



MEMORIAS



XXVI CONGRESO NACIONAL DE CONTROL BIOLÓGICO

Hotel Misión Carlton
Guadalajara, Jal., México
3 – 8 Noviembre, 2003

Editores:

Marcelino Vázquez García
J: Francisco Pérez Domínguez
Karla H. Ibarra Cortés
Claudia I. Balpuesta León
Jorge Rafael Vázquez Reyes
Jesús Cervantes Ríos
Nelly Ibarra Frías

La presentación y disposición en conjunto de las Memorias XXVI CONGRESO NACIONAL DE CONTROL BIOLÓGICO son propiedad de la Sociedad Mexicana de Control Biológico, A. C.. Ninguna parte de esta obra puede ser reproducida o transmitida, mediante ningún sistema o método, electrónico o mecánico, sin su consentimiento por escrito.

Derechos Reservados

©2003, Sociedad Mexicana de Control Biológico. A.C., Guillermo Pérez Valenzuela 127, Col. del Carmen. C.P . 04100, Coyoacán. D. F.

Editores:

Marcelino Vázquez García, J. Francisco Pérez Domínguez, Karla H. Ibarra Cortés, Claudia I. Balpuesta León, Jorge R. Vázquez Reyes, Jesús Cervantes Ríos y Nelly Ibarra Frias.

Primera edición, octubre 2003

ISBN: 970-27-0415-4

Impreso en México

N o t a I m p o r t a n t e

Para la elaboración de los resúmenes de este Congreso se proporcionaron a los autores instrucciones específicas de la extensión de tipo letra, procesador electrónico y formato en general, todo esto con la intención de facilitar el manejo de la información y brindar un documento homogéneo. Afortunadamente, en la mayoría de los casos se cumplieron las indicaciones; cuando no fue así, los editores acordaron ajustar a un formato y corregir algunos de los errores que, a juicio de esto, lo ameritaban. Sin embargo, los cuadros, figuras y la información original jamás se modificaron y aunque pudo haberse cometido algunos errores tipográficos, el contenido de los resúmenes es responsabilidad exclusiva de los autores. Por otro lado, la Sociedad Mexicana de Control Biológico (SMCB, A.C) no avala la efectividad de los productos ni de los accesorios que se mencionan por nombre común o marca comercial en alguno de los trabajos, como tampoco puede respaldar o certificar la validez de los experimentos y resultados.

CONTENIDO

Conferencia Magistral	1
Mesas de Trabajo	
Biología.....	9
Biosistemática y Taxonomía.....	48
Biotecnología y Genética.....	74
Cría Masiva y Control de Calidad.....	87
Ecología y Comportamiento.....	113
Evaluación de Impacto de Entomófagos y Entomopatógenos.....	171
Simposia	
Análisis y Perspectivas de Control Biológico de Plagas en la Raíz.....	275
Virus Entomopatógenos.....	310
Sección de Carteles	335
Índice de Autores	460

CONFERENCIA MAGISTRAL

BIOLOGICAL CONTROL OF SOYBEAN PESTS IN BRAZIL WITH EMPHASIS ON THE NUCLEOPOLYHEDROVIRUS OF *Anticarsia gemmatalis* (LEP.: NOCTUIDAE)

Flávio Moscardi

¹Embrapa Soja, C. Postal 231, Londrina, PR, Brazil, CEP 86001-970, moscardi@cnpso.embrapa.br

Introduction

Major soybean insect pests in Brazil are the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, as a defoliator, and stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae), which attack pods and seeds. These pests alone account for over 90% of the insecticide use on the crop. In the mid 1970's a soybean IPM program was implemented in the country, leading to substantial adoption by growers and reduction in the number of insecticide applications on the crop nationwide (Moscardi 1993). Under the scope of this program, biological control initiatives were developed under the leadership of the Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa), National Center for Soybean Research (Embrapa Soja), in Londrina, state of Parana, involving the use of a Nucleopolyhedrovirus of *A. gemmatalis* (AgMNPV) and egg parasitoids, mainly *Trissolcus basalus*, to control the stink bug complex. Both initiatives involve mass production and release of the biological control agents. A brief overview of the *T. basalus* program will be presented, but emphasis will be on the large-scale production and use of the AgMNPV. The AgMNPV was isolated in different regions of the country in the 1970's (Allen and Knell, 1977; Carner and Turnipseed, 1977). Initial field experiments with the AgMNPV indicated its potential to be used to control the insect in soybean IPM programs (Carner and Turnipseed, 1977; Moscardi *et al.*, 1981). In the beginning of the 1980's, research results generated at Embrapa Soja, were used to implement a pilot program for AgMNPV use in soybean growers' fields (Moscardi and Corrêa Ferreira, 1985; Moscardi, 1989; 1999). This program is considered the largest program worldwide regarding the use of an insect virus, and its different phases of implementation will be discussed.

Early Implementation of the Program

A pilot program for AgMNPV was conducted during the 1980/81 and 1981/82 seasons, on 21 farms in the states of Parana and Rio Grande do Sul, when one-hectare plots treated with the virus resulted in efficient control of *A. gemmatalis* populations compared to insecticide-treated and untreated paired plots. Implementation of the program began in the 1982/83 season, when ca. 2000 ha of soybean were treated.

Initially, small amounts of AgMNPV were produced in host larvae reared on artificial diet. Frozen killed larvae were distributed to extension officers for treatment of demonstration plots and virus production in the field, which in turn provided material to treat other areas in the same season or to collect and store dead larvae for use in the subsequent season.

Consolidation of the Program

AgMNPV use gained momentum with the development of a wettable powder formulation of the virus in 1986 (Moscardi, 1989; 1999). Production and formulation was initially performed by the Employees' Association of Embrapa Soja, Londrina, PR and the Research Station of the Farmers' Cooperatives for the State of Paraná (COODETEC), Cascavel, PR. In 1989 Embrapa Soja started to negotiate contracts with private companies interested in producing and commercializing this biological insecticide. From 1990 on, five companies signed the contracts with Embrapa. Through these contracts Embrapa would transfer all the technology for AgMNPV production in the laboratory and in soybean growers' fields, as well as for formulation of the product, including the quality control of production batches. The companies would each pay to Embrapa Soja US\$ 40,000 initially, plus 5% of royalties of the AgMNPV sales each year, for a period of ten years. The products based on the AgMNPV of each company were registered according to the Brazilian policies and requirements (Moscardi and Sosa-Gómez, 1996).

Virus Production

Despite the efforts of Embrapa to develop and improve a technically and economically viable procedures for AgMNPV mass production in the laboratory (Moscardi *et al.*, 1997), it was seriously attempted by only one of the companies (Geratec, now Millenia), that was able to produce around 150,000 hectares equivalent of the virus per year. Due to high cost of labor and components of the insect diet, this company discontinued laboratory production of the virus. On the other hand, AgMNPV field production became widely adopted by all companies, as the best available method to obtain large quantities of virus-killed larvae at a low cost. Field production of the virus became a big business, involving different persons that have specialized in this type of production to sell over 35 metric tons of AgMNPV-killed caterpillars/year to the private companies (Moscardi, 1999). In the season 2002/2003 about 45 tons were collected, representing ca. 2,000,000 hectare equivalents of the final formulated product to be used in the season 2003/2004. It involves impressive logistics. Growers' fields are contracted and the pest control in their fields is taken care off by the AgMNPV producers. Usually two to three fields are sprayed with the AgMNPV every day during the most prevalent *A. gemmatilis* larval occurrence (December and January). Peak collection occurs from the 8th to the 10th day in each selected field, and may involve from 200-300 "larval pickers"/day, requiring around 10 buses to transport the "pickers" for each collecting site. In a single day, production in one collection site may reach up to 600 kg of AgMNPV-killed larvae, enough to process the virus for treatment of ca. 30,000 ha. However, the annual AgMNPV field production has not been sufficient to attend the crescent demand for this biological insecticide. Furthermore, yearly production is too much dependent on natural incidence of the host insect that may occur in low numbers in certain seasons, thus reducing AgMNPV yield.

Recent research efforts led to considerable improvement of laboratory large-scale production of the virus (Santos 2003), in order to complement field production and attend the crescent demand for the biological insecticide. Procedures for laboratory production have been developed or modified in order to increase efficacy and reduce

costs. These procedures are currently being implemented in a "pilot laboratory" in one of the private companies (Coodetec). Initial results with inoculation of ca. 25,000 larvae/day indicate that the final cost of AgMNPV produced in the laboratory will be competitive with those of the chemical insecticides used to control the insect. The results have been so promising cost wise, that Coodetec is setting up new laboratory facilities to produce 10 metric tons of AgMNPV-killed larvae/year in the laboratory, which would correspond to an additional amount of the biological product to treat over 500,000 hectares. The process will be available to the other private industries, augmenting the availability of the biological product to soybean growers.

AgMNPV Use

Details on technology of application (dosage, timing, equipment, etc) and evaluation for AgMNPV use can be found in Moscardi and Sosa-Gómez (2000). Effective use by growers started in the season 1982/83, when about 2,000 hectares of soybean were treated with the virus. In the early to mid 1990s AgMNPV use reached around 1,000,000 ha annually and, in the season 2001/2002, the treated area with the pathogen in Brazil was over 1,550,000 ha (more than 11% of the soybean cultivated area in the country). In the season 2001/2002 the demand for the biological insecticide was sufficient for 2,300,000 ha, about 750,000 hectare equivalent (HEQ) over the availability of the product in the market. The increase in demand for the AgMNPV occurred mainly in the central region of Brazil (states of Mato Grosso-MT, Mato Grosso do Sul-MS, and Goiás-GO), where over 50% of the soybean is produced. The use of AgMNPV in this region used to be small three years ago, but increased dramatically in the last two seasons. This is illustrated in Table 1, which shows the sales of AgMNPV by COODETEC in the last three soybean seasons and the sales for the season 2002/2003. It is important to notice that this company was short of Coopervirus[®] (AgMNPV) to attend the crescent demand in the season 2001/02 and for the season 2002/03. Also, its sales to the central regions, especially to Mato Grosso state, increased substantially from the season 1999/2000 (27,330 HEQ) to the season 2002/03 (222,500 HEQ), representing an increase from 9.2% to 46.3% of the total sale of AgMNPV by COODETEC, in this period. For the past season (2002/03), all the private companies have produced AgMNPV to treat about 1,700,000 ha, which was ca. 800,000 HEQ short of the actual demand for the biological insecticide (information obtained from the private companies producing the virus, by F. Moscardi). Use of the virus in Paraguay has also been significant, and it is currently estimated at 150,000 ha annually.

Benefits of the Program

The use of the AgMNPV in Brazil has generated substantial economical, ecological, and social benefits. At the soybean grower level, considering that the cost of the AgMNPV is ca. 20% to 30% lower than the average cost of chemical insecticides, and that the virus usually provides control of the insect during the season with only one application, compared to an average of two applications for chemical insecticides, the economical returns from the use of the virus may reach up to ca. US\$ 7.00/ha/season, including product cost and application cost (fuel, labor, etc.). That means that current annual savings at grower level, in the total area sprayed with the virus (ca. 1,700,000 ha in

season 2002/2003) is over US\$ 12,000,000. Since implementation of the program in the season 1982/83 up to season 2002/2003, it is estimated that cumulative use of the AgMNPV since 1983 represented savings to growers of over 120 million US\$. Most importantly, since the beginning of the program more than 18 million liters of chemical insecticides were not sprayed in the environment, resulting in considerable benefits to society. Also, the program has contributed for socioeconomic improvement of poor families in AgMNPV field production regions in the south, as handpicking of virus-killed larvae during the soybean season has provided an additional and important income to these families. Another important aspect is that the program has contributed to change the profile of the insecticides used to control *A. gemmatalis* larvae in soybean. An example can be taken from the southern state of Parana, where the AgMNPV use corresponds to about 30% of the total use of this biological insecticide in the country. Through surveys conducted by the official extension of Parana (Emater), during five seasons (1992/93 to 1996/97), it was evident that the profile of the insecticides used to control *A. gemmatalis* changed substantially from wide spectra and highly toxic insecticides, such as monocrotophos, to AgMNPV-based products and insect growth regulators (IGR's). Currently, the AgMNPV is the most used insecticide against the target host, representing ca. 22% of insecticide applications in this state, with IGR's representing about 15% of the applications against the insect. A three-year survey among ca. 1,000 farmer of Parana state, also conducted by Emater-PR (L. Morales, unpubl.), have evidenced the importance of choosing selective insecticides for the first application against *A. gemmatalis* on soybean. When AgMNPV or IGR's were used in the first application on the crop, the total number of application of insecticides (including all insect pests) were substantially lower compared to the first applications on the crop by the chemical insecticides monocrotophos, endosulphan, and pyrethroids.

Table 1. Sales of Coopervirus® (AgMNPV) (hectare equivalent) by COODETEC (seasons 1999/2000 to 2002/2003 by region/state of Brazil and Paraguay^{1,2}

Region/State	1999/2000	2000/2001	2001/2002 ¹	2002/2003 ²	Total
South					
PR	257,915	437,575	173,550	190,500	1,059,540
SC	9,650	6,450	2,180	500	18,780
RS	3,450	42,480	42,180	27,000	115,110
Sub total	271,015	486,505	217,910	218,000	1,192,430
Southeast					
MG	0	7,300	3,000	0	10,300
SP	0	800	8,200	0	9,000
Sub total	0	8,100	11,200	0	19,300
Central					
MT	17,200	51,650	174,440	194,750	438,040
MS	10,130	25,300	0	10,000	45,430
GO	0	31,680	12,900	17,750	62,330

Sub total	27,330 (9.2%)	108,630 (16.9%)	187,340 (37.7%)	222,500 (46.3%)	545,800 (28.4%)
Paraguay	0	40,500	80,000	40,000	160,500
Total	298,345	643,735	496,450	480,500	1,919,030

¹ COODETEC could not attend a demand for 180,000 hectare equivalent of the AgMNPV

² All of the AgMNPV production was sold up to April, 2002 for the season 2002/2003. An additional demand for 300,000 hectares could not be attended by COODETEC (MT, GO, MS, MG, PR and Paraguay), due to lack of the product.

Future Perspectives and Needs

The program for AgMNPV use in Brazil has been so successful due to various reasons:

i) The implementation of a soybean IPM program in the country, in the 1970's (see Moscardi 1993), facilitating adoption of the AgMNPV by soybean growers; ii) The proactive activities of official extension services in transferring the AgMNPV technology, initially in the South and more recently to other regions; iii) High virulence of the pathogen to the host and efficient horizontal transmission in the host population by biotic and abiotic factors, allowing control of *A. gemmatalis* with only one application during the season (see Moscardi 1999); iv) As a defoliator, the host insect is continually exposed to the application of the AgMNPV; v) Soybean tolerates high defoliation (30-40%) (high economic injury level) without significant yield reduction; vi) Usually, in most regions there are no other simultaneous key pests, allowing use of a highly selective biological insecticide as the AgMNPV; and vii) The possibility of producing large quantities of the virus under field conditions at a very low cost. However, to attend the crescent demand for this biological insecticide, field and laboratory production procedures will have to be improved, since for the last two seasons (2001/2002 and 2002/2003) the availability of the product was well short of the demand.

This is the main factor limiting expansion of AgMNPV use nowadays. Current improvements in laboratory production of the virus (quality and cost wise) indicate that this method of AgMNPV production will complement and gradually substitute field production of the viral insecticide by the private companies producing the AgMNPV. Problems related to the formulation of the product, as well as other factors that affect efficacy of the AgMNPV in the field have been worked out (Silva & Moscardi 2002). With the expansion of the area treated with the pathogen, there have been concerns related to the selection for resistance to AgMNPV by field populations of *A. gemmatalis*. High resistance to the pathogen has been detected through selection pressure in the laboratory (Abot et al. 1996), but has never been observed in field populations of the insect (Moscardi et al., unpubl.). However, there is a need of continuous monitoring of the host populations, especially in regions of extensive use of the biological insecticide, to detect possible cases of resistance and devise strategies for management of the resistance to the AgMNPV. Genetic engineering of AgMNPV is being undertaken in Brazil. An AgMNPV lacking the *egt* gene was developed, being more virulent to *A. gemmatalis* larvae and reduced the time to kill this host by at least by one day compared to the wild AgMNPV (Pinedo et al. 2003.). This and other recombinant AgMNPV will

have to be tested for its usefulness in the context of the soybean IPM program and the environmental risks involved. Despite the problems and some limitations, the future perspectives indicate expansion of the AgMNPV use in Brazil and other South American countries.

Literature Cited

- Abot, A. R., Moscardi, F., Fuxa, J. R., Sosa-Gómez, D. R., and Richter, A. R. 1996. Development of resistance by *Anticarsia gemmatalis* from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus under laboratory selection pressure. *Biol. Control* 7, 126-130.
- Allen, G. E., and Knell, J. D. 1977. A nuclear polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatalis*. I. Ultrastructure, replication, and pathogenicity. *Fla. Entomol.* 60, 233-240.
- Carner, G. R., and Turnipseed, S. G.. 1977. Potential of a nuclear polyhedrosis virus for the control of the velvetbean caterpillar in soybean. *J. Econ. Entomol.* 70, 608-610.
- Moscardi, F. 1989. Use of viruses for pest control in Brazil: the case of the nuclear polyhedrosis virus of the soybean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 84, 51-56.
- Moscardi, F. 1993. Soybean integrated pest management in Brazil. *Plant Prot. Bull.* 41, 91-100.
- Moscardi, F. 1999. Assessment of the application of baculoviruses for the control of Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 44, 257-289.
- Moscardi, F., Allen, G. E., and Greene, G. L. 1981. Control of the velvetbean caterpillar by nuclear polyhedrosis virus and insecticides and impact of treatments on the natural incidence of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *J. Econ. Entomol.* 74, 480-485.
- Moscardi, F., and Corrêa-Ferreira, B. S.. 1985. Biological control of soybean caterpillars. In: *Proc. World Soybean Res. Conf., 3rd*, Ames, ed. R. Shibles, pp. 703-711. Boulder, CO: Westview.
- Moscardi, F., Leite, L. G., and Zamataro, C. E.. 1997. Production of nuclear polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae): effect of virus dosage, host density and age. *An. Soc. Entomol. Brasil* 26, 121-132.
- Moscardi, F., and Sosa-Gómez, D. R.. 1996. Soybean in Brazil. In: "Biotechnology and Integrated Pest Management"(G. J. Persley, Ed.), pp. 98-112. CAB Int., Wallingford, UK.
- Moscardi, F., and Sosa-Gómez, D. R. 2000. Microbial control of insect pests of soybeans. In: "Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and other Invertebrate Pests" (L. A. Lacey, and H.K. Kaya, Eds.), pp. 447-466. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London.
- Pinedo, F.J.R, Moscardi, F., Luque, T., Olszewski, J., Ribeiro, BM. Inactivation of the ecdysteroid UDP glucosyltransferase (*egt*) gene of *Anticarsia gemmatalis*

- nucleopolyhedrovirus improves its virulence towards its insect host. *Biological Control* 27: 336-344.
- Santos, B. 2003. Avanços na produção de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) infectadas com o seu vírus de poliedrose nuclear, em laboratório e do bioinseticida à base desse vírus. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Pr, Brasil, Tese de Doutorado.
- Silva, M. T. B., and Moscardi, F. 2002. Field efficacy of the Nucleopolyhedrovirus of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae): effect of formulations, water pH, volume and time of application, and type of spray nozzle. *Neotrop. Entomol.* 31, 75-83.

BIOLOGÍA

**SUSCEPTIBILIDAD DE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A *Heterorhabditis megidis* (RHABDITIDA:
HETERORHABDITIDAE)**

Jaime Molina Ochoa, Manuel Alejandro Rodríguez Vega, Roberto Lezama Gutiérrez,
Martín González Ramírez, Marilú López Lavín, Edelmira Galindo Velasco, Oscar
Rebolledo Domínguez, Alberto Isaac Zepeda Jazo y José Luis Cárdenas Amezcua.

Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Km. 40
Autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima 28140, jmolina@ucol.mx

Palabras Clave: gusano cogollero, control biológico, nemátodos entomopatógenos

Introducción

El gusano cogollero es considerado como una de las plagas más importantes en el Hemisferio Occidental. Esta plaga ataca una amplia variedad de cultivos incluyendo el maíz, cacahuate, soya y algodón, entre otros (Luttrell y Mink, 1999). Este insecto se controla tradicionalmente con insecticidas químicos; sin embargo, muestra altos niveles de resistencia a insecticidas (Yu, 1992) esto ocasiona un uso más frecuente y concentraciones mayores de los plaguicidas, además de la creación de insecticidas más potentes provocando el deterioro ambiental y perturbamiento de los agroecosistemas (Barret, 1995). La búsqueda de alternativas para el control de plagas agrícolas, que no dependan del uso de los plaguicidas químicos, ha obtenido logros, tal es el caso del control microbiano de insectos plaga usando virus, bacterias, hongos entomopatógenos, protozoarios y nemátodos entomopatógenos.

Se han reconocido a los nemátodos entomopatógenos como excelentes agentes de control biológico en contra de varios insectos plaga especialmente los que viven en el suelo, hábitats crípticos ó que pasan un estadio en el suelo, entre ellos varias especies de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, (Kaya y Gaugler, 1993). Las larvas de gusano cogollero son susceptibles a *S. carpocapsae*, tanto a nivel de laboratorio (Molina-Ochoa *et al.*, 1996) como en ensayos de campo (Cabanillas y Raulston, 1994). La efectividad de estos nemátodos depende directamente de la especie del nemátodo, la cepa, la concentración y el estado de crecimiento del insecto hospedero (Fuxa *et al.*, 1988). El objetivo de este estudio fue determinar la susceptibilidad de larvas de *S. frugiperda* a la cepa *Heterorhabditis megidis* bajo condiciones de laboratorio.

Materiales y Métodos

Este experimento de llevó a cabo en el Laboratorio de Nemátodos Entomopatógenos de la DES Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Colima. Las larvas de *S. frugiperda* se colectaron de cultivos de maíz del Estado de Colima y con ellas se estableció una colonia, la cual se alimentó con dieta de frijol pinto modificada (Burton y Perkins, 1989). Para determinar la susceptibilidad de larvas de gusano cogollero a nemátodos entomopatógenos se utilizó la cepa *Heterorhabditis megidis*. La cepa fue

criada en larvas de *S. frugiperda* usando una modificación a los procedimientos de Dutky *et al.*, (1964).

Bioensayos de Susceptibilidad

Se utilizaron cajas de Petri (60 X 15 mm) con papel Whatman No. 1 de 5.5 cm de diámetro como arenas de bioensayo. Para los bioensayos de susceptibilidad de las larvas de gusano cogollero a *H. megidis*, se colocó una larva de 8 días de edad dentro de cada arena conteniendo concentraciones de infectivos juveniles (0, 5, 10, 15, 20, 30 y 40 nematodos/ml). Los infectivos juveniles fueron suspendidos en 1 ml de agua estéril destilada y distribuidos sobre una pieza de papel Whatman en el fondo de la caja de Petri, una hora antes de colocar la larva. Cada tratamiento constó de 20 arenas con cuatro repeticiones.

El experimento se distribuyó en un diseño completamente al azar con siete tratamientos y cuatro repeticiones. Las cajas de Petri de cada repetición fueron subsecuentemente colocadas en doble bolsa de plástico e incubadas en un cuarto oscuro ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) para evitar la desecación. La mortalidad de los insectos fue registrada cada 24 horas durante 120 horas (Molina *et al.*, 1996). Los análisis de varianza, las comparaciones entre promedios mediante la prueba de Tukey ($P < 0.05$) y las concentraciones letales promedio fueron procesados usando el software SAS (SAS Institute, 1998).

Resultados

El porcentaje de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* de 8 días de edad mostró diferencias altamente significativas en todos los períodos postratamiento. Las larvas de *S. frugiperda* fueron susceptibles aun a bajas concentraciones de nemátodos por mililitro. A 40 nematodos/ml lograron más del 50% de mortalidad a las 48 horas. Las concentraciones de 15, 20, 30 y 40 Nem/ml lograron mortalidades superiores al 50% a las 72 horas; sin embargo, las concentraciones de 5 y 10 lo lograron a las 96 horas La mayor mortalidad de larvas se registró durante las 48 y 72 horas.

Cuadro 1. Efecto de las concentraciones de nematodos de la cepa *H. megidis* sobre la mortalidad de larvas de *S. frugiperda* promedio a través de tiempos postinoculación.

Concentración	Horas post-inoculación				
	24	48	72	96	120
0	0.00 e	0.00 e	0.00 e	46 d	1.07 e
5	11.07 ab	31.51 c	42.84 d	1.52 c	3.01 d
10	8.93 ab	31.32 c	44.31 cd	5.42 c	6.95 cd
15	11.07 ab	38.49 bc	50.80 cd	0.06 bc	0.86 bcd
20	14.30 ab	42.84 b	56.83 bc	3.66 bc	5.32 bc
30	14.30 ab	45.72 b	64.47 ab	9.82 ab	1.86 b
40	20.47 a	54.52 a	74.43 a	80.31 a	86.77 a
MSD	14.45	8.59	12.88	12.34	11.06

*Medias seguidas con la misma letra no son diferentes significativamente (Prueba de Tukey, $p < 0.05$).

La concentración letal promedio (CL50) fue de 4.727 Nem/ml y el límite superior e inferior fueron de 6.7 y 3.3, respectivamente.

Discusión

Existieron diferencias significativas en susceptibilidad de larvas de gusano cogollero de 8 días de edad a *H. megidis*. Aún a bajas concentraciones proporcionaron control superior al 50%, similares resultados fueron encontrados por Molina *et al.*, (1996). Se observó que existe una respuesta asociada del incremento de la concentración de nemátodos y el porcentaje de mortalidad de larvas de gusano cogollero, resultados similares fueron encontrados Fuxa *et al.*, (1988) y Richter y Fuxa (1990) con *S. feltiae*.

Conclusiones

Las larvas de gusano cogollero son susceptibles a nemátodos entomopatógenos de la cepa *H. megidis*. Existe una respuesta asociada entre el porcentaje de mortalidad acumulada de larvas de gusano cogollero y la concentración de *H. megidis* utilizada.

Literatura Citada

- Barret, B. 1995. Commentary: plants, pesticides and production in Guatemala: nutrition, health and nontraditional agriculture. *Ecol. Food. Nutr.* 33: 293-309.
- Burton, R. L., y W. D. Perkins. 1989. Rearing the corn earworm and fall armyworm for maize resistance studies. Pp.: 37-45. *In: Toward insect resistant maize for the third world: Proc. Of an international symposium on methodologies for developing host plant resistance to maize insects.* México, D. F. CIMMYT, 327 pp.
- Cabanillas, H. E. y J. R. Raulston. 1994. Pathogenicity of *Steinernema riobrave* against corn earworm, *Helicoverpa zea* (Boddie). *Fundam. Appl. Nematol.* 17(3):219-223.
- Dutky, S. R., J. V. Thompson y G. E. Cantwell. 1964. A technique for mass propagation of the DD-1.6 nematodes. *J. Insect Pathol.* 6:417-422.
- Fuxa, J.R., A.R. Richter y F. Agudelo-Silva. 1988. Effect of host age and nematode strain on susceptibility of *Spodoptera frugiperda* to *Steinernema feltiae*. *J. Nematol.* 20: 91-95.
- Kaya. H. K. y R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 181-206.
- Luttrell, R.G., and J. S. Mink. 1999. Damage to cotton fruiting structures by the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Cotton Sci.* 3: 35-44.
- Molina-Ochoa, J., J. J. Hamm, R. Lezama-Gutierrez, L. F. Bojalil-Jaber, M. Arenas-Vargas, y M. González-Ramírez. 1996. Virulence of six entomopathogenic

- nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae). *Vedalia* 3: 25-29.
- SAS Institute. 1998. SAS user's guide: Statics. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Yu, S. J. 1992. Detection and chemical characterization of insecticide resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 85: 675-682.

PATHOGENS AND PARASITIC NEMATODES ASSOCIATED WITH POPULATIONS OF FALL ARMYWORM (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) LARVAE IN MEXICO

Jaime Molina-Ochoa, Roberto Lezama-Gutierrez¹, Martín González-Ramírez¹, Marilú López-Edwards¹, Manuel A. Rodríguez-Vega¹, and Francisco Arceo-Palacios¹

¹Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Apartado Postal No. 36, Tecomán, Colima 28100, México

Key Words: *Spodoptera frugiperda*, biological control, occurrence, survey, maize, mermithid nematodes, entomopathogenic microorganisms.

Introduction

The fall armyworm (FAW), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), causes considerable economic losses in maize, sorghum, peanuts, cotton, soybeans and occasionally other crops, in most of the countries of the Western Hemisphere (Sparks 1986). Control of this pest is usually achieved through the application of synthetic insecticides (Hruska & Gould 1997), but their high cost, environmental contamination, the pest resistance to chemicals and pest resurgence have encouraged the search for alternatives more compatible with the environment. The use of microbial control is an environmentally sound and a valuable alternative to the use of chemicals for controlling this pest.

Interactions between insect host, environment, insect host age (Molina-Ochoa *et al.* 1996), pathogens and plant to be protected (Bergman & Tingey 1979, Molina-Ochoa *et al.*, 1999) determine the strategies for using pathogens in microbial control (Hamm 1984). FAW larvae are susceptible to entomopathogenic bacteria, fungi, nematodes, protozoa, and viruses. The insect host age, habitat and soil type, pesticide use, agricultural practices, and location, influence the natural distribution of biological control organisms (Mietkiewski *et al.* 1997, Molina-Ochoa *et al.* 2001).

As a result of economic and environmental concerns, surveys for natural enemies of the FAW occurring in Mexico have been conducted to develop a better understanding of the pathogen complex, parasitic nematodes and parasitoids, because they are poorly known (Lezama-Gutierrez *et al.*, 2001, Molina-Ochoa *et al.*, 2001,). Here, we report the presence of entomopathogens and parasitic nematodes in FAW larval populations and recovered from soil samples of corn, grain sorghum, forage sorghum, and Sudan grass fields from six Mexican states, during the summer of 2000.

Materials and Methods

Isolation of entomopathogens from FAW larvae

During August and September of 2000, FAW larval populations were collected from whorl-stage corn, grain and forage sorghum, and Sudan grass fields in 64 locations in Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, and Veracruz. Concurrently, four soil samples were obtained from each location in all of the states. Larvae were placed individually in 30 cc plastic cups with regular pinto bean diet and maintained in the laboratory to record the infected larvae by entomopathogens and parasitic nematodes. Mermithid nematodes that emerged from larvae were collected and placed in crystal vials containing 2 ml of 70% ethanol. Dead FAW larvae showing fungal infection signs were placed in a plastic Petri dish (60 X 10 mm) and lined with a piece of 5.5 cm-diameter filter paper (Whatman No. 1) moistened with sterile distilled water, until the fungus sporulated on the insect surface. A medium composed of 200 ml of V8 vegetable juice, 5 g glucose, 2 g yeast extract, 3 g CaCO₃, 15 g agar, and 800 ml distilled water (Fargues & Rodriguez-Rueda, 1980) for isolating the fungus *Nomuraea rileyi* was used. A Sabouraud-dextrosa-agar medium enriched with 1% (w/v) yeast extract (SDAY), with 500 ppm chloramphenicol (Lezama *et al.*, 1996) for growing other fungus species was used.

Isolation of entomopathogenic fungi and nematodes from soil.

In each location of the six surveyed states, a 2 Kg combined soil sample was collected. A soil sub-sample, about 500 g from four different points a few meters apart, was obtained by digging to a depth of 10-15 cm with a small shovel. Soil samples were deposited into double plastic bags, tagged, stored in a plastic cooler, and taken to the laboratory where they were kept at 25°C until processing. The storage time ranged from a few days to three weeks. Soil was thoroughly mixed and passed through a 0.4 mm mesh sieve, breaking soil lumps and separating any litter. For isolating entomopathogenic nematodes and fungi, the greater wax moth (GWM) larvae, *Galleria mellonella* L., was used as bait (Bedding & Akhurst 1975). From the 2 Kg combined soil sample from each location, two samples were placed in 1000 ml capacity plastic pots and five GWM last instar were released in each pot. Pots were incubated at 25°C in the darkness for a 10-day period (Woodring & Kaya 1988). Larval cadavers were removed and surface-sterilized with 1% Sodium hypochlorite for a 3 minute-period, then washed three times with sterile distilled water and placed on damp filter paper within a 60 mm diameter sealed Petri dish, and incubated at 25°C for a 12 day-period. Entomopathogenic fungi from the bait larvae were isolated using SDAY, with 500 ppm of chloramphenicol (Lezama-Gutierrez *et al.* 1996). Fungi were identified by microscopic inspection of morphological characteristics *in situ* or after isolation. The entomopathogenic nematodes were separated to genera by identifying coloration of *Galleria* cadavers according to Woodring & Kaya (1988).

Geographical coordinates and collection data

A Garmin GPS III Plus™ was used for obtaining the coordinates and altitude data.

Results and Discussion

N. rileyi was the entomopathogen most abundant and widely distributed, occurring in the six states surveyed. Similar results reported Lezama-Gutiérrez *et al.* (2001) in a previous survey conducted in Colima, Jalisco, and Michoacan, reported also in this survey. Total FAW mortality caused by all the pathogens was 3.524% (197 larvae killed). In this survey, the mermithid nematodes were important natural enemies of FAW larvae, they were the second most important mortality factor causing 14.21% of total mortality. Mermithids attacking FAW larvae in Mexico were previously reported (Alcocer-Gómez & Méndez-Villa, 1965, Lezama-Gutiérrez *et al.*, 2001). Steinernematid and Heterorhabditid nematodes occurred in 10.9% of the baited soil, in seven of 64 locations. Low rates of entomopathogenic nematode recovery have been reported in different regions around the world, and ranged from 3.9% to 21.4%. Soil pH and type, altitude, habitat, soil temperature, croplands, orchards, pastures, and vicinity to coastal lands were discussed as possible factors affecting the occurrence of these entomopathogens.

References Cited

- ALCOCER-GOMEZ, L., AND M. MENDEZ-VILLA. 1965. Estudios preliminares sobre parasitismo en larvas de *Laphygma frugiperda* Smith y Abbot, por un nemátodo de la familia mermitidae. Fitófilo 48:5-20.
- BEDDING, R. A., AND R. A. AKHURST. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. Nematologica 21: 109-110.
- BERGMAN, J. M., AND W. M. TINGEY. 1979. Aspects of interactions between plant genotypes and biological controls. Bull. Entomol. Soc. Am. 25: 275-279.
- FARGUES, J., AND D. RODRIGUEZ-RUEDA. 1980. Sensibilité des larves de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) aux hyphomycètes entomopathogènes *Nomuraea rileyi* et *Paecilomyces fumosoroseus*. Entomophaga 25: 43-54.
- FUXA, J. R., A. R. RICHTER, AND F. AGUDELO-SILVA. 1988. Effect of host age and nematode strain on susceptibility of *Spodoptera frugiperda* to *Steinernema feltiae*. J. Nematol. 20: 91-95.
- HAMM, J. J. 1984. Invertebrate pathology and biological control. J. Georgia Entomol. Soc. 19: 6-13.
- HRUSKA, A. J., AND F. GOULD. 1997. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): Impact of larval population level and temporal occurrence on maize yield in Nicaragua. J. Econ. Entomol. 90: 611-622.
- LECUONA, R. E., AND A. A. LANTERI. 1999. Control microbiano con hongos entomopatógenos en la Argentina. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 58: 301-306.
- LEZAMA-GUTIERREZ, R., J. J. HAMM, J. MOLINA-OCHOA, M. LOPEZ-EDWARDS, A. PESCADOR-RUBIO, M. GONZALEZ-RAMIREZ, AND E. STYER. 2001. Occurrence of entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Mexican states of Michoacan, Colima, Jalisco and Tamaulipas. Florida Entomol. 84: 23-30.

- MIETKIEWSKI, R. M., DZIEGIELEWSKA, AND K. JANOWICZ. 1998. Entomopathogenic fungi isolated in the vicinity of Szczecin. *Acta Mycologica* 33: 123-130.
- MOLINA-OCHOA, J., R. LEZAMA-GUTIERREZ, J. J. HAMM, B. R. WISEMAN, AND M. LOPEZ-EDWARDS. 1999. Integrated control of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) using resistant plants and entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). *Florida Entomol.* 82: 263-271.
- MOLINA-OCHOA, J., J. J. HAMM, R. LEZAMA-GUTIERREZ, M. LOPEZ-EDWARDS, M. GONZALEZ-RAMIREZ, AND A. PESCADOR-RUBIO. 2001. A survey of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) parasitoids in the Mexican states of Michoacan, Colima, Jalisco, and Tamaulipas. *Florida Entomol.* 84: 31-36.
- SPARKS, A. N. 1986. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) potential for area-wide management. *Florida Entomol.* 69:603-614.
- WOODRING, J. L., AND H. K. KAYA. 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A handbook of techniques. Southern Cooperative Series Bulletin 331. 30 pp. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, Arkansas, USA.

SUSCEPTIBILIDAD DE *Helicoverpa zea* (Boddie) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A *Steinernema feltiae* (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE)

Jaime Molina Ochoa, Miguel Angel Arceo Palacios, Roberto Lezama Gutiérrez, Martín González Ramírez, Oscar Rebolledo Domínguez, Marilú López Lavín, Edelmira Galindo Velasco, Alberto Isaac Zepeda Jazo y José Luis Cárdenas Amescua

Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Km. 40 Autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima 28140, jmolina@ucol.mx

Palabras Clave: nemátodos entomopatógenos, control biológico, gusano elotero.

Introducción

A nivel mundial se estima que alrededor 9000 especies de insectos atacan a los cultivos (USDA, 1960). Dentro de los insectos sólo el 5% son considerados como plagas severas; entre estos se encuentran los parásitos de las gramíneas. Estos parásitos son representados por los estados larvarios de los lepidópteros noctuidos, en especial el gusano elotero, *Helicoverpa zea*, (Boddie), así como el gusano soldado, *Mocis latipes* (Guenée), el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, (J E. Smith). El gusano elotero es una de las plagas más destructivas en Norteamérica, su hospedero preferido es el maíz, las larvas se alimentan del follaje, pero prefieren hacerlo del fruto (Carpenter y Gross, 1993). Esta plaga ha sido controlada tradicionalmente, empleando insecticidas sintéticos ocasionando gradualmente la adquisición de resistencia a este tipo de plaguicidas (Yu, 1991). Actualmente, se están buscando nuevas alternativas para el control de esta plaga, que no dependan del uso de insecticidas sintéticos (Hamm y Wiseman, 1986). Una de las alternativas para su control es la utilización de la gran diversidad de agentes de control biológicos tales como: parasitoides, parásitos, depredadores y patógenos microbianos (bacterias, hongos, virus, protozoarios y nematodos) que poseen gran capacidad para inducir epizootias en las poblaciones de esta plaga.

Se ha observado que los nemátodos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae tienen un potencial considerable como agentes potenciales de control biológico sobre diversas especies plaga (Kaya, 1985; Kaya y Gaugler, 1993). Los nemátodos entomopatógenos de los género *Steinernema* y *Heterorhabditis* y sus bacterias asociadas pueden matar a sus anfitriones rápidamente y son fáciles de aplicarse (Georgis *et al.*, 1991), además en su estado infectivo son altamente virulentos. La patogenicidad de estos nemátodos sobre *H. zea* ha sido demostrada (Richter y Fuxa, 1990), pero la efectividad depende de la especie de nemátodo, la cepa y etapa de desarrollo del insecto hospedero (Fuxa *et al.*, 1988). Este estudio tuvo como objetivo determinar la susceptibilidad de larvas de *Helicoverpa zea* (Boddie) a la especie de nematodo entomopatógeno *Steinernema feltiae*

Materiales y Métodos

Este experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Nemátodos Entomopatógenos y Resistencia Vegetal a Insectos de la DES Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Colima. Las larvas de *H. zea* fueron criados en dieta sintética modificada de frijol pinto (Burton y Perkins, 1989). La cepa de nemátodo entomopatógeno que se utilizó para determinar la susceptibilidad de larvas de gusano elotero a estos fue: *Steinernema feltiae*, ésta fue criada sobre larvas de *H. zea* (Boddie) bajo los procedimientos de crianza descritos por Dutky *et al.*, (1964). Los nemátodos fueron almacenados en suspensión acuosa a bajas temperaturas (7-10°C) y los nemátodos producidos en un mes se utilizaron para los bioensayos.

Bioensayos de Susceptibilidad

Se utilizaron cajas de Petri (60 X 15 mm) con papel Whatman No. 1 de 5.5 cm de diámetro. Para los bioensayos susceptibilidad de nemátodo entomopatógeno cepa *S. feltiae* sobre larvas de gusano elotero, se colocó una larva de 15 días de edad dentro de cada arena de bioensayo conteniendo ésta diferente número de infectivos juveniles (0, 5, 10, 15, 20, 30, y 40). Los infectivos juveniles fueron suspendidos en 1 ml de agua estéril destilada y distribuidos sobre una pieza de papel Whatman No. 1 en el fondo de la caja Petri, una hora antes de colocar la larva. Cada tratamiento tuvo 20 arenas de bioensayo, las unidades experimentales se constituyeron por las combinaciones de la cepa de nemátodo y las concentraciones, en un diseño completamente al azar con 7 tratamientos con cuatro repeticiones por tratamiento. La mortalidad de los insectos fue registrada cada 24 horas por 120 horas (Molina-Ochoa *et al.*, 1996). Con los datos obtenidos cada 24 horas se realizó un análisis de varianza y pruebas de medias Tukey a una probabilidad de 0.05, usando el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1998). Las concentraciones letales promedio (CL50) y los estadísticos asociados se estimaron por el análisis Probit.

Resultados

Existieron diferencias significativas en la susceptibilidad de larvas de 15 días de edad al nematodo entomopatógeno *Steinernema feltiae* en función de las concentraciones utilizadas (Cuadro 1). Se observó una tendencia del porcentaje de mortalidad acumulada de incrementarse conforme aumenta la concentración de nem/ml en todos los tiempos postratamiento. La mortalidad más alta de larvas de *H. zea* fue causada por la concentración 40 nem/ml a las 120 h con e 86.77 % de mortalidad acumulada (Cuadro 1). La concentración letal promedio (CL50) fue de 4.727 nem/ml con un limite superior de 6.72 y un limite inferior de 3.334.

Cuadro 1. Efecto de las concentraciones de nemátodo entomopatógeno de la cepa *S. feltiae* sobre la mortalidad acumulada a través de tiempos postinoculación.

Concentración	Horas postinoculación				
	24	48	72	96	120
0	0.000 c	0.000 d	0.000 e	6.460 d	11.069 e
5	11.069 ab	31.512 c	42.840 d	51.523 c	53.013 d
10	8.927 ab	31.315 c	44.305 dc	55.41 c	56.945 cd
15	11.069 ab	38.491 bc	50.799 dc	60.056 bc	60.859 cbd
20	14.299 ab	42.840 b	56.827 bc	63.662 bc	65.324 cb
30	14.299 ab	45.717 b	64.465 ab	69.823 ba	71.856 b
40	20.467 a	54.519 a	74.432 a	80.309 a	86.770 a
MSD	14.45	8.58	12.88	12.34	11.06

* Medias con la misma letra dentro de una misma columna no son significativamente diferentes.

Discusión

Los resultados mostraron diferencias altamente significativas en la susceptibilidad de larvas de *H. zea* entre las concentraciones de nemátodos de la especie *Steinernema feltiae*. Se requirieron bajas concentraciones de nemátodos para lograr un control al 50% de larvas de gusano elotero a las 96 y 120 h postratamiento (51.5 y 53.0, % respectivamente). Resultados similares fueron obtenidos por Cabanillas y Raulston (1994) con *H. zea*, y con gusano del melón. También Georgis *et al.*, (1991) hacen mención de que los nemátodos entomopatógenos de los género *Steinernema* pueden causar la muerte a sus anfitriones rápidamente, como fue observado en este estudio.

Literatura Citada

- Burton, R.L., and W.D. Perkins. 1989. Rearing the corn earworm and fall armyworm for maize resistance studies. pp: 37-45 In: Toward insect resistant maize for the third world: Proc. of an international symposium on methodologies for developing host plant resistance to maize insect. México, D. F. CIMMYT, :327.
- Cabanillas, H.E., and J.R. Raulston. 1994. Pathogenicity of *Steinernema riobris* against corn earworm, *Helicoverpa zea* (Boddie) in corn plots. Fundam. Appl. Nematol 17:219-223.
- Carpenter, J.E., and H.R. Gross. 1993. Suppression of Feral *Helicoverpa zea* (Lepidoptera:Noctuidae) Populations Following the Infusion of Inherited Sterility from Released Substerile Males. Environ. Entomol. 22:1084-1091.
- Dutky, S.R., J.V. Thompson, and G.E. Cantwell. 1964. A technique for mass propagation of the DD-136 strain of *Neoplectana* sp. J. Invertebr. Pathol 6:417-422.

- Fuxa, J.R., A.R. Richter, and F. Agudelo-Silva. 1988. Effect of host age and nematode strain on susceptibility of *Spodoptera frugiperda* to *Steinernema feltiae*. *J. Nematol* 20:91-95.
- Georgis, R., H. K. Kaya, and R. Gaugler. 1991. Effect of Steinernematid and heterorhabditid nematodes (Rhabditida : Steinernematidae) on nontarget arthropods. *Environmental Entomology* 20:815-822.
- Hamm, J.J., and B.R. Wiseman. 1986. Plant Resistance and Nuclear Polyhedrosis Virus for suppression of the fall armyworm (Lepidoptera:Noctuidae). *Fla. Entomol.* 69:541-549.
- Kaya, H.K. 1985. Entomogenous nematodes for insect control in IPM systems. In: M. A. Hoy y D. C. Herzog (eds). *Biological Control in Agricultural IPM systems* Academic Press, New York:283-302.
- Kaya, H.K., and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomol* 38:181-206.
- Molina-Ochoa, J., J.J. Hamm, R. Lezama-Gutierrez, L.F. Jaber, M. Bojalil, Arenas-Vargas, and M. Gonzalez-Ramirez. 1996. Virulence of six entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae). *Vedalia* 3:25-29.
- Richter, A.R., and J.R. Fuxa. 1990. Effect of *Steinernema feltiae* on *Spodoptera frugiperda* and *Heliothis zea* (Lepidoptera:Noctuidae) in corn. *J. Econ. Entomol* 83:1286-1291.
- SAS, I. 1998. *SAS user's guide:Statics*. SAS Institute, Cary, NC.
- USDA. 1960. *Index of plant Disease in the United State*. United StateDepartment of Agricultural Research Service Crops Research Div. Washinton, D. C.
- Yu, S.J. 1991. Insecticide Resistance in the fall armyworm. *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Pestic. Biochem. Physiol* 39:84-91.

SUSCEPTIBILIDAD DE *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) A LA TOXINA CRYIA(b) DE *Bacillus thuringiensis* (Enterobacteriaceae)

Marilú López Lavín¹, J. Luis Cárdenas Amezcua, , Roberto Lezama Gutiérrez, Jaime Molina Ochoa, Edelmira Galindo Velasco, Oscar Rebolledo Domínguez, Miguel Silva Romero, Alfonso Pescador Rubio.

¹Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Km. 40 Autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima 28140, mlavin2@hotmail.com

Palabras clave: gusano cogollero, control biológico, bacterias entomopatógenos.

