A las 48 horas después de haber expuesto las larvas al insecticida hubo un incremento en la mortalidad del 6.67 % en la concentración de 10 ppm y 40 % en la concentración de 100 ppm. Se observó que los inmaduros comenzaron a desplazarse hacia el alimento con el insecticida y alimentarse. A las 72 horas se observó que la mortalidad se acentuaba, con un incremento de 73.33 % en la concentración más alta (100 ppm); seguida de la concentración de 50, 10 y 1 ppm con una mortalidad de 66.67, 46.67 y 6.67 %; donde las larvas expuestas se observó que presentaron parálisis corporal y/o su alimentación se vio interrumpida, lo que ocasionó su posterior muerte. La mortalidad a las 96 horas se incrementó en 66.67 % en la dosis de 10 ppm y 86.67 % en la dosis de 50 y 100 ppm, y a las 120 horas se estabilizó la mortalidad alcanzando el 100 % en la dosis de 100 ppm; seguida de las concentraciones de 50, 10 y 1 ppm con 93.33, 86.67 y 6.67 %. Mediante el análisis Probit se determinó la CL₅₀ de 4.35 ppm (Cuadro 3). En la concentración de 1 ppm se presentó un 93.33 % de sobrevivencia y un 100 % en las concentraciones de 0.1 y 0.01 ppm; sin embargo, estas larvas no exhibieron cambio alguno en su proceso metamórfico, atrasándose su desarrollo fisiológico,

permaneciendo en el primer estadio larval y/o en algunos casos el desarrollo larval al segundo estadio se prolongó con un mayor tiempo respecto al testigo, particularmente en la concentración de 0.01 ppm.

Cuadro 2. Mortalidad de larvas de *S. frugiperda* por exposición a diferentes concentraciones del insecticida flubendiamide adicionado a la dieta.

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)				
	Horas				
	24	48	72	96	120
0	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.1	0	0	0	0	0
1	6.67	6.67	6.67	6.67	6.67
10	0	6.67	46.67	66.67	86.67
50	0	0	66.67	86.67	93.33
100	0	40	73.33	86.67	100

Comparación de las técnicas aplicadas. En el cuadro 3 se muestra la comparación de la mortalidad del insecticida flubendiamide en las dos técnicas aplicadas, se observa que en la aplicación tópica se necesita una CL_{50} de 954.72 ppm para matar el 50 % de la población de las larvas en comparación con la aplicación en dieta, la CL_{50} es de 4.35 ppm, lo que representa una diferencia de 219.5 veces entre la CL_{50} de ambas técnicas, coincidiendo con las especificaciones por el fabricante del insecticida, que refiere que este formulado actúa por ingestión (Bayer CropScience, 2014).

En la aplicación en dieta a la concentración de 100 ppm, a las 72 horas el porcentaje de mortalidad fue superior con un 73.33 %, en comparación con la aplicación tópica que alcanzó una mortalidad del 6.67 % en la misma concentración (100 ppm = 4.7 mg/gr) (Cuadro 1 y 2). Se observa un mejor efecto del insecticida vía ingestión que por contacto, característica indicada en la etiqueta del formulado por el proveedor, y registrando a las 120 horas de evaluación una mortalidad de 100 % en la concentración de 100 ppm (Cuadro 2), en contraste con la aplicación tópica en esa misma concentración alcanzó una mortalidad del 6.67 % y una mortalidad del 13 % a las 144 horas, e incluso en la concentración más alta (5000 ppm = 236.7 mg/gr), presentó una mortalidad máxima del 80 % (Cuadro 1), estos comparativos reflejan que la CL_{50} puede alcanzarse en un lapso de tiempo menor por vía ingestión. Resultados que indican que el insecticida Belt puede utilizarse como alternativa para el control de gusano cogollero *S. frugiperda*, además de que este producto no está indicado para ser utilizado para el control de esta especie, lo que representa una gran herramienta, particularmente en casos de resistencia de esta plaga a diferentes grupos toxicológicos.

Conclusión

El insecticida flubendiamide provee buen control de *Spodoptera frugiperda* por vía ingestión con una baja concentración y corto tiempo de exposición.

Cuadro 3. Ecuación de predicción, X^2 , CL_{50} , CL_{95} , y Límites fiduciales de la mortalidad de *S. frugiperda* por efecto de exposición al insecticida flubendiamide en aplicación tópica y dieta envenenada.

Técnica de Aplicación	Ecuación de predicción	r^2	X^2	CL_{50}	Límites Fiduciales 95 %		CL_{95}
					LI	LS	
Aplicación Tópica	$y=1.32882884+1.23198767(x)$	0.73	0.32	954.72	740.8	1250.52	20653.72
Dieta envenenada	$y=3.78719450+1.89769594(x)$	0.48	0.73	4.35	3.4	5.5	32.05

Literatura Citada

Andrews, K. L. 1988. Latin American Research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Florida Entomol. 71(4):630-53.

Bahena, J. F. 1998. Enemigos Naturales de Huevecillos y Larvas del Gusano Cogollero del Maíz, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y Observaciones de Laboratorio en Morelos México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila; México.

Bayer CropSciences, 2014. http://www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/id/bet_BCS. Fecha de Consulta: 29 de mayo-2014.

Camacho C. O. 1990. PcProbit. Ver. 1.0. Centro de estadística y Calculo. Colegio de postgraduados. Chapingo, México.

Georghiou, G. P. and R. B. Mellon. 1983. Pesticide resistance in time and space. In: Georghiou G. P., and T. Saito (Eds). Pest Resistance to Pesticides. Plenum Press. New York. pp: 175-205.

Masaki, T., Yasokawa, N., Tohnishi, M., Nishimatsu, T., Tsubata, K., Inoue, K., Motoba, K. and T. Hirooka. 2006. Flubendiamide, a Novel Ca^{2+} Channel Modulator, Reveals Evidence for Functional Cooperation between Ca^{2+} Pumps and Ca^{2+} Release. Mol. Pharmacol. 69(5):1733-1739.

Nishimatsu, T., Hirooka, T., Kodama, H., Tohnishi, M. and A. Seo. 2005. Flubendiamide a new insecticide for controlling lepidopterous pests Proc. BCPC Internat. Cong. Crop Science and Technology, Farnham, Surrey, UK, 2A-3, pp. 57-64.

Pacheco-Covarrubias, J. J. 1993. Monitoring insecticide resistance in *Spodoptera frugiperda* populations from the Yaqui Valley, Son., Mexico. Resistant Pest Manage. Newsletter 5(1): 3-4.

Pashey D. P. 1988. Current status of armyworm host strains. Florida Entomol. 71(3):227-34.

Silva-Aguayo, G., Rodríguez- Maciel, J. C., Lagunes-Tejeda, A. Landeral-Cázares, C., Alatorre-Rosas, R., A.M. Shelton, and C. A. Blanco. 2010. Bioactivity of Boldo (*Peumus boldus* Molina) (Laurales: Monimiaceae) on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) and *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). Southwestern Entomologist. 35(3): 215-231.

Tohnishi, M., Nakao, H., Furuya, T., Seo, A., Kodama, H., Tsubata, K., Fujioka, S., Kodama, H., Hirooka, T. and T. Nishimatsu. 2005. Flubendiamide, a Novel Insecticide Highly Active against Lepidopterous Insect Pests J. Pestic. Sci. 30(4): 354-360.

Yu, S. J. 1991. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Pestic Biochem Physiol. 39:84-91.