

EFFECTOS SUBLETALES DE METOXIFENOCIDE SOBRE *SPODOPTERA ERIDANIA* (STOLL)

Lutz, Alejandra^{1,2}

¹Facultad de Ciencias Agrarias (Universidad Nacional del Litoral)

² Becaria doctoral CONICET

Director/a: Dra. Bertolaccini, Isabel

Co-director/a: Dr. Scotta, Roberto

Área: Ciencias Biológicas.

Palabras Claves: insecticidas; oruga militar del sur; plaga

INTRODUCCIÓN

La soja (*Glycine max* L. Merr.) es el cultivo de mayor área sembrada en Argentina. Los insectos defoliadores ocasionan daño al disminuir el área foliar, comprometiendo el rendimiento. Las especies de mayor frecuencia de aparición en la zona central de la provincia de Santa Fe son *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) y *Rachiplusia nu* (Guenée). Luego de la incorporación de cultivares de soja genéticamente modificada, que expresan un gen de *Bacillus thuringiensis* Berliner con actividad insecticida sobre lepidópteros (soja Bt), se incrementó la densidad poblacional de aquellas orugas defoliadoras que la tecnología Bt no controla (Bernardi *et al.*, 2014), como es el caso de *Spodoptera eridania* (Stoll) (Lutz *et al.*, 2019). Ésta especie es polífaga y, además, posee un elevado potencial herbívoro ya que consume tanto estructuras vegetativas, como reproductivas. Los insecticidas reguladores del crecimiento (IGR) interfieren en los mecanismos normales de desarrollo de los insectos y son específicos de lepidópteros. El metoxifenocide es agonista de la hormona ecdisona, se une al receptor de la misma e induce una muda prematura letal a las pocas horas de aplicado (Arregui y Puricelli, 2013). En el mercado no existen plaguicidas registrados para el control de *S. eridania* (CASAFE, 2019), por lo que no se conocen los efectos subletales que pueden ocasionar.

OBJETIVO

- Determinar efectos ocasionados por Metoxifenocide sobre parámetros biológicos y reproductivos en los individuos de *S. eridania* que sobrevivieron a la exposición del insecticida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cría de insectos

Las larvas de *S. eridania* fueron recolectadas en lotes comerciales de soja cercanos a la localidad de Franck (Santa Fe), durante la campaña agrícola 2018/2019.

Título del proyecto: Efecto de la soja Bt sobre las plagas clave, secundarias y sus enemigos naturales, en la zona central de la provincia de Santa Fe.

Instrumento: CAID

Año de convocatoria: 2016

Organismo financiador: UNL

Director: Dr. Scotta, Roberto

Co-Director: Dra. Curis, María Cecilia

Se criaron bajo condiciones controladas de temperatura (24 ± 2 °C), HR (60 %) y fotoperiodo (14:10 h de luz:oscuridad), en cajas de PVC transparente de 26 cm de largo, 17 cm de ancho y 7 cm de alto, provistas con tapa de muselina. Para su alimentación se utilizó dieta artificial hasta el empupe. Los adultos emergidos se colocaron en jaulas de oviposición, con sus paredes cubiertas de malla metálica y la superior con tapa de vidrio, y provistas de papel en todos sus lados como sustrato de oviposición. Fueron alimentados con una dieta elaborada con agua destilada, azúcar, miel, metilparaben y ácido ascórbico, ofrecida en un algodón embebido y renovada diariamente. Las posturas se recolectaron a diario y se colocaron en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con dieta artificial para proporcionar humedad y alimento a las larvas neonatas, las que, a los tres días de su nacimiento, se trasladaron a cajas de PVC utilizadas para la cría masiva, procedimiento que continuó hasta la segunda generación donde se logró una producción suficiente para la realización del trabajo.

Insecticida

El producto insecticida evaluado fue Metoxifenocida [Intrepid®; Suspensión concentrada al 24% (SC); CORTEVA AGRISCIENCE ARGENTINA SRL.].

Se prepararon concentraciones diferentes de Metoxifenocida diluido en agua destilada, a las que también se agregó surfactante (Tween® 80; 0.01%; Merck and Co., Kenilworth, NJ, USA). Las concentraciones se calcularon en base a la dosis recomendada por CASAFE para el control de *S. frugiperda*, pero luego de realizar testeos previos, se ajustaron las concentraciones hasta dar con las utilizadas en el trabajo (Tabla 1).