Introducción

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* es una plaga importante en los países de América (Diawara *et al.*, 1992), en cultivos de maíz, sorgo, cacahuate y pastos Sparks, 1986). El control con productos químicos ha sido el método utilizado tradicionalmente; sin embargo, se tienen reportes de que este insecto presenta resistencia a éstos (Labatte, 1993), por lo que se considera que una alternativa de control es el uso de entomopatógenos, ya que esta plaga la afectan alrededor de 20 especies; entre ellos hongos, bacterias, protozoarios, virus y nematodos (Gardner *et al.*, 1984). En la última década se ha incrementado el control de plagas con la bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), en formulaciones o como toxinas, algunas han sido evaluadas sobre ciertas especies de *Spodoptera* (Stapel *et al.*, 1998), pero no en *S. frugiperda*. Por lo que, en este trabajo se parte de la hipótesis de que las poblaciones de *S. frugiperda* presentan diferencias en cuanto a susceptibilidad a la toxina Cry 1 A(b) de *Bt*.

Objetivo: Evaluar la susceptibilidad de las poblaciones de *S. frugiperda* de Sonora, Jalisco y Colima, a la toxina Cry I A(b) de *B. thuringiensis*, bajo condiciones de laboratorio.

Materiales y Métodos

Las poblaciones de *S. frugiperda* de los estados de Sonora, Jalisco y Colima, fueron colectadas de maizales. En el laboratorio las larvas se colocaron en forma individual, en vasos de plástico de 30 cc, con 10 cc de dieta (Perkins, 1979). Las pupas se colocaron en cámaras húmedas con polvillo de coco estéril hasta la emergencia de los adultos. Los adultos se mantuvieron en cámaras de oviposición, como alimento se proporcionó una solución al 10% de miel de abeja y/o cerveza. Las oviposturas se colectaron cada 24 horas y se desinfectaron en vapores de formaldehído al 10%, durante 5 minutos. Luego se incubaron hasta la emergencia de las larvas, mismas que se utilizaron para bioensayos o para mantenimiento del insectario, a una temperatura de 25°C, H R de 70% y 12 horas luz (Maniania y Fargues, 1984). La toxina de *Bt* formulada en agua agar al 0.2%, a la concentración de 2,940 µl/g/ml. La técnica utilizada en el bioensayo es la propuesta por Sims *et al.* (1996). Se utilizaron charolas de plástico con 128 celdas, se

colocó un ml de dieta en cada una de ellas y sobre la superficie de la dieta, se distribuyeron 50 μ l de la concentración correspondiente de la toxina. Se evaluaron las concentraciones: 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.015625 y 0.0 50 μ l glm adicionándose una larva neonata de *S. frugiperda*. Se incubaron durante 7 días, en condiciones de laboratorio. Para cada concentración de toxina se utilizaron 32 larvas, con 4 repeticiones, considerando 128 larvas por concentración, en cada una de las poblaciones del insecto. El séptimo día se registraron el número de larvas muertas, el peso de las larvas vivas y su estadio larval (Sims *et al.*, 1996). Los datos de mortalidad se sometieron al análisis Probit para estimar la CL50 de la toxina. El porcentaje de inhibición de las larvas en cada concentración, con respecto al peso de las larvas del testigo, se sometió a un análisis de varianza y prueba de Tukey al 0.05 de significancia, utilizando el paquete estadístico SAS (1985).

Resultados

Las poblaciones de *S. Frugiperda* mostraron diferencias en susceptibilidad a la toxina CRYIA(b) de *B. thuringiensis*, considerando larvas neonatas y el efecto sobre el desarrollo larval, evaluado con base en el peso. En el Cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos de los análisis de varianza; se aprecia un efecto altamente significativo entre las poblaciones; las concentraciones evaluadas y la interacción Población * Concentración, con base en el porcentaje de mortalidad. En el Cuadro 2 se presentan las comparaciones de promedios de las concentraciones utilizadas. Respecto a la mortalidad, la concentración 0.0625 μ l/ml de dieta es la única que presenta diferencias con respecto a la obtenida con el testigo.

Cuadro 1. Resultados del análisis de varianza y valores de F calculada, con la variable porcentaje de mortalidad, FCBA, 2000.

Fuentes de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F. Calc.	Pr>F
Tratamiento	26	3759.87	144.61	17.19	0.0001
Población	2	3021.84	1510.74	179.57	0.0001
Concentración	8	156.62	19.70	2.34	0.0256
Interacción entre P*C	16	580.76	36.29	4.31	0.0001
Error	81	681.46	8.41		
Suma total	107	4441.33			

Cuadro 2. Efecto de las concentraciones de *Bacillus thuringiensis* sobre la mortalidad de larvas neonatas de *Spodoptera frugiperda*, peso de las larvas y prueba de medias (Tukey 5%) FCBA 2000.

Concentración	Mortalidad (%)	Peso de larvas (μ g)
Testigo	11.48 B	0.58 ^a
0.0156	14.91 AB	0.32 BC
0.03125	14.59 AB	0.33 B
0.06225	15.46 A	0.22 D
0.125	13.70 AB	0.26 BCD
0.25	14.88 AB	0.24 BCD
0.5	13.53 AB	0.24 BCD
1.0	14.08 AB	0.19 D
2.0	12.45 AB	0.24 BCD

Valores con la misma literal corresponden estadísticamente.

El Cuadro 3 presenta la prueba de separación de medias, realizada con cada variable, para el factor población de *S. frugiperda*. Respecto a la mortalidad, la población de Colima resultó más susceptible a la toxina, que las poblaciones de Sonora y Jalisco, sin encontrar diferencias entre estas dos últimas. En el efecto sobre el desarrollo de las larvas, considerando el peso, las larvas de la población Colima fueron las más afectadas por la toxina, seguida por la población de Jalisco y ésta seguida por Sonora.

Cuadro 3. Efecto de de *Bt* sobre la susceptibilidad de poblaciones de *Sf* con base en las variables peso de larvas (f.lg) y mortalidad (en valores transformados), Prueba de separación de medias(Tukey 5%). FCBA, 2000.

Poblaciones	Mortalidad	Peso de larvas
COLIMA	21.38 A	0.003 C
SONORA	1 ^o .19B	0.48 A
JALISCO	1 ^o .12B	0.37 B

Discusión

Los resultados muestran que existen diferencias de susceptibilidad a la toxina CR YI A (b) de *B. thuringiensis* entre las poblaciones de gusano cogollero; la población de Colima resultó ser la más susceptible, respecto a las poblaciones de Sonora y Jalisco; lo anterior, puede ser debido a que existen diferencias genéticas y fisiológicas entre cepas de este insecto. López-Edwards *et al.* (1999), realizaron investigaciones utilizando las dosis de 0, 10, 20, 40, 80 Y 160 mg/ml, del complejo espora-cristal de *Bt*, donde observaron diferencias significativas en susceptibilidad entre las poblaciones de Nuevo León, Aguascalientes y Colima de *S. frugiperda*. Se observa en los resultados que López-Edwards *et al.* (1999) utilizaron concentraciones elevadas del complejo, del cual el 50% de su peso es cristal protéico, por lo que encuentran un CL50% de 0.0 l a 0.005 mg/ml; valores muy superiores a los utilizados en este estudio, en donde la concentración máxima fue de 2 μ l/ml de dieta. Respecto a las diferencias en susceptibilidad que presentan las poblaciones de Sonora y Jalisco al *Bt*, es posible que

se deba al origen geográfico de las poblaciones, tal como lo reporta Heckel (1994). Hernández (1988) evaluó diferentes cepas de *Bt.* con base en la virulencia sobre larvas de *S. frugiperda* del estado de Colima, encontrando diferentes grados. López-Edwards *et al.*, (1999) realizando investigaciones para determinar las diferencias que existen entre las colonias mexicanas de gusano cogollero, con esta toxina, para caracterizar su susceptibilidad considerando el origen geográfico. Se concluye que los resultados obtenidos en la presente investigación indican que la población de Colima presenta mayor susceptibilidad respecto a la de Jalisco y Sonora debido a que existen diferencias genéticas entre ellas.

Literatura Citada

- Andrews, K. L. 1988. Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Fla. Entomol. 71(4): 630-653.
- Diawara, M. M., Wiseman, B. R. & Isenhour, D. J. 1992. *Spodoptera frugiperda* resistance in developing panicles of sorghum accessions. Insect Sci. Applic. 13(6): 793-799.
- Gardner, W. A., Noblet, R. & Shwehr, R. D. 1984. The potential of microbial agents in managing populations of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Fla. Entomol. 67(3): 325-332.
- Gill, S. S., Cowles, E. A. & Pietrantonio, P. V. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Annu. Rev. Entomol. 37: 615-636.
- Hernández, M. J. L. 1988. Evaluation de la Toxicité de *Bacillus thuringiensis* sur *Spodoptera frugiperda*. Entomophaga 33: 163-171.
- Labatte, J. M. 1993. Within-plant distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae on corn during whorl-stage infestation. Fla. Entomol. 76 (3): 437-447.
- López-Edwards, M., Hernandez-Medoza, J. L., Pescador-Rubio, A., Molina-Ochoa, J., Lezama-Gutierrez, R., Hamm, J. J. & Wiseman, B. R. 1999. Biological differences between five populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) collected from corn in Mexico. Fla Entomol. 82(2): 254-262.
- Maniania, N. K. & Fargues, I. 1984. Specificité des Hypomycetes entomopathogènes pour les larves de lépidoptères Noctuidae. Entomophaga, 29(4), 451-464.
- Perkins, W. D. 1979. Laboratory rearing of the fall armyworm. Fla. Entomol. 62: 87-91.
- SAS Institute 1985. SAS user's guide: Statistics. SAS Institute; Cary, N. C. USA.
- Sims, S. B., Greenplate, J. T., Stone, T. B., Caprio, M. A. & Gould, F. L. 1996. Monitoring strategies for early detection of Lepidoptera resistance to *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein. ACS Symposium Series No. 645, Molecular Genetic and Evolution of Pesticide Resistance. Brown, T. M. (Ed.), Published Am. Chem. Soc. pp. 229-242.
- Sparks, A. N. 1986. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): Potential for area-wide management. Fla. Entomol. 69: 603-614.
- Stapel, J. O., Waters D. J., Ruberson, J. R. & Lewis, W. J. 1998. Development and behavior of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in choice test with food substrates containing toxins of *Bacillus thuringiensis*. Biological control 11: 29-37.

**BIOLOGIA DEL PARASITOIDE Y DEPREDADOR *Gonatopus bartletti*
(HYMENOPTERA: DRYINIDAE) QUE ATACA A LA CHICHARRITA *Dalbulus maidis*
(HOMOPTERA: CICADELLIDAE)**

Angélica Verónica Ríos Reyes y Gustavo Moya-Raygoza.

Departamento de Botánica y Zoología, C.U.C.B.A., Universidad de Guadalajara, km 15.5 carretera Guadalajara-Nogales, Apartado Postal 139, C.P. 45110 Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México.

Palabras Clave: ciclo de vida, control biológico, enemigos naturales.

Introducción

El maíz, principal fuente alimenticia para las comunidades rurales de México, es atacado y su producción disminuida por una de las plagas más importantes en América Latina, conocida como la chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) (Nault 1990). Este insecto plaga, se caracteriza por transmitir eficientemente tres patógenos: el virus rayado fino del maíz (Marafavirus), el espiroplasma del maíz (*Spiroplasma kunkelii*), y el fitoplasma del maíz (Nault 1980).

A pesar de la gran importancia económica de *D. maidis*, apenas se han reportado algunas especies de insectos parasitoides en México y Centro América, que atacan a ninfas y adultos de la chicharrita del maíz. Hasta la fecha las especies parasitoides reportadas son la mosca *Metadorylas spinosus* (Hardy) (Diptera: Pipunculidae), el estrepisíptero *Halictophagus naulti* (Strepsiptera: Halictophagidae) y la avispa *Gonatopus bartletti* Olmi (Hymenoptera: Dryinidae) (Moya-Raygoza y Trujillo-Arriaga 1993, Kathirithamby y Moya-Raygoza 2000, Moya-Raygoza *et al.*, en prensa).

De las anteriores especies de enemigos naturales *G. bartletti* parece ser la más prometedora como agente de control biológico contra la chicharrita del maíz, debido a su mayor tasa de parasitismo en condiciones naturales, su atributo no sólo como parasitoide sino también como depredador, y a su amplia distribución geográfica en México (Moya-Raygoza *et al.*, en prensa). Sin embargo, nada se conoce sobre el ciclo de vida y su nivel de parasitismo y depredación en condiciones controladas. Por lo tanto los objetivos de este estudio fueron describir el ciclo biológico de *G. bartletti* y evaluar su capacidad de parasitismo y depredación sobre la chicharrita del maíz.

Materiales y Métodos

Condiciones experimentales

Los experimentos se efectuaron en condiciones de laboratorio; a temperatura de 25 ° ± 2° C, humedad relativa de 50%, y fotoperíodo de 12h. luz- 12 h. oscuridad. Las colonias que se usaron de *D. maidis* fueron colectadas en un cultivo de maíz en el Grullo, Jalisco

y mantenidas en plántulas de maíz. Mientras que las hembras de *G. bartletti* que se usaron fueron obtenidas directamente de *D. maidis* parasitados, también de la misma localidad. Las chicharritas del maíz, con evidencias de parasitismo (mostraban un saco en el abdomen) fueron mantenidas en el laboratorio hasta que la larva del parasitoide emergió, luego pupo y llegó a estado adulto.

Ciclo biológico de *G. bartletti*

Para determinar el número de días que necesita *G. bartletti* desde huevo hasta el último estadio larval, se efectuó el siguiente procedimiento. Una hembra de *G. bartletti* se expuso a 10 individuos adultos de *D. maidis* por un periodo de 48h. para que los parasitara. Lo anterior se realizó en una caja tipo hoja, que se colocó en una plántula de maíz. Diariamente las chicharritas expuestas se revisaron para determinar cuando la larva del parasitoide (en su último estadio) emerge de *D. maidis*. En total 73 larvas llegaron al último estadio.

Simultáneamente se tomaron individuos de *D. maidis* expuestos al parasitoide cada 24 horas, para fijarlos y determinar el estadio larvario del parasitoide. Las larvas en sus diferentes estadios fueron fotografiadas con un microscopio estereoscópico marca Seizz (Stemi DV4). La fijación se hizo según la técnica utilizada por Virla y Mangione (2000), que consiste en poner las chicharritas en formol al 10% durante 24 h., para después transferirlas a alcohol al 70%.

Las pupas formadas a partir de las larvas emergidas fueron observadas diariamente para determinar el número de días que necesitan para llegar a estado adulto. En total se revisaron 32 pupas. A cada hembra y macho emergido se le determinó el número de días que permanecieron vivos. En el caso de las hembras, se mantuvieron en cajas individuales y se alimentaron con chicharritas vivas desde su emergencia hasta su muerte. El número de días se determinó para 10 hembras y 17 machos. La comparación en el número de días entre pupas que dieron origen a machos y hembras se efectuó con la prueba *t*-student. Esta misma prueba fue usada para comparar la longevidad entre hembras y machos adultos.

Parasitismo y depredación de *G. bartletti* sobre *D. maidis*

Diez adultos de *D. maidis* fueron expuestos a una hembra de *G. bartletti* por un periodo de 24 h. En total se usaron 280 adultos, por lo tanto el anterior procedimiento se repitió 28 veces. La exposición se efectuó en cajas tipo hoja en plántulas de maíz. Entre el día cinco y seis después de la exposición se revisaron las chicharritas, para cuantificar los adultos parastidos y depredados (sólo parte de su cuerpo (mordidas) ó consumidas totalmente). El procedimiento anterior también se efectuó en ninfas de *D. maidis* para saber si *G. bartletti* parasita y depreda a la chicharrita en su estado inmaduro. En total se usaron 110 ninfas, por lo tanto el anterior procedimiento se repitió 11 veces.

Resultados y Discusión

En general el ciclo biológico de las hembras de *G. bartletti* duro 46.6 días, desde su oviposición hasta su muerte, mientras que los machos duraron sólo 26.6 días. *Gonatopus bartletti* necesita un promedio de 11.9 (EE = 0.2) días desde huevo hasta su último estadio larval. Cuando la larva esta madura abre el saco larval que se desarrolla en *D. maidis*. Al momento de salir la larva, consume el contenido interno del huésped, dejando sólo el exoesqueleto y causándole la muerte, Una vez que emerge la larva, comienza a elaborar su capullo y pupar. Las pupas que dieron origen a las hembras de *G. bartletti* necesitaron un número similar de días que las pupas que dieron origen a los machos ($t = 0.79$, $P = 0.43$, $gl = 14$). Desde que se formo la pupa hasta que emergió la hembra se requirieron en promedio 13.3 (EE = 0.5) días y para los machos 13.9 (EE = 0.5) días. Por otro lado, la longevidad de las hembras de *G. bartletti* es mucho mayor que la de los machos ($t = 10.4$, $P = 0.001$, $gl = 9$). En promedio las hembras permanecieron vivas 21.6 (EE = 2.0) días, mientras que los machos sólo un día (EE = 0.0). En otras especies de drínidos el tiempo que viven las hembras y los machos es variable. Por ejemplo, las hembras de *Pseudogonatopus chilensis* viven de 1.5 a 18 días, mientras que los machos sólo viven de uno a dos días (Virla 1995). Las hembras de *Aphelopus atratus* viven 10 días y los machos 6.5 días; en *Aphelopus melaleucus* las hembras duran 7.5 días y los machos 7.8 días; en *Aphelopus serratus* las hembras duran 9.6 días y los machos 6.3 días; en *Dicondylus bicolor* las hembras viven 6.0 días y los machos 6.9 días (Waloff y Jervis 1987).

Las hembras de *G. bartletti* parasitaron y depredaron adultos y ninfas de *D. maidis*. Dichas hembras parasitaron 13.4% de las chicharritas adultas expuestas durante 24 h. Mientras que el nivel de depredación durante el mismo tiempo de exposición fue de 26.3 %. La mortalidad por depredación fue causada porque las chicharritas fueron mordidas parcialmente o consumidas totalmente. El parasitismo sobre ninfas de *D. maidis* fue de 13.7% y el nivel de depredación fue de 22.6 %. Por primera vez se reporta que *G. bartletti* no solamente es un parasitoide, sino también un depredador y su efecto como depredador sobre la mortalidad de la chicharrita del maíz es mayor que como parasitoide.

Literatura Citada

- Kathirithamby, J. y G. Moya-Raygoza. 2000. *Halictophagus naulti* sp.n. (Strepsiptera: Halictophagidae), a new species parasitic in the corn leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) from Mexico. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 1039-1044.
- Moya-Raygoza, G. y Trujillo-Arriaga. 1993. Dryinid (Hym.: Dryinidae) parasitoids of *Dalbulus* leafhopper (Hom.: Cicadellidae) in Mexico. *Entomophaga* 38: 41-49.
- Nault, L.R. 1980. Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host ranges and vector. *Phytopathology* 70: 709-712.
- Nault, L.R. 1990. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhopper, a case study. *Maydica* 35: 165-175.

- Virla, E.G. 1995. Biología de *Pseudogonatopus chilensis* Olmi 1989 (Hymenoptera: Dryinidae). *Acta Ent. Chilena* 19: 123-127.
- Virla, E.G. y S. Mangione. 2000. Morfología de los estados preimaginales de *Gonatopus chilensis* y consideraciones sobre las estructuras relacionadas a la nutrición de sus larvas inmaduras (Insecta: Hymenoptera: Dryinidae). *Neotropica* 46: 37-49.
- Waloff, N. y M.A. Jervis. 1987. Communities of parasitoids associated with leafhoppers and planthoppers in Europe. *Advances in Ecological Research* 17: 299-313.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con apoyo financiero del CONACYT dado al proyecto número 38689-B.

PARASITOIDES DE *Anthonomus eugenii* CANO (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN CHILE PIQUÍN EN RÍO BRAVO, TAMAULIPAS.

Marco Antonio Reyes-Rosas y Luis Ángel Rodríguez-del-Bosque.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Río Bravo. Carretera Matamoros-Reynosa km. 61, Río Bravo, Tam., México. Correo electrónico: cgrandis@cirne.inifap.conacyt.mx

Palabras clave: Chile piquín, parasitoides, *Anthonomus eugenii*

Introducción

El chile *Capsicum annuum* L. tiene una larga tradición cultural en México, y se ha especulado que fue el primer cultivo domesticado en Mesoamérica (Long y Pozo, 1982). Dentro de las variedades más apreciadas se encuentra el chile "piquín" o chile "del monte" *C. annuum* var *aviculare*. La distribución de este chile abarca prácticamente toda la línea costera del país, de Sonora a Chiapas por el Pacífico y de Tamaulipas a la Península de Yucatán, incluyendo a Quintana Roo, por el Golfo de México (Torres et al., 1982). Actualmente es considerado como un cultivo de alternativa en el noreste de México (Rodríguez-del-Bosque et al., 2002).

En mayo de 2003, se presentó una fuerte e inesperada infestación del "picudo o barrenillo del chile" *Anthonomus eugenii* Cano, sobre parcelas experimentales de chile "piquín", ubicadas en el Campo Experimental Río Bravo (INIFAP), con daños observados hasta del 30%. El picudo del chile es considerado como la plaga más dañina y destructiva del chile en México. Sin embargo, este insecto no escapa al ataque de sus enemigos naturales, que en su mayoría pertenecen al grupo de himenópteros. Se ha reportado a *Catolaccus hunteri*, *Eupelmus*, *Eurytoma*, *Euderus*, *Sympiesis*, *Triaspis*, *Urosigalphus*, y *Aliolus* como parasitoides (Mariscal et al., 1998; Cortez et al., 2002).

El objetivo de este estudio fue determinar los parasitoides naturales del picudo del chile *A. eugenii*, como fase inicial para el desarrollo de futuros programas de control biológico en este cultivo.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en el INIFAP-Campo Experimental Río Bravo, en parcelas experimentales de chile piquín, con una superficie de 0.5 ha. Se colectaron un total de 400 frutos dañados con picudo del chile (299 caídos y 101 unidos a la planta) en tres fechas de recolección: 9, 16 y 20 de mayo del 2003, los cuales evidenciaron los siguientes síntomas: 1) fruto pardo-oscuro; 2) Pecíolo del fruto de coloración café, con síntomas de desecación; y 3) frutos con pequeñas lesiones producto del proceso de oviposición de las hembras. Para la emergencia de los insectos, los frutos fueron colocados individualmente en recipientes pequeños de plástico, con capacidad de 30 ml, en una cámara bioclimática a una temperatura de 27

°C y una H.R. de 70% ± 5, durante 20 días. Los frutos de los que no se obtuvieron emergencias de insectos, fueron disectados con la ayuda de un microscopio estereoscópico y pinzas entomológicas. Para obtener el porcentaje de parasitismo, se dividió el número de parasitoides obtenidos entre el número total de frutos colectados, multiplicado por 100.

Los ejemplares fueron montados en triángulos entomológicos y determinados con las claves de Gibson et al. (1977) y Wharton et al. (1998). Los insectos se encuentran depositados en la colección de insectos benéficos del laboratorio de control biológico "Catolaccus grandis" del Campo Experimental Río Bravo.

Resultados

Se determinó una especie y tres géneros, distribuidos en cuatro familias de parasitoides: *Catolaccus hunteri* de Pteromalidae; *Eupelmus* sp. de Eupelmidae; *Eurytoma* de Eurytomidae, y *Bracon* sp. de Braconidae (Cuadro 1). Estos géneros han sido reportados como parasitoides del picudo del chile, *A. eugenii*, en Nayarit y Sinaloa (Mariscal et al., 1998; Cortez et al., 2002).

Cuadro 1. Parasitoides asociados al barrenillo del chile en chile piquín, Río Bravo, Tam. 2003

Superfamilia	Familia	Especie	N° de adultos emergidos	Tipo de parasitismo
Chalcidoidea	Pteromalidae	<i>C. hunteri</i>	37	Ectoparasitoide
	Eurytomidae	<i>Eurytoma</i> sp.	15	Ectoparasitoide
	Eupelmidae	<i>Eupelmus</i> sp.	4	Ectoparasitoide
Ichneumonoidea	Braconidae	<i>Bracon</i> sp.	2	Ectoparasitoide

Con base a la cantidad de adultos de parasitoides obtenidos, *C. hunteri* y *Eurytoma* sp., fueron los parasitoides predominantes con 37 y 15 individuos respectivamente, y en menor incidencia *Eupelmus* con cuatro y *Bracon* con dos ejemplares (Cuadro 1).

Cuadro 2. Parasitismo observado en *A. eugenii* en chile piquín. Río Bravo, Tam., 2003

Fecha de muestreo	N° de frutos Dañados	Picudo, frutos con:			Parasitoides		Parasitismo total (%)
		Daño	Larvas	Adultos	Larvas muertas	Adultos emergidos	
09-05-03	59	4	19	21	6	9	25.42
16-05-03	100	7	33	40	7	13	20.00
16-05-03	101	4	27	41	10	19	28.7
20-05-03	140	9	52	44	18	17	25.0

El parasitismo total por fecha muestra que éstos se comportaron semejantes (entre el 20 y 28%, Cuadro 2.), y resultaron ser más altos en relación a otros reportes de parasitismos naturales en otros lugares, en variedades de chile de mayor tamaño (Cortez et al., 2002). Esta variabilidad positiva en parasitismo del "picudo del chile",

puede estar influenciada por el menor grosor de la pulpa del chile "piquín", comparado con otras variedades de mayor tamaño.

Las dimensiones del chile del monte semejan más a un fruto en etapa "de munición", que es cuando se inicia la infestación del "picudo del chile" en el cultivo (Garza, 2001). Esta etapa también es la más susceptible del insecto a ser atacado por el parasitoide, porque el fruto no presenta la barrera física del grosor del mesocarpio.

Conclusión

Se determinaron cuatro especies de himenopteros parasitoides atacando a larvas del "barrenillo del chile" *A. eugenii*, en chile piquín, en Río Bravo, Tam.: *Catolaccus hunteri*, *Eurytoma* sp, *Eupelmus* sp. y *Bracon*; sp. Estos parasitoides son una herramienta importante para el control biológico de esta plaga en la región noreste de México.

Literatura Citada

- Cortez-Moncada, E.; Cabanillas-Durán, E. y Sánchez G., J. 2002. Búsqueda de parasitoides del "picudo del chile" *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) en el norte de Sinaloa. Memoria del XXV Congreso Nacional de Control Biológico. 14-15 noviembre de 2002. Hermosillo, Son. México. p. 96-98.
- Garza U., E. 2001. El barrenillo del chile *Anthonomus eugenii* y su manejo en la Planicie Huasteca. Folleto Técnico N° 4, INIFAP, Campo Experimental Ebano, San Luis Potosí, México. 15 p.
- Gibson, G. A. P.; Huber, J. T. and Wolley, J. B. 1997. Annotated keys to the genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). National Research Council of Canada. 794 p.
- Long S., J. y Pozo C., O. 1982. Huella histórica, situación actual y líneas de investigación. En Laborde C., J. A.; Pozo C., O. (comp.). Presente y pasado del chile en México. SARH-INIA. México, D.F. p. 8
- Mariscal M., E. J.; Leyva V., J. L. y Bujanos M., R. 1998. Parasitoides del picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) en Nayarit, México. *Vedalia* 5: 39-46
- Rodríguez-del-Bosque, L. A.; Pozo C, O.; Ramírez, M.; Silva, F. J.; Zúñiga, R.; Sánchez, R.; Medina, T. and Viilalón, H. 2002. Effect of shading on growth and yield of 10 accessions of piquín pepper (*Capsicum annum* L. var *aviculare*) in four locations of northeastern Mexico. *Proceedings 16th International Pepper Conference*. Nov. 10-12, 2002, Tampico, Tam., Mexico. p. 63
- Torres P, I.; Luján F, M. y Hernández A., R. 1982. Tipos y subtipos de los chiles que se cultivan en México. En Laborde, C. J. A.; Pozo, C. O. (comp.). Presente y pasado del chile en México. SARH-INIA. México, D.F. p. 59
- Wharton, R. A.; Marsh, P. M.; Sharkey, M. J. 1998. Manual para la identificación de géneros de la Familia Braconidae del Nuevo Mundo. Allen Press. The International Society of Hymenopterist. Washington, D.C. E.U. 447

ACTIVIDAD PARASITARIA DEL NEMATODO *Romanomermis iyengari* SOBRE LARVAS DE MOSQUITOS *Culex quinquefasciatus* (Díptera: Culicidae)

¹Rafael Pérez-Pacheco, ²Edith Garrido Mateos y ¹Gonzalo Flores Ambrocio.

¹Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR-IPN-Oaxaca), Calle Hornos N° 1003, Col. Indecoxocotlán, Oaxaca, México. C.P. 68000. E-mail: rperez88@prodigy.net.mx .

²Escuela de Ciencias Químicas de la UABJO de Oaxaca, (tesista).

Palabras clave: mosquitos, control biológico, *Romanomermis*

Introducción

Los insecticidas químicos han constituido el método principal para el control de mosquitos vectores de paludismo y dengue salvando millones de vidas humanas, sin embargo, su uso excesivo e irracional ha traído como consecuencia problemas de contaminación como diversos trastornos ocasionados a la ecología, intoxicaciones de personas expuestas y la aparición de resistencia de estos vectores hacia estas sustancias químicas.

Una alternativa para reducir el uso de insecticidas químicos es el uso del control biológico de mosquitos con nematodos parásitos del género *Romanomermis* que son parásitos de larvas de mosquitos, debido a que presentan características que los hacen altamente competitivos con otros métodos desde el punto de vista económico y sustentable. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el parasitismo de *Romanomermis iyengari* con diferentes dosis de aplicación sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* en dos tipos de agua.

Materiales y Métodos

El presente trabajo fue realizado en la planta de producción masiva de nematodos parásitos de larvas de mosquitos, ubicada en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Oaxaca del Instituto Politécnico Nacional (IPN), ubicado en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca.

Se establecieron dos experimentos de laboratorio, uno con agua destilada (pH de 7.3 y conductividad de 0.07 ms/cm) y otro con agua suavizada (pH de 8.4 y conductividad de 1.10 ms/cm) que se obtiene de un suavizador (filtro de zeolita) con el cual se mejoran las características del agua de un pozo noria.

Por cada unidad experimental se utilizó una bandeja de plástico de 21x13.5x5.5cm con 500 mL de agua destilada o suavizada donde se depositaron 100 larvas de mosquitos. Posteriormente se realizó la infestación de las larvas con nematodos preparasíticos, aplicando siete dosis diferentes de 20:1, 15:1, 10:1, 6:1, 5:1, 4:1 y 3:1 (20, 15, 10, 6, 5, 4 y 3 preparasíticos por larva de mosquito) y adicionalmente se puso un testigo.

Para la aplicación de nematodos se utilizaron medios de cultivo producidos en la planta del CIIDIR-OAXACA. que fueron inundados con agua destilada, para promover la eclosión de huevecillos de nematodos y la liberación de los nematodos preparasíticos. Cuatro horas después se decantó el inóculo del cultivo (agua destilada con preparasíticos), mediante el método de dilución volumétrica (Petersen y Willis, 1972) se calculó la concentración total de preparasíticos y el volumen necesario a aplicar en cada unidad experimental, la aplicación se realizó con pipetas. Tres días después de la infestación, de cada unidad experimental se colectó una muestra de 20 larvas que fueron disectadas para determinar el Porcentaje de Parasitismo (PP) y Medias de Infestación (MI, número promedio de nematodos parasitando una larva)

Los experimentos se establecieron bajo un diseño experimental completamente aleatorio, utilizando cuatro repeticiones de siete tratamientos que fueron las siete dosis diferentes. Como testigo se utilizó un grupo de 100 larvas de II estadio, sin aplicación de nematodos con las mismas características que las demás unidades experimentales. A los datos de PP y MI se les aplicó un Análisis de Varianza y una comparación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia.

Resultados y Discusión

Con el análisis de varianza realizado se obtuvo diferencia significativa del efecto de las dosis, con respecto a los valores de medias de infestación y a través de la prueba DUNCAN ($P < 0.05$) se determinó que las medias de infestación difieren significativamente entre sí. Los resultados muestran mayor parasitismo en las dosis 20:1 y 15:1 en comparación y en las de 4 y 3:1 el parasitismo fue mucho menor, lo que comprueba que el parasitismo en larvas aumenta con el incremento en la dosis de aplicación.

Las larvas parasitadas con cada una de estas dosis no llegaron a la fase de pupa, cuando su desarrollo llegó a IV estadio el parasitismo provocó la muerte de las mismas. En las larvas utilizadas como testigos no se observó alteración alguna durante su desarrollo por lo que pasaron por los cuatro estadios larvales hasta llegar a la fase de pupa y convertirse en adultos.

Bajo condiciones de agua destilada, se determinó un 100% de parasitismo en las larvas de II estadio en todas las dosis evaluadas. En el agua suavizada se registraron parasitismos de 75 a 100%, el menor fue con la dosis 3:1, presentándose mayor parasitismo en las dosis 20:1 y 15:1, que fue disminuyendo en relación con la disminución de dosis (Cuadro 1).

Los resultados obtenidos en los dos experimentos presentan una tendencia similar en los niveles de parasitismo con respecto a las dosis, pero las características físico-químicas de las aguas son importantes para determinar la efectividad parasítica de los nematodos. Se determinaron mayores niveles de parasitismo en larvas parasitadas en agua destilada con respecto a las de agua suavizada, lo que demuestra que los parámetros físico-químicos del agua destilada son mas adecuados para garantizar mejores niveles de parasitismo de los nematodos.

Se observaron mayores niveles de parasitismo en las dosis 20:1 y 15:1, en las cuales se detectó superparasitismo provocando la muerte de las larvas en 1-2 días, que ocasiono que los nematodos no continuaran su ciclo normal.

De las siete dosis utilizadas, con las dosis de 6, 5 y 4:1 se evitan altos niveles de superparasitismo que ocasionan la muerte inmediata de las larvas, por lo tanto, el nematodo se desarrolla completamente, permitiendo oportunidad de continuar un nuevo ciclo, por lo que no se recomienda la aplicación de estas, para la producción masiva de nematodos o para su reciclaje en criaderos naturales de larvas de mosquitos.

Cuadro 1. Porcentajes de Parasitismo y Medias de Infestación en larvas de II estadio de *C. quinquefasciatus* por *R. iyengari* con diferentes dosis de aplicación utilizando agua destilada y agua suavizada.

Dosis	Agua destilada		Agua suavizada	
	Porcentaje de Parasitismo	Media de Infestación	Porcentaje Parasitismo	Media de Infestación
20:1	100	13.75 a	100	11.95 a
15:1	100	11.80 a	100	9.10 b
10:1	100	8.75 b	100	5.60 c
6:1	100	5.10 bc	100	3.90 cd
5:1	100	3.80 bc	100	2.30 cd
4:1	100	2.40 c	82.5	2.00 de
3:1	100	2.0 c	75.0	1.25 de
Testigo	-----	-----	-----	-----

Medias con letras distintas son significativamente diferentes.

Literatura Citada

Petersen J. J. and Willis O. R. 1972. Procedures for the mass rearing of mermithid parasite of mosquitoes. Mosquito New. 2: 226 - 30.

DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE SOBREVIVENCIA DE TRES BACTERIAS ANTAGÓNICAS DE *Moniliophthora roreri* (Hyphales: Moniliaceae) EN MAZORCAS DE CACAO MEDIANTE TÉCNICAS SEROLÓGICAS

Chiriboga, x.; Oleas, a.; Yáñez, v.

Escuela Politécnica del Ejército, Facultad de Ciencias Agropecuarias-IASA, Departamento de Investigaciones Científicas, Hcda. El Prado, Telefax : 022870-187, P.O. Box 171-5-231-B, Sangolquí-Ecuador. E-mail: www.espe.edu.ec

Introducción

La moniliasis del cacao, enfermedad fúngica causada por el hongo *Moniliophthora roreri* (Evans *et al*), constituye un gran limitante para la productividad de este cultivo (1). El control químico, además de encarecer los costos de producción, no brinda resultados aceptables para combatir la enfermedad; en contraste, las alternativas biológicas causan expectativa. Las bacterias *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas cepacia* han exhibido una eficiencia en el control de 66, 63 y 34 %, respectivamente; al ser aplicadas en caldos de cultivo en cacao CCN-51 (2). Sin embargo, el nivel de control de una enfermedad mediante antagonistas en condiciones de campo, a menudo, es variable (4). Un problema del biocontrol de hongos mediante bacterias antagonistas, es que éstas deben sobrevivir y establecerse en un sitio de la planta, lo cual normalmente no ocurre (5). En base a estos antecedentes el objetivo del estudio fue determinar los tiempos de sobrevivencia de *Bacillus subtilis* (Bs), *Pseudomonas cepacia* (Pc) y *Pseudomonas putida* (Pp), aplicadas sobre frutos de cacao (CCN-51), mediante detección serológica. Además, se describió la dinámica poblacional de las bacterias mediante recuperación en medios de cultivo.

Materiales y Métodos

Obtención de antisueros

Mediante técnicas de inmunización de conejos y sangrías de prueba se obtuvieron tres antisueros (A) para *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas cepacia*. Once diluciones (D) de antisueros fueron evaluadas con la escala arbitraria de aglutinación (1: ausente, 2: ligera, 3: moderada y 4: abundante), mediante los métodos de aglutinación en tubos (M1) y microaglutinación en cajas de cultivo (M2). Además se evaluó un testigo constituido por suero normal, obtenido antes del proceso de inmunización de los conejos.

Determinación de la sobrevivencia mediante técnica serológica.

Se realizó la aspersión de los tratamientos sobre las mazorcas: T1 (Bs), T2 (Pc), T3 (Pp), T+ (carrier+azúcar) y T- (sin tratamiento.). Los muestreos se realizaron a la ½ hora, 24 horas, 48 horas, así como a los 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días después de la

aplicación de los tratamientos; colectando 6 frutos por tratamiento, cada uno se colocó en un frasco con 45 ml de solución salina estéril. Éstos se sometieron a agitación a 75 rpm durante 15 minutos, posteriormente se tomó 0.4 ml de cada muestra y se sometieron a la técnica serológica de aglutinación en tubo con el respectivo antisuero (2 horas de baño maría con agitación a 75 rpm), finalmente se evaluó el grado de reacción con la escala de 1 a 4, anotada anteriormente.

Determinación de la sobrevivencia mediante medios de cultivo.

Además, de cada muestra se tomaron 0.05 ml y se sembraron en medios de cultivo diferenciales: para *Bacillus subtilis* (CMA + Púrpura de Bromocresol), *Pseudomonas cepacia* (PCA) y para *Pseudomonas putida* (Medio de Kado, 3)

Resultados y Discusión

Obtención de antisueros

El ADEVA reveló diferencias estadísticas a nivel del 1% para tratamientos, constituidos por la interacción de los tres factores en estudio: antisuero X dilución X método. Mediante la Prueba de Tukey al 5% se seleccionaron los mejores tratamientos: para *Bacillus subtilis* fueron el T25 (A2D1M1), T26 (A2D2M1) y T27 (A2D3M1); para *Pseudomonas cepacia* fueron el T1 (A1D1M1), T2 (A1D2M1) y T3 (A1D3M1); y para *Pseudomonas putida* fueron el T49 (A3D1M1), T50 (A3D2M1) y T51(A3D3M1).

Pruebas de especificidad. Los tres antisueros demostraron ser específicos; el antisuero de *B. subtilis* no aglutinó con antígeno de *B. megaterium*, el antisuero de *P. cepacia* no reaccionó con *P. fluorescens* ni con *P. putida* y el antisuero de *P. putida* no aglutinó con *P. fluorescens* ni con *P. cepacia*.

Determinación de sobrevivencia.

La bacteria *Bacillus subtilis* fue detectada serológicamente hasta el día 12 después de la aplicación. La muestra del día 14 no aglutinó con el antisuero, probablemente debido a que el antisuero no detecta formas de resistencia de *B. subtilis* como son sus esporas, las mismas que pudieron pasar inadvertidas. Además, el antisuero pudo no haber detectado cantidades poblacionales tan pequeñas de *B. subtilis* como las que se encontraron hacia el día 14 sobre las mazorcas de cacao hechas un muestreo (Gráfico 1).

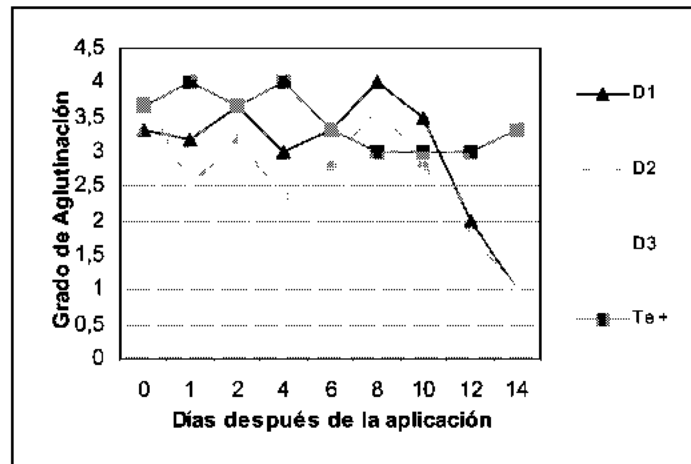


Gráfico 1. Grados de reacción de los antisueros de *B. subtilis* en los 14 días.

La reacción serológica de *Pseudomonas cepacia* fue positiva hasta 10 días después de la aplicación. En el Gráfico 2 se puede apreciar que los valores de reacción del antisuero van por encima de 2,0 hasta antes de llegar al día 10. Mientras tanto, la recuperación bacteriana en medio PCA, demostró que las poblaciones contabilizadas en los días 8, 10, 12 y 14 fueron menores a 20.000 UFC / mazorca, población que por ser mínima no pudo ser detectada serológicamente por el antisuero seleccionado en este estudio.

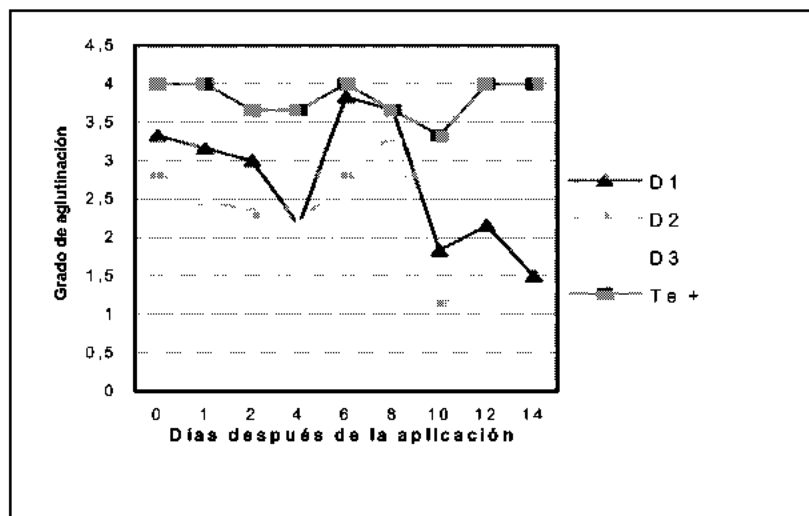


Gráfico 2. Grados de reacción de los antisueros de *P. cepacia* en los 14 días.

Los valores de reacción para *Pseudomonas putida* fueron mayores a 2,5 hasta el día 8; sin embargo, hacia los días 10, 12 y 14 no se registró aglutinación evidente en ningún grado de la escala de evaluación. Es un indicio de que *P. putida* permaneció sobre las mazorcas de cacao hasta 8 días después de su aplicación. Esto fue corroborado con la

recuperación en medio de Kado, la cual determinó ausencia poblacional de *P. putida* en los días 8, 10, 12 y 14 (Gráfico 3 y 4).

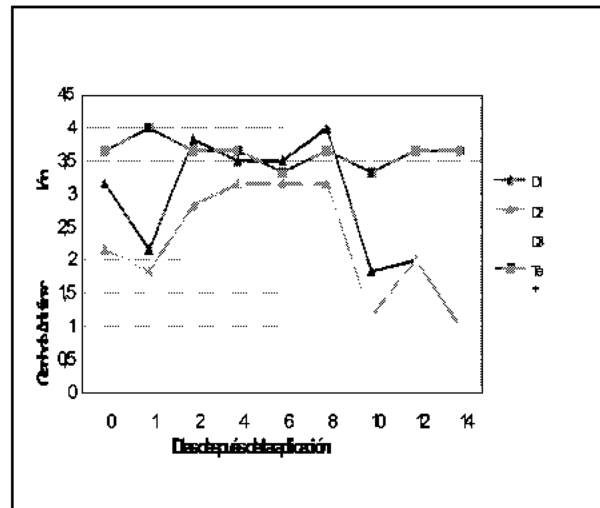


Gráfico 3. Grados de reacción de los antisueros de *P.putida* en los 14 días.

Finalmente, es de precisar que es posible la detección serológica de bacterias en tejidos vegetales, en la medida que la sensibilidad de los antisueros empleados así lo permitan. La dinámica poblacional de las bacterias demostró que *B.subtilis* no colonizó las mazorcas de cacao, sin embargo su población es más estable que las poblaciones del género *Pseudomonas*, posiblemente en virtud de que es una bacteria formadora de esporas, las mismas que le confieren resistencia a condiciones externas adversas. Mientras tanto, *Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas putida* colonizaron la mazorca de cacao después de su aplicación; sin embargo, sus poblaciones presentaron decrementos tempranos respecto a *B. subtilis* (Gráfico 4)

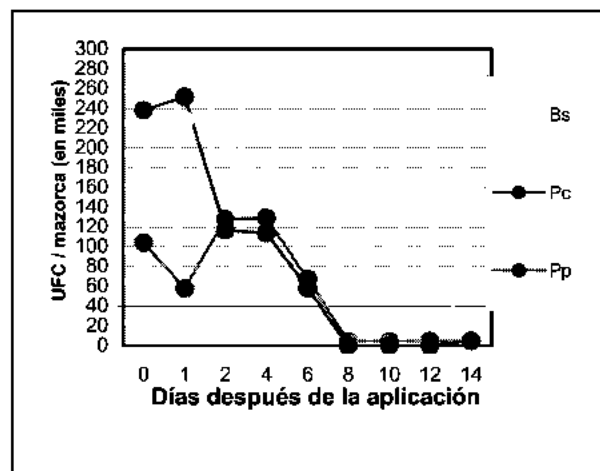


Gráfico 4. Dinámica poblacional de *B.subtilis*, *P.cepacia* y *P.putida* en mazorcas de cacao.

Literatura Citada

- Desrosiers, R. y Suárez, C. 1974. Monilia pod rot of cacao In: *Phytophthora: disease of cocoa*. Londres, pp. 273-274
- García, M.; Oleas, A. y Páez, T. 2003. Control biológico de *Moniliophthora roreri* en campo usando microorganismos epífitos aislados de mazorcas de cacao *Theobroma cacao* en el cultivar CCN-51, Boletín Técnico – Científico : Proyecto Monilia-ESPE, pp. 48-54
- Kado, C.I y Hesjett, M.G. 1970. Selective Media for Isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60(1): 969-976.
- Knudsen, G. y Spurr, H. 1987. Field persistence and efficacy of five bacterial preparations for control of peanut live spot In: *Plant Disease*, N° 71, pp. 442-445
- Parke, J. 1990. Population dynamics of *Pseudomonas cepacia* in the pea spermosphere in relation to biocontrol of *Pythium*. *Phytopathology*, Vol. 80, N° 12:1307-1311

TRANSICIÓN CONIDIO-BLASTOSPORA DE AISLADOS DE *Paecilomyces fumosoroseus* (ASCOMICOTA MITOSPÓRICO) DE MÉXICO

Judith Castellanos-Moguel¹, Margarita González-Barajas¹, Teresa Mier¹, Rocío Reyes-Montes², Conchita Toriello²

¹Depto el Hombre y su Ambiente, UAM-Xochimilco, México D.F. mjcastellanos@yahoo.com. ²Depto de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina UNAM, México D.F. toriello@servidor.unam.mx

Palabras clave: Conidios, blastosporas, *P. fumosoroseus*

Introducción

Paecilomyces fumosoroseus (Wize) Brown & Smith es un ascomicete mitospórico reportado como patógeno para la mosquita blanca (Homoptera: *Aleyrodidae*), plaga polífaga de gran importancia económica en México. Los hongos entomopatógenos se caracterizan por la penetración directa de la cutícula del hospedante, mediante la liberación de enzimas, principalmente proteasas y quitinasas, y la acción de fuerza mecánica (Kachatourians, 1992. Otro aspecto de la relación hospedante / parásito, que ya ha sido estudiado en hongos patógenos de mamíferos (Keath *et al.* , 1989) pero no en patógenos de insectos, es la transición de la forma micelial en cuerpos levaduriformes al interior del hospedante. En el presente trabajo se presentan resultados iniciales de la transformación dimórfica (conidio-blastospora) *in vitro* de tres aislados de México de *P. fumosoroseus*, previamente seleccionados por su virulencia (Castellanos-Moguel *et al.* , 2001.

Materiales y Métodos

Aislados Fúngicos.

Se utilizaron cultivos monospóricos (Cavallazzi *et al.* , 2001) de tres aislados provenientes del Centro Nacional de Referencia en Control Biológico, DGSV, SAGARPA, Tecomán, Colima. Fueron utilizados por la presencia de alta (EH-506/5), media (EH-503/12) y baja (EH-520/6) actividad enzimática de proteasas y quitinasas (Castellanos-Moguel *et al.* , 2001.

Cinética de la transformación conidio-blastospora: Los monospóricos fueron cultivados en dos medios líquidos con inductores de enzimas: medio H adicionado de caseína al 1 % y medio sintético adicionado de quitina coloidal al 2 % (Castellanos-Moguel *et al.* , 2001. Para la cinética de la transición conidio-blastospora se hicieron mediciones por triplicado al tiempo cero del experimento y posteriormente cada 6 h durante 24 h. A partir de las 24 h, los muestreos se espaciaron a cada 12 h hasta que se alcanzaron las 96 h, ya que es el tiempo reportado en la literatura para obtener blastosporas típicas (Jackson *et al.* , 1997; Vidal *et al.* , 1998. En cada muestra se midieron 10 propágulos

(conidios o cuerpos levaduriformes) por matraz, se calculó el tamaño promedio de los mismos, así como la concentración de cuerpos hifales /ml. También se realizó un registro gráfico al microscopio.

Resultados

Se observaron los siguientes propágulos fúngicos: conidios, conidios germinando, blastosporas, cuerpos hifales, cuerpos levaduriformes, en medio H adicionado de caseína al 1 % y en medio sintético adicionado de quitina al 2 %. Para el monospórico EH-503/12 en el medio H se obtuvo una mayor cantidad de propágulos fúngicos a las 60 h de incubación (7.7×10^7 células/ml), mientras que en el medio sintético se obtuvo la mayor cantidad hasta las 96 h (9.8×10^4 células/ml), y comparativamente, el tamaño de los cuerpos hifales y levaduriformes fue mayor en medio H (figura 1) que en el sintético (tabla 1. Para EH-506/5, se observó la mayor cantidad de cuerpos hifales a las 96 h en medio H (1.0×10^7 células/ml) y a las 36 h en medio sintético (1.1×10^5 células/ml), y EH-520/6 presentó la mayor cantidad de cuerpos hifales a las 60 h en medio H (6.4×10^7 células/ml) y a las 72 h (1.0×10^5 células/ml) en medio sintético.

Tabla 1. Largo promedio de los propágulos fúngicos producidos por tres aislados de *P. fumosoroseus* cultivados en medio H adicionado con caseína al 1% y en medio sintético adicionado con quitina al 2%

Tiempo	EH-503/12		EH-506/5		EH-520/6	
	Medio H	Medio sintético	Medio H	Medio sintético	Medio H	Medio sintético
0 h	5	5	5.1	5	5	5
6 h	5.7	5.75	5.9	5.5	5.1	5.1
12 h	22.3	11.4	14.5	11	20.1	5.1
18 h	40	19.7	21.2	17.7	12.25	5.6
24 h	12.2	6.8	12.8	11.4	17.6	11.75
36 h	15.2	6	11.1	5.6	23.1	6.08
48 h	10.2	6.6	13.4	10.7	10.1	10.1
60 h	10.6	7.1	13.8	7.5	11.6	9.05
72 h	11	7.25	11.6	9.5	13.6	11.3
84h	9.1	8	11.6	9.9	10	10.1
96 h	11	5.75	11.6	10.6	13.1	7.8

*Todas las medidas reportadas son el resultado de por lo menos 30 estructuras, el tamaño promedio esta dado en μm en todos los casos. El ancho de los conidios y cuerpos levaduriformes osciló entre los 2.5 y 2.8 μm para todos los casos.

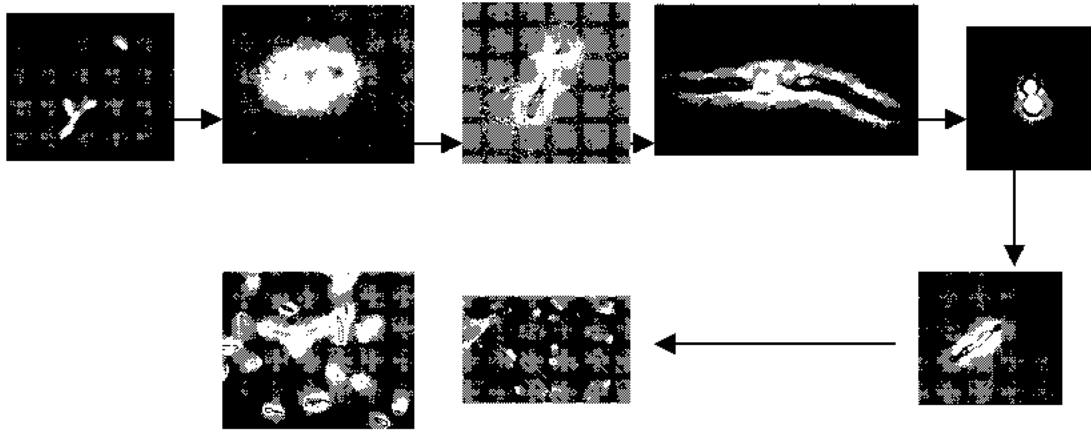


Figura 1. Transición conidio-blastospora del cultivo monospórico EH-503/12 en medio H adicionado con caseína. a) Conidios a las 0 h, b) conidio germinando a las 6 h, c) Cuerpo hifal a las 12 h, d) cuerpo hifal a las 18 h, e) blastospora a las 24 h, f) cuerpo hifal a las 36 h, g) cuerpos hifales a las 48 h, h) cuerpos hifales y conidios sumados a las 60 h.

Resultados y Discusión

Los hongos entomopatógenos tienen una gran plasticidad especialmente en forma, que es altamente dependiente de las condiciones ambientales, lo que pudo observarse de manera muy marcada con los dos medios de cultivo que se utilizaron. En el medio H, que tiene una fuente accesible de carbono y de nitrógeno, se obtuvieron cuerpos hifales más grandes y en mayor cantidad que en el medio sintético, donde la única fuente de carbono y nitrógeno era la quitina coloidal. Esto coincide con lo mencionado por Vidal *et al.*, 1998, ya que señalan que las condiciones nutricionales tienen efectos significativos en la forma de los propágulos. También coincide con lo mencionado por Jackson *et al.* (1997), ya que obtuvieron la mayor cantidad de blastosporas en un medio con una alta concentración de carbono y nitrógeno. Hay coincidencia con el trabajo de Vidal *et al.*, (1998), ya que se obtuvieron blastosporas entre las 60 y 96 h.

Conclusiones

Este estudio pone de manifiesto el dimorfismo fúngico *in vitro* y que las estructuras observadas son correspondientes a los diferentes estadios de desarrollo fúngico reportados en el proceso teórico de penetración hacia los insectos.

Literatura Citada

Castellanos-Moguel J, R. Cruz-Camarillo, E. Aranda y C. Toriello. 2001. Selección de aislados de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith, con base en

- sus niveles de proteasa y quitinasa. Memoria del IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Veracruz, Veracruz. CIV-33
- Cavallazzi-Vargas G, Pérez-Mejía A, Berlanga Padilla A, Hernández-Velázquez V, Toriello C. 2001. Selección de cultivos monospóricos de *Paecilomyces fumosoroseus* con base en sus características fenotípicas. En: Nevárez-Morillón GV, Sánchez-Martínez G, Muñoz-Castellanos LN (Eds.). Memorias del XXIV Congreso Nacional de Control Biológico, 9-10 Agosto, Chihuahua, Chih. pp 112-115.
- Jackson, M. A., M. R. Mc Guire, L. A. Lacey y S. P. Wraight. 1997. Liquid culture production of dissiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. Mycological Research 101: 35-41
- Keath, E. J. , A. A. Painter, G. S. Kobayashi y G. Medoff. 1989. Variable expression of a yeast phase specific gen in *Histoplasma capsulatum* strains different in thermotolerance and virulence. Infection and Immunity 57: 1384-1390
- Khachatourians G. C. 1992. Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. En Arora, D.K. L. Ajello, K. G. Mukerji, Eds. Handbook of Applied Mycology, Vol 2. Humans, Animals and Insects. Marcel Dekker, New York, pp 613-663.
- Vidal, C., J. Fargues, L.A. Lacey y M.A. Jackson. 1998. Effect of varios liquid culture media on morphology, growth propagule production, and pathogenic activity to *Bemisia argentifolii* of the entomopathogenic Hyphomycete, *Paecilomyces fumosoroseus*. Mycopathologia 143: 33-46

Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado con el apoyo de Conacyt, megaproyecto grupal G-31451-B, en colaboración entre UNAM, CNRCB y UAM-X. La estudiante de doctorado Judith Castellanos Moguel agradece a Conacyt la beca otorgada a través de este proyecto.

CONTROL BIOLÓGICO “in vitro” DE *Rhizopus* sp. EN FORRAJE VERDE HIDROPÓNICO.

Vargas Valenzuela Silvia Cristina; Mata González María Guadalupe; Sandoval Camacho Diana Karina.; Rodríguez de la Rocha Gpe. Sonia. y Muñoz Castellanos Laila Nayzzel.

Fac. de C. Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua. Apdo. Postal 1542-C
Tel/Fax (614) 4144492 correo electrónico: guadalupemata14@yahoo.com.mx

Palabras clave: Forraje verde hidropónico, antagonismo, biocontrol, *Rhizopus* sp.

Introducción

El forraje verde hidropónico (FVH) representa una alternativa de suplementación para el ganado en zonas de ganadería extensiva donde la época de secas es prolongada (Rodríguez, 2002). El continuo crecimiento de la población requiere la búsqueda de nuevos caminos para incrementar la producción de alimentos. Una forma de conseguir este objetivo es la reducción de las pérdidas en cultivos agrícolas provocados por organismos causantes de enfermedades y plagas (insectos, nemátodos y hongos) (Soto, 1998).

El uso de bacterias como agentes en biocontrol se ha expandido por varias décadas, y han sido utilizadas desde 1960 como una alternativa de los plaguicidas químicos (Hurts y cols. 2002). En biocontrol los antagonistas residentes pueden tener ciertas ventajas sobre los antagonistas causales con respecto al crecimiento, colonización y supervivencia (Janisiewicz, 1988a). El presente trabajo tiene como objetivo realizar un biocontrol “in vitro” del patógeno *Rhizopus* sp. por medio de microflora aislada de la rizosfera del forraje verde hidropónico.

Materiales y Métodos.

Cepas bacterianas

Obtenidas de la rizósfera del FVH por medio de lavados continuos con solución buffer de fosfatos estéril y sembrada en agar nutritivo (2 repeticiones).

Patógeno

Aislado de la rizosfera del FVH por medio de cámaras húmedas (3 días) y sembrado en agar extracto de malta por triplicado.

Antagonismos

Las cepas bacterianas puras y el hongo puro se enfrentan (en la misma caja) en agar nutritivo para observar si se presenta o no inhibición del crecimiento del hongo. Se probaron 14 cepas bacterianas (por duplicado).

Identificación de Género

A partir del kit de pruebas bioquímicas convencionales y de carbohidratos glucosa, xilosa, arabinosa, manitol, manosa, ribosa, galactosa, trealosa, fructosa y sacarosa.

Resultados

Las cepas aisladas que presentan antagonismo con el patógeno se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1: Géneros causantes de biocontrol "in vitro" contra *Rhizopus sp.*

CEPA	% DE INHIBICIÓN	GÉNERO
1	82	<i>Enterobacter agglomerans.</i>
2	74	<i>Bacillus azotoformans.</i>
3	80	<i>Bacillus lentus.</i>
4	80	<i>Enterobacter cloacae.</i>
6	67	<i>Bacillus pantothenicus.</i>
7	83.4	<i>Enterobacter agglomerans.</i>
8	67	<i>Enterobacter cloacae.</i>
9	74	<i>Bacillus insolitus.</i>
11	80	<i>Bacillus circulans.</i>
12	74	<i>Yersinia kristensenii.</i>
13	80	<i>Bacillus thurigiensis.</i>

Discusión

Por medio del biocontrol "in vitro" se obtuvieron cepas bacterianas capaces de inhibir el crecimiento del patógeno en un porcentaje consideradamente alto, las cuales pertenecen a géneros bacterianos que su hábitat es el suelo, agua y plantas; en donde, de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que existen bacterias autóctonas que contrarrestan el crecimiento del *Rhizopus sp.*; siendo este patógeno una de las causas de mayor pérdida económica en la producción de FVH de trigo y de otros granos.

Algunos antecedentes importantes en el desarrollo de agentes de biocontrol menciona como organismos potenciales en condiciones de campo a los géneros bacterianos *Bacillus* y *Enterobacter*, entre otros (Weller, 1998); Siendo estos organismos habitantes naturales de la rizósfera del FVH.

Literatura Citada

- Hurts J. Criston; Crawford L. Ronald; Knudse R. Guy; McInerney J. Michael; Stetzenbach D. Linda. 2000. Manual Of Environmental Microbiology. Second edition. ASM Press. Washington D.C.
- Janisiewicz, W.J. 1988a. Biological Control of Diseases of Fruit. Volumen II. Chapter 11. Editors G. Mukerji and K. L. Gard, Biocontrol of Plant Diseases (CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida), pp:154 – 165.
- Soto López Paola. 1998. Efecto de Bacterias Antagonistas de *Rhizoctonia* en Habas. <http://www.geocities.com.raaaperu/cb.htm>. 22/03/01.
- Rodríguez de la Rocha Sonia. 2002. Hidroponía: Agricultura y Bienestar. Textos Universitarios. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua México.
- Weller, D.M.1988. Biological Control of Soilborne Plant Pathogens in the Rhizosphere with Bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 26:379-407.

BIOSISTEMÁTICA Y TAXONOMÍA

**IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO *ASAPHES* WALKER 1834
(HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) DE LA COLECCIÓN DE
APHIDOPHAGA DE MÉXICO.**

Del Río-Galván S¹, V. Cibrián-Llenderal¹, J. R. Lomelí F²., J. F. López-Toledo¹ y S. Vázquez-Correa¹.

1

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN. Prol. Manuel Carpio y Plan de Ayala, Col. Sto. Tomás, C. P. 11340, Miguel Hidalgo, México. D. F.² Texas, A & M University, Dept. of Entomology, College Station, Tex., USA.

Palabras clave: *Asaphes*, Pteromalidae, hiperparasitismo.

Introducción

El hiperparasitismo se presenta en tres superfamilias del orden Hymenoptera: Chalcidoidea, Ceraphronoidea y Cynipoidea (Sullivan, 1988). La superfamilia Chalcidoidea comprende a la familia Pteromalidae (Domínguez, 1994) que tiene alrededor de 3350 especies repartidas en 644 géneros (Marsh, 1983, citado en Cervantes M., F. *et al.*, 1999) y entre estos se encuentran: *Asaphes*, *Pachyneuron* y *Coruna* (Sullivan, 1988. , Sullivan y Volkl, 1999, Hagen y Van Den Bosch, 1968). El género *Asaphes* tiene seis especies registradas en Norte América y en México se encuentran tres de éstas, que son: *A. californicus*, *A. suspensus* y *A. vulgaris* (Gibson y Vikberg, 1998).

En el año de 1996 Lomeli y Peña-Martínez indican la necesidad de contar con una colección que respalde la identificación de himenópteros parasitoides e hiperparasitoides de los áfidos de nuestro país; conformándose así la colección de Aphidophaga de México.

Starý en 1966 (citado en Cervantes M., F. *et al.* , 1999) menciona que en el caso de áfidos y sus parasitoides se observan varios tipos de relaciones como el hiperparasitismo, en el que una larva del parásito primario y uno del secundario (hiperparasitoide) se encuentran presentes en el hospedero. Existe controversia sobre el papel que juegan los hiperparasitoides en las cadenas tróficas pues mientras algunos autores como Hagen y van den Bosch, 1968; Huffaker y Messenger, 1976 (Levine, 1983) argumentan que debido a la interferencia que causan los hiperparásitos con los parasitoides de áfidos se consideran perjudiciales para los programas de control biológico. Otros como May, 1973, 1976 (Levine, 1983) sostienen que al incrementarse la complejidad de los niveles tróficos y de la red alimenticia los hiperparásitos probablemente pueden jugar un papel importante en el balance entre las poblaciones de las especies de insectos en la naturaleza.

El conocimiento de los parasitoides e hiperparasitoides es reducido en México por lo cual el presente trabajo se realizó con el fin de identificar a las especies del Género *Asaphes*, además de elaborar una colección de referencia de los hiperparasitoides de

áfidos que incluya a este género ya que en el país no se cuenta con ninguna colección de este tipo.

Materiales y Métodos

Se revisó material proveniente de la colección de Aphidofaga de México, de las colectas realizadas desde el año de 1990 hasta el 2002. Los especímenes fueron colectados en el Distrito Federal (D. F.), Estado de México y Durango, que en conjunto representan 47 localidades de colecta y 353 muestras. Se separaron los organismos del género *Asaphes*. Los ejemplares que no estaban montados, se pegaron en triangulitos de papel con resistol blanco diluido en agua, por el lado izquierdo del tórax. Se usaron alfileres entomológicos #1 para montarlos (Peña-Martínez, *et al.*, 2000). Una vez que todo el material estuvo montado, se utilizó la clave de Gibson y Vikberg (1998) para la determinación de la especie. Se tomaron fotografías a hembras y machos de las especies identificadas, con una cámara digital Nikon COOLPIX 995 y se editaron en Adobe Photoshop versión 6.0.

Resultados y Discusión

En esta revisión se identificaron 114 organismos de la especie *Asaphes suspensus* y 18 de la especie *Asaphes californicus*, cuyos áfidos huésped se mencionan en el cuadro 1.

Aunque la especie *A. vulgaris* Walker 1834 está reportada en la República Mexicana no se encontró en las muestras revisadas, probablemente a que existe cierto grado de traslape en características morfológicas como la variabilidad en la coloración de diversas partes de los apéndices (Gibson y Vikberg 1998).

Literatura Citada:

- Bocchino, F. J. y D. J. Sullivan. 1981. Effects of venoms from two aphid hyperparasitoids, *Asaphes lucens* and *Dendrocerus carpenteri* (Hymenoptera: Pteromalidae and Megaspilidae), on larvae of *Aphidius smithi* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Can. Ent.*. Pp. 887-889.
- Cervantes M., F., J. R. Lomelí, F. R. Peña-Martínez, R. N. S. Rodríguez, S. R. Terrón. 1999. Ácaros, Pulgones y Enemigos Naturales. Notas de curso especial. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México.
- Domínguez, R. R. 1994. Taxonomía 3. Universidad Autónoma de Chapingo, Parasitología Agrícola. México.
- Gibson, G. A. P. and V., Vikberg. 1998. The species of *Asaphes* Walker from North of Mexico, with remarks on extralimital distributions and taxa (Hymenoptera: Chalcidoidea, Pteromalidae). *Jour. of Hymenop. Res.* 7(2): 209-256.
- Haggen, K. S. y R. Van Den Bosch. 1968. Impact of pathogens, parasites, and predators on aphids. *Ann. Rev. Entomol.* 13: 325-384.

- Levine, L. and D. J. Sullivan. 1983. Intraspecific tertiary parasitoidism in *Asaphes lucens* (Hymenoptera: Pteromalidae), an aphid hyperparasitoid. *Can. Ent.* 115:1653-1658.
- Lomeli F., J. R. y R., Peña-Martínez. 1996. Colección de himenópteros parasitoides de áfidos de México. En: Cuarta muestra nacional de colecciones de insectos y ácaros. Acta de Chapultepec. Publicación del Museo de Historia Nacional de la Ciudad de México. 2: 17-21.
- Lomeli F., J. R. y R. Peña-Martínez. 2001. Lista de himenópteros parasitoides e hiperparasitoides de áfidos (Homoptera: Aphidoidea) de México. 17-21. En: Vargas, M., O. J. Polaco, G. Zúñiga (editores). Contribuciones Entomológicas. Homenaje a la Dra. Isabel Bassols. E.N.C.B.-I.P.N. México. 175 págs.
- Peña-Martínez, R., N. Villegas-Jiménez y J. R. Lomeli F. 2000. Técnicas de colecta, montaje y preservación de pulgones y algunos de sus enemigos naturales, pp. 19-31. En: Arredondo-Bernal, H. C., Pérez-Serrato, P. y Mellín-Rosas, M. A. (compiladores). Control biológico del pulgón café, *Toxoptera citricida* vector del virus de la tristeza de los cítricos. Centro Nacional de Referencias de Control Biológico, DGSV, CONASAG-SAGAR, México. 149 pp.
- Sullivan, D. J. 1988. Hyperparasites. En: Minks, A. K. and P. Harrewijn (editors). *Aphids Their Biology, Natural Enemies and Control*. ELSEVIER Amsterdam. Pp. 189-201.
- Sullivan, D. J. 1987. Insect Hyperparasitism. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 49-70
- Sullivan, D. J. y W. Volkl. 1999. Hyperparasitism: Multitrophic ecology and behavior. *Annu. Rev. Entomol.* 44:291-315.

Cuadro 1- Afidos hospederos de himenópteros hiperparasitoides del género *Asaphes*.

Áfidos hiperparasitados por *Asaphes suspensus* Nees 1834

Parasitoide primario Aphidiidae (Hymenoptera) no determinado.

Áfido			Planta hospedera	
Género	Especie	Autor	Nom. científico	Nom. Común
<i>Myzus</i>	<i>persicae</i>	Sulzer 1776	<i>Brassica oleracea</i>	col
<i>Macrosiphum</i>	<i>euphorbiae</i>	Thomas 1878	<i>Iris reticulata</i>	iris
<i>Aphis</i>	<i>illinoisensis</i>	Shimer 1866	<i>Vitis</i> sp.	vid
<i>Aphis</i>	<i>nerii</i>	Boyer de Fonscolombe, 1841	<i>Nerium oleander</i>	rosa laurel
<i>Brachycaudus</i>	<i>schwartzii</i>	Börner, 1931	<i>Prunus persica</i>	durazno álamo
<i>Chaitophorus</i>	sp.		<i>Populus tremuloides</i>	temblón maíz y pasto
<i>Rhopalosiphum</i>	<i>padi</i>	Linnaeus	<i>Zea mays</i> , <i>Bromus</i> sp.	bromo Asteracea
<i>Uroleucon</i>	sp.		<i>Montanoa grandiflora</i>	a

Áfidos hiperparasitados por *Asaphes californicus* Girault 1917

Parasitoide primario Aphidiidae (Hymenoptera)

Áfido			Planta hospedera	
Género	Especie	Autor	Nom. científico	Nom. Común
<i>Aphis</i>	<i>gossypii</i>	Glover, 1877		
<i>Macrosiphum</i>	<i>euphorbiae</i>	Thomas 1878	<i>Iris reticulata</i>	iris
<i>Aphis</i>	<i>nerii</i>	Boyer de Fonscolombe, 1841	<i>Nerium oleander</i>	rosa
<i>Essigella</i>	<i>californica</i>	Essig, 1909	<i>Pinus</i> sp.	laurel
<i>Illinoia</i>	<i>morrisoni</i>	Swain, 1918	<i>Cupresus</i> sp.	pino
<i>Sitobion</i>	sp.		<i>Alnus</i> sp.	cedro
				aile

NUEVOS REGISTROS DE HUÉSPEDES, DISTRIBUCIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LA GENITALIA DE *Nealiolus curculionis* (FITCH) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EN MÉXICO

José Antonio Sánchez-García¹, Víctor López-Martínez², Antonio Huerta-Paniagua³, Gloria Calyécac-Cortero³, Néstor Bautista-Martínez³, José Isaac Figueroa-De la Rosa³, Laura Martínez-Martínez¹ y Carlos Acosta-Durán²

¹CIIDIR-IPN Unidad Oaxaca, Área de Control biológico, Hornos #1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, MÉXICO. C.P. 71230, jasanchezg@ipn.mx. ²Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos 62210, MÉXICO, vilomar@uaem.mx. ³Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad, Programa de Entomología y Acarología, Km 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Edo. de México. MÉXICO. C.P. 56230.

Palabras Clave: *Nealiolus*, *Trichobaris*, tomate de cáscara

Introducción

En México *Nealiolus curculionis* (Fitch) se ha registrado como un parasitoide del picudo del algodnero *Anthonomus grandis* Boh., en el estado de Guerrero (Cross and Chesnut 1971). En Los Estados Unidos *N. curculionis* es el enemigo natural principal de *Cylindrocopturus adspersus* (Le Conte) (Charlet 1983b), y está asociado al menos con 10 especies de curculiónidos en Canadá, Estados Unidos y México (Charlet, 1983a - 1994; Charlet *et al.* 1992; Marsh, 1979).

El barrenador *Trichobaris. championi* Barber fue detectado por Bautista y Morales (2000) como una nueva plaga del tomate de cáscara *Physalis ixocarpa* Brot., y está distribuida al menos en 10 estados de México (Barber, 1935; Bautista y Morales, 2000). Huerta *et al.* (2002) mencionan que a altitudes entre 1800-2000 msnm *T. championi* es la principal plaga del tomate de cáscara, y en Tenango del Valle, Estado de México ha causado hasta el 92% de infestación de este cultivo (Bautista y Morales, 2000).

Los ejemplares colectados de *N. curculionis* en el estado de Puebla están parasitando pupas del picudo del tomate de cáscara *T. championi*, tanto en tallos como en ramas, y con la finalidad de aportar información sobre su biología, registro de huéspedes y distribución, así como la descripción de la genitalia, se plantea el presente trabajo.

Materiales y Métodos

Los ejemplares de *N. curculionis* fueron obtenidos a partir de pupas de *T. championi* asociadas a tallos y ramas del tomate de cáscara. Se cortaron tallos y ramas del tomate de cáscara las cuales contenían pupas del huésped y se depositaron en una cámara de cría, la cual consistía en un Tupperware® de plástico cubierto con tela de organza y se esperaba la emergencia de los parasitoides.

Se solicitó el préstamo de material adicional de *N. curculionis* de las siguientes colecciones: Canadian National Collection, Ottawa, Canada (CNC), Museum of Zoology y Lund University, Sweeden (MZUL). Para la identificación del material se utilizaron las claves de Sharkey y Wharton (1997) y de Martin (1956). Se realizaron preparaciones de genitalias de machos de *N. curculionis*, se siguió la técnica propuesta por Sánchez *et al.*, (en prensa).

El material determinado se encuentra depositado en la Colección de Entomología y Acarología del Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados (CEAM).

Resultados

Nuevos registros de distribución de *N. curculionis*: Puebla. Tecamachalco: km 22 carr. México-Veracruz; Quecholac: Tuzupán, 2-VIII-2000-24-VIII-2001. 11 ejemplares todos obtenidos de pupas de *T. championi*.

Genitalia. Edeago bífido con dos lóbulos apicales, con un canal medio profundo y puntuaciones apicales; gonoforceps anchos, con su parte apical redondeada y con algunos lóbulos, con varias setas apicales rectas y algunas en su parte media; digitus con 3-4 dientes; cuspis agudo; lamina volsellaris con 6 setas.

Discusión

Las larvas de *T. championi* se alimentan principalmente de los tejidos internos del tallo y ramas principales comportándose como un barrenador, las larvas maduras elaboran un cocón con la fibra del hospedante. En nuestros muestreos encontramos dos parasitoides atacando a *T. championi*, *N. curculionis* y *Bracon* sp. *N. curculionis* se reporta por primera vez atacando a *T. championi*, lo cual representa un nuevo registro de sus huéspedes, y aunque su incidencia fue baja, se esperaría que en futuros estudios de evaluación del porcentaje de parasitismo se incremente debido a que los muestreos realizados fueron en lotes comerciales donde se realizan normalmente 10 aplicaciones de insecticidas y seguramente esto afectó en la presencia del parasitoide. *N. curculionis* es un endoparasoide de algunas especies de curculiónidos, la hembra oviposita en el último instar larval y exhibe gran sincronización con su huésped (Charlet, 1994). La especie no determinada de *Bracon* pudiera ser una especie nueva, faltaría coleccionar más ejemplares para contar con su determinación correcta y proponer su utilización en futuros estudios de control biológico del barrenador del tallo del tomate de cáscara.

De acuerdo con Sánchez *et al.*, (en prensa) la genitalia puede proveer caracteres útiles para la clasificación de Braconidae, se consideran los patrones de setas, forma de gonoforceps, forma del edeago, número y posición de setas, número de dientes en digitus; esta estructura ya se ha utilizado para separar géneros de Braconidae y especies de *Blacus*, probablemente en el futuro pueda representar también una herramienta útil para separar especies de *Nealiolus*, ya que se examinaron 15 machos

de diferentes localidades, incluyendo ejemplares provenientes de Estados Unidos de *N. curculionis* y se encontró que es un carácter constante dentro de la especie y al mismo tiempo diferente respecto a otras especies de *Nealiolus*, por lo que se puede proponer su utilidad en futuros estudios en la sistemática de este género.

Literatura citada

- Barber, H. S. 1935. The tobacco and solanum weevils of the genus *Trichobaris*. United States Department of Agriculture. Miscellaneous Publication 226. 28 pp.
- Bautista M., N. y O. Morales G. 2000. *Melanagromyza tomaterae* Steyskal (Diptera: Agromyzidae) plaga del tomate (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Folia Entomológica Mexicana 110: 129-130.
- Charlet, L.D. 1983a. Insect stem fauna of native sunflower species in western North Dakota. Environ. Entomol. 12: 1286-1288.
- Charlet, L.D. 1983b. Parasitoids of a stem weevil, *Cylindrocopturus anspersus* (Coleoptera: Curculionidae), in sunflower: Incidence and parasitization in the northern Great Plains. Environ. Entomol. 12: 888-890.
- Charlet, L.D., G.J. Brewer and V.H. Beregovoy. 1992. Insect fauna of the heads and stems of native sunflowers (Asterales: Asteraceae) in eastern North Dakota. Environ. Entomol. 21: 493-500.
- Charlet, L. D. 1994. Seasonal abundance and impact of the sunflower stem weevil parasitoid, *Nealiolus curculionis* (Hymenoptera: Braconidae), in the Northern Great Plains. Biological Control 4: 26-31
- Cross, W.H. and T.L. Chestnut. 1971. Arthropod parasites of the boll weevil *Anthonomus grandis* 1. An annotated list. Ann. Entomol. Soc. Am. 64 (2): 516-527.
- Huerta P., R.A., N. Bautista-M., H. Bravo-M., J.L. Carrillo S. y O. Díaz G. 2002. Estudio bioecológico de *Trichobaris championi* Barber, barrenador del tallo del tomate de cáscara *Physalis ixocarpa* Brot., en el altiplano poblano. En: Bravo *et al.* (Eds.). Investigación, resultados y avances. Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados. Pp. 34.
- Marsh, P.M. 1979. Family Braconidae In: K. V. Krombein P. D. Hurd D. R. Smith and B. D. Burks eds. Catalog of Hymenoptera in America North of Mexico Washington D. C. 1: 144-313.
- Martin, J.C. 1956. A taxonomic revision of the triaspidine braconid wasps of Nearctic America (Hymenoptera). Canadian Department of Agriculture Publication 965: 1-157.
- Sánchez G., J.A., R.A. Wharton, J. Romero N., A. González H., V. López M., A. Equihua M., H. González H. and J.L. Carrillo S. Description of a New Species of *Blacus* (Hymenoptera: Braconidae) from Mexico, utilizing characters of the male external genitalia. Pan Pacific Entomol. In press.
- Sharkey, M. J. 1997. Subfamily Helconinae. pp. 260-272. In: Wharton, R. A., P. M. Marsh, and M. J. Sharkey, [eds.]. Manual of the New World Genera of the Family Braconidae (Hymenoptera). International Society of Hymenopterologists. Special publication 1.

BÚSQUEDA DE PARASITOIDES DEL "PICUDO DEL CHILE" *Anthonomus eugenii* CANO (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), EN EL NORTE DE SINALOA.

Edgardo Cortez Mondaca¹, Ezequiel Cabanillas Durán¹, A. Dagoberto Armenta Bojórquez², Marco A. Reyes Rosas³.

¹Campo Experimental Valle del Fuerte-INIFAP, Km. 1609 carret. México-Nogales, J. J. Ríos, Sin. 81110. ²Centro Institucional de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-IPN Sinaloa. Guasave, Sin. ³Campo Experimental Río Bravo-INIFAP, Río Bravo, Tam. come60@yahoo.com

Palabras clave: *C. hunteri*, *Eupelmus*, *Eurytoma*.

Introducción

La búsqueda de enemigos naturales con fines de identificación, es un quehacer básico en un programa de control biológico por diferentes razones, es necesaria para: a) Establecer la identidad de la fauna benéfica presente, b) Definir la relación de candidatos potenciales a introducir y/o reproducir en una área de liberación, c) Definir el estatus de dichos agentes de control en espacio, tiempo y cantidad, etc. En este caso, el objetivo del estudio fue conocer los parasitoides del picudo del chile presentes en el norte de Sinaloa y el porcentaje de parasitismo natural que proveen.

Materiales y Métodos

El estudio se efectuó en el área de influencia del campo experimental del Valle del Fuerte (CEVAF), en la región norte de Sinaloa, durante los meses de diciembre de 2002 a mayo del 2003, realizando muestreos en tres parcelas comerciales tratadas con insecticidas y en dos lotes experimentales sin aplicación de plaguicidas, ubicados en el CEVAF y en el Centro Institucional de Investigación para el Desarrollo Integral regional (CIIDIR), en las inmediaciones de Guasave, Sin. Los muestreos consistieron en recolectar 200 frutos infestados con la plaga en cada sitio de muestreo, en cinco sitios del terreno: en los cuatro extremos y en el centro. De los frutos obtenidos en cada muestreo, la mitad se disecaba en laboratorio al día siguiente, buscando la presencia de parasitoides de la plaga mencionada; el resto de los frutos se confinaron en vasos desechables y transparentes de 260 ml, en grupos de cinco por vaso, utilizando como tapa un pedazo de tela organza asegurada con una liga, para evitar que los insectos emergidos escaparan o se introdujeran otros. Al término de los muestreos, los especímenes se identificaron utilizando las claves taxonómicas de Wharton *et al.* (1997) y Gibson *et al.* (1997).

Para los parasitoides obtenidos de los frutos confinados se determinó el porcentaje de parasitismo promedio por especie de parasitoide, se cálculo dividiendo el número de parasitoides emergidos entre el total de especímenes observados y multiplicando el resultado por 100. En las parcelas con manejo comercial, se realizó un promedio de 12

aspersiones de insecticidas por temporada, para el control de la plaga; en los lotes experimentales sin insecticidas la plaga infestó alrededor del 80% de los frutos.

Resultados y Discusión

Se identificaron parasitoides correspondientes a tres especies de tres familias, ubicadas en la superfamilia Chalcidoidea del orden himenóptera (Cuadro 1): *Catolaccus hunteri* Crawford, *Eupelmus* sp., y *Eurytoma* sp. Durante los primeros 11 muestreos, de la primera semana de diciembre 2002, a la tercera semana de febrero, no se obtuvo ningún parasitoide; el parasitismo se detectó en muestras del 25 de febrero, pero en abril se presentó la mayor cantidad de ejemplares el 55.7% del total (58 de 104) y 84.4% fueron *C. hunteri*. Es interesante señalar que se obtuvieron dos especímenes de uno de los lotes comerciales (*C. hunteri* y *Eupelmus* sp.) y coincidentemente ocurrió en el segundo muestreo de abril, en una parcela en la que se abandonó el cultivo y la última aplicación de insecticida se realizó en la última semana de diciembre. Con estos resultados y los obtenidos en el ciclo 2001-2002 (Cortez *et al.*, 2002), se reafirma la hipótesis de que las temperaturas bajas y la elevada contaminación del ambiente por aspersión de plaguicidas influyen decididamente en la presencia y abundancia de los enemigos naturales, pues su obtención ocurrió hasta que la temperatura ambiente se incrementó y sólo en las parcelas sin insecticidas.

Cuadro 1. Especies de parasitoides obtenidos en la búsqueda de parasitoides del chile en el norte de Sinaloa.

Superfamilia	Familia	Género	Especie	No.	% Parasit.		
					L1 /	L2 /	L3
Chalcidoidea	Pteromalidae	<i>Catolaccus</i>	<i>C. hunteri</i>	90	2.4	2.1	0.0
	Eupelmidae	<i>Eupelmus</i>	<i>Eupelmus</i> sp.	4	0.1	0.0	0.0
	Eurytomidae	<i>Eurytoma</i>	<i>Eurytoma</i> sp.	10	0.3	0.2	---

L1: CEVAF, L2: CIIDIR y L3: lote comercial.

C. hunterii, es un ectoparásito solitario de larvas y pupas de *A. eugenii*, que se obtuvo en cantidades de 43, 46 y 1 ejemplares en el CEVAF, el CIIDIR, y en un lote comercial, respectivamente, lo que equivale al 2.4, 2.1 y 0.0% de parasitismo promedio, considerando que el número promedio de picudos emergidos fueron 1834, 1980 y 1965, para cada sitio, en el orden citado. El porcentaje de parasitismo para el resto de las especies detectadas fue todavía menor, puesto que el número de ejemplares a través de la duración del estudio fue mínimo. De acuerdo con Wilson (1986) y Riley (1994), *C. hunteri* podría ser un candidato efectivo para el control del picudo del chile. Este resultado difiere un tanto de lo obtenido por Mariscal *et al.* (1998), quienes en un estudio similar realizado en el estado de Nayarit, la especie que registró mayor porcentaje de parasitismo natural (29%) fue el braconido *Triaspis eugenii* (Wharton y López, 2000), sin embargo, *C. hunteri* fue la segunda especie más abundante con un parasitismo del 3.0%. Que también ataca al picudo del algodón, con una efectividad similar a *Catolaccus grandis* (Burks), el parasitoide más exitoso en el control biológico de esa plaga (Cortez *et al.*, 2001).

Del género *Eupelmus* la especie *E. cushmani* (Crawford) ha sido utilizada para el control biológico clásico de *A. eugenii*, junto con *C. hunteri* y *Bracon vestitica* (Vier.) por separado, pero sin éxito (Riley, 1994). En el caso de *Eurytoma*, se menciona que las especies entomófagas pueden ser parásitas de una amplia variedad de ordenes de insectos incluyendo miembros de Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera, Homoptera y Diptera, así como de Araneae (DiGiulio, 1997, citado por CABI, 2000) y puede atacar a sus hospederos en todos sus estadios (huevo, larva, pupa o adulto), y la relación puede ser parasítica, hyperparasítica (facultativa u obligada), ya sea como endoparásito o ectoparásito, solitario, gregario o una combinación de ambos (CABI 2000). Pacheco (1996) menciona diversos autores que reportan a *E. gossypii* Bugbee, *E. pini* Burke y *E. tylodermatis* Ashmead como parasitoides del picudo del algodón.

Literatura Citada

- CAB INTERNATIONAL, 2000. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB INTERNATIONAL.
- Cortez M., E., Bárcenas O. N. M., Leyva, V. J. L., Vargas, C. J., Rodríguez del B. L. A., y Martínez, C. J. L. 2001. Evaluación del Parasitismo de *Catolaccus grandis* y *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae) Sobre el Picudo del Algodón. En: XXIV Congreso Nacional de Control Biológico. Chihuahua, Chi., pp 197 – 200.
- Cortez M., E., E. Cabanillas y J A. Sánchez. 2002. Búsqueda de parasitoides del “picudo del chile” *Anthonomus eugenii* CANO (Coleoptera: Curculionidae), en el norte de Sinaloa. Memoria del Congreso Nacional de Control Biológico, Hermosillo, Son. pp. 96-98.
- Gibson, G. A. P., Huber J. B. Woolley. 1997. Annotated keys to the genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). NCR Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 794 p.
- Mariscal E., J. L. Leyva y R. Bujanos. 1998. Parasitoides del picudo del chile, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) en Nayarit, México. *Vedalia* 5: 39 - 46.
- Pacheco M., F. 1996. Plagas de los cultivos oleaginosos en México. Campo Experimental Valle del yaqui. SARH-INIFAP-CIRNO. Libro técnico. Cd. Obregón, Son. Méx., pp 367-375.
- Riley, D. G. 1994. Biological Control of the Pepper Weevil. Texas A&M University, Weslaco TX., pp 11 – 14.
- Wharton, R. A., P. Marsh and M. Sharkey (eds.). 1997. Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera) Special Publication of the International Society of Hymenopterists 1: 1-439.
- Wharton, R. A. y V. López-Martínez. 2000. A new specie of *Triaspis* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) parasitic on the pepper weevil *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 102 (4): 794-801.
- Wilson, R. J. 1986. Observations on the behavior and host relations of the pepper weevil *A. eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) in Florida. M. S. thesis, University of Florida, Gainesville.

DIFERENCIACIÓN MOLECULAR DE CUATRO ESPECIES DE *Trichogramma* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EN MÉXICO

Martha Patricia España Luna¹, Alejandro González Hernández¹, Omar G. Alvarado Gómez², Julio Lozano Gutiérrez³, Fabián García González¹.

Fac. de Ciencias Biológicas¹ y Fac. de Agronomía² de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Unidad Académica de Agronomía³ de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Correo electrónico: mpesp24@yahoo.com

Palabras clave: *Trichogramma*, diferenciación, PCR-RFLP, ITS.

Introducción

Las avispitas del género *Trichogramma* son los parasitoides más importantes de huevecillos en el mundo (Knutson, 1998), debido principalmente a que son utilizadas como agentes de control biológico de varias plagas del orden Lepidoptera en diversos cultivos. Sin embargo, la eficiencia de estas especies depende de la liberación de la especie adecuada. La taxonomía de este grupo de parasitoides es difícil debido a su tamaño pequeño (0.2-1.5 mm de longitud), y la falta de características de diagnóstico suficientes (Pinto, 1998). Nagarkatti y Nagaraja (1971) identificaron las especies a través de la genitalia del macho, sin embargo, cuando se analizan varias poblaciones de una especie, la genitalia es similar y frecuentemente se localiza la presencia de especies hermanas. Además, algunas especies se reproducen por partenogénesis (Pinto, 1998).

En México existen 47 centros reproductores de *Trichogramma*, sin embargo la falta de estudios de identificación originan que la veracidad de las especies liberadas en campo sea dudosa. Por lo anterior, la identificación de las especies de *Trichogramma* requiere métodos rápidos y confiables. Los marcadores con base en ADN son de gran utilidad. Un marcador importante, usado para diferenciar especies y biotipos de *Trichogramma*, son los espacios intergenéticos (ITS), debido principalmente a que son regiones variables entre especies (Stouthamer *et al.*, 1999). El objetivo de esta investigación fue diferenciar a nivel molecular cuatro especies de *Trichogramma* reproducidas en laboratorios comerciales de México.

Materiales y Métodos

Se solicitó a 12 laboratorios 20 pulgadas cuadradas de cartoncillo con huevecillos de *Sitotroga cerealella* parasitados por *Trichogramma*. Una vez emergidos los parasitoides, fueron colocados en alcohol al 100% para preservarlos. Los especímenes se identificaron morfológicamente en el laboratorio de la Colección de Insectos Benéficos de la Fac. de Ciencias Biológicas siguiendo las claves taxonómicas de Pinto (1998).

Para la extracción de ADN, dos especímenes de cada especie fueron agitados en 500 μ l de amortiguador TAE y luego se homogeneizaron en 100 μ l de Chelex-100 5% y 3

□l de proteinasa K (20 mg/ml), e incubados durante 60 min a 56°C, seguido de 10 min a 95°C.

La PCR se realizó en volúmenes de 25 □l con 2.5 □l de ADN, 2.5 □l de buffer PCR (10X), dNTPs 0.2 mM, 10 ng de primers, 1 unidad de enzima *Taq* DNA polimerasa y se completó con agua miliQ. Se utilizaron los primers específicos para amplificar la región ITS2 de *Trichogramma* (Stouthamer *et al.*, 1999). El programa térmico utilizado fue de 3 min a 95°C seguidos por 33 ciclos de 45 s a 92°C, 45 s a 53°C, y 45 s a 72°C con una extensión final de 3 min a 72°C después del último ciclo. Los productos de la PCR, así como un marcador de peso molecular (ladder 100) fueron separados en un gel de agarosa 1%, teñido con bromuro de etidio y fotografiados bajo luz UV.

Después de la amplificación por PCR, se realizó una digestión de los productos utilizando las enzimas *Eco* RI, *Sau* 3AI, y *Alu* I. Las reacciones se efectuaron en volúmenes de 20 µl conteniendo 17 µl de productos de PCR amplificados, 2 µl de amortiguador, 0.2 □l de BSA y 5 unidades de enzima. Las reacciones fueron incubadas a 37 °C durante 2 horas. Los fragmentos se separaron en geles de poliacrilamida al 5%, teñidos con bromuro de etidio y fotografiados bajo luz UV.

Resultados

Se identificaron morfológicamente cuatro especies diferentes: *T. fuentesi*, *T. pintoii*, *T. exiguum* y *T. pretiosum*, y después de realizar la extracción de ADN, y las reacciones de PCR se logró amplificar la región de estudio en las cuatro especies. De acuerdo con los productos amplificados, tres especies son diferenciadas en primera instancia con base en el tamaño de la región ITS2, originando fragmentos de 520 a 695 pares de bases (Fig. 1).