Tabla 1. Concentraciones de Metoxifenocida ($\mu\text{g.i.a.mL}^{-1}$) utilizados en cada tratamiento

METOXIFENOCIDE			
Tratamiento	$\mu\text{g.i.a.mL}^{-1}$	Tratamiento	$\mu\text{g.i.a.mL}^{-1}$
Testigo	0	4	1.7
1	0.0017	5	8.5
2	0.017	6	17
3	0.17	7	42.5

Determinación de efectos subletales sobre el ciclo biológico y reproductivo

Se aplicó 0,5 μl de la solución insecticida sobre un cubo de dieta artificial (de 0,5 cm x 0,5 cm x 0,5 cm) utilizando una micropipeta Discovery Comfort (HTL LabSolutions) de 10 μl de capacidad, cubriendo solamente una cara de la porción de dieta. Cada cubo fue colocado en placas de Petri de 9 cm de diámetro. Transcurrida una hora de la aplicación, se agregaron cinco (5) larvas en estadio L3. Se realizaron 10 repeticiones por cada concentración evaluada. En el tratamiento testigo, sólo se aplicó agua destilada con el surfactante. El bioensayo fue mantenido bajo condiciones controladas (temperatura: 25°C; humedad relativa: 60%; fotoperiodo: 14:10 h de luz: oscuridad) en la Cámara de cría de Zoología Agrícola (FCA-UNL).

Las concentraciones 0.0017 (Tratamiento 1) y 0.017 μg de i.a. mL^{-1} (Tratamiento 2), lograron un alto porcentaje de sobrevivencia de los individuos expuestos, por lo tanto, a partir de éstas se realizaron los ensayos correspondientes para evaluar los efectos subletales de los insecticidas sobre parámetros del ciclo biológico y reproductivos (fecundidad y fertilidad) de la especie. Las larvas que sobrevivieron, luego de 144 horas

de la exposición, fueron colocadas en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con dieta artificial libre de plaguicidas como alimento. Diariamente se reemplazó el alimento hasta que los individuos completaron la fase de pupa, estado en el cual se realizó la determinación del sexo mediante la observación de la porción terminal con lupa estereoscópica Lancet 30x. Una vez que los adultos emergieron, se colocó una pareja por recipiente de oviposición (17 cm de altura, 11 cm de diámetro superior y 7 cm de diámetro inferior). La misma dieta de adultos utilizada en la cría se ofreció a través de un algodón embebido. Se evaluaron los siguientes parámetros del ciclo de vida: duración del período larval (días) y peso de pupas (mg), para lo cual se utilizó una balanza de precisión (OHAUS – PIONNER de 0.0001 g. de sensibilidad). Una vez eclosionados los adultos, se recolectó cada desove y se registró la cantidad de huevos con lupa estereoscópica Lancet 30x para determinar la fertilidad (N° de huevos puestos por hembra). Dos días después de la eclosión de los huevos se determinó la fecundidad (N° de huevos eclosionados).

Análisis estadístico

Los datos recolectados se analizaron mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, y se compararon estadísticamente mediante ANOVA. Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos se utilizó el test de Tuckey ($p < 0,05$) ó el test no paramétrico de Kruskal Wallis, según correspondiera (test estadístico InfoStat).

RESULTADOS

Determinación de efectos subletales sobre el ciclo biológico y reproductivo

Las concentraciones de Metoxifenocida de 0.0017 (Tratamiento 1) y 0.017 μg de i.a. mL^{-1} (Tratamiento 2), lograron un alto porcentaje de sobrevivencia de los individuos expuestos, utilizándose éstos para las evaluaciones del Bioensayo 2. La exposición de *S. eridania* a diferentes concentraciones subletales de Metoxifenocida afectó al ciclo de vida de la misma (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos subletales de Metoxifenocida sobre el ciclo de vida de *S. eridania*

Tratamiento	Concentración (μg de i.a. mL^{-1})	n	Período larval (días)* ($\bar{X} \pm \text{DE}$)	Peso de pupa (mg)* ($\bar{X} \pm \text{DE}$)
Testigo	0	43	20,23 \pm 2,38 a	244,43 \pm 8,05 bc
1	0,0017	57	31,09 \pm 2,73 bc	187,66 \pm 6,99 a
2	0,017	31	31,84 \pm 2,73 c	216,05 \pm 9,48 ab

* Medias con letras iguales en la misma columna no tienen diferencia significativa entre sí (período larval Test: Kruskal Wallis =0.05; peso de pupa Test: Tukey $\alpha=0.05$).