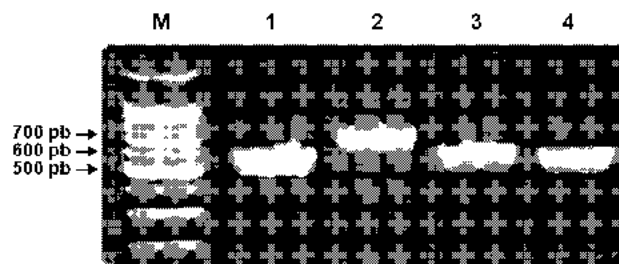


Fig. 1 *T. fuentesi* (1), *T. pintoii* (2), *T. exiguum* (3) y *T. pretiosum* (3)

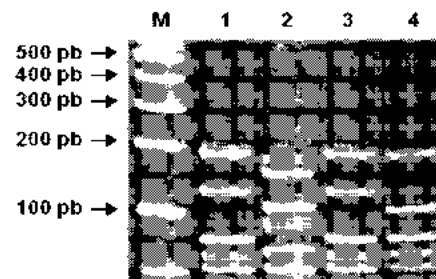


Fig. 2 Digestión con la enzima *Sau* 3AI *T. fuentesi* (1), *T. pintoii* (2), *T. exiguum* (3) y *T. pretiosum* (3)

Los análisis de restricción mostraron diferencias más notables entre las especies. La enzima *Sau* 3AI, cortó los productos amplificados en cinco fragmentos de diferentes tamaños para *T. fuentesi* y *T. pretiosum*, mientras que para *T. pintoii* lo hace en seis (Fig. 2). La enzima de restricción *Alu* I cortó los productos amplificados en cuatro fragmentos de tamaños diferentes para cada especie. *Eco* RI digiere el ITS2 de *T.*

fuentesii y de *T. exiguum* en dos fragmentos, y de *T. pintoii* en tres, mientras que la región amplificada de *T. pretiosum* no presenta sitio de corte para esta enzima.

Discusión

La región ITS2 es útil para diferenciar especies de *Trichogramma* (Stouthamer *et al.*, 1999), en nuestro estudio el análisis de esta región fue de gran utilidad para la diferenciación de tres especies de *Trichogramma* con un primer criterio basado en la talla del producto amplificado, seguido por la digestión con enzimas de restricción. La PCR originó productos de tamaño similar a los obtenidos por Silva *et al.* (1999) y Thomson *et al.*, (2003) (520 a 695 pb) con otras especies del mismo género. En nuestro análisis no se encontró sitio de corte en el ITS2 con la enzima de restricción *Eco RI* en *T. pretiosum*, resultado similar al obtenido por Pinto *et al.* (2002) al digerir el ITS2 de varias especies de *Trichogramma*. Las especies *T. exiguum* y *T. fuentesii* no presentaron diferencias con ninguna de las enzimas utilizadas en este estudio, por lo que se utilizarán otras enzimas de restricción.

Literatura Citada

- Knutson, A. 1998. The *Trichogramma* manual. Texas Agricultural Extension Service report no. B-6071; 5-98. Agricultural Communications, The Texas A&M University System, College Station, TX.
- Nagartti, S. and Nagaraja, H. 1971. Redescription of some known species of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae), showing the importance of the male genitalia as a diagnostic character. Bull. Entomol. Res. 61, 13-21.
- Pinto, J.D. 1998. Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). In: Memoirs of the Entomological Society of Washington. Number 22. p 6.
- Pinto, J.D., A.B. Koopmanschap, G.R. Platner, and R. Stouthamer. 2002. The North American *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing certain Tortricidae (Lepidoptera) on Apple and Pear, with ITS2 DNA Characterizations and description of a new species. Biological Control 23:134-142.
- Stouthamer, R., J. Hu, F.J.P.M. Van Kan, G.R. Platner and J.D. Pinto. 1999. The utility of internally transcribed spacer 2 DNA sequences of nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma*. BioControl 43:421-440.
- Thomson, L.J., B. J. Rundle, M. E. Carew, and A. A. Hoffmann. 2003. Identification and characterization of *Trichogramma* species from south-eastern Australia using the internal transcribed spacer 2 (ITS-2) region of the ribosomal gene complex. Entomologia Experimentalis et Applicata 106: 235-240.

EXPLORACIÓN DE PARASITOIDES DE BRUCHIDOS (COLEOPTERA:BRUCHIDAE) DEL MEZQUITE EN BERMEJILLO, DGO.

Ramírez Gómez Manuel¹

¹ Universidad Autónoma Chapingo-Unidad Regional Universitaria De Zonas Áridas Bermejillo, Dgo. mramirez@Chapingo.Uruza.Edu.Mx

Palabras Clave: mezquite, parasitoides, bruchidae

Introducción

El desarrollo de nuevos cultivos alternativos en las zonas áridas es una necesidad y a la vez una línea de investigación actual dentro del aprovechamiento de los recursos bióticos en estas zonas de escasa precipitación. El mesquite (*Prosopis* spp) es una de las especies vegetales con gran potencial como cultivo ya que además de ser fuente de madera, la vaina tiene potencial como alimento humano y para el ganado (Gómez, 1970). Dentro del proyecto de manejo integral del mezquite, el control sustentable de plagas es un factor importante para lograr rendimientos de calidad y cantidad. Los bruquidos *Algarobius prosopis* y *Acanthoscelides* sp (COLEOPTERA:BRUCHIDAE) son los herbívoros que causan graves daños en las vainas llegando hasta un 48% los daños (Solorio, 2001). Siendo las citadas especies los principales problemas de índole fitosanitario, se inició la exploración de enemigos naturales no documentada en la literatura actualmente. El objetivo del presente estudio fue explorar enemigos naturales, sobre todo parasitoides, que ataquen la fauna de bruquidos en el mesquite en el área de Bermejillo, Dgo.

Material y Métodos

Trampas de emergencia fueron construidas usando botes de plástico transparente de 2 y 4 litros de capacidad. Se realizaron colectas de mezquite durante los meses de junio y Julio. Las vainas fueron transportadas al laboratorio de Control Biológico de la URUZA y entonces colocadas en las cámaras de emergencia donde en los días posteriores se capturaron y separaron las especies de insectos. Principalmente bruquidos y parasitoides. Todos fueron colocados en alcohol etílico al 75% para su posterior montaje e identificación. Las especies de bruquidos no fueron identificadas. Para la identificación de los parasitoides se emplearon las claves de Marsh, Shaw and Wharton (1987) y las de Wharton, Marsh and Sharkey (1997) utilizando un microscopio estereoscópico Fisher® y lámpara convencional así como agujas de disección, pinzas, piezas de unisel, alcohol etílico 75% y cajas petri.

Resultados

Dos parasitoides fueron capturados: *Heterospilus* sp y *Urosigalphus* sp. El segundo más abundante que el primero. *Heterospilus* sp (HYMENOPTERA BRACONIDAE). Este parasitoides pertenece a la familia Braconidae y a la sub-familia Doryctinae. No existe un reporte preciso acerca de su relación directa con bruquidos, pero si con el orden coleóptera, específicamente con escolítidos barrenadores de madera. Sin embargo, el rango de hospederos de estos ectoparásitos idiobiontes de larvas es muy diverso, por lo que no se descarta su relación con bruquidos. Son de color café y miden entre 6-8 mm de longitud. Presentan un sombreado de color café en las alas anteriores. Tales alas presentan estigma y el abdomen es encorvado de 5 segmentos y con antenas filiformes largas de 29 segmentos. La característica fundamental de estos parasitoides es que la vena 2RS es débil y esa debilidad se prolonga hasta el punto de unión de esta vena con la 1m-cu; la (RS+M)a y la 2M.

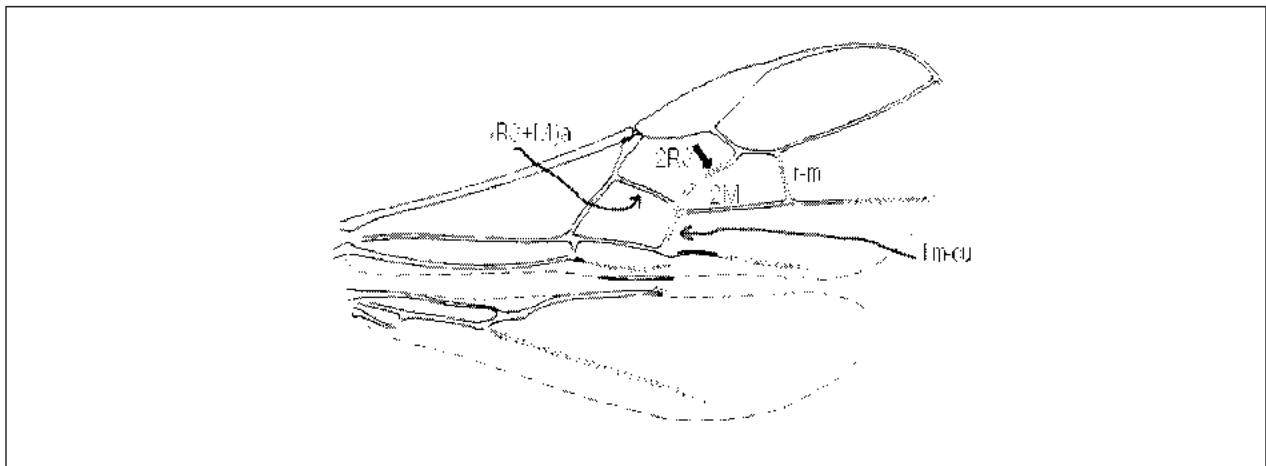


Figura 1. Esquema que muestra la venación característica de *Heterospilus* sp (Tomado de Wharton, Marsh and Sharkey 1997)

Urosigalphus sp (HYMENOPTERA:BRACONIDAE)

Este parasitoides fue el más abundante que se colectó de las cámaras de emergencia y pertenece a la familia Braconidae y a la subfamilia Helconinae. En esta sub-familia existen tres tribus y el género *Urosigalphus* está ubicado en la tribu Brachistini los cuales son conocidos como endoparásitos de huevecillos y larvas de coleopteros usualmente de Bruchidae y Curculionidae. Los especímenes colectados tienen un color negro con un ovipositor corto (8 mm aprox.) y antenas filiformes de 10-12 mm de longitud compuestas por 14 segmentos. La característica de la tribu es que los primeros tres segmentos abdominales forman un caparazón y la vena r-m de las alas anteriores siempre esta ausente. La vena 2cu-a que usualmente esta presente en este caso está ausente. La otra característica esta en las alas posteriores, cuyas venas SC+R y M+CU son paralelas hasta unirse a la 1r-m.

Discusión

Una vez establecida la identidad taxonómica de estos parásitos es ahora indispensable determinar si existe alguna preferencia en cuanto a especies de bruquidos y de allí otros estudios de laboratorio que lleven a intentar la reproducción masiva de los mismos y a la evaluación del impacto en las parcelas experimentales de mezquite.

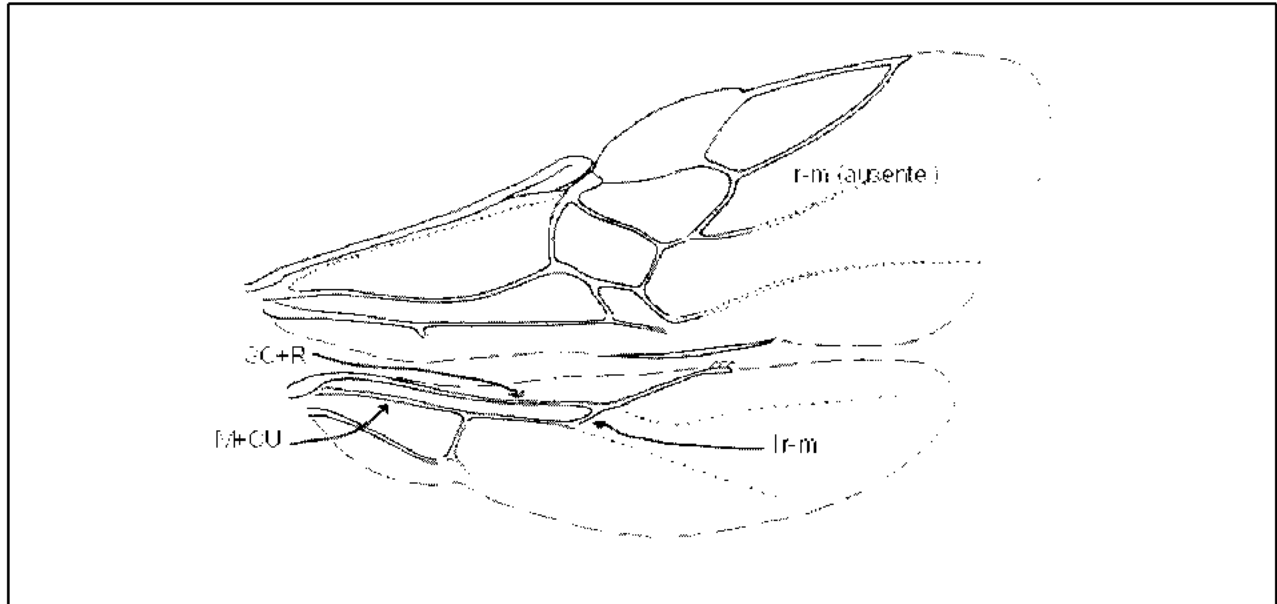


Figura 2. Esquema que muestra las características de *Urosigalphus* sp (Tomado de Wharton, Marsh and Sharkey, 1997)

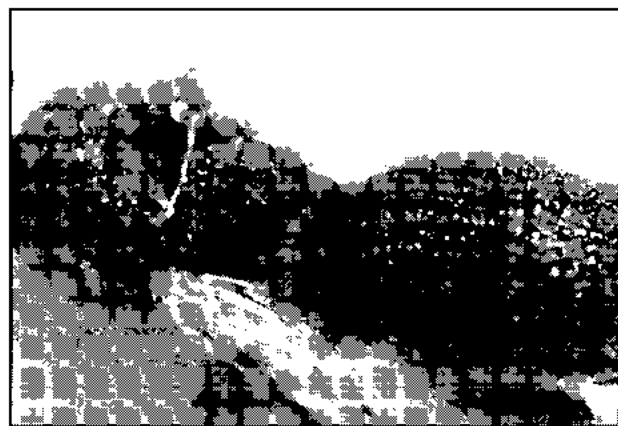
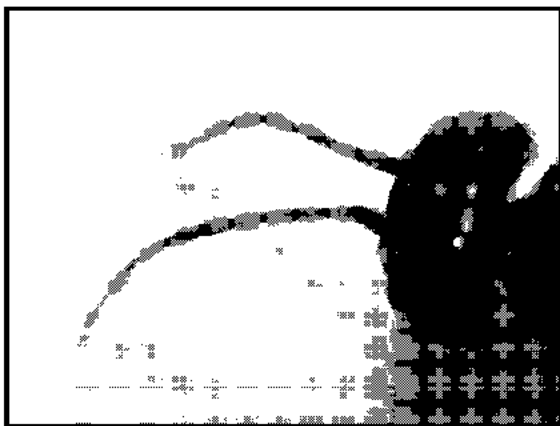


Figura 3. Antenas y caparazón abdominal característico de *Urosigalphus* sp (Tomadas por el autor)

- Gomez, L. F. 1970 Importancia económica de los mezquites en algunos estados de la Republica Mexicana. Mezquites y huizaches. I.M.R.N.R. Mexico, D.F.
- Marsh, P.M., Shaw, S.R., and Wharton, R.A. 1987. An Identification Manual for The North American Genera Of The Family Bracnidae (Hymenoptera). Memoirs of The Entomological Society of Washington. No. 13
- Solorio, R. I. 2001 Evaluación de daños por el gorgojo *Algarobius prosopis* LeConte en la vaina de mezquites *Prosopis* spp de la Comarca Lagunera. Tesis Profesional Universidad Autónoma Chapingo-URUZA. Bermejillo, Dgo
- Wharton, R.A., Marsh, P.M., and Sharkey, M.J. 1997 Manual Of The New World Genera Of The Family Braconidae (HYMENOPTERA). The international Society of Hymenopterists

Agradecimiento

Aún sin el 100% de salud el autor desea agradecer el apoyo del Programa SUPERA de ANUIES por su apoyo durante los estudios de postgrado en NMSU, Las Cruces, N.M. y la asistencia a la XIII Parasitic Hymenoptera Training Session University of Maryland. He aquí el primer fruto de su apoyo.

INSECTOS DEPREDADORES EN EL CULTIVO DE MAÍZ EN EL ALTIPLANO DEL ESTADO DE PUEBLA

Sánchez-Aguilera Carolina¹

Escuela de Ingeniería en Agronomía, Departamento de Ingeniería, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, A.C. 21 Sur 1103, Col. Santiago, C.P. 72160. Puebla, Pue. Fax (222) 232-52-51. Teléfono (222) 229-94-00 Ext. 422 csanchez@upaep.mx

Palabras Clave: depredadores, maíz.

Introducción

Los estudios entomofaunísticos para una región particular son escasos debido, en parte, a que la mayoría de las recolectas se llevan a cabo de una manera aislada y no sistematizada, lo cual impide el análisis de interacciones biológicas; como las relaciones planta-insecto, parásito-huésped, depredador-presa, etc; y el poder utilizar éstas y otras características biológicas para la separación de los diferentes taxa. Brailovsky, *et al.*, (1994)

El Altiplano del estado de Puebla está integrado por 92 municipios y destaca por la importante producción de granos básicos entre los que figura el maíz, situación que fundamenta la denominación de la región conocida como el "granero del estado". La superficie cultivada del maíz en dicha región es de 550 000 a 600 000 Ha la cual impacta a 350 000 productores. En tal situación se ven afectados por tener que aplicar insecticidas que no solo repercuten económicamente, sino en provocar intoxicaciones e incluso mutaciones en los recién nacidos, en contaminar el suelo, aire, agua y por supuesto los alimentos. Por consiguiente se inició la presente investigación enfocada al conocimiento de los insectos depredadores en el cultivo del maíz en el Altiplano del estado de Puebla.

Materiales y Métodos

Se realizaron salidas quincenales a los municipios de Izúcar de Matamoros, Atlixco, Cholula y Huejotzingo durante los meses de Agosto 2002 y Junio 2003). Se procedió a la recolecta de insectos, obtención de datos de campo e imágenes de los mismos a través de una cámara digital. Se utilizó una red de golpeo, sacudiendo sobre ésta la vegetación, así como de plantas circundantes al cultivo. Durante cada captura se registraron los datos de campo. El material vivo fue transferido a envases de plástico o en cajas de plástico que facilitarían su observación. El material recolectado se procedió al montaje, identificación con la ayuda del microscopio estereoscópico y con claves de identificación; etiquetado e integración de los ejemplares a la Colección Entomológica.

Resultados

Se reconocieron cuatro órdenes siendo los Coleópteros, Hemípteros, Neuropterios y Dípteros. de la familia Coccinellidae a *Colleomegilla maculata*, *Olla abdominales*, *Hipodamia*

Se reconocieron cuatro órdenes siendo los Coleópteros, Hemípteros, Neuropterios y Dípteros. de la familia Coccinellidae a *Colleomegilla maculata*, *Olla abdominales*, *Hipodamia convergens* y *Harmonia*. Con respecto a las familias de chinches fue posible reconocer de los Lygaeidae a *Geocoris*; Anthocoridae a *Orius insidiosus*, Nabidae al género *Nabis* y Reduviidae a *Sinea*. En el caso de los Neuropterios a *Ceraeochrysa valida*, *Chrysoperla externa* y *Chrysoperla comanche* y en los Dípteros se determinaron a la familia Syrphidae y Asilidae de los géneros *Syrphus* y *Asilus* respectivamente.

Discusión

Desafortunadamente no existe ninguna investigación en el estado de Puebla que esté encaminada a conocer los insectos depredadores y parasitoides que sin duda contribuirán a implementar el Control Biológico como una estrategia en el Manejo Integrado de los insectos-plaga y que sin duda permitirá incrementar la producción de autosuficiencia en la producción de granos básicos del Estado. Afortunadamente se reconoció la abundancia particularmente de *Colleomegilla maculata*, *Chrysoperla comanche*, *Sinea* y *Syrphus* en el municipio de Izúcar de Matamoros. Predominando *Nabis*, *Geocoris*, *Orius* y *Asilus* en los municipios de Atlixco y Cholula. Y *Harmonia* para el municipio de Huejotzingo. Actualmente se continúa la investigación para los municipios de Cd. Serdán, Tecamachalco y San Martín Texmelucan.

Literatura Citada

- Domínguez, P.M.,E. Perez, S y M. Morales. 1999. Familias de Insectos depredadores de la región oriente de Morelos. Memorias del XXII Congreso Nacional de Control Biológico. Col. Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. 41-43 Págs.
- Flint M.L. and Dreistadt S.H.1998. Natural Enemies Handbook, The Illustrated Guide to Biological Pest Control. University of California Press Edition. U.S.A. 154 pp.
- Hagen, K.S. and J.A. McMurtry. 1979. Natural Enemies and Depredador – Prey Ratios. En Biological Control and Insect Pest Management Edit. University of California Division of Agricultural Sciences. pp.28 – 40
- Sánchez, A. C. 2001. Entomofauna Depredadora de Atlixco, Puebla. Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. 48 pp.
- Thomas, D. 1992. Taxonomic Synopsis of the Asopinae Pentatomidae (Heteróptera) of the Western Hemisphere. Entomol. Soc. Amer. 16:1-156.

PRIMER REGISTRO EN MÉXICO DEL NEMATODO *Heterorhabditis indicus* Poinar

Cortez-Madrigal, Hipólito¹; Salvador-Morales, Pedro¹ y Adams, Byron²

1/Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco, México; 2/Universidad de Florida, USA.
Proyecto financiado por la Fundación PRODUCE-Tabasco.

Introducción

Los nematodos de la Familia Heterorhabditidae y Steinernematidae son enemigos naturales con alto potencial para el desarrollo de bioinsecticidas. No obstante su creciente uso a nivel mundial, en países como México su uso es reducido. Ello motiva al desarrollo de estudios básicos, sobre todo, en el aislamiento de especies nativas, localmente adaptadas a las regiones en donde se usarán.

Dadas las condiciones ambientales del trópico húmedo mexicano, es factible hipotetizar que exista una amplia diversidad de nematodos entomopatógenos. El objetivo del estudio fue el de aislar e identificar nematodos entomopatógenos nativos de Tabasco, México.

Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló en el estado de Tabasco, ubicado en Sureste de México. Se hicieron un muestreo tres regiones: La Chontalpa, Los Rios (Centla) y La Sierra (Macuspana. El clima de la región es cálido húmedo, con abundantes lluvias en verano y “nortes” en otoño e invierno. La temperatura media anual es de 26 °C (INEGI, 2001). De enero a noviembre del 2002 se tomaron muestras de suelo de las regiones señaladas. En cada región, los muestreos se estratificaron por cultivo. Cada muestra consistió de 1 kg de suelo, compuesta de cinco submuestras tomadas aleatoriamente a una profundidad de 15-25 cm. Las muestras se llevaron al laboratorio en donde se colocaron en cajas Petri. Los nematodos se obtuvieron mediante trampas cebadas con insectos (Bedding y Akurst, 1975), en este caso, con larvas de la palomilla de la cera *Achorea grisella*. Las larvas muertas se colocaron en trampas White para recuperar los juveniles. La identificación de los especímenes fue realizada por el Dr. Byron Adams, Universidad de Florida. Adicionalmente, los suelos se analizaron física y químicamente en el Laboratorio de Análisis de Suelos y Aguas del Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco. Con los nemátodos obtenidos se realizaron observaciones morfológicas, reproductivas y pruebas preliminares de patogenicidad con algunos insectos plaga.

Resultados

Se registraron nemátodos asociados a insectos en las regiones de La Chontalpa y en la de La Sierra; sin embargo, los de la primera región fueron nematodos rabditidos bacteriófagos, y aunque se criaron en laboratorio y las larvas infectadas adquirieron un

color rojizo, la patogenicidad no fue clara. En la región de Los Rios (costera) no se detectaron nematodos.

De 33 muestras obtenidas en La Sierra, en cinco (15%) se registraron nemátodos entomopatógenos. La especie identificada fue *Heterorhabditis indicus* Poinar. El suelo de donde se colectó fue de textura migajón-arenoso (arcilla 13%: limo 16% y arena 71%), con 1.71% de materia orgánica y un pH de 5. Una característica importante fue que el cultivo (maíz) de donde se aislaron los nematodos fue manejado en forma tradicional. Además, el cultivo se ubicó cerca de una pequeña laguna de agua dulce. Algunas características importantes de *H. indicus* se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Aspectos biológicos de *H. indicus* criado a 25 °C.

Días a la emergencia (n=12)	juveniles/hembra hermafrodita (n=5)	Juveniles/larva (n=5)	Viabilidad	Inicio de mortalidad
9.08±2.1	71.6±17.0	80 252.50±56 672.00	30 días	19 hr

H. indicus causó alta mortalidad en ninfas de *Aeneolamia* spp. y *Spodoptera frugiperda* (Figura 1). En menor grado causó mortalidad en adultos y larvas *Rhynchophorus palmarum* y en *Periplaneta americana*.

Discusión

Este es el primer reporte en México de la especie *H. indicus* y demuestra el potencial que tiene la especie para el control de plagas tropicales. El presente estudio complementa los reportes previos (Poinar *et al.*, 1992; Rosales y Suarez, 1998) sobre la distribución de la especie. El hecho de que únicamente se hayan registrado nematodos en una de las tres regiones

Hechas un muestreo indica la adaptabilidad específica de estos organismos a diferentes ambientes. La Chontalpa cuenta con suelos arcillosos, factor que se sabe desfavorece la actividad de nematodos entomopatógenos (Barbercheck y Kaya, 1991). En cambio, la región de la sierra conformada por pequeños lomerios, valles y lagunas, los suelos son más ligeros que los de La Chontalpa. Se menciona que en la regiones costeras se ha aislado el mayor número de nematodos entomopatógenos (Liu y Berry, 1995, Rosales y Suárez, 1998); sin embargo, en el presente las muestras de la zona costera fueron tan pocas que la probabilidad de encontrar nematodos fue mínima.

Los resultados preliminares de patogenicidad sugieren un alto potencial de *H. indicus* en el manejo de plagas de Tabasco. Plagas del suelo y de hábitats crípticos, entre ellas: el picudo del platano *Cosmopolitus sordidus* (Germar), el barrenador de la caña de azúcar *Diatraea* spp., el barrenador de las meliaceas *Hypsipila grandella* Zeller, el "Gusano cogollero" del maíz *Spodoptera frugiperda* Smith.

Conclusiones

Se registra por primera vez para México el nematodo *Heterorhabditis indicus* Poinar. a nivel laboratorio, el nematodo causó un 100% de mortalidad en salivazo de los pastos *Aeneolamia* spp. y el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*.

Literatura Citada

- Barbercheck, E.M. y Kaya, K.H. 1991. Effect of host condition and soil texture on host finding by the entomogenous nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Envir. Entomol.* 20(2): 583-589.
- Bedding, R.A. y Akurst, R.J. 1975. A simple technique for the detection of the parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica* 21: 109-110.
- Anónimo. 2001. Síntesis geográfica del estado de Tabasco. INEGI, Aguascalientes, Méx. 89 p.
- Liu, J. y Berry, R.E. 1995. Natural distribution of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) in Oregon soils. *Environ. Entomol* 24(1): 59-163.
- Rosales, A. C. y Suárez, H. Zoraida. 1998. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleóptera *curculionidae*. *Bol.Entomol. Venez.* 13(2):123-140.
- Poinar, G.O.; Karunakar, G.K. y David, H. 1992. *Heterorhabditis indicus* n. sp. (Rhabditida: Nematoda) from India: separation of *Heterorhabditis* spp. by infective juveniles. *Fundamental and Applied Nematology* 15:467-472.

***Tamarixia* sp. (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE), PARASITOIDE DEL
PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS EN TAMAULIPAS, MÉXICO**

Juana Maria Coronado Blanco¹, Enrique Ruíz Cancino¹,
Svetlana Nikolaevna Myartseva¹ y Griselda Gaona García^{1 y 2}

¹Div. de Estudios de Postgrado e Investigación, UAM Agronomía y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Cd. Victoria, Tam. 87149, México, jmcoronado@uat.edu.mx; ²Instituto de Ecología y Alimentos, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Cd. Victoria, Tam. 87040, México.

Palabras Clave: *Tamarixia* sp., *Diaphorina citri*, México

Introducción

Los psílidos se asemejan a los pulgones pero se diferencian al presentar patas saltadoras, huevos y machos alados en todas las generaciones y en la ausencia de cornículos. Se localizan en brotes jóvenes, secreta mielecilla y causan distorsión a las hojas; los adultos son voladores más fuertes que los pulgones y pueden sobrevivir más tiempo sin brotes tiernos (University of Florida, 2003).

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) ha sido reportado para el sur y centro de Asia, Arabia Saudita, Brasil y Estados Unidos (Florida y Texas); además Burckhardt (1994) indica que se distribuye en Sudamérica y Centroamérica hasta Honduras. En Florida se detectó en junio de 1998 y se ha diseminado rápidamente, en Texas fue introducida accidentalmente en la primavera del 2001, aparentemente en una maceta con planta de *Murraya* de Florida (Mead, 2002).

Ruíz y Coronado (2002) informaron de la inminente llegada de *D. citri* a Tamaulipas por ser colindante de la zona cítrica del sur de Texas, donde fue detectada en el 2001 y posteriormente, Coronado y Ruíz (2003) reportaron la presencia del psílido asiático como nuevo registro para México, en el estado de Tamaulipas, el cual fue colectado en Cd. Victoria, Tamaulipas, el 17 de julio del 2003 en *Citrus limon* Burmeister.

D. citri tiene varios enemigos naturales, incluyendo sírfidos, crisópidos, coccinélidos e himenópteros. Los parasitoides más importantes son *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) (Mead, 2002) y *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam et Agarwal) (Hymenoptera: Encyrtidae) (Hoy y Nguyen, 1998). Se recomienda liberar ambas especies parasíticas en huertas cítricas y viveros por su acción complementaria en el control de la plaga en diferentes zonas climáticas y densidades de población (Hoy y Nguyen, 2000).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de parasitoides del psílido asiático de los cítricos en Cd. Victoria, Tamaulipas y su determinación taxonómica.

5

Materiales y Métodos

El 26 de agosto del 2003 se tomaron muestras de hojas de limón mexicano de brotes infestados con *Diaphorina citri* en Cd. Victoria, Tamaulipas, para ser colocadas en recipientes plásticos con tapa con tela de organza para esperar la emergencia de parasitoides. Las ninfas y adultos de los psílicos se conservan en viales con alcohol al 70% mientras que los parasitoides obtenidos fueron montados en laminillas permanentes con Bálsamo de Canadá y en puntas. Fueron determinados taxonómicamente con las claves de Grisell & Schauff (1997) a nivel de familia y con las de Schauff *et al.* (1997) a nivel de género. Los especímenes se encuentran depositados en el Museo de Insectos de la UAM Agronomía y Ciencias de la UAT, en Cd. Victoria, Tamaulipas. Además, de una muestra de 10 hojas se contabilizó el número de ninfas en el haz y en el envés de las hojas y se observó si tenían orificio de salida de los parasitoides, utilizando un microscopio Leica MZ12.

Resultados y Discusión

El adulto de *Diaphorina citri* mide de 3 a 4 mm de longitud, su cuerpo es pardo moteado, la cabeza pardo claro, ala anterior más ancha en la mitad apical, moteada y con una banda parda extendida en la periferia de la mitad exterior de la ala, antenas con punta negra y dos manchas pequeñas pardo claro en los segmentos medios. La ninfa mide 0.25 mm de longitud en el primer estadio y hasta 1.7 mm en el quinto estadio, su color es naranja amarillento sin manchas abdominales, con rudimentos alares grandes y filamentos largos en la placa apical del abdomen, tal como indica Mead (2002).

Se obtuvieron 13 parasitoides, 4 machos y 9 hembras, los cuales fueron determinados como *Tamarixia* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), ya que presentan el lóbulo medio del mesoscudo con dos setas adnotalares, una en la mitad anterior del mesoescudo y la otra en la mitad posterior, las setas son relativamente fuertes oscuras, de longitud subigual y erectas o semierectas; el cuerpo no es de color metálico, mesosoma negro y gaster negro con marcas amarillas; el macho presenta la genitalia distinguible, el dígito de 4 a 6 veces tan largo como ancho y con la espina apical curvada continua a la orilla exterior, edeago elongado y a menudo visible (Schauff *et al.*, 1997). Este género presenta 3 especies en Norteamérica que son parasitoides de psiloideos: *T. dyra* (Burks), *T. leucaenae* Boucek y *T. triozae* (Burks) (LaSalle, 1994). Sólo *T. leucaenae* ha sido reportada para México (Noyes, 2002).

De las 10 hojas, 2 no tuvieron psílicos. En las 8 restantes se obtuvieron 58 ninfas del psílido asiático (29 en el haz y 29 en el envés), lo que significa que la mayoría de los parasitoides ya había emergido (45 especímenes). En la muestra, el número máximo de ninfas por hoja fue de 17, con un máximo de 10 ninfas en el haz y 9 en el envés. Además de un máximo de 15 ninfas con orificios de salida de parasitoides en una hoja (Ver Cuadro 1).

Cuadro 1. Número de ninfas de *Diaphorina citri* Kuw. en haz y envés de la hoja.

Hoja	Haz			Envés			Total		
	Ninfas			Ninfas			Ninfas		
	Sin orificio de salida	Con orificio de salida	Total	Sin orificio de salida	Con orificio de salida	Total	Sin orificio de salida	Con orificio de salida	Total
1	0	0	0	1	1	2	1	1	2
2	0	2	2	2	7	9	2	9	11
3	1	3	4	0	0	0	1	3	4
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	2	2	4	2	1	3	4	3	7
6	1	0	1	0	1	1	1	1	2
7	1	3	4	0	0	0	1	3	4
8	1	9	10	1	6	7	2	15	17
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	1	3	4	0	7	7	1	10	11
Total	7	22	29	6	23	29	13	45	58
Promedio	0.7	2.2	2.9	0.6	2.3	2.9	1.3	4.5	5.8

Literatura Citada

- Burckhardt, D. 1994. Generic key to Chilean jumping plant-lice (Homoptera: Psylloidea) with inclusion of potential exotic pests. Rev. Chilena Ent. 21: 57-67.
- Coronado B.J.M. y E. Ruíz C. 2003. Registro del "psílido asiático de los cítricos", *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) para México. En revisión en Folia Entomológica Mexicana.
- Grisell, E.E. & M.E. Schauff. 1997. Chapter 3. Chalcidoidea, pp. 45-116. En: Gibson G.A.P., J.T. Huber & J.B. Woolley (eds.). Annotated keys to the genera of nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). NRC-CNRC. Ottawa, Canadá. 794 pp.
- Hoy & Nguyen, 1998. <http://exlab1.entnem.ufl.edu/PestAlert/hoy-0615.htm>
- Hoy & Nguyen, 2000. http://biocontrol.ifas.ufl.edu/ctgyrsrch/citrus/Asp_hoy2.htm.
- LaSalle, J. 1994. North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae). J. Nat. History. 28: 109-236.
- Mead. 2002. <http://creatures.ifas.ufl.edu/CITRUS/acpsyllid.htm>.
- Noyes, J.S. 2002. Interactive catalogue of world Chalcidoidea 2001. CD. Taxapad. Vancouver, Canadá.
- Ruíz C. E. y J.M. Coronado B. 2002. Tiempo de psílicos: un grupo de plagas que incrementan su importancia económica en México. Rev. UAT 83:56-59.
- Schauff, M.E., J. LaSalle & L.D. Coote. 1997. Chapter 10. Eulophidae, pp. 327-429. En: Gibson G.A.P., J.T. Huber & J.B. Woolley (eds.). Annotated keys to the genera of nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). NRC-CNRC. Ottawa, Canadá. 794 pp.
- University of Florida. 2003. <http://www.imok.ufl.edu/entlab/pres/scouting/citrus/scout30.htm>

BIOTECNOLOGÍA Y GENÉTICA

INCREMENTO EN LA SINTESIS DE LA PROTEINA Cry19A Y SU ACTIVIDAD TOXICOLOGICA HACIA *Anopheles quinquefasciatus*.

J. Eleazar Barboza-Corona¹, Hyun Woo Park², Brian A. Federici^{2,3}.

¹Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad de Guanajuato. Carretera Irapuato-Silao, Km 9. Apartado postal 311, 36500, Irapuato, Gto. MÉXICO. e-mail: josebar@dulcinea.ugto.mx. ²Department of Entomology and ³Interdepartmental Graduate Programs in Genetics and Microbiology University of California, Riverside. Riverside, California 92521, USA.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, Cry19A, STAB.

Introducción

Uno de los principios fundamentales en el manejo de la resistencia a *Bacillus thuringiensis*, es la combinación de diferentes proteínas que actúen sobre diferentes receptores. En este punto, la bacteria mosquitocida, *B. thuringiensis* subsp. *jegathesan* la cual fue aislada en Malasia, es de particular interés, en especial la proteína Cry19A. Esta, a diferencia de otras proteínas Cry presentes en *B. thuringiensis* subsp. *jegathesan*, no presenta resistencia cruzada a las proteínas Cry de *B. thuringiensis* subsp. *israeliensis* (Wirth y col. 2001). El gen que codifica a la proteína Cry19A ha sido clonado y secuenciado previamente (Rosso y Delécluse 1997) y es el primer gen de un operon formado por dos genes: *cry19A* y *orf2*. En el trabajo de Rosso y Delécluse (1997), el operón fue clonado bajo el control de sus propios elementos regulatorios y produjo cristales pequeños en una cepa acristalífera, los cuales mostraron ligera toxicidad hacia *Anopheles stephensi* y *Culex pipiens*, pero no hacia *Aedes aegypti*. El incrementar la cantidad de proteína Cry por célula y por unidad de medio de cultivo, es de interés comercial ya que se puede aumentar el rendimiento y la potencia por unidad de masa (Park y col., 1998). En este trabajo reportamos que la producción de Cry19A fue incrementada por manipulación genética usando un promotor fuerte (*cytA-p*) en combinación con una región estabilizadora de mRNA (STAB-SD). La toxicidad contra larvas de *Culex quinquefasciatus* es analizada.

Materiales y Métodos

Construcción de los Plásmidos

Los genes *cry19A* y *orf2* fueron amplificados por PCR a partir de plásmidos obtenidos de *B. thuringiensis* subsp. *jegathesan*. Los genes fueron clonados en el vector pSTAB (Park *et al.*, 1999) e introducidos por electroporación en la cepa acristalífera 4Q7 (*B. thuringiensis* subs. *israeliensis*). Los productos amplificados fueron analizados mediante mapas de restricción y secuenciación.

Análisis de Proteínas.

Las cepas de *B. thuringiensis* recombinantes y la cepa que contiene el operón bajo el control de elementos regulatorios silvestres (Rosso y Delécluse 1997) fueron crecidas hasta esporulación en el medio NBG y los cristales fueron separados mediante gradientes de sacarosa. Los cristales fueron solubilizados en Na_2CO_3 0.05 M y la concentración de la proteína determinada mediante el método de Bradford. Las proteínas fueron analizadas con geles de poliacrilamida bajo condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE).

Microscopía

Cultivos esporulados fueron monitoreados en el microscopio de luz. Posteriormente los cristales se purificaron por gradientes de sacarosa y fueron analizados con microscopía electrónica de barrido usando un microscopio Phillips XL30.

Actividad Mosquitocida

Muestras liofilizadas de espora-cristal fueron suspendidas en agua destilada y se hicieron varias diluciones. Los bioensayos contra *C. quinquefasciatus* fueron hechos por triplicado usando larvas del cuarto estadio. La concentración letal media fue calculada después de 48 h de incubación a 28°C mediante análisis Probit (POLO-PC; LeOra Software, Berkeley, CA)

Resultados y Discusión

La proteína Cry19A no ha sido bien estudiada debido a su estrecho rango de toxicidad y su moderada toxicidad contra larvas de mosquitos, aun cuando es una de las proteínas Cry que se producen en mayor concentración en *B. thuringiensis* subsp. *jegathesan*. Cry19A existe como un operón con el segundo marco de lectura (*orf2*) localizado en dirección 3' con respecto a *cry19A*. Para determinar si el promotor *cytA* combinado con la región estabilizadora del mRNA (STAB-SD mRNA) de *cry3A*, puede incrementar el nivel de la proteína Cry19A en *B. thuringiensis*, dos plásmidos recombinantes conteniendo a *cry19A* (con o sin el *orf2*) bajo el control del sistema *cytA*-p/STAB fueron construidos, e introducidos en la cepa acristalífera 4Q7. La proteína Cry19A sólo fue producida en la cepa que contiene el operón completo (*cry19A-orf2*). El tamaño de los cristales producidos en 4Q7 fueron casi 4 veces mas grandes que los producidos en la cepa control de *B. thuringiensis* subsp. *israeliensis* SPL407 conteniendo *cry19A cry19A* y *orf2* bajo el control de su propio promotor. La toxicidad de la cepa recombinante contra larvas de *Culex quinquefasciatus* ($\text{LC}_{50} = 441.9$ ng/ml and $\text{LC}_{95} = 1,915.4$ ng/ml) fue mas grande que la cepa control ($\text{LC}_{50} = 605.0$ ng/ml and $\text{LC}_{95} = 8,242.0$ ng/ml).

Los resultados mostraron que el uso de *cyt*-p y de la STAB-SD, permite incrementar la producción de la proteína Cry19A. Por otro lado, ya que Cry19A mostró ser ligeramente tóxica hacia larvas de *C. quinquefasciatus*, es necesario probar la toxicidad de la cepa recombinante, hacia otras especies de mosquitos; y además estudiar su papel en el

manejo del desarrollo a la resistencia hacia *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* (Wirth et al. 2001).

Literatura Citada

- Park HW, Ge B, Bauer LS, Federici BA .1998. Optimization of Cry3A yields in *Bacillus thuringiensis* by use of sporulation-dependent promoter in combination with the STAB-SD mRNA sequence. *Appl Environ Microbiol* 64:3932-3938.
- Park HW, Bideshi DK, Johnson JJ, Federici BA .1999 .Differential enhancement of Cry2A versus Cry11A yields in *Bacillus thuringiensis* by use of the *cry3A* STAB mRNA sequence. *FEMS Microbiol Lett* 181:319-327
- Rosso ML, Delécluse A .1997. Contribution of the 65-kilodalton protein encoded by the cloned gene *cry19A* to the mosquitocidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *jegathesan*. *Appl Environ Microbiol* 63:4449-4455.
- Wirth MC, Delécluse A, Walton WE .2001. Lack of cross-resistance to Cry19A from *Bacillus thuringiensis* subsp. *jegathesan* in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culidiacea) resistant to Cry toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Appl Environ Microbiol* 67:1956-1958.

Agradecimientos

A la Fundación de la Universidad de California para México y Estados Unidos (UCMEXUS) y CONACYT por el proyecto de colaboración (CN02-106) a JEBC y BAF y por el apoyo a JEBC a una estancia sabática en la Universidad de California, Riverside, EU.

1 CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LA QUITINASA CODIFICADA POR EL GEN *chiA74* DE *Bacillus thuringiensis* Y SU POSIBLE USO EN EL BIOCONTROL DE INSECTOS PLAGA

Rubén Salcedo-Hernández¹, Gabriel Angeles Nuñez² y J. Eleazar Barboza-Corona¹.

Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad de Guanajuato. Carretera Irapuato-Silao, Km 9. Apartado postal 311, 36500, Irapuato, Gto. MÉXICO. e-mail: josebar@dulcinea.ugto. ² Departamento de Ing. Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya, Celaya, Gto, MEX.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, quitinasas, *chiA74*.

Introducción

Las quitinasas (Chi) bacterianas son un grupo de enzimas cuya función principal es la reintegración al medio ambiente de la materia orgánica contenida en la quitina. Recientemente fue reportado la clonación de un gen de quitinasa (*chiA74*) obtenido de una cepa mexicana de *Bacillus thuringiensis*, dicho gen codifica una endoquitinasa de 74 kDa cuya actividad máxima a 37 °C fue a pH cercano a 6 (Barboza-Corona *et al.* 2003). Por otro lado, es importante conocer con detalle las características de la enzima, dado que uno de los objetivos del haber clonado el gen *chiA74* es utilizar la enzima como un agente sinérgico de la actividad bioinsecticida de las proteínas Cry. Se ha reportado varias quitinasas provenientes de bacterias diferentes a *Bacillus thuringiensis* (por ejemplo *Serratia marcescens*) (Downing *et al.* 2000), las cuales han aumentado la actividad insecticida de las proteínas Cry, sin embargo estos estudios tienen algunas dificultades de interpretación debido al uso de extractos crudos y de una enzima que básicamente se desconoce su comportamiento bioquímico. Además, no se tienen un dato sobre la actividad enzimática de la quitinasa bajo las condiciones temperatura y pH del intestino del insecto.

En este trabajo mostramos la caracterización bioquímica parcial de la quitinasa ChiA74 y actividad a diferentes valores de pH. Asimismo, se discute su probable uso en el control de insectos plaga.

Materiales y Métodos.

Construcción de pCHBIT-K

El plásmido pCHIBT, el cual contiene gen *chiA74* en el vector pBluescript KS(+) (Barboza-Corona *et al.* 2003), fue digerido con *KpnI* y el fragmento fue religado en el mismo vector. La nueva construcción fue introducida en *Escherichia coli* y la cepa recombinante (*E. coli* DH5- λ /pCHIBT-K) usada para la determinación enzimática.

Actividad de quitinasa a diferente pH

E. coli DH5 α /pCHIBT-K fue cultivada medio LB y las células fueron separadas por centrifugación. La actividad enzimática fue determinada en proteínas extracelulares (sobrenadante) y en proteínas intracelulares (obtenidas del rompimiento celular). Las proteínas intracelulares y extracelulares fueron precipitadas con (NH₄)₂ SO₄ al 80% de saturación. Los precipitados fueron resuspendidos en 100 mM de fosfatos pH 6.0 y dializados contra el mismo amortiguador. La actividad enzimática se midió en diferentes pH y temperaturas (ver resultados) utilizando un amortiguador de 50 mM de citratos y 100 mM de fosfatos de sodio para pH de 3.0 a 8.0, y 50 mM de glicina y 100 mM de fosfatos, para el rango entre pH 7.5 y pH 10 (McCreath y Gooday, 1992). El procedimiento para evaluar la actividad con el [4MU-(GluMAc)₃], fue realizado tal y como se describe en Barboza-Corona y col. (2003).

Zimogramas

Las proteínas extracelulares (precipitadas y dializadas) fueron separadas por SDS-PAGE y renaturalizadas por depleción del SDS. Después el gel fue equilibrado en un amortiguador pH 6.0 y se le añadió un sobre gel con agarosa de bajo punto de fusión al 1.0% con amortiguador pH 6.0 y 4MU-(GluMAc)₃ (33 μ g*mL⁻¹). Finalmente el gel se incubó por 60 min y se fotografió sobre un transiluminador de luz UV.

Resultados y Discusión.

La cepa de *E. coli* con el plásmido pCHIBT-K presentó una actividad de quitinasa mayor que la cepa con el pCHIBT. El incremento en la actividad se debió a la delección de un región en dirección 5' con respecto a *chiA74*, que actúa probablemente como sitio de unión a un represor. La nueva cepa fue usada para el estudio enzimático.

La actividad de quitinasa secretada al medio de cultivo fue de 15.75 U*mL⁻¹ mientras que la contenida en las células fue de 10.65 U*mL⁻¹. Si bien es cierto que el 40% de la actividad se localiza intracelularmente, se decidió trabajar con la enzima secretada dado que esta fuente es menos propensa a interferencias. También se probó el efecto del IPTG sobre la producción de enzima y no se observó un aumento significativo, por lo que se concluyó que la síntesis de quitinasa está dirigida por su propio promotor. La separación de muestras de enzimas en geles de poliacrilamida bajo condiciones desnaturalizantes, mostró que el patrón de proteínas entre la cepa DH5 α y la transformada con pCHIBT-K, fueron similares. Aparentemente el nivel de síntesis de la quitinasa fue muy bajo y no apareció una banda nueva en el patrón de proteínas encontradas en el medio de cultivo. Con geles similares se desarrollaron zimogramas los cuales mostraron que la enzima tiene un peso de 70 kDa. La diferencia entre el peso molecular predicho por la secuencia y el que se observó en el zimograma se puede deber al procesamiento del péptido señal.

Utilizando pH 6.0 se hizo una curva de temperatura, en este caso el comportamiento también mostró una asimetría que podría interpretarse como un comportamiento bimodal. Los resultados se ajustaron a una deconvolución de dos gaussianas que indicó que el comportamiento de la actividad con respecto a la temperatura se ajusta a la

suma de dos curvas con máximos en 56.9°C y 47.2°C; el área relativa bajo las curvas fue de casi el 50% para cada componente. Dado el comportamiento bimodal para la curva de temperatura decidimos analizar con más detalle el comportamiento de pH (se midió la actividad utilizando un mayor número de puntos y aumentando el rango en la región ácida). El comportamiento con respecto al pH, a 37°C, también fue bimodal observándose claramente dos máximos uno a pH 4.6 y el segundo con un máximo en pH 6.7. Con esta información se midió la curva de temperatura usando un pH de 4.3 en lugar de 6.0 y bajo estas condiciones se observó solo un componente con un máximo en 47.2°C; bajo condiciones ácidas el componente de 56.9°C desapareció por completo.

Los datos anteriores sugieren que la enzima muestra un comportamiento complejo el cual varía notablemente con la temperatura y el pH. Hace falta explorar con más detalle la actividad de la quitinasa clonada, sobre todo tratar de definir si esta enzima puede actuar en condiciones similares a las encontradas en el intestino de los posibles insectos blanco. La quitinasa ChiA74 tuvo una actividad residual baja en la región alcalina, que es el rango de pHs que se espera encontrar en el intestino de algunos posibles insectos blanco. Además, es importante lograr una mayor purificación de ChiA74, lo cual se puede lograr si se sobreexpresa mediante manipulación genética. Esto permitiría hacer otros estudios, tal como su estabilidad en presencia de enzimas proteolíticas como la tripsina o quimotripsina y su evaluación toxicológica en insectos con pH alcalinos como lepidópteros o más ácidos como los coleópteros.

Literatura Citada

- Barboza-Corona, J. E., J. C. Contreras, R. Velázquez-Robledo, M. Bautista-Justo, M. Gómez-Ramírez, R. Cruz-Camarillo, and J. E. Ibarra. 1999. Selection of chitinolytic strain of *Bacillus thuringiensis*. *Biotech.Letters*. 21:1125-1129.
- Barboza-Corona, J. E., E. Nieto-Mazzocco, R. Velázquez-Robledo, R. Salcedo-Hernández, M. Bautista-Justo, B. Jiménez and J. E. Ibarra. 2003. Cloning, sequencing, and expresión of the chitinase gene *chiA74* from *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(2):1023-1029.
- Downing, K., G. Leslie, and J.A. Thomson. 2000. Biocontrol of the sugarcane borer *Eldana saccharina* by expression of the *Bacillus thuringiensis cry1Ac7* and *Serratia marcescens chiA* genes in sugarcane-associated bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2804-2810.
- McCreath, K.J., and G.W. Gooday. 1992. A rapid and sensitive microassay for determination of chitinolytic activity. *J. Microbiol. Methods.* 14: 229-237.

Agradecimientos

Al CONACYT por el apoyo recibido a través del proyecto J35306-B.

CLONACIÓN DE QUITOBIASAS DE *Serratia marcescens* NIMA

Alejandro Ruíz-Sánchez¹, Ramón Cruz-Camarillo¹, Rubén Salcedo-Hernández²,
López-Arévalo A.² y J. Eleazar Barboza-Corona².

¹Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México, D. F.

²Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad de Guanajuato. Carretera Irapuato-Silao, Km 9. Apartado Postal 311, 36500, Irapuato, Gto. México. e-mail: josebar@dulcinea.ugto.mx.

Palabras Clave: quitinasas, *Serratia marcescens*, genes.

Introducción

Serratia marcescens es una bacteria que ha sido estudiada por su capacidad para producir varios compuestos, entre ellos las quitinasas. Estas quitinasas han mostrado un papel importante en el control de hongos como *Sclerotium rolfsii* (Ordentlich *et al.*, 1988) y como probables agentes sinérgicos de las proteínas insecticidas (Cry) de *Bacillus thuringiensis*. *Serratia marcescens* NIMA es una cepa que tiene una alta producción de quitinasas, más que otras cepas de *S. marcescens* como la WF, OF, JF 5812, 93 y QMB 1466 (Ruíz-Romero, 1977). Se han reportado varios genes de quitinasa provenientes de *S. marcescens*, aunque la mayoría de ellos son del tipo endoquitinasa (actúan sobre enlaces internos de la quitina) (Brurberg *et al.*, 2000). Por otro lado, hasta donde sabemos, solo se ha reportado la secuencia de dos genes del tipo quitobiasas (Tews *et al.*, 1996). Las quitobiasas juegan una tarea significativa en la utilización de la quitina ya que permiten la transformación de quitobiosa (dímero de *N*-Acetilglucosamina) en monómeros de *N*-acetilglucosamina. En este trabajo se reporta la clonación de dos genes de *S. marcescens* NIMA con actividad de quitobiasa y se discuten sus posibles usos en el control de insectos.

Material y Métodos

El DNA cromosómico de la bacteria fue digerido parcialmente con la enzima *Pst*I, y los fragmentos de 2 a 10 Kb se ligaron al plásmido pBluescriptII KS(+) (Stratagene, Inc.) previamente desfosforilado con fosfatasa alcalina. Las construcciones se introdujeron en *Escherichia coli* DH5 α F' y se hizo un minibanco en placas de Luria-Bertani (LB), adicionado con ampicilina, X-Gal, IPTG y quitina coloidal al 3 % (peso/volumen). Las colonias blancas y que presentaron halo de hidrólisis se eligieron para los estudios posteriores. Las células se crecieron en medio LB más antibiótico durante toda la noche y se trataron por choque osmótico. Los sobrenadantes fueron puestos a reaccionar a 37 °C, con derivados fluorogénicos de la metilumbeliferona (MU) unida a la *N*-acetilglucosamina (GlcNAc). La [4-MU-(GlcNAc)₃] se usó para detectar actividad de endoquitinasa, [4-MU-(GlcNAc)₂] para quitobiosidasa, y 4-MU-(GlcNAc) para quitobiasa. Una unidad se definió como la cantidad de enzima que cataliza la liberación de 1 μ mol de MU en 1 hora (Barboza-Corona *et al.*, 2003).

Resultados y Discusión

Se realizó un minibanco genómico de *S. marcescens* NIMA en *E. coli* DH5 α F' y se hizo un escrutinio usando los derivados fluorescentes arriba indicados. Se detectaron dos clonas las cuales presentaron actividad con 4-MU-(GlcNAc), pero no con los otros dos derivados. Esto nos indicó que las cepas tenían actividad de quitobiasa. Al analizar los mapas de restricción de ambos fragmentos se observó que este era diferente, esto sugiere que se clonaron dos genes de quitobiasa, o al menos fragmentos de dichos genes los cuales aún conservan la actividad. Los fragmentos *Pst*I fueron de 2 y 3 kb. La secuencia nucleotídica de los probables genes está en proceso de ser determinada. Se han estudiado el sistema quitinolítico de varias cepas de *S. marcescens* en los cuales se muestra claramente que dicha bacteria produce al menos tres tipos de quitinasas, una quitobiasa y una proteína que probablemente se une a la quitina (Brurberg *et al.*, 2000). La mayor parte de los genes de quitinasa hasta ahora reportados para *S. marcescens* son del tipo endoquitinasa y al parecer solo se ha reportado la secuencia para dos quitobiasas de *S. marcescens* (Tews *et al.*, 1996). Las quitobiasas solo actúan sobre el dímero de N-acetilglucosamina, mientras que las endoquitinasas lo hacen al azar sobre enlaces internos de la quitina (polímero de N-acetilglucosamina). Esto podría implicar que probablemente una quitobiasa fuera mucho menos eficiente (si es que actuara por sí sola) que una endoquitinasa para intervenir sobre la membrana peritrófica de un insecto. Sin embargo, quizás el uso de una quitobiasa y una endoquitinasa junto con las proteínas Cry *B. thuringiensis*, podrían aumentar aún más el efecto tóxico que si se usa solo una endoquitinasa, ya que la quitobiasa podría aumentar la eficiencia de degradación de la quitina de la membrana peritrófica.

Literatura Citada

- Barboza-Corona, J. E., E. Nieto-Mazzocco, R. Velázquez-Robledo, R. Salcedo-Hernández, M. Bautista-Justo, B. Jiménez and J. E. Ibarra. 2003. Cloning, sequencing, and expresión of the chitinase gene *chiA74* from *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(2):1023-1029.
- Brurberg M. B., B. Synstad, S. S. Klemsdal, D. M. F. van Aalten, L. Sundheim and V. G. H. Eijsink. 2000. Chitinases from *Serratia marcescens*. (14):1-18.
- Ordentlich A., Y. Elad and I. Chet. 1988. The role of Chitinase of *Serratia marcescens* in Biocontrol of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology.* (78): 84-88.
- Ruíz-Romero, A. Ma. G. 1977. Purificación y caracterización parcial de la quitinasa extracelular de *Serratia marcescens*. Tesis. ENCB, IPN, México. 26 pp.
- Tews I., R. Vintencelli and C. E. Vorgias. 1996. N-Acetylglucosaminidase (chitinase) from *Serratia marcescens*: gene sequence, and protein production and purification in *Escherichia coli*. *Gene.* 170(1): 63-67.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo parcial a través del proyecto J35306-B (CONACYT).

IDENTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD DE SUBTILISINA (Pr1) Y TRIPSINA (Pr2) EN *Paecilomyces fumosoroseus* (ASCOMICOTA MITOSPÓRICO) DE MÉXICO

Judith Castellanos-Moguel¹, Teresa Mier¹, Rocío Reyes-Montes², Conchita Toriello²

¹Depto el Hombre y su Ambiente, UAM-Xochimilco, México D.F. mjcastellanos@yahoo.com ²Depto de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina UNAM, México D.F. toriello@servidor.unam.mx

Palabras clave: proteasas, *Paecilomyces fumosoroseus*.

Introducción

Paecilomyces fumosoroseus (Wize) Brown y Smith es un hongo mitospórico patógeno para la mosquita blanca, la cual es una plaga polífaga de gran importancia en nuestro país. Entre los factores de virulencia de los hongos entomopatógenos se encuentran la producción de proteasas y quitinasas (St. Leger, 1995). Las proteasas son las primeras en la secuencia de las enzimas que degradan la cutícula. En *Metarhizium anisopliae*, otro hongo entomopatógeno, se han identificado una serie de proteasas que conforman un sistema enzimático que permite al hongo penetrar la cutícula. Entre las proteasas encontradas se encuentran Pr1, que es una subtilisina y Pr2, que es una tripsina; es probable que estas actividades se encuentren también en otros hongos entomopatógenos incluyendo a *P. fumosoroseus*. El objetivo del presente trabajo, fue el determinar la actividad de Pr1 y Pr2 en cultivos monospóricos de *P. fumosoroseus* previamente seleccionados por su actividad enzimática y virulencia (Castellanos-Moguel et al, 2001), para corroborar la presencia de dichas actividades en este hongo.

Materiales y Métodos

Aislados fúngicos. Se utilizaron cultivos monospóricos (Cavallazzi *et al.*, 2001) de tres aislados provenientes del Centro Nacional de Referencia en Control Biológico, DGSV, SAGARPA, Tecomán, Colima. Fueron utilizados por la presencia de alta (EH-506/5), media (EH-503/12) y baja (EH-520/6) actividad enzimática de proteasas y quitinasas (Castellanos-Moguel *et al.*, 2001).

Cinética de producción de proteasas: Los hongos se cultivaron en matraces de 250 ml conteniendo medio H adicionado de caseína al 1% para inducir la producción de enzimas. Se tomó una alícuota de 5 ml de cada matraz a las 0, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 120, 168, 216, 240, 264 y 312 h de incubación a 28°C. Las muestras se centrifugaron, y el sobrenadante se congeló para su ensayo enzimático posterior.

Determinación de la actividad de proteasas: La actividad total de las proteasas se determinó por el método de la azocaseína (Sarath *et al.*, 1989), con el cual una unidad de proteasas es la cantidad de enzima necesaria para elevar la absorbencia en 0.010 a 440 nm. La actividad de Pr1 (subtilisina) se determinó con el sustrato Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-Na y la actividad de Pr2 (tripsina) con Bz-Phe-Val-Arg-pNa (St Leger *et al.*, 1987)

En ambos casos, una unidad de proteasas es la cantidad de enzima necesaria para elevar la absorbencia en 0.0010 a 440 nm.

Resultados

La actividad enzimática total de las proteasas por la azocaseína de los cultivos monospóricos EH-503/12, EH-506/5 y EH-520/6 presentó el máximo a las 312 horas (13 días), para los tres monospóricos. EH-506/5 con 99, EH-503/12 con 106, EH-520/6 con 22 UP/ml. La actividad enzimática en las primeras 96 horas se mantuvo constante para los tres monospóricos con 3 y 10 UP/ml. A las 120 h EH-506 aumentó a 99 UP/ml mientras que EH-503/12 y EH-520/6 hasta las 168 h.

La actividad de Pr1 (subtilisina), se encontró en los tres monospóricos estudiados (figura 1), obteniendo los picos de máxima actividad a las 120 (EH-506/5), 216 (EH-520/6) y 312 h (EH-503/12). El aislado con la mayor actividad de subtilisina fue EH-506/5.

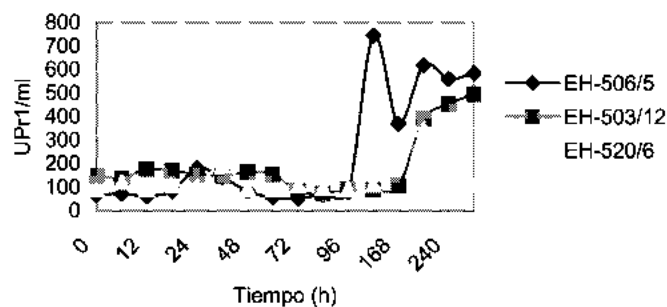


Figura 1. Comparación de la actividad de subtilisina (Pr1) de cultivos monospóricos de *P. fumosoroseus*.

La actividad de tripsina (Pr2), también se encontró en los tres monospóricos estudiados, pero fue menor cuando se comparó con la actividad de la subtilisina (Pr1). El monospóricos EH-506/5 presentó la máxima actividad a las 216 h; EH-520/6 presentó el máximo hasta las 240 h; EH-503/12 presentó la máxima actividad a las 36 h (figura 2).

Discusión

Los tres monospóricos de *P. fumosoroseus* probados presentaron actividad de subtilisina (Pr1) y de tripsina (Pr2), con un aumento de Pr1 a partir de las 120-168 h, lo que coincide con lo publicado para *M. anisopliae*, ya que Gillespie *et al.*, en 1998 señalan la aparición de Pr1 después de las 72 horas.

En el caso de Pr2, el aumento de la actividad en los tres cultivos monospóricos de *P. fumosoroseus*, aparece en un tiempo menor (18-48 h) que Pr1, lo que coincide con lo

señalado por Paterson *et al.*, (1994), para Pr2 de *M. anisopliae*, ya que esta actividad es inducida inespecíficamente por cualquier proteína. Asimismo, en los tres monospóricos se pudo observar que las actividades de Pr1 y Pr2 no aparecían de manera sincronizada, sino primero aparecía una actividad (tripsina) y al descender, aumentaba la otra actividad (subtilisina), probablemente debido a los aminoácidos presentes en el medio de cultivo.

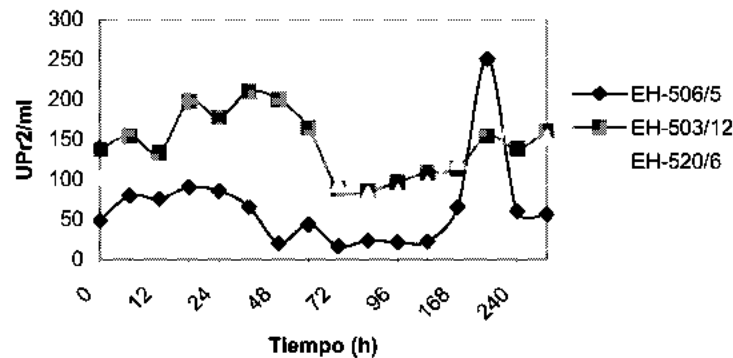


Figura 2. Comparación de la actividad de Tripsina (Pr2) de monospóricos de *P. fumosoroseus*.

Conclusiones

Los cultivos monospóricos EH-503/12, EH-506/5 y EH-520/6 de *P. fumosoroseus* presentan actividad de subtilisina y tripsina con los sustratos específicos Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-Na y Bz-Phe-Val-Arg-pNa, respectivamente.

Literatura Citada

- Castellanos-Moguel J, R. Cruz-Camarillo, E. Aranda y C. Toriello. 2001. Selección de aislados de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith, con base en sus niveles de proteasa y quitinasa. Memoria del IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Veracruz, Veracruz. CIV-33
- Cavallazzi-Vargas G, Pérez-Mejía A, Berlanga Padilla A, Hernández-Velázquez V, Toriello C. 2001. Selección de cultivos monospóricos de *Paecilomyces fumosoroseus* con base en sus características fenotípicas. En: Nevárez-Morillón GV, Sánchez-Martínez G, Muñoz-Castellanos LN (Eds.). Memorias del XXIV Congreso Nacional de Control Biológico, 9-10 Agosto, Chihuahua, Chih. pp 112-115.
- Gillespie, J., P.R. Bateman y K. Charnley. 1998. Role of cuticle-degrading proteases in the virulence of *Metarhizium* spp. for the desert locust, *Schistocerca gregaria*. Journal of Invertebrate Pathology 71: 128-137

- Paterson, I. C., A. K. Charnley, R. M. Cooper y J. M. Clarkson. 1994 b). Specific induction of a cuticle-degrading protease of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Microbiology* 140: 185-189.
- Sarath, G., R. S. De La Motte y F. W. Wagner. 1989. Protease assay methods. En: Benyon, R.J. y J. S. Bond (Eds). *Proteolytic Enzymes, a Practical Approach*. IRL Press, Oxford. pp 25-55.
- St. Leger, R. J., A. K. Charnley y M. Cooper. 1987. Characterization of cuticle-degrading proteases produced by the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 253: 221-232.
- St. Leger, R. J. 1995. The role of cuticle-degrading proteases in fungal pathogenesis of insects. *Canadian Journal of Botany* 73: 1119-1125

Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado con el apoyo de Conacyt, megaproyecto grupal G-31451-B, en colaboración entre UNAM, CNRCB y UAM-X. La estudiante Judith Castellanos Moguel agradece a Conacyt la beca de doctorado otorgada a través de este proyecto.

CRÍA MASIVA Y CONTROL DE CALIDAD

CONTROL DE CALIDAD DE *Trichogramma* spp(Hymenoptera:Trichogrammatidae) DE DOCE CENTROS REPRODUCTORES Y COMERCIALIZADORES DE MÉXICO

García González Fabián¹, González Hernández Alejandro¹

¹Facultad de Ciencias Biológicas-Universidad Autónoma de Nuevo León Avenida Universidad s/n, San Nicolás de los a, control de calidad, centros

Introducción

En México como en otros países, el agente de control biológico de plagas más importante es la avispa *Trichogramma* spp. de tal manera que actualmente se tienen registrados 42 centros que la reproducen y/o comercializan(Arredondo y Mellin, 2003). Su liberación en nuestro país durante 2001 fue 5,808 millones de tricogramas de las cuales el 64 % fueron reproducidas en nueve Centros Regionales de Reproducción de Organismos Benéficos y el 6.0 % fueron importadas(Mellin, 2002). Esta cantidad de tricogramas equivale a aproximadamente 1.76 millones de pulgadas cuadradas de huevecillo de *Sitotroga cerealella* parasitado y considerando un precio de venta promedio de \$ 1.50/p² las ventas de tricogramas fueron de \$ 2,640,000.00, No obstante que esta avispa es el principal agente de control biológico de plagas en México, su control de calidad no se realiza en algunos centros, o se realiza en forma parcial revisando solamente el producto final, ya que de acuerdo a Leppla y Fisher(1989) un sistema de control de calidad en un insectario se debe efectuar en tres niveles: a) control de la producción, b) control del proceso y c) control del producto. En el presente trabajo solo nos enfocamos al control de calidad del producto, por considerar que es el de mayor interés para el productor agrícola o ganadero, ya que la calidad de las avispas adquiridas influirá de manera importante en el control de las plagas en campo.

Materiales y Métodos

Lugar del estudio

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de la Colección de Insectos Benéficos Entomófagos(CIBE) de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Obtención de muestras

Se solicitó material biológico a diversos centros reproductores y/o comercializadores de tricograma de varias regiones de nuestro país. La muestra solicitada fue de 20 pulgadas de huevecillo de *Sitotroga cerealella* parasitado por tricograma. Hasta la fecha se han revisado 14 muestras de 12 centros ubicados en los estados de: Coahuila, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas. Seis de estos centros fueron CREROBs y seis privados

Manejo de las muestras

Una vez recibida la muestra, se seleccionaron al azar tres cuadros de un centímetro cuadrado para revisar primeramente el porcentaje de huevecillos parasitados, posteriormente se colocaron en viales pequeños con tapa la cual tenía organza fina de color hueso con una hilera de 8 a 10 hilos entrelazados con hilos sencillos con la cual se evita la salida de las tricogramas. Los viales se colocaron en una área de emergencia de insectos con temperatura promedio de 27 °C y 75% de humedad relativa. Una vez emergidas las avispitas tricogramas, se evaluaron los porcentajes de avispitas emergidas, viables, defectuosas, y proporción de sexos. En algunas muestras no se evaluaron todos los parámetros ya que llegaron emergidas o en mal estado.

Resultados y Discusión

Los resultados del presente estudio se muestran en la Tabla 1, observándose que el porcentaje de huevecillos parasitados fluctuó entre el 30.9 % y 90.9 %, la variación en el porcentaje de adultos emergidos se presentó entre el 67.5 % y 98.4 %, el porcentaje de adultos viables estuvo en el rango del 63.0 % y 88.1 %, en contraste, el porcentaje de adultos defectuosos varió del 11.9 % al 37.0 %. La proporción sexual fue 2.53 machos por cada hembra en la muestra 4A, en las demás muestras no hubo diferencias relevantes. Los datos promedio de las 14 muestras de las variables, huevecillos parasitados, adultos emergidos, adultos defectuosos y adultos viables fueron del 72.4 %, 85.6 %, 82.7 % y 17.3 % respectivamente.

Tabla 1: Principales variables de calidad de doce centros reproductores y comercializadores de trichograma en México. CIBE-FCB-UANL 2003

Centro	Huevecillos parasitados (%)	Adultos emergidos (%)	Adultos viables (%)	Adultos defectuosos (%)	Proporción sexual (H:M)
CEN. 1	87.1	82.4	80.7	19.3	1.06:1.10
CEN. 2A	77.1	82.8	84.5	15.5	1.06:1.33
CEN. 2B	70.6	91.0	77.3	22.7	1.00:1.18
CEN. 3	80.6	86.5	85.8	14.2	1.66:1.00
CEN. 4A	55.6	83.9	82.7	17.3	1.00:2.53
CEN. 4B	79.9	67.5	87.7	12.3	1.00:1.33
CEN. 5	84.5	91.3	84.2	15.8	1.66:1.00
CEN. 6	77.4	98.4	82.7	17.3	1.00:1.10
CEN. 7	72.9	85.9	84.5	15.5	1.60:1.00
CEN. 8	71.9	79.9	ND	ND	1.00:1.08
CEN. 9	68.2	75.3	ND	ND	1.00:1.17
CEN. 10	30.9	85.0	88.1	11.9	1.00:1.76

CEN. 11	90.9	93.1	63.0	37.0	1.26:1.00
CEN. 12	65.9	94.8	91.3	8.7	1.29:1.00
PROM.	72.4	85.6	82.7	17.3	1.19:1.26

El promedio de la proporción de sexos fue de 1.2:1.3 (Hembras:Machos). Los resultados de siete muestras contrastan con los estándares óptimos de calidad citados por Cerutti y Bigler(1991), quienes establecen rangos de $80 \pm 5 \%$ y $90 \pm 5 \%$ para el porcentaje de parasitismo y de adultos emergidos, respectivamente.

La variación de los resultados fue mayor en el porcentaje de parasitismo, en donde también se obtuvo el promedio más bajo(72.4 %), lo cual es muy significativo ya que las variables de calidad restantes(% de adultos emergidos, adultos viables y adultos defectuosos) dependen directamente de esta.

Adicionalmente se revisaron huevecillos parasitados los cuales estuvieron en alcohol al 70 %, observándose hasta dos embriones de tricogramas en un huevecillo, contrastando con el concepto que se tiene que en cada huevecillo parasitado, solo se puede encontrar un embrión de esta avispa.

Estos resultados reflejar la calidad que presentan las tricogramas que se reproducen, comercializan y liberan en nuestro país, la cual puede considerarse como regular. De la información recibida de los centros, se considera urgente se fomente y realice en cada centro, un sistema de control de calidad de al menos del producto final ya que existen centros que no lo tienen. Los sistemas de control de calidad debe incluir el diagnóstico de la especie de tricograma que se reproduce, al menos cada seis meses.

Literatura Citada

- Arredondo B., H. C. y M. A. Mellin R. 2003. Comercialización de agentes de control biológico, con énfasis en los depredadores. *In* Memorias del Curso Nacional Identificación y Aprovechamiento de Depredadores en Control Biológico: Chrysopidae y Coccinelidae pp. 122-130.
- Cerutti, F. and F. Bigler. 1991. Methods for the quality evaluation of *Trichogramma evanescens* used against the european corn borer. *In*: Proceedings of the 5th workshop of the global IOBC working group on quality control of mass reared organisms. Bigler, F(ed.) Wageningen Netherlands. pp 119-126.
- Leppla, N. C., and W. R. Fisher. 1989. Total quality in insect mass production for insect pest management. *J. Appl. Ent.* 108: 452:461
- Mellin Rosas, M. A. 2002. Comunicación personal.

DESARROLLO DE MEDIOS DE CULTIVO LÍQUIDOS EN *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, Y SU EFECTO EN PICUDOS DE LA YEMA DEL MANZANO *Amphidees* spp. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

Claudia Huitrón Echavarría¹, G. Gallegos-Morales, E. Guerrero-Rodríguez. R.P. Olayo-Paredes y M. Cepeda -Siller

¹Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista Saltillo, Coahuila, México. E - mail. claus550@latinmail.com.

Palabras Clave: Entomopatógenos, control biológico y bioinsecticidas.

Introducción

El complejo de picudos de la yema del manzano representa una de las plagas que ocasionan daños considerables en el cultivo. Se reportan que existen tres especies del género *Amphidees* presentes en el cultivo del manzano en la región de Arteaga, Coahuila (*A. latifrons*, *A. macer* y *Amphidees*. sp.) (Lezcano, 2000). El daño que ocasiona este insecto se caracteriza por producir un anillamiento en las yemas florales y vegetativas, ocasionando la pérdida de por lo menos un fruto por yema floral afectada (Sánchez *et al.*, 1992); para el control de esta plaga se ha recurrido al uso de insecticidas; sin embargo, dicho insecto tiene alta tolerancia a estos productos. Otras opciones para el control de este insecto plaga, es el uso de hongos entomopatógenos.

Estudios realizados (Sánchez, 2002) demuestran que es factible controlar este insecto empleando una cepa nativa de *Beauveria bassiana* (SAA-1), a través de conidias producidas en un sistema bifásico de producción; sin embargo reportes recientes de el empleo de blastosporas producidas en medios líquidos hacen mas costosa la producción de este hongo (Jackson, 2002). Por este motivo se planteó evaluar la patogenicidad de la cepa SAA-1 de *B. bassiana* propagado en diferentes medios líquidos como sistema de producción de blastosporas, en picudos para determinar la CL₅₀ y CL₉₅ de las blastosporas.

Materiales y Métodos

El material utilizado, fue una cepa de *B. bassiana* (SAA-1) cultivada en el medio de cultivo Papa Dextrosa Saboraud (PDA), la que se procedió a inocular en diferentes medios de cultivo líquidos, los cuales contenían 15 g / L de dextrosa + 3 g / L de extracto de malta, variando en la fuente de proteínas; para ello se emplearon harina de soya, harina de frijol y harina de haba. Se empleó el caldo de CDS como un medio de referencia de producción de blastosporas de *B. bassiana*. La propagación se efectuó en matraces de 500 mL conteniendo 250 mL de cada medio. El matraz se sometió a agitación rotatoria a 150 rpm por un período de tres a cinco días. Al término de la propagación se realizó el conteo de blastosporas producidas en el contenido de cada matraz, a través de la cámara de Neubauer de los cuales se hicieron diluciones seriadas para obtener desde 10⁵ hasta 10⁹ blastosporas/ mL.

Para efectuar los bioensayos se utilizaron picudos, colectados en una sola huerta empleando 50 picudos por concentración y 10 picudos por repetición (caja petri) en un total de 5 repeticiones. La forma de aplicación fue por inmersión del picudo en la solución de blastosporas, las cajas petri se colocaron en una cámara bioclimática a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 20 días.

Los datos de mortandad se tomaron a 3, 6, 10, 15, 17 y 20 días después de los tratamientos. Se tomó como insectos muertos a aquellos picudos que no tenían movimiento y presentaban una apariencia algodonosa blancuzca, característica del hongo estudiado.

Resultados y Discusión

La patogenicidad de las blastosporas de la cepa *B. bassiana* (SAA-1) producidas en los diferentes medios de propagación líquidos sobre adultos del picudo del manzano, fue variable dependiendo del medio de cultivo en el que se produjeron. Las blastosporas producidas en el medio con harina de soya fue las que provocaron la mejor mortalidad 92% en el menor tiempo de ensayo 10 días, seguidos de las blastosporas producidas en el medio de cultivo de frijol 85.4% de mortalidad a los 10 días.

Sin embargo las blastosporas producidas en los diferentes medios de cultivo causaron en los picudos de la yema del manzano a los 15 días el ensayo un 100% de mortalidad (Figura 1).

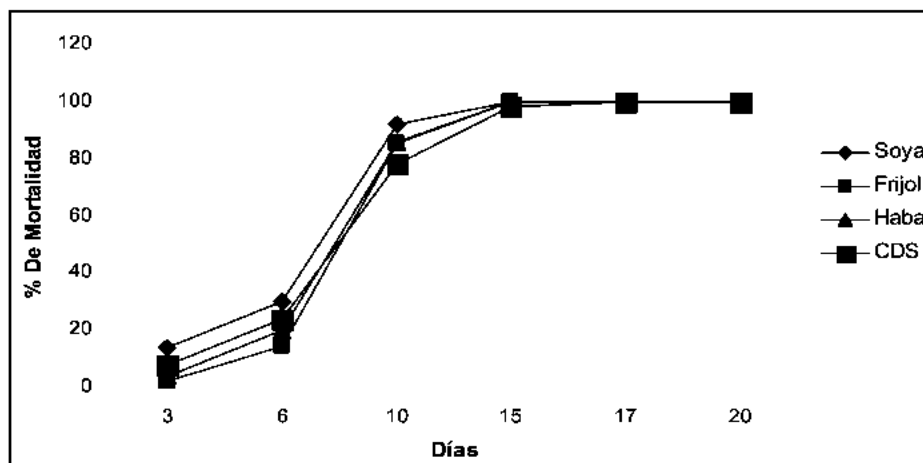


Figura 1.- Comparación de la patogenicidad de 10^9 blastosporas/mL de la cepa SAA-1 de *B. bassiana* (Bals.) Vuill, producida en diferentes medios de cultivo líquidos sobre adultos del Picudo del Manzano.

En el cuadro 1 se observa la determinación de las concentración letal de las blastosporas de *B. bassiana* SAA-1 donde se muestra que los producidos en el medio de cultivo con harina de soya que fueron los mas patogénicos, ya que la concentración media letal (CL

$_{50}$) fue la mas baja (4.24×10^5 blastosporas /mL,) y de igual manera resultó con la CL $_{95}$ a solo 5.32×10^9 blastosporas /mL.

La fuente de nitrógeno suplementada en el medio de cultivo para propagar a *B.bassiana* (SAA-1), produce un marcado efecto en el incremento de la patogenicidad de las blastosporas (cuadro 1).

Cuadro 1.- Valores de concentración letal 50 y 95, limites fiduciales de cuatro medios líquidos para *B. bassiana* (Bals.) Vuill. sobre adulto de *Amphidees* spp. a 10 días.

MEDIO DE CULTIVO	CL $_{50}$	LIMITES FIDUCIALES 95%		
		INFERIOR	SUPERIOR	CL $_{95}$
SOYA	4.24×10^5	1.46×10^5	9.55×10^5	5.32×10^9
HABA	2.56×10^6	8.60×10^5	5.69×10^6	9.60×10^9
FRIJOL	4.64×10^6	4.24×10^5	2.10×10^7	2.52×10^{10}
CDS	2.01×10^7	8.50×10^6	4.82×10^7	1.90×10^{11}

Literatura Citada

- Jackson. M. A.2002. Production of *Paecilomyces fumosoroseus* blastospores. Revista Latinoamericana de Microbiología. 44 (1): 162.
- Lezcano, J.A.B. 2000. Biología de *Amphidees latifrons* (Sharp.) (Coleoptera: Curculionidae) y susceptibilidad de sus larvas a insecticidas de la Sierra de Arteaga, Coah. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 111 p.
- Sánchez R. A. 2002 Efecto de una formulación de *Beauveria bassianan* con citrolina, para el control del complejo de *Amphidees* spp (Coleoptera: Curculionidae) en manzano, en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 52 p.
- Sánchez, V.V, R.A. Martinez y F.J. Sánchez. 1992. Ecuaciones predictivas de daño en base a la densidad y tiempo de exposición de *Anametis* sp. (Coleoptera: Curculionidae) en manzano. XXVII. Congreso Nacional de Entomología. San Luis Potosí, México. Pp. 266-267.

PRODUCCIÓN DE BIOINSECTICIDAS EN SUSTRATO SÓLIDO, UTILIZANDO INÓCULOS DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO Y EVALUACIÓN DE SU TOXICIDAD SOBRE *Galleria mellonella* L. (LEPIDOPTERA:PYRALIDAE)

María Berenice González-Maldonado¹, Cipriano García-Gutierrez¹ y Suxey Martínez-Molina².

¹CIIDIR-IPN Unidad Durango. Sigma s/n Fracc. 20 de Nov. II. C.P. 34220. Tel. (618)8142091 y Fax. (618)8144540. Durango, Dgo. bere8@hotmail.com ²Instituto Tecnológico Agropecuario. Km 22. Carr. Durango-México. Apartado Postal 393. Tel. (618)8174748. Villa Montemorelos, Dgo.

Palabras Clave: *Beauveria bassiana*, bioinsecticidas y *Galleria mellonella*

Introducción

Beauveria bassiana (Bálsamo) Vuillemin es un hongo entomopatógeno habitante del suelo, que infecta a más de 700 especies de insectos (Goettel, *et al.* 1990) y actualmente se produce en diferentes tipos de sustrato sólido (cebada, trigo, arroz); los cuales permiten el desarrollo del microorganismo dentro de una matriz sólida donde las partículas son al mismo tiempo el soporte y el sustrato. El objetivo del estudio fue elaborar un bioinsecticida a base del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* con inóculos de diferentes medios de cultivo y su propagación en granos de arroz, así como evaluar la toxicidad del producto sobre larvas de *Galleria mellonella* (Gusano de la cera), en laboratorio.

Materiales y Métodos

El microorganismo

Se utilizó una cepa de *Beauveria bassiana* clave BbPM proporcionada por el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico CNRCB-SAGARPA.

Conservación del hongo

La cepa fue mantenida en tubos de ensaye en posición inclinada con medio de cultivo que contenía los siguientes compuestos: 30g/L de caldo dextrosa saboraud, 10g/L de extracto de levadura, 10g/L de extracto de malta y 20g/L de agar bacteriológico, durante 15 días a 27°C.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental al azar con un arreglo factorial 3³, con dos repeticiones, las variables independientes fueron: los inóculos provenientes de los diferentes medios de cultivo utilizados para el crecimiento del hongo, la humedad del arroz (60, 70 y 80%) y la cantidad de inóculo (10, 20 y 30 ml); a los productos obtenidos

(bioinsecticidas) se les realizó un conteo de esporas/g con ayuda de una cámara de Neubauer para seleccionar los tratamientos que presentaron mayores rendimientos y realizar con ellos los bioensayos.

Medios de cultivo

La propagación del hongo se realizó en 3 diferentes medios de cultivo: dos medios de cultivo mixtos o difásicos (obtención de micelio-blastosporas) y un medio de cultivo sólido (obtención de esporas). Los medios de cultivo mixtos se prepararon de forma diferente, un medio de cultivo se hizo a base de sales minerales (Segovia, 1998), utilizando melaza de caña de azúcar como fuente de carbono [4.5 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 5.47g de KH_2PO_4 , 0.5g de MgSO_4 , 0.1g de NaCl , 0.1g de CaCl_2 y 9.37 ml de melaza de caña de azúcar en 1L de agua, la melaza fue previamente purificada].

En el otro medio de cultivo se usó azúcar morena como fuente de carbono y extracto de levadura (Carrillo y Hernández, 2002). El medio de cultivo sólido se preparó con una solución madre a base de agua destilada y una suspensión al 10% del hongo. Esta suspensión se inóculo directamente en el arroz. Los medios de cultivo mixtos fueron inoculados con el hongo en una proporción 1:10 en matraces de 500ml, luego se colocaron en una incubadora a 27°C , a 130 rpm durante 3 días, hasta que el hongo alcanzó el 80% de su fase logarítmica de crecimiento, se realizaron cinéticas de crecimiento cada 24h (conteo de blastosporas/ml y biomasa producida).

Pretratamiento del arroz

El arroz se lavó, se dejó reposar en agua a diferentes tiempos, dependiendo de la humedad del arroz deseada (60, 70 y 80%) (AOAC, 1990). Luego el arroz se colocó en bolsas de polipapel con 250g de arroz cada una, las bolsas se cerraron con ayuda de una grapa, luego se esterilizaron y se dejaron reposar por 24h.

Inoculación del hongo en el arroz

Las bolsas fueron inoculadas con 10, 20 y 30 ml de inóculo, de acuerdo al diseño experimental, a una concentración aproximada de 1×10^6 blastosporas/ml, provenientes de los diferentes medios de cultivo; con ayuda de una jeringa de repetición de uso veterinario y se pasaron a un cuarto de incubación a 27°C , 75% de humedad relativa, fotoperiodo 14:10 durante 14-18 días hasta la producción de conidias aéreas. Cría masiva de *Galleria mellonella*.- Se estableció una cría de la palomilla de la cera en laboratorio, la colecta se realizó en apiarios de Vicente Guerrero, Dgo; las larvas se colocaron en frascos de vidrio y se alimentaron con dieta artificial hasta completar su ciclo de vida.

Bioensayos

Se realizaron bioensayos de aplicación tópica sobre larvas del primero y segundo estadio de desarrollo de *Galleria mellonella*, para probar la toxicidad del bioinsecticida a

la mayor concentración de esporas/g obtenidas. Las larvas se colocaron en cajas petri (5 cm de diám) con 5g de dieta artificial y se revisaron cada 24h con el fin de determinar el porcentaje de mortalidad.

Resultados y Discusión

Los inóculos del medio de cultivo elaborado a base de melaza se tuvo un rendimiento máximo de 4.45×10^8 blastosporas/ml, con una producción de biomasa de 5.59 g/l; mientras que en el medio de cultivo donde se utilizó azúcar se obtuvieron 3.51×10^8 blastosporas/ml y una biomasa de 13.66g/l a las 72h. Estos resultados fueron aceptables dentro de los procesos de fermentación líquida tal como se han obtenido en la producción masiva de *Beauveria bassiana* en medio líquido. La mayor concentración de esporas/g del producto (bioinsecticida) se obtuvo a una humedad del arroz del 80%, 10 ml de inóculo y el hongo se desarrollo mejor en los medios de cultivo a base de melaza como fuente de carbono, ya que el inóculo contenía la mayor cantidad de blastosporas con respecto a los otros medios, el hongo se desarrollo mejor a una cantidad de humedad mayor, estos resultados concuerdan con lo descrito por Durand *et al*, (1993), quién encontró que la cantidad de humedad que acompaña al soporte (arroz) es fundamental para la liberación de nitrógeno y carbohidratos para el buen desarrollo del microorganismo. El hongo tuvo la capacidad de infectar al 83.3% de larvas de *Galleria mellonella*, esto se debe a los mecanismos físicos y enzimáticos y a los aspectos de toxicidad del hongo donde se involucran diferentes toxinas.

Conclusiones

De los tres diferentes medios de cultivo utilizados para la propagación de *Beauveria bassiana* se obtuvo el mayor rendimiento (4.45×10^8 blastosporas/ml) con el medio de cultivo a base de melaza y una biomasa de 5.59 g/l a las 72h; la mayor producción de esporas fue de 1.35×10^{11} esporas/g, utilizando las siguientes condiciones de crecimiento: 80% de humedad del arroz, 10ml de *B. bassiana* como inóculo, temperatura de 27°C, fotoperiodo 14:10, 75% de humedad relativa, después de 18 días de incubación. *B. bassiana* a esa concentración de esporas causó la muerte del 83.3% de larvas de *Galleria mellonella* en laboratorio.

Literatura Citada

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemist, Washinton, D.C. (2): 1058 pp.
- Carrillo Aguilar, M. y V.M. Hernández Velázquez. 2002. Producción masiva de Hongos Entomopatógenos. En: Memorias del Curso sobre Entrenamiento para la producción de Hongos Entomopatógenos. CNRCB-SAGARPA. Tecomán. Colima. 1-25 pp.

- Durand, A., R. Renaud., S. Almanza., J. Maratray., M. Diez y C. Desgranges. 1993. Solid state fermentation reactor: from lab scale to pilot plant. *Biotech. Adv.* 11: 591-597.
- Goettel, M.S., T.J. Poprawski., J.D. Vanderberg., Z. Li y D.W. Roberts. 1990. Safety to non target invertebrates of fungal biocontrol agents. 209-231 pp. In: Larid, M.L.A Lacey y E.W. Davidson (eds). *Safety of microbial insecticides*. CRC Press, Boca Raton, FL. 259 p.
- Segovia Tagle V. 1999. Caracterización reológica de los medios de cultivo durante la propagación de tres hongos entomopatógenos. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Durango.

EFFECTO DE DIFERENTES SUSTRATOS EN LA PRODUCCIÓN Y VIRULENCIA DE *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii*.

Hipólito Cortez-Madrigal¹

¹Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco, Apdo. Postal # 24, H. Cárdenas, Tab. cortez@colpos.colpos.mx. Proyecto 99-01-003-T CONACYT-SIGOLFO.

Palabras Clave: sustratos, hongos entomopatógenos.

Introducción

El hongo *Verticillium lecanii* recientemente renombrado como *Lecanicillium lecanii* (Zare y Gams, 2001) es un biorregulador de insectos, principalmente de áfidos, coccidos y aleyrodidos. Aunque *L. lecanii* puede multiplicarse casi en cualquier medio de cultivo (Hall, 1981), existen evidencias de que el medio es de fundamental importancia en la producción del hongo (Easwaramoorthy y Jayaraj, 1977; Cortez, 2001). El presente estudio tuvo como objetivo evaluar diferentes sustratos en la producción masiva de *L. lecanii*, y documentar su virulencia en áfidos.

Materiales y Métodos

Se evaluó la cepa monospórica C(3) de *L. lecanii*, seleccionada por Cortez (2001) como la de mayor potencial para el manejo de *Toxoptera aurantii* en cacao de Tabasco. Su cultivo inicial fue en medio Sabouraud-Dextrosa-Agar + 0.1% de extracto de levadura (SDA + EL. Se evaluaron: arroz, granillo de arroz, pulido de arroz y sorgo (medios); combinados (volumen 1:1) con olote, bagazo de caña de azúcar y cascarilla de arroz se obtuvieron 12 tratamientos (sustratos) y un testigo (arroz). Se esterilizaron en bolsas de polipapel y se inyectaron con una suspensión (10 ml) de 1×10^6 conidios/ml. Se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. A los 10 días un gramo del sustrato se suspendió en 10 ml de agua destilada estéril y los conidios fueron contados mediante un hematocitómetro y la concentración/ml calculada con la fórmula propuesta por Lipa y Slizynski (1973). La producción de conidios/gr de sustrato se transformó a $\log(x+1)$ y los datos se procesaron mediante un Análisis de Varianza (ANVA) bajo un diseño completamente al azar en arreglo factorial. La separación de medias fue mediante la prueba de Tukey, 0.05%.

Pruebas de patogenicidad

Se usaron los áfidos *Toxoptera aurantii* y *Aphis gossypii*. Sobre la tapa de recipientes de plástico se colocó una placa de agar-agua, en donde se depositó una hoja de cítrico o una de chile, para *T. aurantii* y *A. gossypii*, respectivamente. Un grupo de 20 áfidos adultos/tratamiento fueron inmersos en una suspensión de 1×10^6 conidios/ml, posteriormente secados y colocados en los recipientes señalados a 25°C . Desde el

segundo hasta el sexto día se registró el N° de áfidos muertos. El experimento se replicó tres veces y un testigo sin tratar fue considerado. Los datos se procesaron mediante un ANVA, previa transformación al arcoseno de la proporción. La separación de medias fue con la prueba de Tukey, 0.05%.

Resultados Y Discusión

Evaluación de sustratos.

El análisis estadístico reveló diferencias significativas ($p = 0.05$) entre los diferentes inertes y medios nutritivos. El bagazo ($605.6 \pm 154.8/g$) fue el inerte que proporcionó las mejores condiciones para la producción conidial de *L. lecanii*. Este material es fácilmente disponible en la región e incluso actualmente es fuente de contaminación. Sin embargo, una desventaja fue que ocasionalmente perforó las bolsas de polipapel y consecuentemente la contaminación del material. Esto mismo ocurrió con la cascarilla de arroz, pero en este caso fue el inerte menos eficiente en la producción conidial ($278.8 \pm 20.6/g$) (Cuadro 1). El arroz (563.4 ± 246.8) y el sorgo (561.9 ± 232.5) fueron los mejores medios, mientras que el pulido de arroz fue el menos favorable (385.8 ± 62.6) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción de conidios del hongo *Lecanicillium lecanii* diez días después de ser cultivado en diferentes sustratos (efecto de inerte y efecto de medio).

N° de conidios x $10^6/g$			
	Inerte		Medio
Bagazo	605.6 ± 154.8^1 a	Arroz	563.4 ± 246.8^1 a
Olote	589.3 ± 154.3 b	Sorgo	561.9 ± 232.5 a
Cascarilla	278.8 ± 20.6 c	Granillo	453.9 ± 153.4 b
Testigo (arroz)	248.5 ± 18.5 d	Pulido	385.8 ± 62.6 c

1/Medias \pm desviación estándar, seguidas de la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%).