El tiempo de desarrollo larvario se incrementó considerablemente en los tratamientos: 31,09 y 31,84 días en los tratamientos 1 y 2, respectivamente, en comparación con el tratamiento Testigo (20,23 días) (Tabla 2). Según la bibliografía, podrían aparecer estadios larvales adicionales, causados por la acción de los insecticidas, que prolongarían la duración del estado larval en los insectos expuestos.

La exposición a 0,0017 μg de i.a. mL^{-1} de Metoxifenocida (Tratamiento 1) causó una disminución significativa del peso de pupa (Tabla 2). Éste insecticida actúa imitando la hormona natural de la muda del insecto (ecdisona) acelerando el pasaje de un estadio al siguiente, por lo tanto, la reducción del peso de la pupa podría deberse a una caída en la

alimentación, ya que en este proceso de muda se produce un incremento de los compuestos que en ella intervienen y, consecuentemente, una menor alimentación (Viñuela *et al.*, 1991).

Por otro lado, la exposición a Metoxifenocide durante la alimentación larval no afectó la cantidad de huevos colocados por hembra (fertilidad) (Tabla 3).

Tabla 3. Efectos subletales de Metoxifenocide sobre el ciclo reproductivo de *S. eridania*

Tratamiento	Concentración (µg de i.a. mL ⁻¹)	n	N° Huevos* (X±DE)	N° Larvas* (X±DE)
Testigo	0	10	1424,00±118,98 b	1128,00±176,23 b
1	0,0017	6	582,33±624,51 ab	129,00±213,72 a
2	0,017	7	1126,57±690,52 ab	454,14±293,49 a

* Medias con letras iguales en la misma columna no tienen diferencia significativa entre sí (Test: Kruskal Wallis α=0.05).

La fecundidad disminuyó considerablemente en los tratamientos que incluían insecticida (Tabla 3), siendo 8, 7 y 2, 5 veces menor comparado con el Testigo, en las concentraciones 0,0017 y 0,017 µg de i.a. mL⁻¹, respectivamente. Los IGR, podrían alterar el ADN en los ovarios de las hembras y afectar la calidad del esperma producido por el macho adulto. Además, el Metoxifenocide perturba el sistema sensorial de los machos adultos, perjudicando el proceso de la cópula, por lo que la disminución de la fecundidad es previsible (Hoelscher y Barret, 2003).

CONCLUSIÓN

Las larvas de *S. eridania* expuestas a concentraciones subletales de Metoxifenocide presentaron mayor duración del período larval, menor peso de pupas y disminución de la fertilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- **Arregui, M. C. y Puricelli, E. C.** 2013. Mecanismos de acción de plaguicidas. 1a edición: UNR Editorial. Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina. 268 p.
- Bernardi, O.; Sorgatto, R.; Barbosa, A.; Domingues, F.; Dourado, P.; Carbalho, R.; Martinelli, S.; Head, G. y Omoto, C. 2014. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically modified soybean expressing Cry1Ac protein. Crop Protection 58: 33-40.
- **CÁMARA DE SANIDAD AGROPECUARIA Y FERTILIZANTES, CASAFE.** 2019. Guía de Productos fitosanitarios. Edición 2017/2019. Buenos Aires, Argentina. 1200 p.
- **Hoelscher, J. A. y Barrett, B. A.** 2003. Effects of methoxyfenozide- treated surfaces on the attractiveness and responsiveness of adult *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). Journal of Economic Entomology 96: 623-628.
- **Lutz, A., Bertolaccini, I., Scotta, R., Mantica, F., Magliano, M., Sanchez, P., y Curis, M.** 2019. Primer reporte de *Spodoptera eridania* (Stoll) (Lepidoptera: Noctuidae) en el centro de la provincia de Santa Fe. FAVE Sección Ciencias Agrarias, 18(2): 19-24.
- **Viñuela, E., Budia, F. y Del Estal, P.** 1991. Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas 17: 391-400.