La combinación medio+inerte (sustratos), indica diferencias significativas ($p = 0.05$) entre tratamientos. El sustrato arroz+bagazo fue el más productivo ($839.67 \pm 1.2 \times 10^6$), sin diferenciarse del sorgo+olote (825.8 ± 1.7). El menos eficiente fue el arroz solo ($265.4 \pm 1.0 \times 10^6/g$) (Cuadro 2).

Todos los tratamientos produjeron más conidios que el testigo (arroz), lo cual se explica por la mayor aireación que proporcionan los inertes al sustrato; en cambio, el hongo cultivado en arroz solo, al compactarse éste, evita el intercambio gaseoso. Cortez (2001) especuló que la baja producción de conidios en la cepa C(3) pudo deberse a la alta compactación que ejerce el hongo sobre el sustrato, lo que evita que exista una buena aireación interna y consecuentemente una limitada producción conidial.

En el presente trabajo se demuestra que el hongo *L. lecanii* tiene mayor producción conidial cuando se cultiva en sustratos que le permiten mayor aireación. Por otra parte,

1 gr de material con inerte tiene mayor volumen que 1 gr. de arroz y consecuentemente mayor área para crecimiento del hongo, lo cual puede favorecer la producción conidial.

Los resultados aquí presentados tienen consecuencias prácticas, puesto que si contamos con medios más eficientes y económicos para producir hongos, los precios finales del bioinsecticida deben ser menores y consecuentemente pueden competir en mayor medida con los insecticidas organosintéticos. Adicionalmente, el contar con productos mas baratos y eficientes, los productores de más bajos recursos pueden también incorporarlos a sus sistemas agrícolas, cosa difícil con los insecticidas convencionales.

Patogenicidad del hongo.

Respecto a la patogenicidad sobre el áfido *T. aurantii*, los resultados indican diferencias significativas ($p = 0.05$) entre algunos de los tratamientos. Los mejores tratamientos fueron el sorgo+olote (100.0 ± 0.0), el arroz+bagazo (95.0 ± 5.0), granillo+olote (91.7 ± 2.8) y todas las combinaciones con la cascarilla de arroz. La combinación menos eficiente fue el tratamiento pulido+bagazo (43.3 ± 5.7), el cual fue incluso menor que el arroz solo (73.3 ± 7.6). La situación anterior fue similar a lo observado con el áfido *A. gossypii* (Cuadro 2) y confirma la importancia que tiene el medio de cultivo, no solo en la cantidad, sino en la calidad de los conidios del hongo *L. lecanii*.

Cuadro 2. Producción de conidios de *L. lecanii* 10 días después de cultivado en diferentes sustratos y su virulencia cinco días después de aplicados en dos especies de áfidos.

Sustrato	Producción de conidios x $10^6/g$	Mortalidad(%)	
		<i>T. aurantii</i>	<i>A. gossypii</i>
Arroz+baga	$839.7^1 \pm 1.2$ a	95.0 ± 5.0^1 abc	98.3 ± 2.8^1 a
Arroz+casca	270.3 ± 1.0 g	91.7 ± 7.6 abc	88.3 ± 5.7 abc
Arroz+olote	580.2 ± 1.1 b	85.0 ± 5.0 abcd	81.7 ± 2.8 bc
Arroz	265.4 ± 1.0 g	73.3 ± 7.6 abcde	76.7 ± 2.8 c
Granillo+baga	582.0 ± 0.5 b	56.7 ± 7.6 def	58.3 ± 2.8 d
Granillo+cas	251.8 ± 2.7 h	96.7 ± 2.8 ab	95.0 ± 5.0 ab
Granillo+olote	528.0 ± 2.3 c	91.7 ± 2.8 abc	56.7 ± 2.8 d
Pulido+baga	429.8 ± 25.4 d	43.3 ± 5.7 f	53.3 ± 5.7 d
Pulido+casca	304.2 ± 4.0 e	96.7 ± 2.8 ab	91.7 ± 2.8 ab
Pulido+olote	423.3 ± 1.5 d	70.0 ± 5.0 bcdef	50.0 ± 0.0 de
Sorgo+baga	571.0 ± 1.3 b	83.3 ± 5.7 abcd	88.33 ± 2.8 abc
Sorgo+casca	289.0 ± 0.5 f	91.7 ± 7.6 abc	90.00 ± 10.0 abc
Sorgo+olote	825.8 ± 1.7 a	100.0 ± 0.0 a	90.33 ± 2.8 ab
Testigo	0.0	43.3 ± 7.6 f	36.7 ± 2.8 e

1/Medias \pm desviación estándar, seguidas de la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Tukey, 0.05%).

Conclusiones

Se obtuvieron sustratos mejores (en términos económicos) que el tradicional (arroz) para la producción masiva del hongo, lo cual abre las perspectivas para su uso. Dos sustratos prometedores fueron el bagacillo de caña+arroz y el olote+sorgo.

La mortalidad de *A. gossypii* y *T. aurantii* vario de acuerdo con el sustrato utilizado. El arroz combinado con inertes dio mejores resultados que el arroz solo.

Literatura Citada

- Cortez M., H. 2001. Selección de aislamientos del hongo *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas para el manejo del pulgón negro del cacao *Toxoptera aurantii* Boyer en Tabasco, México. Tesis doctoral, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méx. 135 pp.
- Easwaramoorthy, S. y S. Jayaraj. 1977. The effect of temperature, pH, and media on the growth of the fungus *Cephalosporium lecanii*. J. Invert. Pathol. 29: 399-400.
- Hall, R.A. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In: H.D. Burges (ed.), Microbial Control of Pests and Plants Disease. Academic Press, N.Y. pp. 483-498.
- Lipa, J.J. y K. Slizynsky. 1973. Wskazówki metodyczne I. Terminologóa do wyznaczenia sredniej dawki smiertelnej (LD₅₀) W Patologia Owadow I Tksykologia. Prace Navkome Instytutu ochrony Roslin Tom. XV, Seszyti: 59-83.
- Zare, R, y W. Gams. 2001. A revisión of *Verticillium* sect. *Prostata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen nova. *Nova Hedwigia* 73:1-50

PROPAGACIÓN BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO DE UN HONGO ENTOMOPATÓGENO NATIVO SOBRE CHICHARRA CANTADORA (*Diceroprocta semicineta* Davis) EN CULTIVO DE ESPARRAGO

Adriana Arteaga Flores¹, M. Idalia Sotelo Estrada, Edgar Paredes González

¹Departamento de Químico Biólogo de la Universidad de Sonora Unidad Regional Norte, Caborca. México. E-mail: misotelo@correom.uson.mx.

Trabajo de tesis elaborado por Adriana Arteaga Flores como requisito para la obtención de Grado Licenciatura de Químico Biólogo en la Universidad de Sonora Unidad Norte, Caborca.

Palabras Claves: cultivo, *Cordyceps* spp., *Diceroprocta* spp.

Introducción

Caborca Sonora, México, es una de las principales regiones esparragueras del país. Actualmente la superficie sembrada es de 6,000 ha, lo que representa el 85% de la superficie establecida en nuestro estado, y el 41% de la superficie a nivel nacional. Siendo el espárrago un cultivo de exportación y teniendo que cumplir con exigentes normas de calidad, los agricultores están pendientes de problemas causados por plagas que afectan no solo la producción sino que deterioran la vida de las plantas, y Caborca no es la excepción, actualmente algunos agricultores han tenido la problemática de una baja producción y envejecimiento en sus esparragueras, considerando como causa del problema, la presencia de la chicharra cantadora *Diceroprocta semicineta* Davis. A la vez se ha encontrado un hongo entomopatógeno nativo, tentativamente *Cordyceps* sp que mata a la chicharra cantadora y que puede servir como control biológico de esta plaga. Estudios previos sobre su patogenicidad permiten considerarlo como una alternativa de control por lo que se procedió a determinar la técnica de reproducción masiva bajo condiciones de laboratorio.

El trabajo se realizó en el laboratorio, de la Universidad de Sonora Unidad Regional Norte, del Área Químico Biológicas y Agropecuarias, durante los meses de abril-julio de 2003. La cepa utilizada para la reproducción de este hongo entomopatógeno, fue originada en el año de 2002 en el trabajo realizado por Sotelo *et al.*, 2003. El hongo entomopatógeno se mantuvo viable mediante pases continuos en su insecto huésped y haciéndolo crecer en medios artificiales.

Materiales y Métodos

El hongo se sembró en tubos de ensaye 18x 150 ml, con medio de cultivo PDA y estreptomycin como antibiótico inhibidor. Una vez sembrado se mantuvo a una temperatura de 25 °C, presentando a los ocho días su primer desarrollo micelial logrando la esporular a los 40 días. Estas esporas fueron sembradas en matraces

erlenmeyer de 500 ml con el mismo medio, para lo cual se tomó un inóculo de 4×10^6 conidias de la cepa y se colocaron dentro de los matraces.

Por su desarrollo lento, a los matraces se adicionó un suplemento enriquecido a base de caldo BHI (Infusión-cerebro-corazón), esto permitió un micelio más uniforme y una relativa esporulación más temprana. Las esporas fueron recogidas mediante filtración, y mantenidas en agua destilada estéril para ser posteriormente aplicadas en el campo como bioinsecticida. En este momento se estudia la forma de aplicación y el vehículo adecuado que mantenga su viabilidad.

Resultados y Discusión

Se logró un buen crecimiento del hongo a una temperatura de 23°C y 80% de humedad en los tubos con Agar Papa Dextrosa (PDA), las primeras colonias se observaron a los ocho días, presentando una coloración blanca para posteriormente a los 22 días tomar un color rosa. Después se formaron pequeños pseudoesclerocios, llegando a medir hasta 3.0 cm de largo a los 40 días de crecimiento. Esto permitió obtener mediante filtración un inóculo 50×10^6 de conidias (Figura 1). La utilización de matraces de 500ml, y el uso de BHI, permite obtener buen desarrollo micelial y grandes cantidades de esporas, sin embargo, no se logró acortar los tiempos de esporulación, por lo que siguen siendo muy largos. Hubo dos maneras efectivas de propagar al entomopatógeno, una fue mediante la filtración de esporas de un micelio plenamente desarrollado, y su posterior resiembra en agar y la segunda fue mediante pequeños inóculos de micelio nuevo hacia el agar, esta última manera permite un desarrollo del hongo más uniforme pero tiene la desventaja que el hongo parte el agar al crecer masivamente en un solo punto. Ver fig 2.

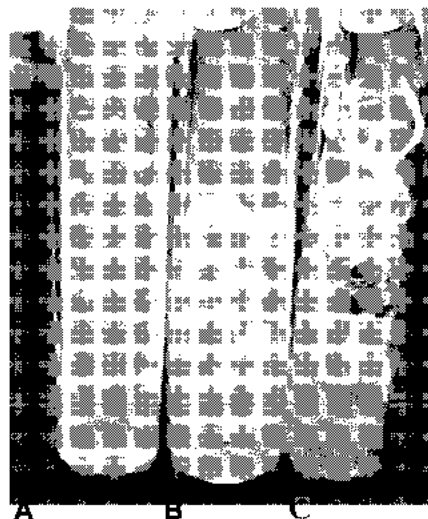


Figura 1 A) 12 días de crecimiento, B) 25 días de crecimiento, C) 45 días de crecimiento

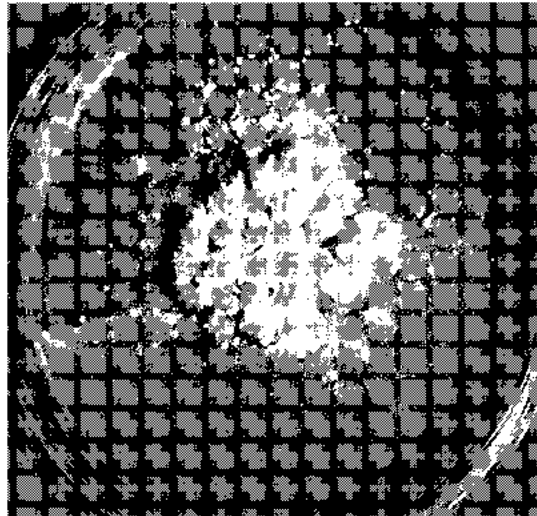


Fig. 2 Desarrollo del hongo a partir de un inóculo con hifas nuevas.

Conclusión

Se puede concluir que este hongo nativo, puede ser cultivado masivamente bajo condiciones de laboratorio, los parámetros más importantes para su óptimo desarrollo son los de cualquier hongo entomopatógeno, sin embargo, hace falta estudiar suplementos alimenticios que le permitan desarrollarse en corto tiempo.

Literatura Citada

- Fimbres, F. A. 1998. Riego por goteo en espárrago. Avances de investigación en vid, espárrago, olivo y chabacano. En la región de Caborca, Sonora. INIFAP-CECAB México. p 7.
- Herrera, T y M. Ulloa. 1990. El reino de los hongos. Micología básica y aplicada. Ed. Fondo de Cultura Económica. México. 505-540
- Koneman , E. W.; G. D. Roberts. 1985. Micología. Editorial Médica Americana. Argentina. pp. 200-206.
- Lopez, C. A. 1998. Manejo de plagas del espárrago con un enfoque sostenible. Avances de investigación en vid, espárrago, olivo y chabacano. INIFAP-CECAB. México. pp.11-13.
- SAGARPA, 2000. Plan emergente para el desarrollo de la región agrícola del distrito de altar. Distrito de Desarrollo Rural No. 139 Caborca. pp. 10-11
- Samson, R. A., H. C. Evans, and J.P. Latgé. 1988. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer-Verlag. New York. pp.128-139.
- Sotelo, E. I., Delgado Q. E., y M. H. Martín. 2003. Aislamiento y patogenicidad de un hongo entomopatógeno nativo, sobre chicharra cantadora *Diceroprocta*

XXVI Congreso Nacional de Control Biológico, Guadalajara, Jal. 2003

semicineta D. en el cultivo de espárrago. Tesis de Grado Maestría de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Sonora Unidad Regional Norte. Santa Ana, Sonora. pp. 32-48.

EVALUACIÓN DE ESPECIES DE CALABAZAS EN LA REPRODUCCIÓN MASIVA DEL PIOJO HARINOSO DE LA VID *Planococcus ficus* Y SU PARASITOIDE *Anagyrus pseudococci* EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Victor Búrquez Delgado¹; Agustín Fu Castillo²; Josías Ayala García¹.

¹JLSV-CREROB. Blvd. García Morales No. 42, jlsv@hotmail.com. ²INIFAP-CECH. Carret. Bahía Kino Km.12.6, fuca40@hotmail.com.

Palabras Claves: calabaza, parasitoide, piojo harinoso, reproducción.

Introducción

El piojo harinoso *Planococcus ficus* (Signoret) es considerada la plaga más importante de la vid en el estado de Sonora. A partir de su aparición el 2001, el insecto se ha distribuyó a más de 3,000 ha, afectando la productividad del cultivo. Ante la importancia económica que esta plaga representa, se realizan esfuerzos en implementar un control biológico, motivo por el cual se hacen liberaciones inoculativas e inundativas de *Anagyrus pseudococci* (Fu y Grageda, 2002). Actualmente el laboratorio local del CREROB tiene infraestructura instalada de producción de 300,000 individuos/mes (Búrquez *et al*; 2003). El proceso de reproducción se efectúa en calabaza tipo "Butternut"; sin embargo, existen períodos del año en que dicho material es difícil de conseguir. Ante la finalidad de sostener la producción de *A. pseudococci* se evaluaron diferentes tipos de calabaza para la reproducción masiva de piojo harinoso en condiciones de laboratorio.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de reproducción de organismos benéficos (CREROB) en Hermosillo, Sonora durante el ciclo 2002 y 2003. Los insectos utilizados en el estudio se obtuvieron de la cámara de reproducción masiva de piojo harinoso. El estudio se realizó bajo condiciones controladas de temperaturas (24 a 28 °C) y humedad (40 a 50%). Las calabazas evaluadas fueron: "Cabocho", "Butternut", "Sehualca", "Acorn", "Spaghetti" y "Banana". Un total de 20 frutos por variedad se colocaron durante una semana en estantes de lámina dentro de las salas de reproducción masiva de piojo harinoso, para que los frutos se contaminaran y colonizaran con los caminantes del insecto. Las principales variables analizadas fueron:

Desarrollo y Reproducción de piojo harinoso:

En cada calabaza se evaluó el tiempo requerido (días) por el caminante en probar las diferentes calabazas y establecerse en ellas; así como el tiempo de desarrollo de "caminante" a 3er. Instar (fase biológica utilizada para la reproducción masiva del parasitoide) y a las primeras posturas de ovisacos. La capacidad reproductiva del insecto se midió en base al % de cubrimiento del fruto por insectos.

Calidad de la calabaza en el desarrollo de piojo harinosos: Se evaluó la tolerancia del fruto a daño por alimentación de insectos, en base a observaciones visuales en la consistencia del fruto, es decir daños por deshidratación, madurez y cambio a color naranja, así como la vida de anaquel. En calabaza "Acorn" se estudió la relación entre la madurez de los frutos, días de colonización e infestación de los frutos, para lo cual se tomaron calabazas de 30, 75, 100, 130 y 150 días de edad posterior a cosecha, y se infestaron con caminantes de piojo harinoso. En cada fruto se midió el % de cubrimiento y los días requeridos para su establecimiento.

Resultados y Discusión

Los resultados del desarrollo y reproducción (Cuadro 1), indican que "butternut", "acorn" y "sehualca" fueron colonizadas más rápidamente por el insecto, y en un tiempo muy corto (% días), mientras en "Cabocho" tardó más días (15). En "Butternut", "Acorn" y "Sehualca" el insecto se desarrollo más rápido. Así también se encontró que "Acorn", "Sehualca" y "Butternut" registraron 90, 85 y 70% de cubrimiento del fruto con insectos. El piojo harinoso mostró una alta preferencia por colonizar "Acorn", mientras que "Cabocho" fue la menos preferida.

Cuadro 1.- Desarrollo y reproducción de *Planococcus ficus* en diferentes tipos de calabaza en condiciones de laboratorio 2003.

Calabaza	Desarrollo			Reproducción
	Colonización (Días)	Tercer Instar	Producción Ovisacos	Cubrimiento fruto (%)
Cabocho	15b	30b	45b	25b
Butternut	5a	23a	35a	70a
Sehualca	5 ^a	22a	33a	85a
Acorn	5 ^a	23a	33a	90a
Spaghetti	7 ^a	27ab	38ab	40ab
Banana	-	-	-	-

Significancia estadística Tukey (P<0.05)

En las variables relacionadas a la calidad de la calabaza en el desarrollo de piojo harinoso se encontró que "cabocho" y "Butternut" registraron una alta tolerancia a daños por alimentación por el insecto, esta condición favorece una buena reproducción de plaga y del parasitoide, y reduciendo mermas de producción; sin embargo, "Acorn" a pesar de ser altamente atractiva a colonización presentó una baja tolerancia alimentación, lo cual afectó el desarrollo del insecto, acortando su ciclo y deshidratando los frutos rápidamente. Así también se encontró que "cabocho", "acorn" y "spaghetti" presentaron una alta susceptibilidad a pudrición dentro de las cámaras de cría, la cual afectó directamente el proceso de reproducción masiva del piojo harinoso y el parasitoide, ya que los frutos podridos se eliminaron de la colonia. La calabaza "Butternut" tuvo una larga duración en almacenamiento lo que permitió guardar frutos, y

calendarizar su uso en la reproducción masiva. La mayoría de las calabazas mostraron una larga vida de anaquel (Cuadro 2).

Cuadro 2.-Calidad de calabaza y desarrollo de *Planococcus ficus* en laboratorio 2003.

Calabaza	Tolerancia a daños de alimentación por piojo	Susceptibilidad A pudrición	Vida de anaquel del fruto (días)
Cabocha	Alta	Alta	120
Butternut	Alta	Media	200
Sehualca	Baja	Media	90
Acorn	Media	Alta	150
Spaghetti	Baja	Alta	90
Banana	-	-	90

a relación entre madurez de calabaza "Acorn" y reproducción del insecto, indica que a mayor edad del fruto, la colonización se reduce y aumentan los días de establecimiento del insecto. Calabaza con 30 días de maduración registró 100% de colonización en un tiempo de 2 días, mientras que calabazas mayores a 100 días presentaron 50% de colonización en más de 8 días.

Figura 1.- Correlación entre madurez de calabaza "acorn" y el porcentaje de colonización y días de establecimiento de *Planococcus ficus* 2003.

Las principales conclusiones de este trabajo indican que "Butternut" es la mejor alternativa para la reproducción masiva de *Planococcus ficus* y *Anagyrus pseudococci*. Los frutos para reproducción masiva deben tener menos de 100 días de maduración.

Literatura Citada

- Fu C, A.A. y J. Grageda G. 2002. Control biológico del piojo harinoso de la vid *Planococcus ficus*. S. Intl: Piojos harinosos. XXV Cong. Nal. Cont. Biol. p:22-27.
- Búrquez, D. V.M; J. Ayala G. y A.A. Fu C. 2003. Reproducción masiva de *Anagyrus pseudococci*. In: Seminario: Control biológico del piojo harinoso de la vid. Memoria Técnica No. 13.

REPRODUCCIÓN MASIVA EN LABORATORIO DEL PIOJO HARINOSO DE LA UVA *Planococcus ficus* Y EL PARASITOIDE *Anagyrus pseudococci*

Victor Búrquez Delgado¹; Agustín Fu Castillo²; Josías Ayala García¹.

¹JLSV-CREROB. Blvd. García Morales No. 42, jlsv@hotmail.com. ²INIFAP-CECH. Carret. Bahía Kino Km.12.6, fuca40@hotmail.com.

Palabras Claves : Reproducción, parasitoide , factores , piojo harinoso

Introducción

El piojo harinoso *Planococcus ficus* (Signoret) ha causado fuertes daños económicos en uva de mesa en la Costa de Hermosillo, Sonora. Actualmente el control de esta plaga se basa en aplicaciones de imidacloprid al suelo, las cuales resultan demasiado costosas y en ocasiones con controles erráticos. El parasitoide *Anagyrus pseudococci* presenta una buena alternativa en el control biológico de esta especie de piojo harinoso (Fu, 2003). El objetivo del presente trabajo fue consolidar la técnica para la reproducción masiva de *A. pseudococci* en un laboratorio comercial.

Materiales y Métodos

La reproducción masiva se realizó en el Centro de reproducción de organismos benéficos (CREROB) en Hermosillo, Sonora a partir del 2001. La cría masiva se realizó en base a experiencias de otros investigadores como: Gautam (1996), Vyjayanthi (1998) y Peterkin *et al.*, (1996), para lo que se colectaron piojos harinoso en viñedos comerciales, seleccionando *Planococcus ficus*, eliminando insectos contaminantes. Posteriormente 100 hembras y/o ovisacos se colocaron sobre calabaza "cabocha" y "butternut", hasta establecer 1 sala de producción de piojo harinoso. Los frutos se lavaron con cloro al 0.5%. Para el proceso de reproducción masiva se utilizó la metodología diseñada por Peterkin *et al* (1996), el cual consistió en la recolección y contaminación de frutos con de "caminantes" (Primer estadio). El siguiente paso para obtener una mayor colonia de insectos consistió en utilizar captura de caminantes e infestarlos en calabaza hasta obtener el 3er estadio para iniciar el proceso de reproducción masiva del parasitoide. El pie de cría de *Anagyrus pseudococci* se obtuvo del Laboratorio comercia FAR en California, E.U.A, con una población inicial de 25,000 individuos, los cuales se tuvieron en cuarentena durante 1 mes en las instalaciones del CREROB, con el fin de detectar "plagas exóticas", hiperparasitoides u otro insecto. Las cámaras de reproducción de piojo harinoso y su parasitoide se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura (24–28 °C) y humedad (40–50%).

Resultados y Discusión

Sustrato de reproducción de piojo harinoso

El sustrato de reproducción ideal para incrementar una colonia de insectos es calabaza “cabocho”; sin embargo, “butternut” presentó mejores características y se considera el fruto ideal para un programa de cría masiva de piojo harinoso y su parasitoide. Las calabazas tipo “acorn”, “sehualca”, “banana” y “spaghetti” se pueden utilizar en la reproducción masiva; sin embargo, se logró menor producción y calidad de parasitoides.

Reproducción masiva de pH

Una vez consolidada una cámara de pie de cría, la cual debe tener un tamaño de 12 a 15 m², y más de 1000 calabazas infestadas, se procede a la reproducción masiva, para lo cual se utilizan cajas de cartón completamente pintadas de negro de 1.50m x 1.50m x 0.60m, donde se cuelga un foco de luz blanca a 2 cm de separación de la base de la caja y envuelto con papel aluminio. En estas cajas se introducen 60 calabazas altamente infestadas con piojo harinoso, atrayendo a los caminantes bajo el haz de luz y son colectados con brocha en una caja de petri. Posteriormente estos caminantes se colocaban en nuevas calabazas en un promedio de 0.5 cm³ caminantes/fruto. Con la manipulación de “caminantes” se logró uniformizar los tamaños de los piojos harinosos (3er instar), fase biológica preferida por el parasitoide.

Las calabazas infestadas se colocan sobre estantes de metal durante 3 meses hasta obtener 70% de cubrimiento con insectos (más de 1,000 individuos). Una tercera parte de insectos se destinada al pie de cría y el resto se usa en la reproducción masiva de *A. pseudococci*. Las condiciones ideales en las cámaras de cría masiva deben ser de temperaturas entre 24–28 °C y humedad de 40–50%. Es importante realizar limpieza y asepsia en forma continua en las cámaras.

Reproducción Masiva de *Anagyrus pseudococci*

La reproducción masiva de parasitoide inicia con la selección de calabazas altamente infestadas (aproximadamente 1,000 insectos de 3^{er} instar), lo cuales se obtienen 25 días después de infestación con caminantes. Un total de 15 frutos se confina en cajas de plástico (38 x 32 x 23cm) y con ventanas de tela de organza, y posteriormente se infestan con 1000 parasitoides (0.4 cm³) de *A. pseudococci* en una proporción sexual de 500 hembras y 500 machos en un período de 8 días. La emergencia de parasitoides ocurre 14 días después del primer día de parasitación, primeramente con los machos y 2 días después emerge las hembras. La recolección de parasitoides se realiza hasta los 17 días, con el fin de obtener ambos sexos de *A. pseudococci*. La colecta se efectúa diariamente, donde una tercera parte del material se destina al pie de cría y el resto se libera en campo.

Factores que afectan la reproducción masiva de *Anagyrus pseudococci*

Los principales factores a considerar en el éxito de un programa de reproducción masiva son: 1) Sustrato.- Utilización frutos con muy buena vida de anaquel, los que puedan durar entre 45 a 50 días (25-30 días para desarrollo de caminante a 3er estadio, 17-20 días de parasitación a emergencia de *A. pseudococci*). La calabaza "butternut" tiene estas características, además resiste los daños de alimentación de insectos; 2) Maduración de sustrato.- Frutos muy maduros afectan la capacidad de establecimiento y reproducción del insecto, fases que deben ser menor a 10 días y mayor a 70%, respectivamente y 3) Contaminación de la colonia.- El hiperparasitoide *Aprostocetus* spp tiene una alta capacidad de contaminar cámaras de cría.

Los resultados obtenidos en el laboratorio se presentan en la Figura 1, donde se observa que en el 2002 se obtuvieron más de 2 millones de parasitoides; sin embargo, en el mes de agosto se produjeron más de 700,000 individuos. En el 2003 reproducen en promedio más de 300,000 *A. Pseudococci*/mes en beneficio de la viticultura regional.

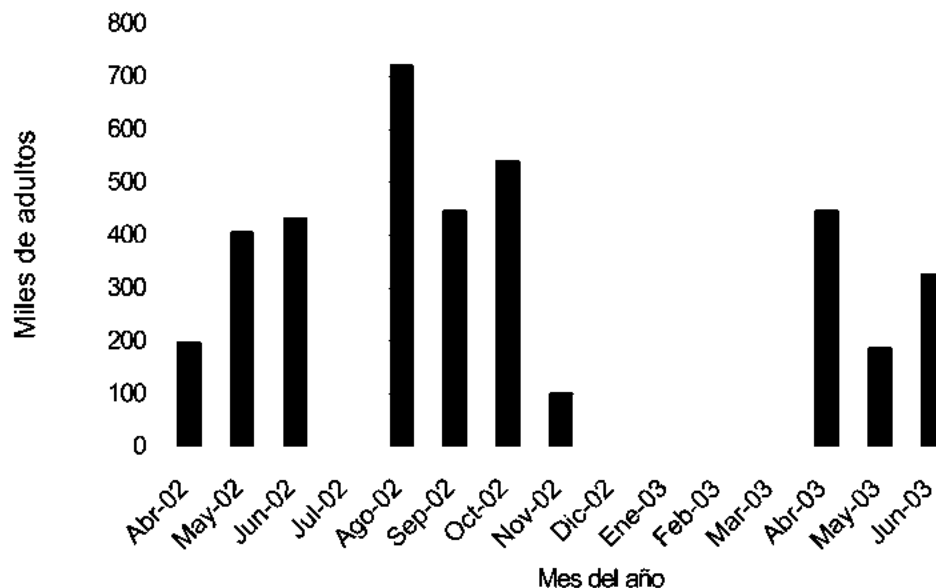


Figura 1.- Producción de *A. pseudococci* en laboratorio del CREROB 2002-2003

Literatura Citada

- Fu C, A.A. 2003. Avances de control biológico del piojo harinoso de la vid *Planococcus ficus* (Signoret) en la Costa de Hermosillo, Sonora. In: Seminario: Control biológico del piojo harinoso de la vid. Memoria Técnica No. 13.
- Gautam, R.D. 1996. Multiplication and use of exotic Coccinellids. CARDI Bull. Series TB 9626-T03. St. Augustine. Trinidad & Tobago. Carib. Agri. Res. and Dev. Institute.
- Peterkin, D.D; F. L. Vyjanthi and M. Kairo. 1996. Laboratory production of *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae) for biological control of the hibiscus

- mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Homoptera:pseudococcidae). Proceeding 2nd. Seminar Hibiscus mealybug. Trinidad and Tobago. P. 24-37.
- Vjayanthi, F.L. 1998. laboratory rearing and mass production of the hibiscus mealybug *Maconellicoccus hirsutus* (Green) and the parasitic wasp *Anagyrus kamali* at the Caribbean and Latin American Station of the IIBC in Trinidad. Proceeding 1st. Seminar Hibiscus mealybug. Trinidad and Tobago. P. 30-43.

ECOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO

¿ES *Leucoptera coffeella* (LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE) PLAGA SECUNDARIA EN CAFETALES DONDE *IDIARTHON SUBQUADRATUM* (ORTHOPTERA: TETTIGONIIDAE) ES LA PLAGA CLAVE?

Juan F. Barrera¹, Joel Herrera¹, Rogelio Rabanales² y Erika Pinson²

¹ ECOSUR, Apdo. postal 36, Tapachula, Chiapas, México; ² UNACH, Huehuetán, Chiapas, México. Correo electrónico: jbarrera@tap-ecosur.edu.mx

Palabras Clave: Minador de la hoja del café; chacuatete; Chiapas.

Introducción

Tres fenómenos pueden ser provocados por plaguicidas de amplio espectro: 1) resurgencia de la plaga objetivo, 2) creación de plagas secundarias y 3) desarrollo de resistencia en las plagas, todos relacionados con el disturbio del control natural. La reacción más común ante éstos es un incremento en el uso de los plaguicidas lo que resulta en más resurgencia de la plaga, más brotes de plagas secundarias y más resistencia, situación conocida como síndrome de los plaguicidas (Flint y van den Bosch, 1981). Entre los artrópodos que más frecuentemente muestran este problema están escamas, áfidos, moscas blancas, minadores, lepidópteros y ácaros, particularmente en los cultivos de algodón, arroz, frutales caducifolios y cítricos. En el cultivo del café (*Coffea* spp.), el caso más representativo de este síndrome es el del minador de la hoja *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Se conoce que este insecto posee una comunidad grande de enemigos naturales y que en la mayoría de los cafetales de México y Centroamérica sus daños son casi siempre imperceptibles para los productores. Sin embargo, se han observado brotes de minador en cafetales cuya sombra ha sido eliminada o reducida, y cuando se usan insecticidas (Barrera, 2002). En 2002 se observó una incidencia muy alta del minador en cafetales de Siltepec, Chiapas, donde de acuerdo con Barrera et al. (2002), otro insecto conocido como el chacuatete *Idiarthron subquadratum* (Orthoptera: Tettigoniidae), es la plaga clave y su control se realiza principalmente con insecticidas. Con estos antecedentes se consideró meritorio investigar si la infestación del minador era consecuencia del control químico del chacuatete, y por lo tanto asumir que el primero se comportaba como una plaga secundaria en cafetales infestados por el segundo. Las plagas secundarias se presentan cuando la aplicación de plaguicidas contra la plaga clave destruye los enemigos naturales de herbívoros inocuos que ocupan el mismo hábitat, alcanzando estas últimas niveles dañinos al verse libres de la regulación que ejercen los enemigos naturales (Flint y van den Bosch, 1981). Como una primera aproximación a desmarañar este problema, se planteó el objetivo de establecer la relación entre la infestación de una y otra plaga. La hipótesis propuesta fue que la infestación de *L. coffeella* se relacionaba positivamente con la infestación de *I. subquadratum*.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en cafetales de pequeños productores de la Región Sierra del municipio de Siltepec, Chiapas, en la cañada donde se encuentran distribuidas, de sur a norte y de la zona alta (1170 m) a la baja (940 m), las siguientes comunidades: Las Cruces, San Bartolo, Vega de Guerrero, Vicente Guerrero y Unión Independencia. La cañada, ubicada en 15° 34' N y 92° 20' W, posee el único brote de *I. subquadratum* en la región, por lo cual, se denominó "La Cañada del Chacuatete"; ésta es surcada por un río, y en su vega, se cultiva el café (*Coffea arabica* L.) en un sistema de sombra multiespecífica con poco manejo (Barrera *et al.* 2002). A lo largo de la cañada se establecieron 24 sitios permanentes de muestreo, y en cada uno se registró mensualmente la infestación del chacuatete (febrero- mayo de 2003) y del minador (marzo- junio de 2003). La infestación del chacuatete, expresada en proporción de hojas mordidas o dañadas (P(I)), se determinó tomando al azar una rama por cafeto en 30 cafetos por sitio. La infestación del minador, expresada en proporción de hojas minadas (P(I)), se determinó tomando al azar 10 hojas por cafeto en un total de 30 por cada sitio de muestreo. El follaje afectado por el chacuatete fue hecho por individuos que vivieron en 2002, ya que durante el periodo de estudio las poblaciones de este insecto se encontraban en estado de huevo. La relación entre la altitud de los sitios de muestreo, y la infestación de ambas plagas se determinó con el coeficiente de correlación de Spearman con el paquete estadístico JMP.

Resultados y Discusión

La correlación entre las variables bajo estudio se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Coeficientes de Correlación de Spearman para el caso de la altitud (metros) y la infestación del chacuatete (Ch) y minador de la hoja del café (Mi), en cafetales de Siltepec, Chiapas. Febrero- junio de 2003.

	Variables							
	Altitud	Ch_Feb	Ch_Mar	Ch_Abr	Ch_May	Mi_Mar	Mi_Abr	Mi_May
Ch_Feb	-0.55**							
Ch_Mar	0.24	0.56**						
Ch_Abr	-0.10	0.49*	0.62**					
Ch_May	-0.71***	0.55**	0.22	0.16				
Mi_Mar	-0.36	0.46*	0.31	0.23	0.42*			
Mi_Abr	0.02	0.28	0.31	0.34	0.17	0.59**		
Mi_May	0.32	-0.10	0.27	0.31	-0.09	0.22	0.73***	
Mi_Jun	-0.35	0.66***	0.04	0.05	0.30	0.27	0.06	-0.17

* P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001

La proporción de hojas afectadas por el chacuatete se correlacionó negativa y significativamente con la altitud en los muestreos de febrero y mayo, lo cual indicó que el chacuatete causó menos daño al incrementarse la altitud de los sitios, pero la

infestación del minador no mostró ninguna tendencia significativa con respecto a esta variable. En todos los casos la infestación del chacuatete en febrero se correlacionó positivamente con la registrada para este mismo insecto en los meses subsecuentes. En el caso del minador, la infestación de marzo se correlacionó positivamente con la abril y ésta con la de mayo. La infestación del chacuatete se correlacionó positiva y significativamente con la infestación del minador, aunque este resultado se observó solamente entre la proporción de hojas infestadas por el chacuatete en febrero con la del minador en marzo y junio (Fig. 1).

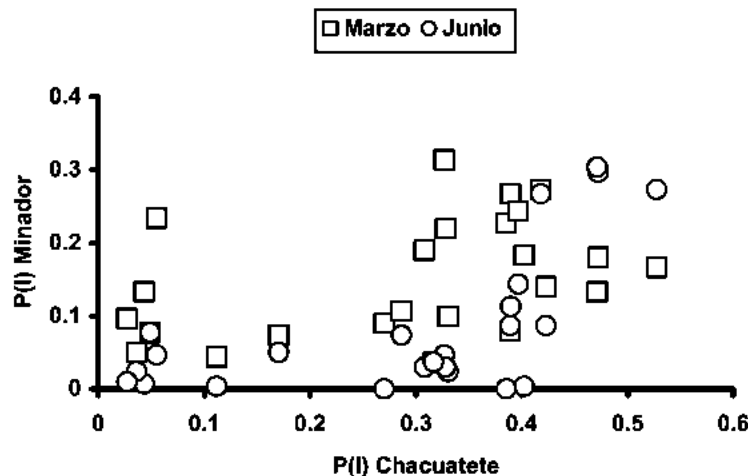


Fig. 1. Relación entre la infestación del chacuatete y el minador de la hoja del café.

Algunos resultados coinciden con observaciones previas: como era de esperarse el daño del chacuatete fue más alto en las zonas bajas (Barrera *et al.* 2002), pero inesperadamente no se observó relación de *L. coffeella* con la altitud, no obstante que en otras regiones éste prefiere zonas bajas (Barrera, 2002). Es posible explicar este resultado por la alta capacidad de dispersión que parece tener el minador, facultad que le permitiría invadir con rapidez la cañada. En concordancia con la hipótesis planteada, los sitios con mayor daño de *I. subquadratum* presentaron mayor daño de minador, aunque tal relación no fue constante. Ante estos resultados, y considerando el frecuente uso del paratión metílico (Folidol) contra el chacuatete, es altamente probable que los brotes de infestación de *L. coffeella* se deban a dicho insecticida. En conclusión, este estudio sugiere que el control químico está dañando los enemigos naturales del minador, y en consecuencia, la falta de regulación natural lo está convirtiendo en una plaga secundaria en cafetales donde *I. subquadratum* es la plaga clave. Por lo tanto, se hace un llamado a los productores de “La Cañada del Chacuatete” para usar trampas como las que recomienda Barrera (2002) en lugar de insecticidas.

Se agradecen el apoyo de cafecultores y autoridades municipales de Siltepec a este trabajo. La Fundación Produce Chiapas financió esta investigación (proyecto “Bioecología y manejo de plagas del café en Soconusco y Sierra de Chiapas”).

Literatura Citada

- Barrera, J.F. 2002. Principios agroecológicos para el manejo de plagas en cafetales. En: J. Pohlen (ed.), México y la cafecultura chiapaneca ; reflexiones y alternativas para los caficultores. Shaker Verlag, Alemania, p. 201-208.
- Barrera, J.F., J. Herrera, J.A. Zúñiga, B. Moreno & C. Junghans. 2002. Bioecología y hábitos del Chacuatete del café en Siltepec, Chiapas. En: J.F. Barrera (ed.), Tres plagas del café en Chiapas. El Colegio de la Frontera Sur, México, p. 49-58.
- Flint, M. L. & R. Van den Bosch. 1981. Introduction to integrated pest management. Plenum Press, N.Y., p. 68- 78.

EL PAPEL DEL ESTÍMULO QUÍMICO DURANTE LA BÚSQUEDA DE HUÉSPED DEL PARASITOIDE *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera bethylidae)

José Manuel Felipe Silvestre¹, Julio Rojas, Jaime Gomez y Juan F. Barrera

¹Departamento de Entomología Tropical, El Colegio de la Frontera Sur, Ap. Postal 36, Tapachula, Chiapas. jrojas@tap-ecosur.edu.mx

Palabras Clave: búsqueda de huésped, estímulo químico, ectoparasitoide, broca del café

Introducción

El desempeño de los parasitoides puede ser pronosticado a través de estudios ecológicos, evaluando sus características conductuales, mismas que determinan la eficacia de las especies como agentes de control biológico (Mattiacci *et al.* 1999). Esta eficacia depende ampliamente de su conducta en la localización del huésped. Durante la localización del huésped los parasitoides pueden usar señales complejas de corto y largo alcance, las cuales pueden incluir señales visuales, químicas, auditivas y táctiles (Godfray 1994). Generalmente, el estímulo químico juega un papel preponderante en este proceso (Vet & Dicke 1992). Los compuestos químicos, infoquímicos, que mediatizan la conducta de localización del huésped pueden originarse del herbívoro, del alimento de éste, de organismos asociados al huésped o de las interacciones de todos ellos.

El parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyidae) se alimenta y oviposita externamente sobre prepulas y pupas de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Esta especie fue introducida a México para el control biológico de la broca del café y desde entonces varios aspectos de su biología han sido estudiados en detalle (Barrera *et al.* 2000). Estudios de competencia intraespecífica en laboratorio señalan que teóricamente este parasitoide posee una alta capacidad de búsqueda (Barrera 1994), sin embargo, la conducta de búsqueda de huésped de *C. stephanoderis* ha sido muy poco investigada (J. Gómez *et al.* en preparación). En este trabajo estudiamos la respuesta de las hembras al estímulo químico proveniente del fruto café y de la interacción de la broca con el fruto.

Materiales Y Métodos

Material biológico

Se utilizaron frutos de café (*Coffea arabica* L.) sanos (no perforados) y perforados por la broca de color rojo colectados en cafetales del Soconusco, Chiapas. Los frutos fueron colectados 2-3 h antes de los bioensayos. En uno de los tratamientos donde los frutos fueron dañados mecánicamente se realizaron de 4-6 perforaciones/fruto con una aguja de disección. En el caso de frutos infestados se usaron cerezas con una población de inmaduros de entre 14-20 larvas/pupas. Los parasitoides se obtuvieron de los

laboratorios de cría de ECOSUR, los cuales fueron criados usando las técnicas y condiciones descritas por Barrera *et al.* (1989).

Pruebas conductuales.

La respuesta de las hembras de *C. stephanoderis* a frutos artificiales (canica roja), frutos sanos, frutos dañados mecánicamente y frutos infestados fue evaluada usando dos olfatómetros. El primer olfatómetro (lineal) consistió de un tubo de vidrio (36 cm largo x 2.5 cm diámetro interno), el cual se dividió en tres secciones (de 12 cm cada una). La primera sección fue aquella que se encontraba más cerca del origen del olor (3), la segunda a la mitad del olfatómetro (2), y la tercera en la parte más alejada del olor (1). Como fuente de olor se usó un solo fruto. Una bomba empujó el aire a través del olfatómetro a un flujo de 0.5 l/min. Se utilizó una trampa de carbón activado para filtrar el aire que fue introducido al olfatómetro. Diez hembras fueron colocadas en la sección 1 al inicio de cada prueba y observadas por 5 minutos. El número de hembras en cada sección fue registrado al final del bioensayo. Los bioensayos en este olfatómetro fueron realizados en condiciones controladas de temperatura, humedad relativa, y en completa oscuridad. En total 7 repeticiones por cada tratamiento fueron realizadas.

El segundo olfatómetro consistió de un embudo de vidrio, con base cónica (altura = 5.5 cm, diámetro mayor = 6.6 cm, diámetro menor = 0.8 cm) y un tubo (altura = 14.2 cm, diámetro interno = 0.8 cm). El embudo fue invertido y colocado sobre una caja Petri, la cual contenía los tratamientos a evaluar (3 canicas rojas, 3 frutos sanos, 3 frutos dañados mecánicamente o 3 frutos infestados). No se utilizó flujo de aire. Los parasitoides fueron colocados previamente en tubos de vidrio de fondo plano (15 parasitoides/tubo) y aclimatados por un lapso no menor de 2 horas a las condiciones usadas en los bioensayos (luz roja, 12 lux; 25 ± 1 °C, 60-70% HR), con la finalidad de mantenerlos inactivos. Posteriormente cada uno de los tubos con parasitoides fueron colocados sobre el tubo del olfatómetro de los diferentes tratamientos y la respuesta de éstos fue observada por 20 min. El número de hembras que se movieron hasta la base cónica fue registrado al final del bioensayo. En total 15 repeticiones por tratamiento fueron realizadas.

Análisis estadístico

Los datos fueron transformados usando una transformación arcoseno y sometidos a un análisis de varianza.

Resultados y Discusión

Para el caso del olfatómetro lineal, el mayor porcentaje de las hembras de *C. stephanoderis* permanecieron en la parte más alejada de la fuente olorosa, excepto en el tratamiento donde se utilizaron frutos infestados, en el cual un mayor porcentaje se movió hacia la parte central del olfatómetro ($F = 2.8$; g.l. = 4, 34; $P = 0.04$) (Fig 1).

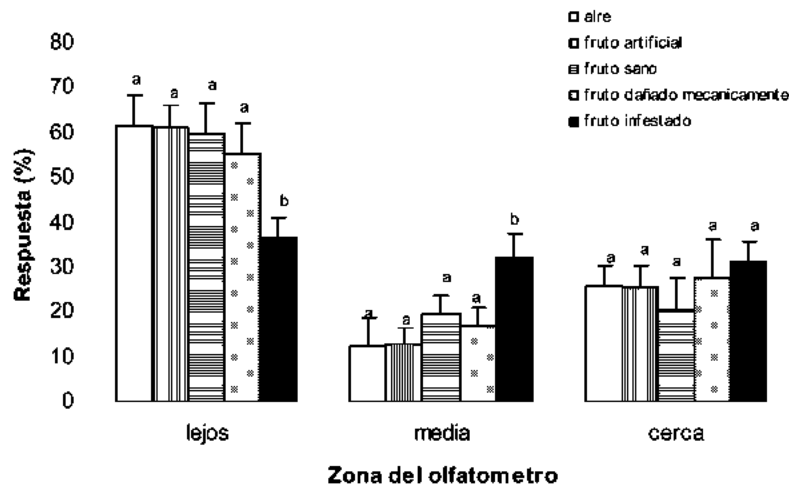


Fig. 1. Posición de las hembras de *C. stephanoderis* dentro del olfatómetro lineal. El olfatómetro se dividió en tres secciones, la primera sección fue aquella cercana al origen del olor (cerca), la segunda a la mitad del olfatómetro, y la tercera en la parte en donde se liberaron a las hembras (lejos).

En ninguno de los tratamientos se encontró una diferencia estadística en el porcentaje de insectos localizados en la parte más cercana de la fuente olorosa ($F = 0.41$; g.l. = 4, 34; $P = 0.79$).

En el olfatómetro en cono se observó que un mayor porcentaje de parasitoides respondieron a los frutos sanos, dañados mecánicamente e infestados por la broca en comparación a los parasitoides que se dirigieron a los frutos artificiales (Fig. 2) ($F = 7.2$; g.l. = 3, 59; $P = 0.001$).

Los resultados encontrados en ambos olfatómetros no fueron consistentes, puesto que en el olfatómetro lineal los resultados indicaron que los frutos de café no fueron atractivos a las hembras de *C. stephanoderis*, en tanto que en el olfatómetro de cono se encontró que los insectos respondieron a los compuestos químicos provenientes del café. Esta diferencia de los resultados obtenidos entre los dos olfatómetros, quizá se debe al hecho de que uno de ellos usó aire para transportar las moléculas odoríferas, mientras que en el otro, los insectos encuentran el olor al alcanzar un gradiente. Posiblemente el flujo de aire utilizado afectó la respuesta de los insectos, tal como ha sido demostrado para otras especies de parasitoides (p. ej. Messing et al., 1997). La influencia de este factor, como de otros, está actualmente siendo investigada.

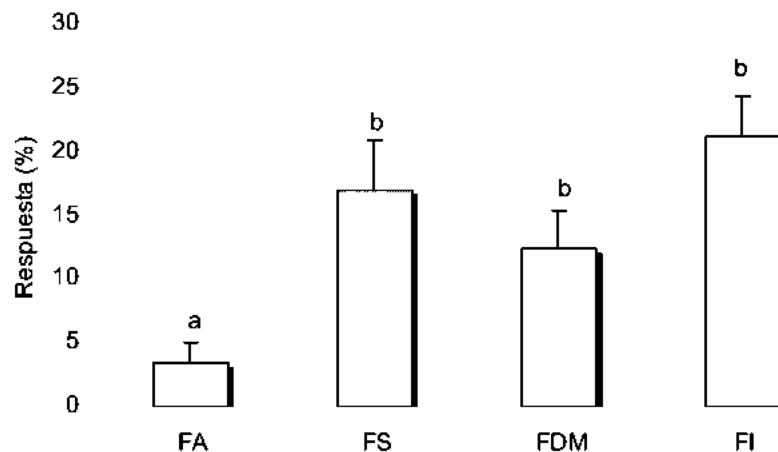


Fig. 2. Respuesta de las hembras de *C. stephanoderis* a los diferentes tratamientos evaluados en el olfatómetro de cono. FA, fruto artificial; FS, fruto sano; FDM, fruto dañado mecánicamente; FI, fruto infestado.

El hecho de que los parasitoides respondan a los tres tipos de frutos sugiere que existen compuestos en común en los diferentes frutos y al parecer la presencia del huésped en esta etapa de búsqueda no es importante. Es posible que el parasitoide inicialmente use señales químicas y visuales provenientes del hábitat, y una vez sobre los frutos, use señales de más corto alcance provenientes del huésped para localizarlo, mecanismo que es utilizado generalmente por estos organismos (Vet & Dicke 1992; Godfray 1994).

Literatura Citada

- Barrera, J.F. 1994. Dynamique des populations du scolyte des fruits du caféier, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), et lutte biologique avec le parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae), au Chiapas, Mexique. Tesis. Université Paul Sabatier, Toulouse, Francia, p. 187-190.
- Barrera, J.F., J.Gómez, F. Infante, A. Castillo & W. de la Rosa. 1989. Biologie de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyilidae) en laboratoire. I. Cycle biologique, capacité d'oviposition et émergence du fruti du caféier. *Café Cacao Thé* 33: 101-108.
- Barrera, J.F., F. Infante, W. de la Rosa, A. Castillo & J. Gómez. 2000. Control biológico de la broca del café. En : M.H.Badii, A.E. Flores & L.J. Galán Wong (eds.), *Fundamentos y Perspectivas de Control Biológico*. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. ISBN 970-694-033-2, p. 211- 229.
- Godfray, H.C.J. 1994. *Parasitoids: Behavioural and Evolutionary Ecology*. Pricenton University Press, Chichester, West Sussex, Reino Unido.
- Mattiacci, L., E. Huntter & S. Dorn. 1999. Host location of *Hyssopus pallidus*, a larval parasitoid of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Biol. Control* 15: 241-251.

- Messing, R.H., L.M. Klungness & E.B. Jang. 1997. Effects of wind movement of *Diachasmimorpha longicaudata*, a parasitoid of tephritid fruit flies, in a laboratory flight tunnel. Ent. Exp. Appl. 82: 147-152.
- Vet, L.E. & M. Dicke. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. Annu. Rev. Entomol. 37: 141-172.

Agradecimientos

Este trabajo fue llevado a cabo gracias al apoyo económico brindado por la SEP-CONACyT (proyecto No. 40338-Q, investigación básica).

RESPUESTA DEL PARASITISMO DE *Phymastichus coffea* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) A VARIACIONES DE TEMPERATURA

Alfredo Castillo¹, Francisco Infante¹, Javier Trujillo² & Jorge Vera-Graziano².

¹ El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Carretera Antiguo Aeropuerto km 2.5. Tapachula, Chiapas, 30700 MEXICO. E-mail: acastill@tap-ecosur.edu.mx ² Colegio de Posgraduados, Instituto de Fitosanidad, Montecillo, Edo. de México, 56230 MEXICO.

Palabras clave: *Phymastichus*, *Hypothenemus*, parasitismo, temperatura.

Introducción

Phymastichus coffea La Salle (Himenóptera: Eulophidae) es un endoparásitoide que ofrece grandes expectativas para regular las poblaciones de la broca del café (Coleoptera: Scolytidae), la principal plaga de este cultivo (Le Pelley, 1968. Esto se debe a que *P. coffea* es el único parasitoide de adultos de la broca y en caso que pudiera usarse como agente de control complementaría la acción reguladora que ejerce *C. stephanoderis* sobre larvas y pupas (Feldhege, 1992. La sobrevivencia de la hembra adulta de *P. coffea* no es mayor a tres días, pero posee otras características biológicas que podrían ser deseables en un enemigo natural efectivo, como un ciclo de vida más corto que su huésped, capacidad de discriminación (Castillo, 2003) y sin período de preoviposura (Infante, 1989. El actual conocimiento sobre la capacidad de parasitismo de *P. coffea* en relación a los factores ambientales que condicionan esta actividad continua siendo escaso. La temperatura es un factor ambiental que está muy relacionado con algunos procesos vitales de los insectos, como el parasitismo, la sobrevivencia y reproducción (Chapman, 1998). Por esta razón, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la actividad parasítica de *P. coffea* en laboratorio, bajo distintas condiciones de temperatura.

Materiales y Métodos

Se usaron hembras apareadas de *P. coffea* con menos de una hora de emergidas de sus huéspedes. Estas fueron obtenidas de una colonia mantenida en laboratorio desde marzo de 2000. La colonia fue iniciada con insectos importados de Guatemala, empleando la metodología descrita por Infante et al. (1994. Los parasitoides fueron reproducidos sobre brocas obtenidas de frutos de café infestados naturalmente en campo. Los ensayos se realizaron usando grupos de 10 hembras de *P. coffea*, alimentadas previamente con miel de abeja, colocadas individualmente dentro de viales de 10x50 mm, junto con una broca. Los insectos fueron observados bajo la luz directa de una lámpara fluorescente de 20 W a una intensidad de 1300 lux/in². Los hospederos fueron reemplazados después de cada intento de parasitismo, considerado cuando el parasitoide adoptó una posición típica de ataque sobre su hospedero (López-Vaamonde & Moore, 1998. Los insectos se observaron por un lapso de tres horas. Posteriormente, fueron disecados para contar el número de huevos puestos por el parasitoide. El

experimento se repitió 10 veces a cinco distintas temperaturas (20, 22.5, 25, 27.5 y 30°C. La humedad relativa mantenida durante los ensayos fue de 70-80%.

Resultados

El número de intentos de parasitismo, la cantidad de hospederos parasitados y la producción de huevos por las hembras de *P. coffea* está influenciada directamente por el aumento de la temperatura. Las disecciones de los hospederos indican que *P. coffea* no deposita más de dos huevos por cada intento exitoso de parasitismo, independientemente de la temperatura. El número de avispas que permanecieron inactivas fue diferente entre todos los tratamientos, incrementando al disminuir la temperatura ($F=24.9$; g.l.= 4; $P<0.05$, Tukey). El promedio de intentos de parasitismo no exitosos fue mayor a 25°C, 27.5°C y 30°C que en el resto de los tratamientos (Figura 1). Sin embargo, estos intentos produjeron una proporción de hospederos parasitados que aumento con respecto a la temperatura (Figura 2).

Discusión

El ritmo de producción de huevos de *P. coffea*, aunque fue influenciado por la temperatura, estuvo condicionado por el aumento de la cantidad de hospederos parasitados y no por cambios en su distribución dentro de la broca, ya que el número máximo de huevos encontrados dentro de cada hospedero fue dos. Por otro lado, en otros estudios sobre la biología de *P. coffea* se ha observado que algunos intentos de parasitismo pueden no ser exitosos (Castillo, et al., 2003). En este trabajo se muestra que la falta de éxito de los intentos es influenciada por la temperatura (Figura 1), lo cual fue originado por una reducción en los intentos de parasitismo, lo que probablemente limito las oportunidades para encontrar hospederos apropiados. Por último, nuestros resultados muestran que la actividad parasítica de *P. coffea* se incrementa significativamente cuando la temperatura fue 25°C y 30°C. Observaciones de campo reportan niveles de parasitismo entre 32% y 55 % en localidades con un rango de temperatura entre 18.4°C y 34.5°C (Galindo, et al., 2002). Estas diferencias sugieren que se debe analizar el efecto de otras variables climáticas sobre la actividad reproductiva de *P. coffea*, que en otras especies de insectos también tienen influencia sobre la actividad reproductiva, como la humedad y el fotoperíodo (Chapman, 1998).

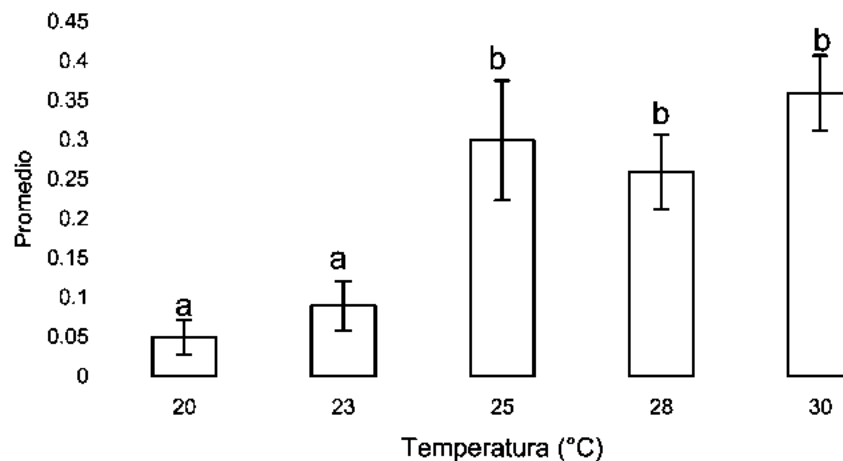


Figura 1. Intentos de parasitismo no exitosos realizados por *P. coffea* a diferentes temperaturas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos por la Prueba de Tukey.

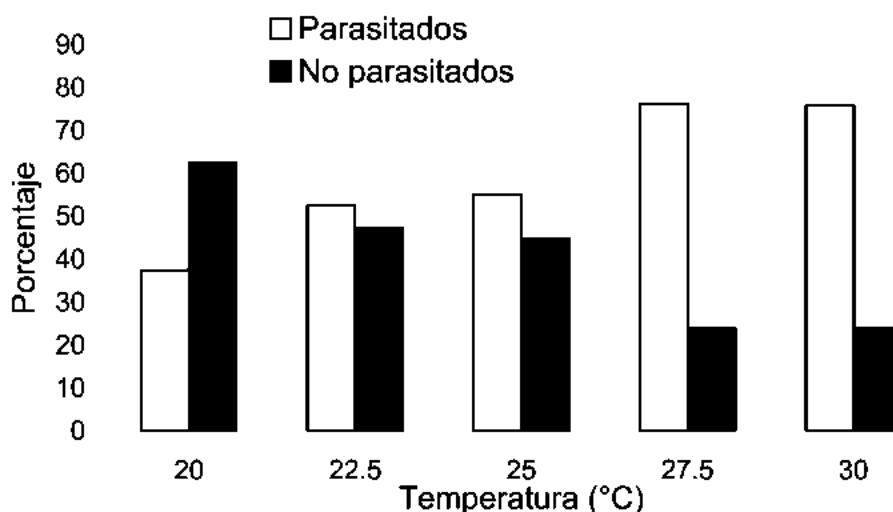


Figura 2. Hospederos parasitados y no parasitados observados durante los intentos de parasitismo realizados por *P. coffea* bajo diferentes temperaturas.

Literatura Citada

- Castillo, A., F. Infante, J. Vera y J. Trujillo. Host-discrimination by *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of the coffee berry borer (Coleoptera: Scolitidae). *BioControl*. Sometido.
- Chapman, 1998. The abdomen, reproduction and development. In: the insects structure and function. University Press, Cambridge. United Kingdom. 257-324 pp.
- Infante, F., S.T. Murphy, J.F. Barrera, J. Gómez, W. de la Rosa and A. Damon. 1994. Cría de *Phymastichus coffea* parasitoide de la broca del café, y algunas notas sobre su historia de vida. *Southwestern Entomologist* 19: 313-315.

- Feldhege, M.R. 1992. Rearing techniques and aspects of biology of *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae), a recently described endoparasitoid of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Café, Cacao, Thé* 31: 45-54.
- Galindo, V. H, F. Infante, A. Castillo, J. F. Barrera, E. Pinson, G. González and J.C. Espinoza. 2002. Establecimiento preliminar del parasitoide *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: *Eulophidae*) en Chiapas, México. *In*: R. Baéz y J. J. Juvera (Eds.) XXV Congreso Nacional de Control Biológico. Hermosillo, Sonora, México. 44-46 pp.
- Le Pelley, R. H. 1968. Las plagas del café. Ed. Labor. Coello, J.S., J.L. Aliberas & P.J. León. 693 pp. Barcelona, Spain.
- López-Vaamonde, C. and D. Moore. 1998. Developing methods for testing host specificity of *Phymastichus coffea* LaSalle (Hym.: Tetrastichinae), a potential biological control agent of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col.: Scolytidae) in Colombia. *Biocontrol Science and Technology* 8: 397-411.

PARASITISM OF NON-TARGET SCOLYTIDS BY THE EXOTIC WASP *Phymastichus coffea* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) IN THE LABORATORY

Francisco Infante¹, Alfredo Castillo¹, Guillermo López¹, Javier Trujillo², Lawrence R. Kirkendall³ & Fernando E. Vega⁴

¹El Colegio de la Frontera Sur. Carretera Antiguo Aeropuerto km 2.5. Tapachula, 30700 Chiapas, MEXICO. ²Colegio de Posgraduados, Montecillo, 56230 Edo. de México, MEXICO. ³Institute of Zoology, University of Bergen, Allégaten 41, N-5007 Bergen, NORWAY. ⁴Insect Biocontrol Laboratory, Bldg. 011A, Room 214. ARS, USDA. Beltsville, MD, USA 20705-2350.

Introducción

Phymastichus coffea La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) is a primary parasitoid of the coffee berry borer (CBB), *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), the most devastating pest of coffee throughout the world (Baker, 1999). This parasitoid has been introduced to many coffee producing countries, such as, Colombia, Guatemala, Honduras, Jamaica, El Salvador, Ecuador, India, Brazil and Mexico. This species is the only known parasitoid of CBB adults, and has been considered as a potential useful tool in IPM programs against *H. hampei* (López-Vaamonde & Moore, 1998; Baker, 1999). Eulophidae is one of the largest families in Hymenoptera with nearly 4000 described species (Noyes, 1998). The subfamily Tetrastichinae, to which *P. coffea* belongs, has an extraordinarily wide host range and exhibits a great variety of life styles. Members of this subfamily attack over 100 families of insects, as well as mites, spiders eggs, and even nematodes (J. La Salle, Personal Communication, 1992). Despite the fact that *P. coffea* has been already imported and released in various countries of the Americas, there are questions as to whether this parasitoid would eventually attack other species of non target scolytids in coffee plantations. There is a great diversity of tropical and subtropical scolytids in coffee agroecosystems of Central America (Wood, 1986; Jordal & Kirkendall, 1998). The objective of this study was to test the host specificity of *P. coffea* in the laboratory, on six species of scolytids commonly found in coffee plantations of Mexico, with *H. hampei* serving as the control. A previous study carried out in Colombia reported that *P. coffea* was able to parasitized *H. obscurus*, *H. seriatus* and *Araptus* sp in the laboratory (López-Vaamonde & Moore, 1998). We included species different to those mentioned above; thus, this study serves to elucidate the potential risk of *P. coffea* on other non target scolytids in nature.

Materials and Methods

Six species of scolytids collected as adults in coffee plantations near Tapachula, Chiapas, were offered to adults females of *P. coffea* in the laboratory. The scolytids were *Hypothenemus hampei* (Ferrari), *Hypothenemus eruditus* Westwood, *Hypothenemus crudiae* (Panzer), *Hypothenemus plumeriae* (Nordlinger), *Scolytodes borealis* Jordal and *Araptus fossifrons* Wood.

The host specificity of *P. coffea* was evaluated in the laboratory using a non-choice test. Fifty specimens of each species were placed individually in 40x10 mm vials and immediately afterwards a *P. coffea* female was placed inside. The insects were observed for five hours under fluorescent lamp of 20 W, emitting light with intensity of 1300 lux/in². We considered oviposition to have occurred when the female parasitoid adopted a characteristic position on the elytra of the borers (López-Vaamonde & Moore, 1998). Hosts attacked by *P. coffea* were transferred individually into vials containing CBB diet and parasitization was corroborated some weeks later, either by the emergence of the progeny, or by dissecting the hosts that did not yield parasitoids. We also registered the time required for the encounter (defined as, the time elapsed between the release of the parasitoid in the arena, until it jumped onto the borer), and the host manipulation (defined as, the time elapsed between the encounter and the end of parasitization). Environmental conditions of the laboratory during the development of parasitoid's progeny were 26±2°C of and 70 to 80% RH.

Results and Discussion

Oviposition attempts by *P. coffea* were observed in all species tested, but development was completed only in three hosts: *H. hampei* (64% parasitism), *H. crudiae* (14%) and *H. eruditus* (6%) (Table 1).

Table 1. Parasitism by *P. coffea* on several species of scolytids under laboratory conditions (N=50 each).

Scolytidae species	Host Plant	Encounter with the host (mean±SE)	Parasitism Attempts (%)	Host manipulation (mean±SE)	Parasitism (%)	Production of Progeny	Parasitoids Development (days)
<i>Hypothenemus hampei</i>	Coffee berries	23.0±4.4	78	5.8±0.7	64 a	54	42.6
<i>Hypothenemus crudiae</i>	Petioles of <i>Cecropia</i> sp.	136.2±26.0	58	4.2±0.8	14 b	14	40.4
<i>Hypothenemus eruditus</i>	Petioles of <i>Cecropia</i> sp.	123.0±23.0	50	1.5±0.4	6 c	4	39
<i>Hypothenemus plumeriae</i>	Petioles of <i>Cecropia</i> sp.	-	36	-	0 d	0	0
<i>Scolytodes borealis</i>	Petioles of <i>Cecropia</i> sp.	-	8	-	0 d	0	0
<i>Araptus fossifrons</i>	Collected with CBB Traps, possibly from Guanacaste seed pods	-	46	-	0 d	0	0

Values with same letter are not significantly differ using a X^2 test; P=0.05.

We did not detect oviposition by *P. coffea* in *S. borealis*, *H. plumeriae* and *A. fossifrons*, nor adult or immature stages of the parasitoid after hosts were dissected. Sex ratio of progeny produced by *P. coffea* in the three species was 1:1. The encounter of *P. coffea* and borers was achieved more quickly in *H. hampei*, the average time recorded was 23 minutes. However, the time for host manipulation was higher in this species than in the other hosts. These findings confirmed the oligophagic behavior of *P. coffea* reported by López-Vaamonde & Moore (1998). Up to now, five species of borers susceptible to be parasitized by this natural enemy have been reported: *H. obscurus*, *H. seriatus*, *Araptus* sp (Lopez-Vaamonde & Moore, 1998), *H. crudiae* and *H. eruditus* (this study). These studies, although conducted in the laboratory, are very important because they reveal that *P. coffea* is not specific to CBB.

Host specificity tests under laboratory conditions are the first step in assessing the potential host range of a given species (Orr *et al.*, 2000; Babendreier *et al.*, 2003a, 2003b). Although, laboratory tests can indeed overestimate the range of hosts under field conditions (Sands, 1997), they are necessary, to give an idea of the number of hosts at risk in the field. Based on laboratory trials, specificity could be demonstrated in nature later on, using field gauze cages and also field experiments (Babendreier *et al.*, 2003b). Parasitism by *P. coffea* on *H. crudiæ* and *H. eruditus* in the laboratory, does not necessarily mean that the borers will be attacked by this parasitoid in nature. Field studies need to be carried out before concluding that these scolytids are alternative hosts of *P. coffea*.

Our results could have important implications in the biological control of CBB in Latin America, if further studies demonstrate that *P. coffea* can parasitize other scolytids in nature. Having additional hosts in the field would reduce the effectiveness in CBB control. On another hand, these species of scolytids could help in the survival of the parasitoid during the intercropping season, when the CBB population is at its lowest level. It has been stated that intercropping season in coffee has a huge interference with the establishment of natural enemies of CBB (Barrera *et al.*, 1990). In the case of *P. coffea* this effect has been clearly detected, and after harvesting, levels of parasitism drop to zero in many locations (Galindo *et al.*, 2002). Finally, taking into consideration that parasitism on non-target hosts is usually much higher in the laboratory than in the field (Orr *et al.*, 2000), we conclude that despite parasitism by *P. coffea* on *H. crudiæ* and *H. eruditus*, the levels encountered in the laboratory do not indicate a risk to the non-target scolytids in the field.

References Cited

- Babendreier, D., Kuske, S. & Bigler, F. 2003a. Non-target host acceptance and parasitism of *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the laboratory. *Biological Control* 26: 128-138.
- Babendreier, D., Kuske, S. & Bigler, F. 2003b. Parasitism on non-target butterflies by *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under field cage and field conditions. *Biological Control* 26: 139-145.
- Baker, P. S. 1999. La broca del café en Colombia. Informe final del proyecto MIP para el café. DFID-CENICAFE-CABI Bioscience. 148 pp.
- Barrera, J. F., Moore, D., Abraham, Y. J., Murphy, S. T. & Prior, C. 1990. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Mexico and possibilities for further action. *Brighton Crop Protection Conference-Pest and Diseases* 4: 391-396.
- Galindo, I. V. H., Infante, F., Castillo, A., Barrera, J. F., Pinson, E., Gonzalez, G. & Espinoza, J. C. 2003. Establecimiento preliminar de *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) en Chiapas, Mexico. XXV Congreso Nacional de Control Biológico. Hermosillo, Sonora, Mexico. pp 44-46.
- Jordal, B. H. & Kirkendall, L. R. 1998. Ecological relationships of a guild of tropical beetles breeding in *Cecropia* petioles in Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology* 14: 153-176.

- López-Vaamonde, C. & Moore, D. 1998. Developing methods for testing host specificity of *Phymastichus coffea* La Salle (Hym.: Tetrastichinae), a potential biological control agent of *Hypothenemus hampei* (Ferrarri) (Col.: Scolytidae) in Colombia. *Biocontrol Science and Technology* 8: 397-411.
- Noyes, J. F. 1998. Catalogue of the Chalcidoidea of the world. Electronic publication (CD-ROM). ETI, Amsterdam.
- Orr, D. B., Garcia-Salazar, C. & Landis, D. A. 2000. *Trichogramma* non-target impacts: a method for biological control risk assessment. In: Follet, P. A., J. J. Duan (Ed). *Non-target effects of biological control*. Kluwer Academic Publishers, USA, pp 111-125.
- Sands, D. P. A. 1997. The "safety" of biological control agents: assessing their impact on beneficial and other non-target hosts. *Memoirs of Museum of Victoria* 56: 611-616.
- Wood, S. L. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. *Great Basin Naturalists Memoirs* 6: 1-1359.

Acknowledgements

This work was possible thanks to the financial support of Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), project 37335-B and USDA-ARS through the grant No.58-1275-2-F068. We are grateful to Román Montes and Giber González for technical assistance, and Guadalupe Nieto for photographic material.

FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DE MOSCAS DE LA FRUTA (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EN EL VALLE DE APATZINGÁN Y LÁZARO CÁRDENAS, MICHOACÁN

Mario A. Miranda-Salcedo¹

¹CEVA-CIPAC-INIFAP, Ap. 262, Apatzingán, Mich., e-mail mmiranda8@hotmail.com.

Palabras clave: Fluctuación, moscas de la fruta, *Anastrepha*.

Introducción

En las regiones tropicales y subtropicales del mundo, las moscas de la fruta atacan un gran número de especies frutales y representan una de las principales limitantes para la exportación de productos agrícolas, por las estrictas barreras cuarentenarias que no permite que la fruta contenga larvas (Aluja 1994). La biología y ecología de las moscas de la fruta es compleja, debido a que en su mayoría son especies polífagas, multivoltinas, con alta fecundidad, longevidad y gran capacidad de desplazamiento (Zwölfer 1983). Para el control de estas plagas se han utilizado históricamente aspersiones químicas con un fuerte impacto en el ambiente y poca efectividad en su control (Aluja 1996).

El género *Anastrepha* es endémico del nuevo mundo y está restringido a ambientes tropicales y subtropicales, se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina, incluyendo la mayoría de islas del Caribe (Aluja 1994). De las 204 especies descritas hasta la fecha, las de mayor importancia económica son: *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann), *A. grandis* Loew, *A. ludens* (Loew), *A. obliqua* (Macquart), *A. serpentina* Wiedemann, *A. striata* Schiner y *A. suspensa* (Loew) (Aluja 1994; Norrbom et al. 1999).

En México se han reportado 32 especies de este género (Hernández-Ortiz y Aluja 1993), en tanto que en el Valle de Apatzingán las más importantes son: *A. ludens*, *A. striata* y *A. obliqua* (Miranda 1989; Miranda y Leyva 1996). Los objetivos fueron: determinar la fluctuación poblacional de moscas de la fruta en el Valle de Apatzingán y Lázaro Cárdenas, Michoacán.

Materiales y Métodos

Para determinar la fluctuación poblacional de las moscas de la fruta en los cultivos de mango, guayaba y toronja, se establecieron 10 sitios de muestreo. Los sitios se ubicaron en base a un gradiente altitudinal. En cada localidad se colocaron cinco trampas Mc Phail, mismas que se revisaron cada semana (mayo 2002-julio 2003). Las moscas colectadas se guardaron en frascos con alcohol al 70% y posteriormente fueron identificadas. Para determinar el nivel de daño y el parasitismo se colectaron frutos de mango, guayaba y toronja en cada sitio de muestreo.

Resultados y Discusión

Se encontró que las moscas de la fruta están presentes durante todo el año en el Valle de Apatzingán y Lázaro Cárdenas. Sin embargo, el sitio con mayor índice de capturas fue Taretan, con un Mosca-Trampa-Día (MTD) de 0.956 y un nivel de daño de 5.5 larvas/Kg de mango. En este sitio se ha capturado el 85.75% de moscas, por lo que en esta condición los huertos tendrían limitantes para comercializar la fruta, debido a que se les exige un MTD inferior a 0.01 y cero daño de fruta. En Buenavista, el MTD fue de 0.02 y el nivel de daño de 3.26 larvas/Kg de mango. En contraste, en Lázaro Cárdenas el MTD fue de 0.006 y el nivel de daño de 5.69 larvas/Kg (ver Cuadro 1).

En la Ruana el MTD fue de 0.1 y el nivel de daño de 23.9 larvas/Kg de guayaba, esta alta infestación se debió a que la cosecha coincidió con el periodo de lluvias y a la falta de medidas de control. En contraste, en Nuevo Urecho el MTD fue de 0.003 y el daño de 4.28 larvas/Kg de guayaba. Estos datos indican que este cultivo puede ser altamente infestado, si no se toman medidas de control. Por lo que respecta a toronja, en Buenavista el MTD fue de 0.006 y el daño de 0.016 larvas/Kg. Finalmente, se constata la ausencia de moscas de la fruta en Francisco J. Mújica (toronja y mango) y la baja presencia en Tepalcatepec (ver Cuadro 1). Los resultados obtenidos nos indican que no ha existido un abatimiento en las poblaciones de moscas de la fruta, al compararlos con los datos históricos (Miranda 1989; Miranda y Leyva 1996).

Cuadro 1. Mosca-Trampa-Día y nivel de daño en los cultivos de mango, toronja y guayaba en el Valle de Apatzingán y Lázaro Cárdenas, Michoacán.

CULTIVO	LOCALIDAD	MTD	# MOSCAS	Kg. FRUTOS	# LARVAS	* MOSCAS
Mango	F.J. Mújica	0	0	9.300	0	
Mango	N. Urecho	0.005	6	13.080	0	
Mango	Taretan	0.956	1812	24.155	133	35
Mango	Buenavista	0.020	37	15.340	50	6
Mango	Tepalcatepec	0.001	1	4.655	0	
Mango	L. Cárdenas	0.006	11	6.326	36	20
Toronja	F.J. Mújica	0	0	62.390	0	
Toronja	Buenavista	0.006	12	62.050	1	1
Guayaba	La Ruana	0.1	251	18.280	437	97
Guayaba	N. Urecho	0.003	7	20.100	86	26

Número de moscas que emergieron en función al daño observado

En el caso de Taretán, se aprecia que la fluctuación poblacional difiere entre ambos años. Por ejemplo, en 2002 el máximo pico poblacional se presentó en mayo, en cambio en 2003 el máximo pico poblacional se observó en marzo con un 7.09 MTD (Figura 1). En contraste, en La Ruana el máximo pico poblacional se detectó en febrero (Figura 2). Es importante recalcar que en la mayoría de los sitios se rebasa el umbral del 0.01 MTD, mismo que se requiere para los huertos candidatos a exportar su fruta. Las especies de moscas de la fruta encontradas en trampas Mc Phail fueron: *A. ludens*

(Loew) (84.32% ataca al mango y cítricos dulces), *A. striata* Schiner (12.21% ataca guayaba) y *A. obliqua* Macquart (3.08% ataca al mango y ciruela). Finalmente, los resultados proporcionan evidencias importantes del status que guardan las moscas de la fruta y al compararlos con datos históricos, infieren el poco avance logrado en su control en la mayoría de los sitios seleccionados (ver Cuadro 1).

Figura 1. Fluctuación de moscas de la fruta en mango, Taretan (Aw1) 2002-2003.

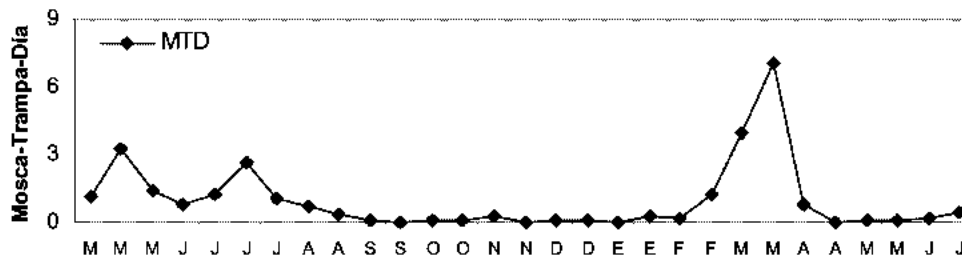
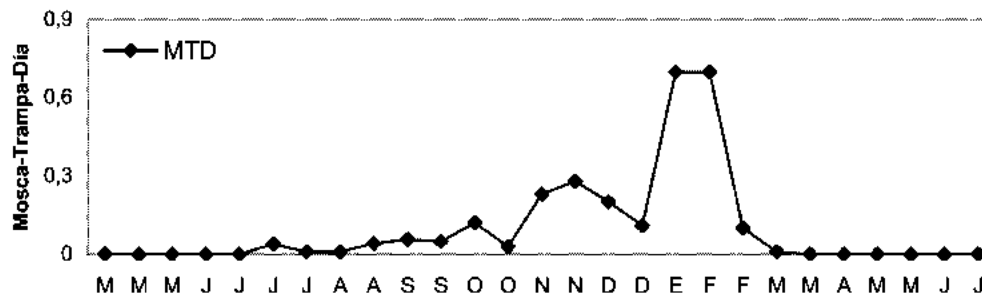


Figura 2. Fluctuación de moscas de la fruta en guayaba, La Ruana (BS1) 2002-2003.



Literatura citada

- Aluja, M. 1994. Bionomics and management of *Anastrepha*. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 155-73.
- Aluja, M. 1996. Future trends in fruit fly management, p.p. 309-320. In B. A. McPherson & G. J. Steck (eds). *Fruit Fly Pests: World Assessment of their Biology and Management*. St Lucie Press, Del Ray Beach, F.L.
- Hernández-Ortiz, V. & M. Aluja. 1993. Lista preliminar de especies del género neotropical *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) con notas sobre su distribución y plantas hospederas. *Folia Entomol. Mex.* 88: 89-105.
- Miranda, S. M. A. 1989. Identificación de las especies de moscas de la fruta presentes en el Valle de Apatzingán, Mich. y sus hospederos. Segunda Reunión Científica Forestal y Agropecuaria de Michoacán. SARH-INIFAP-CIPAC-Mich.

Miranda, S. M. A & J. L. Leyva. 1996. New records of *Anastrepha sagittata* and *A. montei* (Diptera: Tephritidae) from western México. *Fla Entomol.* 79: 264-265.

Norrbom, A.L., R. A. Zucchi & V. Hernández-Ortiz. 1999. Phylogeny of the genera *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Trypetinae: Toxotrypanini) based on morphology. In M. Aluja & A.L. Norrbom (eds). *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. CRC Press, Del Ray Beach Florida.

Zwölfer, H. Z. 1983. Life systems and strategies of resource exploitation in tephritids. P.p.16-30. In R. Cavalloro (ed.). *Fruit Flies of Economic Importance*. A. A. Balkeman.

MONITOREO DE ÁFIDOS VECTORES DEL VTC Y SUS ENEMIGOS NATURALES EN HUERTOS CITRÍCOLAS EN MICHOACÁN

Mario Miranda¹, Nancy Villegas², Rebeca Peña², Fernando Bahena³ y Víctor Medina¹

¹CEVA-CIPAC-INIFAP, Ap. 262, Apatzingán, Mich., e-mail mmiranda8@hotmail.com;

²IPN-Lab. Entomología, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala S/N Col. Casco de Santo Tomas CP 11340 México, D.F.; ³CENAPROS-INIFAP, Ap. 7-116, Morelia, Mich.

Palabras Claves: vectores VTC, *Toxoptera*, enemigos naturales.

Introducción

La "tristeza" es la enfermedad virótica de mayor importancia económica mundial en el cultivo de los cítricos. El virus tristeza se trasmite por injerto de yemas y posteriormente la diseminación puede realizarse por varias especies de áfidos, entre los cuales sobresalen por su eficiencia *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) y *Aphis gossypii* Glover (Yokomi 1993; Rocha-Peña & Byerly 1998). Actualmente tanto la enfermedad como su principal vector, *T. citricida* se encuentran en Yucatán y Quintana Roo, esto representa una seria amenaza para la citricultura nacional, debido a la predominancia del naranjo agrio como portainjerto y a la alta susceptibilidad del Limón Mexicano. Desde esta perspectiva uno de los factores epidemiológicos esenciales para el estudio del VTC fue determinar la abundancia y fluctuación poblacional de los áfidos asociados a cítricos y su implicación en programas de manejo integrado de plagas (Rocha-Peña *et al.* 1995; Mora *et al.* 1999). Esta información es importante en las diversas áreas citrícolas del país, por lo tanto bajo este contexto se realizó el siguiente trabajo. Los objetivos fueron: identificar las especies de áfidos presentes en cítricos, conocer su fluctuación poblacional, identificar algunos enemigos naturales y evaluar productos alternativos.

Materiales y Métodos

Se seleccionaron cinco sitios de muestreo (Apatzingán, Parácuaro, Buenavista, Múgica y Gabriel Zamora). En cada sitio se muestrearon al azar 20 árboles y de cada árbol se revisaron 20 brotes tiernos. Los muestreos se efectuaron cada 15 días (abril 2000 a marzo 2002). Las variables experimentales fueron: número de ápteros, alados, ninfas por brote y enemigos naturales. Para la identificación de los parasitoides se colectó material vivo (momias) el cual se conservó en contenedores hasta su emergencia. El material biológico se guardó en frascos con alcohol al 70 %. La identificación de áfidos fue realizada por Villegas y Peña (Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN) y de los parasitoides por Lomelí (Colegio de Postgraduados). Los productos que se evaluaron fueron: Pyrimor (1 g/lt de agua), Biocrack (5 ml/lt agua), Folimat (2.5 ml/lt de agua), Nim (1.5 ml/lt de agua), Mycontrol (5 ml/lt de agua), Jabón (2 g/lt de agua) y el Testigo. Los ensayos se efectuaron en las poblaciones de áfidos presentes en la maleza *Asclepias aelata*.

Resultados y Discusión

Se identificaron cuatro especies asociadas a cítricos: *Toxoptera auranti* (B. de F.), *Aphis gossypii*, *A. spiraecola* (Patch) y *Myzus persicae* (Sulzer). La especie más abundante fue *T. aurantii* (64.4 %), seguida de *A. spiraecola* (15.5%) y *A. gossypii* (6.6%). Los resultados coinciden con los de Peña del Río (1987), quien citó la ocurrencia de las mismas especies en plantaciones de cítricos de Nuevo León, Tamaulipas y Veracruz. En contraste, Ramírez y Guerrero en (1999) sólo registraron a *T. aurantii* y *A. spiraecola* (= *citricola*) en Yucatán. Se confirma la ausencia de *T. citricida* en estos cinco municipios del Valle de Apatzingán. También se ha observado que las infestaciones por especies pueden ser diferenciales en las especies de cítricos y en los municipios, por lo que sería recomendable continuar con los monitoreos y relacionarlos con la fenología de los cítricos. Los máximos picos poblacionales de pulgones ápteros y alados se presentan de octubre a enero. Sin embargo las poblaciones en Gabriel Zamora están presentes a partir de agosto (Fig. 1).

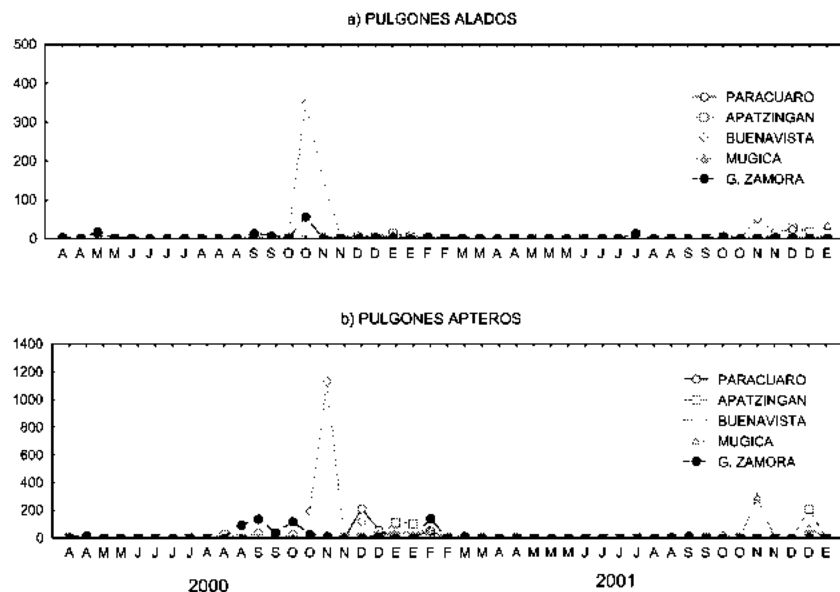


Figura 1. Fluctuación poblacional de a) pulgones alados y b) ápteros en el Valle de Apatzingán.

Los enemigos naturales identificados son: los depredadores *Cycloneda sanguinea*, *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Sinea* sp., *Zelus* sp. (Hemiptera: Reduviidae), *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), los parasitoides *Pachyneuron* sp., *Lysiphlebus testaceipes* y *Aphidius* sp. Además de diferentes especies de arañas y moscas de la familia Sirphidae. En la Figura 2 se aprecia a lo largo del año la presencia de huevos y adultos del depredador *Chrysoperla carnea*. En el caso particular de las arañas se observa que existen altas poblaciones, lo cual puede incidir en el control natural de diferentes plagas agrícolas presentes en cítricos del Valle de Apatzingán. La presencia de estos organismos benéficos mantiene la densidad de áfidos a bajos niveles en las huertas de cítricos, con lo que se puede reducir el uso de

insecticidas. En la maleza *Asclepia aelata* se encontraron: *Aphis nerii*, *A. spiraecola*, *T. aurantii* y *Uroleucon* spp. La principal especie fue *Aphis nerii*, la cual es el vector más eficiente del virus de la mancha anular del papayo. En esta hospedera se presentaron las mismas especies de enemigos naturales que en los cítricos. En la Figura 3 se observa el efecto del parasitismo en áfidos presentes en la maleza *Asclepia aelata*, el cual fluctúa de un cero a un 40 %. De los productos evaluados para el control de áfidos. Se observó que el Pyrimor, el Biocrack, el Folimat, el Nim y el Mycontrol pueden abatir las poblaciones de áfidos. Sin embargo, los productos que tienen menor impacto en los enemigos naturales son el Biocrack, el Nim y el Mycontrol.

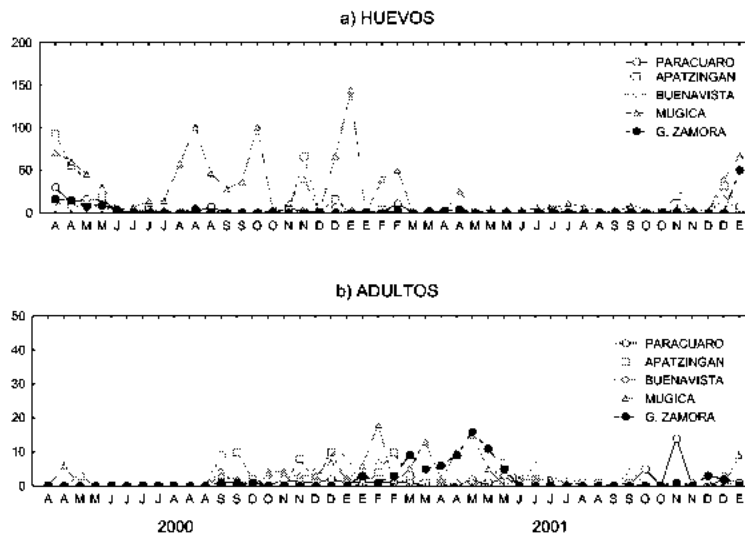


Figura 2. Fluctuación poblacional de a) huevos y b) adultos de *Chrysoperla carnea* en el Valle de Apatzingán.

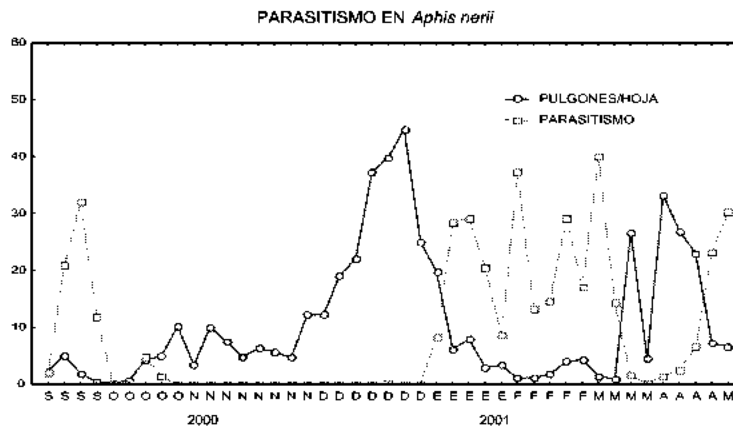


Figura 3. Fluctuación poblacional y parasitismo de áfidos en *Asclepia aelata* en el Valle de Apatzingán (N=21 hojas por muestra).

Literatura citada

Mora, A. G., E. M. A Gutiérrez., T. E. C. Palacios, H. J. Cisneros, M. D. L. Ochoa, M.A.Villegas & R. M. Peña. 1999. Vectores del citrus tristeza closterovirus, su

- epidemiología y plantas transgénicas. IV Curso Internacional de Citricultura. Manejo Integrado de los Cítricos. Cd. Victoria Tamps del 21 al 25 de septiembre 178-201.
- Ramírez, Ch. J. L. & R. Guerrero. 1999. Monitoreo de *Toxoptera citricidus* Kirkaldy y otros áfidos vectores del VTC en huertos citrícolas en Yucatán México. VIII Congreso de Horticultura. 185 p.
- Rocha-Peña, M.A., R.F. Lee, R. Lastra, C.L. Niblett, F.M. Ochoa-Corona, S.M. Garnsey & R. K. Yokomi. 1995. Citrus tristeza virus and its vector *Toxoptera citricida*, threats to citrus production in the Caribbean, Central and North American. *Plant Disease* 79: 437-445.
- Rocha-Peña, M. A. & K. F. Byerly. 1998. Manejo integrado de la tristeza de los cítricos escenario potencial en México. Simposium internacional de protección fitosanitaria. 157-177 p.
- Yokomi, R. 1993. The brow citrus aphid: its role in the transmisión of CTV Citrus Tristeza Virus and Brown Citrus Aphid Wokshop. Lake Alfred, Florida. April 1-2. 19-20 pp.

INDICADORES DEL COMPORTAMIENTO DE PARASITOIDES DE LAS PLAGAS DEL CULTIVO DE TOMATE EN CAMPECHE, MEXICO

Martín Tucuch-Cauich¹ y Marco Antonio Reyes-Rosas

¹Campo Experimental Edzna-INIFAP, carr. Cayal-Edzná km. 16.5, e-mail: m_tucuch@yahoo.com.mx y Campo Experimental Río Bravo-INIFAP, carr. Matamoros-Reynosa km. 61, Cd. Río Bravo, Tamps., e-mail: cgrandis@cirne.inifap.conacyt.mx

Palabras clave: tomate, parasitoides, índices ecológicos

Introducción

El conocimiento de las principales características del comportamiento de los enemigos naturales es fundamental para la comprensión de los fenómenos poblacionales de los mismos dentro del Manejo Integrado de Plagas, en ese contexto, en el estado de Campeche, México se realizó una investigación con el objetivo de determinar el complejo de enemigos naturales asociados a las plagas de tomate, así como estudiar sus principales índices poblacionales, de manera tal que esas características sean útiles dentro del programa de manejo de las principales plagas.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en 10 campos de tomate en el estado de Campeche durante los ciclos de producción 1998-1999 y 1999-2000. Se realizó muestreo directo en el follaje de los cultivos, tomando como tamaño de muestra 100 folíolos, las muestras se tomaron al azar cada siete días durante las etapas de desarrollo y fructificación de los cultivos.

El follaje se revisó en el laboratorio de entomología del C.E. Edzná del INIFAP, retirando de ellas los inmaduros de mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) y las larvas de minador de la hoja de las hortalizas (*Liriomyza sp.*), que fueron en los dos ciclos las principales plagas. El material retirado se confinó en cajas petrí bajo condiciones de temperatura a 26° C y 70 % de humedad relativa. Se realizaron revisiones diarias del material para determinar la emergencia de los enemigos naturales, los que posteriormente se colectaban y se preservaban en alcohol al 70 % para su posterior identificación.

Los ejemplares fueron enviados al Laboratorio de Control Biológico del INIFAP en el C.E. Río Bravo donde fueron montados en triángulos entomológicos a nivel de la mesopleura, con sus correspondientes datos de campo y determinados con las claves de: Grisel y Schauff (1990), Cave (1995) y Gibson et al (1997) entre otros.

Los datos obtenidos fueron analizados aplicando diversos índices ecológicos como son la dominancia relativa, distribución espacial, frecuencia de aparición e índice de similitud de Sorensen.

Resultados y Discusión

Dominancia relativa de parasitoides en el cultivo de tomate.

En el Cuadro 1 se presentan los índices de dominancia de los géneros asociados a las plagas del cultivo de tomate en el ciclo 1998-1999, el género de mayor dominancia en una localidad fue *Telenomus* en el rancho Gallito, parasitoide asociado a huevecillos de lepidópteros donde se observó el 100 % de parasitismo en muestras de campo. En toda la región *Trichogramma* destacó como el de mayor dominancia, sin embargo cabe aclarar que en la localidad donde se observó la alta dominancia se realizaron liberaciones de este género para el combate de lepidópteros, lo que puede vislumbrar la efectividad del control biológico de plagas. Después de *Trichogramma* se observa alta dominancia por *Telenomus*.

Cuadro 1. Índice de dominancia relativa (%) de parasitoides asociados a las plagas del cultivo de tomate en Campeche, México. Ciclo 1998-1999. INIFAP. 2000.

Especies	localidades				total
	Gallito	Ana María	Cayal	Blanca Flor	
<i>Opius</i>	0.0	3.305	0.0	31.81	7.01
<i>Encarsia</i>	26.31	1.65	100	31.81	13.45
<i>Neochrysocharis</i>	0.0	3.305	0.0	36.36	6.43
<i>Gryon</i>	0.0	20.66	0.0	0.0	14.61
<i>Telenomus</i>	73.68	11.5	0.0	0.0	16.37
<i>Trichogramma</i>	0.0	59.50	0.0	0.0	42.10

Frecuencia de aparición de parasitoides.

La frecuencia de aparición de parasitoides asociados a las plagas del tomate en los dos ciclos de muestreo, se observa en el Cuadro 2, el género, *Neochrysocharis* se presentó como el parasitoide con mayor frecuencia en el minador de la hoja de las hortalizas, seguido por *Opius*. Ambas especies se presentaron frecuentemente en el ciclo 1999-2000. Lo anterior indica que existen buenas perspectivas en la región para el control biológico natural del minador de la hoja de las hortalizas mediante el manejo adecuado de los agroecosistemas.

Cuadro 2. Frecuencia de aparición (%) de géneros de parasitoides asociados a los insectos plaga en el cultivo de tomate en los ciclos 1998-1999 y 1999-2000. INIFAP. 2000.

Especies	1998-1999	1999-2000
<i>Neochrysocharis</i>	33.33	66.66
<i>Encarsia</i>	20.0	28.0
<i>Opius</i>	23	53.8
<i>Telenomus</i>	33.33	0.0

Distribución espacial de los parasitoides en el cultivo de tomate

Se observó que el género *Neochrysocharis* presentó una distribución de tipo uniforme en los tres índices aplicados en el muestreo 1999-2000 posiblemente influenciado por la alta variabilidad en su distribución y una escasa cantidad de individuos, por lo que presentó una media relativamente baja en sus poblaciones (Cuadro 3) .

Similitud de poblaciones de parasitoides en el cultivo de tomate.

En el cultivo de tomate las poblaciones de parasitoides se presentaron con mayor índice de similitud en el ciclo 1998-1999 en las localidades de Gallito y Cayal y los de Ana María y Blanca Flor, lo que significa que existe similitud entre las poblaciones de parasitoides observados en esas localidades (Cuadro 4).

Cuadro 3. Distribución espacial de las especies de parasitoides asociados a las Plagas del cultivo de tomate en los ciclos 1998-1999 y 1999-2000. INIFAP 2000.

Indicador	Año	Género			
		<i>Opius</i>	<i>Neochrysocharis</i>	<i>Encarsia</i>	<i>Telenomus</i>
Media	1998-99	0.6153	0.8300	0.7200	2.25
	1999-00	1.5897	6.6666	0.7600	0.0
Varianza	1998-99	2.6923	1.9697	3.1260	15.4722
	1999-00	14.8974	1.4034	2.1066	0.0
Lexis (L) >1 A, =1 P <1 U	1998-99	2.0917	1.5404	2.0800	2.6223
	1999-00	3.0612	0.4588	1.6648	0.0
Sothwood (Is) >1 A, =1 P, <1 U	1998-99	4.3755	2.3731	4.3416	6.876
	1999-00	9.3712	0.2105	2.7718	0.0
David & Moore (Idm) >0 A, =0 P, <0 U	1998-99	3.3755	1.3716	3.3416	5.876
	1999-00	8.3712	-0.7894	1.7718	0.0

Cuadro 4. Índice de Similitud de Sorensen (Iss) de las comunidades de parasitoides asociados a las plagas del cultivo de tomate en 1998-1999. INIFAP. 2000

localidad	Localidades contraste	Índice de similitud (Iss)
Gallito	Ana María	50
	Cayal	66.66
	Blanca Flor	40
Ana María	Cayal	28.57
	Blanca Flor	66.6
Cayal	Blanca Flor	50

A la luz de los resultados se observó que en los dos ciclos de muestreo se observaron similares parasitoides asociados a las principales plagas, mosquita blanca y minador de la hoja de las hortalizas, así como una alta similitud en las poblaciones de parasitoides

se observó que salvo excepciones, la dispersión espacial de los parasitoides por fechas de muestreo es agregada en los dos ciclos de muestreo en ambos cultivos.

Literatura Citada

- Cave, R.D. 1995. Parasitoides de plagas agrícolas en América Central. 1ª. Edición. Zamorano Academic Press. Tegucigalpa, Honduras. 201. pp.
- Gibson, G.P.A., Huber, J.T., Wolley, J.B. 1997. annotated keys to the genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). National research Council of Canada. 794. pp.
- Grissel, E.E., Schauff, M.E.; 1990. A handbook of the families of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). Entomological Society of Washington. EU. 85 pp.

IMPACTO DE TRATAMIENTOS FOLIARES Y CULTIVOS INTERCALADOS SOBRE ESPECIES PARASITOIDES DE HUEVECILLOS DE GUSANO ROSADO (*Pectinophora gossypiella*) EN ALGODÓN (*Gossypium hirsutum*).

José G. Loya Ramírez¹, Joe Ellington², M. del Carmen Lucero Pulido¹ Tracey Carrillo².

¹ Universidad Autónoma de Baja California Sur, Departamento Agronomía, Carretera al Sur, Km. 5.5. La Paz, B.C.S. CP. 23080, Email: jloya@uabcs.mx ; ² Universidad Estatal de Nuevo México, Departamento de Entomología, Nuevo México, E.U.A.

Palabras Claves: Parasitoides, gusano rosado, reservorios de insectos, manejo integrado.

Introducción

El gusano rosado del algodnero (*Pectinophora gossypiella*) es considerado como la segunda plaga de mayor importancia en los estados del Suroeste de los Estados Unidos de Norteamérica (Luckmann y Metcalf 1975). En el Valle de la Mesilla, específicamente, es la plaga de mayor importancia (Ellington 1996). Por lo anterior, la evaluación de medidas que puedan ser incorporadas al manejo integrado del gusano rosado es una actividad permanente en la investigación entomológica.

En el control biológico de gusano rosado del algodnero (GRA), el uso de depredadores y parasitoides de larvas resultan un objetivo poco viable debido a que la larva está expuesta sólo durante unas cuantas horas. La larva es muy pequeña y activa, la cual se introduce en la bellota el mismo día que emerge del huevo. Además, los parasitoides de larvas que han sido introducidos de otros países, hasta ahora, no han tenido el éxito esperado (Loya, 2002). El objetivo de este trabajo fue estudiar el impacto de diferentes tratamientos foliares y cultivos intercalados sobre las poblaciones de parasitoides de huevecillos de gusano rosado (*Pectinophora gossypiella*).

Materiales y Métodos

La dinámica poblacional de parasitoides de huevecillos de gusano rosado fue estudiada en cuatro diferentes cultivos y parcelas de algodón solo o intercalado en 1996.

La densidad de los parasitoides de huevecillos fue evaluada en una parcela de algodón sin tratamiento (testigo), en cuatro parcelas de algodón, donde fueron aplicados tratamientos para control de GRA, y cuatro cultivos intercalados (alfalfa, colza, chícharo velludo y esparceta). Este experimento fue establecido en el Rancho Experimental Layandeker de la Universidad Estatal de Nuevo México, U.S.A. La variedad de Algodón Acala 1517 fue sembrada en surco, al igual que las especies intercultivadas, con espacio entre surcos de 1 metro. Los diferentes tratamientos y los tamaños de las parcelas están resumidos a continuación.

1.- Parcela de algodón testigo, 0.35 ha. No fue tratada para control de insectos.

- 2.- Mycotrol[®] (Beauveria bassiana) Strain GHA, 0.21 ha. Cuatro aplicaciones 1.12 kg/ha.
- 3.- Algodón intercalado, 0.35 ha. Cinco franjas de 4 surcos, cada franja se intercaló entre cada especie de intercultivo. Esta parcela no recibió tratamiento químico.
- 4.- Alfalfa (Medicago sativa L.), 0.70 ha. Cuatro surcos sembrados a doble hilera.
- 5.- Colza (Brassica napus L.), 0.07 ha, (aprox. 200,000 plantas/ha).
- 6.- Esparceta (Onobrychis viticiifolia Scop), 0.70 ha, (aprox. 500,000 plantas).
- 7.- Chicharo Velludo (Vicia Villosa), 0.70 ha, (aprox. 500,000 plantas/ha).
- 8.- Checkmate[®] - Mycotrol[®], 0.32 ha. Cuatro aplicaciones de Mycotrol[®], tres de Checkmate[®] y tres de ambos mezclados en la aspersora.
- 9.- Checkmate[®] - Lorsban[®], 0.01 ha. Dos aplicaciones de Checkmate[®], una de Lorsban[®] y otra de Checkmate[®] + Lorsban[®] mezclados en la aspersora.

El impacto del cultivo intercalado y tratamientos químicos diferentes fueron evaluados, basados en la densidad media de avispas en cada tratamiento. Todas las parcelas fueron muestreadas aleatoriamente en seis fechas con el aspirador "IV Vacuum Sampler Insectavac" (Ellington et al. 1984) durante la época de crecimiento. Cuatro muestras de cada tratamiento fueron tomadas en cada una de las fechas. Cada muestra consistió en la aspiración de 30.48 m lineales de surco. El contenido de cada muestra fue colocado en una bolsa de plástico "Zip Lock[®]". Estas fueron guardadas en una hielera para después congelar la muestra y posteriormente revisarlas. El exceso de basura fue separado de las muestras con un cedazo, las avispas pequeñas fueron separadas y contadas a través del microscopio. Las avispas parasitoides fueron contadas e identificadas hasta familia.

El experimento fue analizado como un diseño completamente al azar. un andeva fue realizado para cada fecha. Las fechas que mostraron diferencias entre tratamientos fueron sometidos a una prueba de DMS al 0.05.

Resultados

El cuadro 1 muestra el número promedio de afelinidos en nueve parcelas. Hubo diferencia significativa sólo en septiembre 3 . En esta fecha, esparceta tuvo el mayor promedio, 39 afelinidos/ 30.48 m lineales. La media mayor durante todo el ciclo correspondió a esparceta, 6.65 afelinidos/ 30.48 m lineales.

El cuadro 2 muestra el número promedio de avispas de la familia Trichogrammatidae en nueve parcelas. Las densidades promedio mayores en julio 9 y 23, fueron registradas en esparceta, con 40.25 y 4 avispas/ 30.48 m lineal, respectivamente. Mientras que en julio 30, chícharo velludo y colza registraron la mayor densidad promedio (15.5 y 5 avispas/30.48 m lineales, respectivamente). En esta fecha, alfalfa y esparceta resultaron significativamente iguales y en segundo lugar, con promedios de 2.5 y 3.0 avispas/30.48 m lineales, respectivamente.

Cuadro 1.- Densidad promedio de afelinidos en 30.48 m lineales, en una parcela testigo cuatro tratamientos de algodón y cuatro intercultivos. Universidad Estatal de Nuevo México, 1996.

Tratamientos	09-Jul	23-Jul	30-Jul	09-Ago	27-Ago	03-Sep	Prom.
Testigo	0.3 a	0.0 a	0.3 a	0.5 a	0.8 a	2.3 b	0.7
Mycotrol®	0.0 a	0.0 a	0.0 a	1.3 a	0.3 a	4.3 b	0.98
Algodón intercalado	0.0 a	0.0 a	0.5 a	1.0 a	1.0 a	5.0 b	1.25
Alfalfa	1.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 b	0.16
Colza	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	1.3 b	0.21
Chicharo velludo	1.3 a	1.0 a	0.0 a	1.0 a	1.0 a	12.0 b	2.71
Esparceta	0.3 a	0.0 a	0.3 a	0.0 a	0.3 a	39.0 a	6.65
Mycotrol® + Checkmate®	1.3 a	0.5 a	0.3 a	0.3 a	*	0.0 b	0.48
Lorsban® + Checkmate®	0.0 a	0.8 a	0.8 a	1.3 a	1.0 a	0.3 b	0.7

* Dato perdido

Cuadro 2- Densidad promedio de avispas de la familia Trichogrammatidae en 30.48 m lineales en una parcela testigo, cuatro tratamientos de algodón y cuatro intercultivos. Universidad Estatal de Nuevo México, 1996.

Tratamientos	09-Jul	23-Jul	30-Jul	09-Ago	27-Ago	03-Sep	Prom.
Testigo	0.25 b	0.0 b	0.75 b	0.25 a	0.25 a	1.0 b	0.41
Mycotrol®	0.25 b	0.0 b	0.25 b	0.0 a	0.0 a	2.25 b	0.45
Algodón intercalado	0.25 b	0.0 b	0.0 b	0.0 a	0.25 a	0.50 b	0.16
Alfalfa	2.0 b	0.0 b	2.5 ab	0.0 a	0.0 a	0.25 b	0.79
Colza	0.0 b	0.0 b	5.0 a	0.0 a	0.0 a	0.25 b	0.87
Chicharo velludo	11.75 b	1.0 b	15.5 a	3.5 a	0.25 a	93.0 a	20.83
Esparceta	40.25 a	4.0 a	3.0 ab	4.0 a	1.0 a	8.0 b	10.04
Mycotrol® + Checkmate®	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0 a	0.0 a	0.0 b	0.0
Lorsban® + Checkmate®	0.25 b	1.0 a	0.25 b	0.0 a	0.75 a	0.0 b	0.37

Discusión

En general, el sistema de cultivo intercalado fue un buen reservorio de poblaciones de parasitoides en el cual sobresalieron chicharo velludo y esparceta. En general, las parcelas de intercultivo tienen densidades más altas que la parcela testigo. Sin embargo, no existe evidencia de la migración desde las parcelas de intercultivo hacia las franjas de algodón que estuvieron alternadas con los cuatro intercultivos, ya que no hay diferencia significativa entre los promedios de la parcela testigo y el algodón intercalado.

Este resultado sugiere que el establecimiento de franjas de especies que funcionan eficientemente como reservorios de fauna benéfica no es suficiente, sino que se tienen que idear e instrumentar prácticas culturales que promuevan la migración de los enemigos naturales desde los cultivos reservorios hacia el cultivo de interés comercial.

Literatura Citada

- Ellington, J., K. Kinser, M. Cardenas, J. Duttie, and Y. Lopez. 1984. The insectovac: a high clearance, high-volume arthropod vacuuming platform for agricultural ecosystems. *Environ. Entomol.* 13: 259-265.
- Loya, R.J. 2003. Preliminary Studies on the Integrated Control of Pink Bollworm in Cotton. Dissertation. Department of Agronomy and Horticulture. New Mexico State University
- Luckmann, W.H. and L.M. Metcalf. 1975. The pest management concept. Pp. 3-36. In R.L. Metcalf and W.H. Luckmann (eds.). *Introduction to Insect Pest Management*. John Wiley y Sons, New York.

CAPACIDAD DEPREDADORA DE *Piona amimitli* (ACARI: HYDRACHNIDIA) SOBRE LARVAS DE *Culex restuans* (DIPTERA: CULICIDAE)

Carlos Humberto Marín Hernández¹, Cristina Cramer Hemkes¹, Humberto Quiroz Martínez² y Violeta Ariadna Rodríguez Castro².

¹Laboratorio de Acarología "Anita Hoffmann", Facultad de Ciencias, UNAM, Circuito exterior, Ciudad Universitaria, México, D.F., C.P. 04510. chmarin_78@yahoo.com.mx; ²Laboratorio de Entomología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. C.P. 66450.

Palabras Clave: *Culex restuans*, *Piona amimitli*, depredación.

Introducción

Los mosquitos transmisores del paludismo, dengue, fiebre amarilla y encefalitis al ser humano, representan uno de los problemas sanitarios más graves a atender en nuestro país y en el mundo entero (Marín, 2002). Actualmente debido al número de casos y velocidad de expansión, la encefalitis causada por el Virus del Oeste del Nilo, ha cobrado mayor interés, en 1998 se localizaba solamente al norte de África, el Medio Oriente, el Cáucaso, los Balcanes y la Cuenca Mediterránea y los primeros casos en el continente americano, aparecen en los Estados Unidos en el año de 1999, extendiéndose rápidamente a otras áreas (Díaz *et al*, 2002). Actualmente el Centro de Control de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC), señala que existen 22 especies de mosquitos que potencialmente pueden ser transmisoras del Virus del Oeste del Nilo, dentro de las que se encuentra *Culex restuans*, especie ampliamente distribuida en el Distrito Federal, México. (Vargas y Cárdenas, 2002).

El uso de diversas especies de artrópodos acuáticos, como agentes de control biológico ha sido considerado como una opción factible para la regulación de mosquitos, entre éstos está el coleóptero *Tropisternus lateralis* y las especies de hemípteros *Notonecta irrorata* y *Buenoa* sp. (Quiroz-Martínez, 2000), asimismo se ha considerado a *Piona amimitli*, especie de ácaro acuático cuya capacidad de depredación sobre larvas de *Culex restuans*, se evalúa a través de este trabajo.

Materiales y Métodos

Trabajo de Campo.

Los ejemplares de *Piona amimitli* fueron colectados en los canales del embarcadero "Belem" localizado en Xochimilco, D.F. Estos ácaros asociados a la planta acuática *Egeria densa* se recolectaron con la ayuda de una red entomológica, la muestra se vertió en una charola blanca de donde se separaron los ácaros con ayuda de un gotero y se colocaron en frascos de plástico para su traslado al laboratorio de Acarología "Anita Hoffmann" de la Facultad de Ciencias, UNAM, donde se montó la fase experimental)

Las larvas de *Culex restuans* se obtuvieron a partir de las puestas ó barquillas de huevecillos colectados en floreros del panteón Xilotepec (Xochimilco, D.F.) Para su traslado, las barquillas recolectadas con un cucharón de plástico, se colocaron dentro de un frasco de plástico de 200 ml.

Trabajo de laboratorio.

Una vez en el laboratorio, las barquillas de huevecillos se colocaron en una cámara de ambiente controlado, con un fotoperíodo de 18 horas luz y 6 oscuridad, una temperatura de 18 ± 22 °C y una humedad de 46 ± 48 %. Pasadas 24 horas las larvas emergieron y se proseguía a utilizarlas en los experimentos.

Para saber que estadio larval se utilizaría para evaluar la capacidad de depredación de *Piona amimitli* se colocaron a 5 individuos de cada uno de los estados de desarrollo (ninfas, hembras y machos) dentro de frascos de vidrio de 170 ml con 150 ml de agua declorada y con un ayuno de 24 horas. Estos organismos se expusieron a larvas de 1º, 2º y 3º estadio de *Culex restuans* (densidad de 30), registrándose el número de presas consumidas al cabo de 24 horas y con tres repeticiones para cada densidad de presa. El estadio larval que fue más consumido por cada uno de los estado de desarrollo de *Piona amimitli* se utilizó para llevar acabo la evaluación de la capacidad depredadora.

La capacidad depredadora de *Piona amimitli* fue evaluada para ninfas, hembras y machos los cuales se colocaron en frascos de vidrio de 170 ml con 150 ml de agua declorada y con un ayuno de 24 horas; exponiéndose a 5 individuos de cada uno de los estados de desarrollo a las densidades de 10, 20, 30, 40 y 50 larvas de primer estadio de *Culex restuans*; se registró el número de presas consumidas al cabo de 24 horas, y se realizaron tres repeticiones para cada densidad de presa. Los resultados fueron analizados mediante una regresión lineal, coeficiente de correlación de Pearson (r), coeficiente de determinación (r^2) y la significancia del coeficiente β_1 . La capacidad de búsqueda (a') y el tiempo de manipuleo (T_h) se obtuvieron mediante el modelo de respuesta funcional de Holling (1959).

Resultados y Discusión

El estadio larval de *Culex restuans* que obtuvo el mayor grado de depredación por parte de *Piona amimitli*, fue el 1º estadio (Cuadro 1).

Cuadro1. Depredación de los estados de desarrollo de *Piona amimitli* sobre los tres primeros estadios de *Culex restuans*.

Estado de desarrollo	1º estadio	2º estadio	3º estadio
Ninfas	25±1.15	7±1.15	0.33±0.33
Hembras	29.3±0.66	21±0.57	0.66±0.33
Machos	29±0.57	7±0.57	0.33±0.33

El coeficiente de regresión (β_1) en los tres casos fue significativo, así como la relación entre la densidad de presas y presas consumidas explicada por los coeficientes de correlación de Pearson y de determinación (Cuadro 2).

Pérez-Serna (1997) señala que en una exposición de 24 hrs, el registro más alto de la capacidad de búsqueda es de 0.04, por lo que los resultados obtenidos en el caso de las hembras y los machos, corresponden al valor máximo de la depredación. Los datos de la capacidad de búsqueda obtenidos, al compararlos con los observados para insectos acuáticos, como lo indica Quiroz-Martínez (2000) (*Ambrysus parviceps* 0.038, *Buenoa* sp. 0.0295, *Notonecta irrorata* 0.0426 y *Tropisternus lateralis* 0.0124) además de los obtenidos por esta misma especie sobre larvas de 1er estadio de *Aedes aegypti* (ninfas 0.0155, hembras 0.0417 y machos 0.0430) (Marín, 2002), nos indican que los tres estados de desarrollo de *Piona amimitli* poseen una capacidad de búsqueda equivalente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores obtenidos de regresión lineal y del modelo de Holling (1959).

Estado de desarrollo	R	r ²	β_0	β_1	a'	Th
Ninfas	0.996	0.992	0.166	0.983	0.041	0.010
Hembras	0.996	0.993	0.733	0.953	0.041	0.017
Machos	0.997	0.998	0.035	0.99	0.041	0.005

Literatura Citada

- Díaz, M. L. A., F. F. Cáceres M., G. Muñoz. Apuntes para el desarrollo de sistemas de vigilancia para la detección precoz del Virus del Oeste del Nilo. *Infectio* 6(4): 226-234
- Marín, H. C. H. 2002. Evaluación de la capacidad de depredación de *Piona* sp. (Acari: Hydrachnidia) sobre larvas de primer estadio de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Tesis de Licenciatura. Biología. 75 pp.
- Pérez-Serna, M., H. Quiroz-Martínez, Rodríguez-Castro, C. Solís-Rojas y M. H. Badii. 1997. Capacidad depredadora de *Buenoa scimitra* Bare (Hemiptera: Notonectidae) sobre larvas de *Chironomus plumosus* (L.) (Diptera: Chironomidae) en laboratorio. *Folia Entomol. Mex.* 100: 65-66.
- Quiroz-Martínez, H., A. Rodríguez, M. H. Badii, A. E. Flores, C. Solís, J. C. Trujillo, D. Martínez y R. M. González.. 2000a. Depredación en sistemas acuáticos:178-185. *In*: Badii, M.H., A. E. Flores y L. J. G. Wong, editores. Fundamentos y perspectivas de Control Biológico. Universidad. Autónoma de Nuevo León.
- Vargas, G.R. y J. Cárdenas L. 2002. Mosquitos ornitofílicos transmisores de la encefalitis del Oeste del Nilo en el mundo. *Imagen Veterinaria.* 2(8) 11-15.

ETOLOGÍA DE FORRAJE DE LOS DEPREDADORES PHYTOSEIIDAE SOBRE EL ÁCARO ANCHO

Badii, M. H., A. E. Flores, G. Ponce & ¹S. Varela

UNAL, Ap. 391, San Nicolás de los Garza, N. L., 66450, México, & ¹UAT, Cd. Victoria, Tamaulipas

Resumen

Se analizó el comportamiento alimenticio de cuatro depredadores Phytoseiidae sobre el ácaro ancho, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). *Typhlodromus rickeri* Chant, *T. porresi* McMurtry, y *T. annectens* DeLeon, prefirieron los estadios larvales sobre otros instares. *Euseius stipulatus* Athias-Henriot alimentó sobre todos los instares de la presa menos las fases ninfales y demostró una preferencia reducida para los larvas y las hembras, en comparación con otros tres depredadores. Ninguna las especies alimento de ninfas.

Introducción

El ácaro ancho, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), fue descubierto atacando los limones en huertas comerciales (Brown, 1980; Brown y Jones, 1982, McMurtry et al. 1984). El ácaro ancho es una plaga de té, café, algodón, aguacate, tomate, chile, y mangos en zonas tropicales y, además, ataca las plantas en invernaderos en zonas subtropicales y áreas templadas en el mundo (Jeppson et al. 1975). Para determinar el potencial de control biológico del ácaro ancho, nueve especies de la familia depredadora Phytoseiidae fueron probadas en esta presa en el laboratorio. Cuatro de estas nueve especies, es decir, *Typhlodromus rickeri* Chant, *T. porresi* McMurtry, *T. annectens* DeLeon, y *Euseius stipulatus* Athias-Henriot, resultaron como especies promisorias en contra de esta especie plaga (McMurtry et al. 1984). El objetivo de este estudio fue describir el patrón de alimentación y las diferencias en los rasgos alimenticios de estas cuatro especies depredadores sobre el ácaro ancho.

Materiales y Métodos

El ácaro ancho fue criado sobre las frutas pequeñas de limón (menor de 4 cm en diámetro). Estas frutas fueron puestas en contenedores plásticos de la un litro, bajo las condiciones de 26.6 °C y 60% de humedad relativa. Frutas viejas fueron reemplazadas por las frescas bisemanalmente, durante este tiempo también fueron reemplazados los contenedores plásticos por los nuevos.

Cada arena experimental consistió de una hoja de limón tierna de color púrpura (6-8 cm de longitud) puesto, con la parte envejecida hacia arriba, sobre una esponja saturada de agua y rodeada por tiras de papel higiénico con el fin de confinar los individuos de los depredadores dentro de las arenas experimentales. Todas las fases de desarrollo del ácaro ancho fueron sepillados de las frutas en las arenas. Las hembras ovipositaron

sobre las hojas y, después de 4-5 días hubo un exceso de todos los instares (huevecillo, larva activa, ninfa inactiva y adulto activo) del ácaro presa en las arenas experimentales. Hembras de diferentes especies de ácaros depredadores que habían sido creados previamente sobre el ácaro ancho, fueron liberadas de manera individual sobre las hojas arenas. Diferentes comportamientos alimenticios de los depredadores sobre el ácaro ancho fueron observados, durante un lapso de 60 minutos continuos, usando un microscopio estereoscópico. Cuatro individuos de cada especie de depredador fueron probados en estos experimentos.

Los siguientes actividades del depredador fueron observados como sigue. La limpieza (el acto de limpiar los quelíceros, pedipalpos y las patas por medio de las patas y los pedipalpos); descanso (sin movimiento en un sitio); manipuleo (en contacto físico con la presa e intentando a vencer la y comerla pero sin éxito); alimentación (penetrar y alimentar sobre la presa, resultando en la muerte de la misma); y caminar. La proporción del tiempo cada individuo de cada especie del depredador consumió en cada actividad, y también el número y el instar de la presa atacada que fue contactada y alimentada fueron registradas. En este estudio la palabra 'contacto' significa que el depredador contactó físicamente a la presa mientras el depredador o la presa o ambos estaban caminando activamente.

Resultados y Discusión

Hábitos Alimenticios Generales de los Depredadores

1) Hubo un periodo alimenticio de alrededor de 10-12 minutos inmediatamente después de la introducción del depredador en la arena. 2) Durante el lapso inicial (12 mn) y el lapso intermedio (20 mn) de alimentación, cada depredador fue extremadamente tolerante al disturbio por una larva o adulto de la presa, probablemente debido al alto nivel del hambre del depredador después de un lapso de ayuno de 24 horas. Para evitar el contacto y el disturbio por un individuo de la presa, el depredador extendía sus patas posteriores y levantaba la zona intermedia y posterior de su cuerpo (mientras alimentado sobre la presa), permitiendo el pase de la presa por debajo de su cuerpo. Las hembras depredadoras también usaban sus patas para empujar y liberarse de los individuos de presa que intentaban hacer contacto con ellas.

Tabla 1. Proporción de capturas exitosas por minuto durante diferentes lapsos de tiempo.

Especie depredador	Período de observación (mn)		
	Fase inicial (12 mn)	Fase intermedio (20 mn)	Fase final (28 mn)
T. rickeri	0.0248	0.0278	0.0389
T. porresi	0.0396	0.0349	0.0817
T. annectens	0.0197	0.0196	0.0391
E. stipulatus	0.1366	0.0429	0.2340

En contraste, Sabelis (1981), trabajando con diferentes especies de Phytoseiidae, observó que los individuos hambrientos de depredador eran más sensibles a los contactos con los individuos de ácaro de dos manchas. Debido a que las hembras depredadoras en el presente estudio no atacaban las presas invasoras durante las fases iniciales y intermedias de alimentación, entonces, este comportamiento de evitar el disturbio, como fue descrito arriba, probablemente, redujo el número potencial de la presa que pudiera ser atacada (Tabla 1). 3) Después de la fase intermedia de 20 minutos, los individuos del depredador, normalmente, retomaron su actividad alimenticia, sin embargo, ahora eran muy sensibles a los contactos con los individuos de la presa, y en mayoría de los casos, la hembra depredadora abandonó la primera presa para atacar y destruir la segunda que causaba el disturbio. Este alto nivel de sensibilidad del depredador durante este lapso de alimentación (28 mn) resultó en un mayor número de las presas destruidas por el depredador por unidad de tiempo, en comparación con las fases de alimentación previa en donde el depredador era insensible a los contactos con los individuos de la presa (Tabla 1).

Rasgos Alimenticios Específicos de Cada Especie Depredadora

Dos especies de los depredadores, *E. stipulatus* y *T. annectens* atacaron tanto las hembras como las larvas de la presa. Sin embargo las hembras de la presa fueron capturadas con éxito, sólo cuando fueron atacadas anteroventralmente, los ataques por la parte posterior de la presa nunca resultaron con éxito. Ambas especies de depredador promediaron más tiempo alimentando sobre la hembra que la larva (Tabla 2). *Euseius stipulatus* promedió más tiempo consumiendo el huevecillo de la presa en comparación con cualquier otro instar.

Un análisis del promedio de tiempo que un depredador consume en alimentar sobre la presa reveló que *T. rickeri* fue el depredador más rápido y *E. stipulatus* la más lenta entre todas las especies depredadoras probadas en estos experimentos. No hubo correlación entre el promedio de tiempo consumido en alimentar sobre una presa larva y el promedio de número de larvas consumidas por el depredador. *Typhlodromus rickeri* y *T. porresi* consumieron solamente las larvas de la presa. La dieta de *T. annectens* en este experimento consistió de 76.2% de larvas y 23.8% de hembras de la presa. *Euseius stipulatus* consumió todos los instares de la presa con la excepción de la ninfa. La mayor parte de la dieta de *E. stipulatus* fue de larva (41.6%) mientras que la hembra y los huevecillos de la presa constituyeron, de manera igual, la menor proporción (16.7) de su dieta.

Hassell (2000), Kramer (2001), y Abrams (2001), definieron la preferencia para un instar específico de la presa, como una desviación de la proporción del instar atacado de la proporción del mismo instar disponible en el ambiente. Debido a que las proporciones disponibles no fueron determinadas, entonces, las proporciones de los instares contactados fueron utilizados para este fin.

Tabla 2. Promedio de contactos y presas consumidas por cada especie de depredador (M = media aritmética, EE = Error estándar, P = Presa, Ds = Destruídas, AT = Ataque Exitoso, AI = Alimentación).

Depredador	Instar	Contactos P *		Presas Ds		Tasa AT	Tiempo AI
		M±EE	%	M±EE	%	M±EE	M±EE
T. rickeri	Larva	92.25±2.46a	44	6.77±2.21	100	0.08±0.05	0.76±0.23
	Ninfa	11.00±2.45b	5	0	0	0	0
	Macho	11.99±11.11b	5	0	0	0	0
	Hembra	94.25±49.22a	46	0	0	0	0
T. porresi	Larva	49.25±31.22a	47	4.75±2.21	100	0.26± 0.36	1.42±0.76
	Hembra	54.25±33.73a	53	0	0	0	0
T. annectens	Larva	72.25±23.91a	42	4.00±1.63	76.2	0.06±0.03	1.87±0.51
	Ninfa	4.00±0b	2	0	0	0	0
	Hembra	96.75±27.00a	56	0.75±0.95	23.8	0.007±0.008	2.47±1.92
E. stipulatus	Huevecillo	4.66± 5.19b	8	1.00±0.80a	16.7	0.81±1.03	8.00±5.19
	Larva	24.50±13.31a	40	2.50±2.38a	41.6	0.16±0-18	2.16±1.04
	Ninfa	6.50± 4.95b	11	0	0	0	0
	Macho	4.00±3.60b	6	1.50±1.29a	25	0.67± 0.58	2.66±1.52
	Hembra	21.25±9.91a	35	1.00±0a	16.7	0.06± 0.07	4.50±0.70

* Valores dentro de cada especie seguidos por letras similares no son diferentes significativamente (DMRT, $p \leq 0.05$).

Las hembras de la presa fueron contactados por el depredador, mas frecuentemente que cualquier otro instar, con la excepción de E. stipulatus (Tabla 2). Sin embargo, los contactos con las larvas resulto en mayor proporción de ataques exitosos. Los datos indican que las tres especies del genero Typhlodromus prefieren la larva de la presa (Tabla 2). Euseius stipulatus consumió todos los instares de la presa menos las ninfas. Además, este depredador atacó y consumió los diferentes estadios de la presa con la misma probabilidad. En general, la tasa del consumo de larva de la presa por este depredador fue menor comparado con las otras tres especies.

Para todas las especies con la excepción de T. porresi, la mayor proporción del tiempo se gasto en caminar (Tabla 3). Esta especie gasto el mayor porcentaje del tiempo en la limpieza y la menor % en el manipuleo de la presa, en comparación con otras especies.

T. annectens fue la especie más activa que todas y gasto menos tiempo en el descanso. T. rickeri descanso mas que cualquier especie. Todas las especies, con excepción de T. rickeri gastaron mas tiempo en alimentación que en manipuleo. Para T. rickeri este comportamiento se debe a tiempos cortos de alimentación sobre la presa. Esta especie y E. stipulatus gastaron el máximo y el mínimo porcentaje del tiempo en alimentación, respectivamente.

Tabla 3. Actividad comportamental de las cuatro especies depredadores.

Depredador	% de tiempo en diferentes actividades				
	alimentación	manipuleo	limpieza	descanso	caminar
T. rickeri	8.73	10.70	8.50	35.52	36.56
T. porresi	11.38	3.30	18.30	33.57	33.45
T. annectens	17.42	9.37	9.37	1.88	56.38
E. stipulatus	22.50	7.90	7.90	20.00	45.42

Los resultado de este estudio indican que las especies del genero Typhlodromus y E. stipulatus debido a su preferencia diferencial para su presa, pueden potencialmente complementar sus actividades en el control biológico de la presa en campo.

Literatura Citada

- Abrams, P. A. 2001. Predator-prey interaction. Pp.277-289. In: C. F. Fox, D. A. Roff & D. J. Fairbairn (eds). Evolutionary Ecology Concepts and Case Studies. Oxford University Press, Oxford.
- Brwon R. D. 1980. The broad mite on lemons. Pest Control Circular No. 508. Sunkist Grwoers, Inc., Van Nuys, California.
- Brwon, R. D. & V. P. Jones. 1983. The broad mite on lemons in southern California. Calif. Agric. 17-18.
- Hassell, M. P. 2000. The Spatial and temporal Dynamics of Host-Parasitoid Interactions. Oxford University Press, Oxford.
- Jeppson, L. R., H. H. Keifer & E. W. Baker. 1975. Mites Injurious to Economic Plants. University of California Press, Berkeley.
- Kramer, D. L. 2001. Foraging behavior. Pp. 232-246. In: C. F. Fox, D. A. Roff & D. J. Fairbairn (eds). Evolutionary Ecology Concepts and Case Studies. Oxford University Press, Oxford.
- Sabelis, M. W. 1981. Biological Control of two-spotted spider mites using phytoseiid predators. Part I. center for Agric. Publ. Doc. Wageningen.
- McMurtry, J. A., M. H. Badii & H. G. Johnson. 1984. The broad mite, Polyphagotarsenemus latus, as a potential prey for phytoseiid mites in California. Entomophaga, 29: 73-76.

**ESTIMATING TEMPERATURE-DEPENDENT DEVELOPMENTAL RATES OF
DIORHABDA ELONGATA (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE), A BIOLOGICAL
CONTROL AGENT OF SALT CEDAR (*TAMARIX* SPP.)**

Angelica M. Herrera^{1,3}, Donald D. Dahlsten¹, Nada Tomic-Carruthers², and Raymond I Carruthers³

¹Department of Environmental Science, Policy and Management, University of California, Berkeley, CA 94720, aherrera@nature.berkeley.edu; ²APHIS-PPQ CPHST and ³USDA-ARS, Exotic and Invasive Weeds Research Unit, 800 Buchanan Street, Albany, CA 94710

Keywords: developmental rates, developmental model, developmental thresholds

Introduction

An Asian leaf beetle, *Diorhabda elongata* Brullé (Coleoptera: Chrysomelidae) was released in 2001 in the western United States (U.S.) for the biological control of saltcedar (*Tamarix* spp.). Saltcedar invades riparian areas where it out competes and replaces native vegetation. It is speculated that as a result of saltcedar invasions, populations of riparian wildlife such as birds, rodents, and fish may have significantly declined. Preliminary investigations relating temperature to developmental rates of immature *D. elongata* stages were conducted by Lewis et al. (2003) but only at a single constant temperature of $24 \pm 2^\circ\text{C}$. However, to adequately predict development of *D. elongata*, more comprehensive temperature-dependent developmental rate studies are required. Therefore, the purpose of this study was to determine stage-specific, developmental times of the immature *D. elongata* stages over a range of constant temperatures and then fit linear and nonlinear models to the data to estimate developmental rates and lower thresholds. This study is the first step in the construction of a detailed population simulation model to predict field phenology and density of *D. elongata* to help optimize the use of this biological control agent in controlling saltcedar at various locations throughout the western U.S.

Materials and Methods

Developmental rate studies of *D. elongata* immature stages were conducted using five constant temperatures (15, 20, 25, 30, 35, and 40°C). A total of 100 eggs (less than a day old) were placed into each temperature treatment and monitored daily until all hatched. Newly hatched first instar larvae (<24 h) were placed singly in 236 ml plastic containers. Fifty larvae per temperature treatment were monitored daily for development until they reached the adult stage. The larvae were supplied fresh saltcedar cuttings every other day to feed on.

Linear model: the relationship between temperature (T) and developmental rates ($r = 1/d$) was modeled using linear regression, where $r(T) = a + bT$, within the temperature range in which the relationship is linear (15 - 35°C). The lower developmental threshold

temperature was then estimated by extrapolating the regression line to the temperature axis, $t_b = -a/b$.

Non-linear model: The relationship between temperature (T) and developmental rates ($r = 1/d$) was determined using a Logan type III nonlinear model (Hilbert and Logan 1983): $r(T) = \psi[(T - T_b)^2 / ((T - T_b)^2 + D^2) - \exp(-(T_m - (T - T_b))/\Delta T)]$. To determine parameter definitions and model application, consult Hilbert and Logan (1983).

Results

Linear model. the model adequately described developmental rates within the temperature range in which the relationship between developmental rates and temperature is expected to be linear (Fig. 1). The estimated lower temperature threshold for egg, pupal, and larval stage were 6.13°C, 11°C, and 14-15°C, respectively.

Nonlinear model: The parameter estimates for the Logan type III model are shown in Table 1. The lower temperature thresholds for the immature stages were estimated to be within a range of 15 –18°C. These estimates are higher than those calculated by the linear degree-day model (Fig. 1).

Table 1. Parameter estimates for the Logan type III non-linear model

Stage	Parameters					
	ψ	D	ΔT	T_m	T_b	SSE
Egg	0.242	8.30	0.142	26.422	15.590	0.115
Instar I	2.947	33.931	6.788	36.503	12.227	0.993
Instar II	1.655	31.516	2.842	31.677	12.014	1.035
Instar III	0.998	30.212	3.205	33.432	10.630	0.579
Pupa	0.164	12.497	0.210	27.060	12.981	0.007
Total	0.067	12.231	0.236	26.583	13.463	0.000

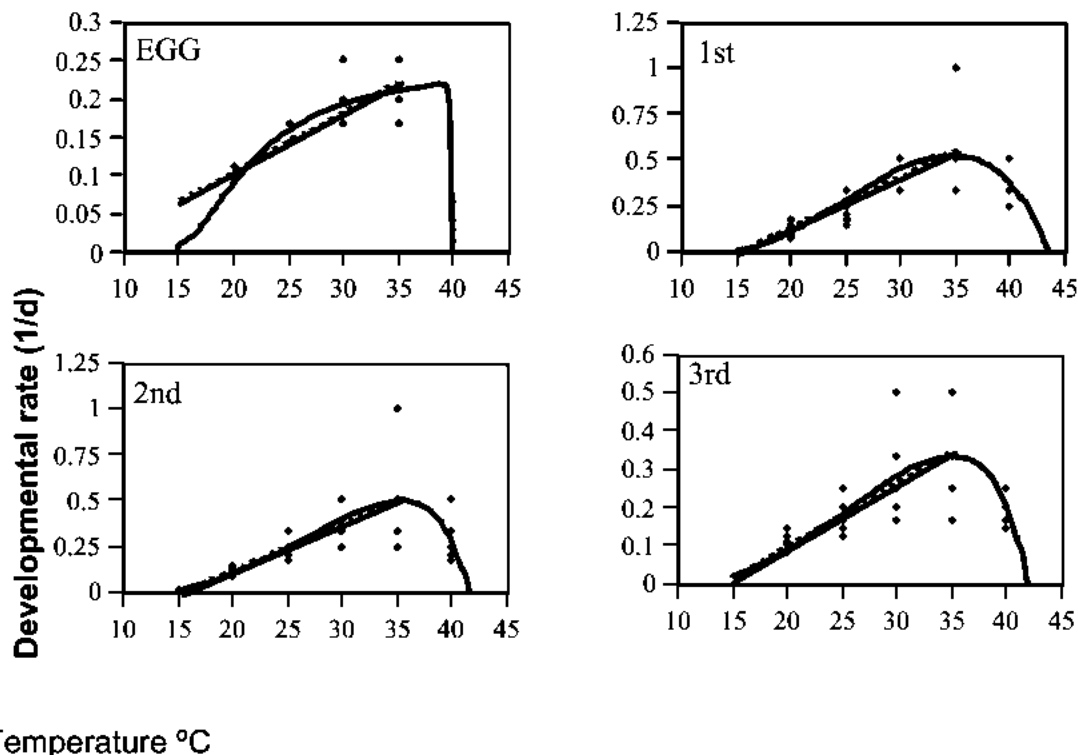
Discussion

The Logan type III model describes the relationship between developmental rates and temperature best over the entire range of constant temperatures used in this study. The developmental rate curve declines rapidly as it asymptotically approaches the lower temperatures and therefore minimizes overestimating developmental rates (Fig. 1). In addition, the linear model clearly underestimated the lower threshold for all stages because laboratory data showed that egg and larvae died at 15°C.

Developmental models can be used for determining ideal conditions for the mass rearing of agents and to parameterize insect population models that would then be used

to improve the success rate of biological control programs in the field (Cividanes and Gutierrez 1996). For the saltcedar biological control program, a *D. elongata* population dynamics model will be created to improve the effectiveness of *D. elongata* releases. This population model will be used to predict population phenology and synchrony with target plant growth and to estimate the population dynamics of *D. elongata* in the field so that density, survival, and impact can be assessed under variable environmental conditions.

Figure 1. Observed and predicted developmental rate values by the Logan (solid line) and linear (dashed line).



Literature Cited

Cividanes, F. J., and A. P. Gutierrez. 1996. Modeling the age-specific per capita growth and reproduction of *Rhizobius lophanthae* (Col.: Coccinellidae). *Entomophaga*. 41: 257-266.

Hilbert, D. W., and J. A. Logan. 1983. Empirical model of nymphal development for the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera: Acrididae). *Environ. Entomol.* 12: 1-5.

Lewis, P. A., C. J. DeLoach, A. E. Knutson, and J. L. Tracy. 2003. Biology of *Diorhabda elongata deserticola* (Coleoptera: Chrysomelidae), an Asian leaf beetle for the biological control of saltcedars (*Tamarix* spp.) in the United States. *Biol. Control*. 27: 101-116.

PARASITISMO POR *Psyllaephagus bliteus* EN *Glycaspis brimblecombei* EN LA CIUDAD DE DURANGO

Mónica Yazmín Flores Villegas¹, Rebeca Álvarez Zagoya²

¹Tesista Proys. CGPI 200276 y 20031686, Escuela de Ciencias Forestales – UJED. C-e: monik_02mx@yahoo.com.mx. ²Profesor Investigador, Lab. Entomol. CIIDIR-IPN U. Dgo. Sigma s/n, Fracc. 20 de Noviembre II, Durango 34220, Dgo. COFAA. Proys. SIVILLA 20000406020, CGPI 200276, 20031686. C-e: raz_ciidir@yahoo.com

Palabras claves: Arbolado urbano, Psyllidae, parasitismo.

Introducción

La llegada del psílido *Glycaspis brimblecombei* (Gb) Moore a México en 1998, constituye la principal causa de defoliación de los árboles de eucaliptos rojos. En Durango, Alvarez y Trejo (Alvarez y Piedra, 2001) reportaron la presencia de *Glycaspis brimblecombei* en *Eucalyptus camaldulensis*. Este insecto es de hábito chupador y succiona la savia, ennegrece las hojas; las conchuelas que cubren a los estados inmaduros del psílido dan apariencia estética desagradable a la vista, y causa defoliaciones de niveles ligeros a drásticos a lo largo del país llegando a alcanzar mortalidad con altas infestaciones y defoliaciones repetidas (Cibrián, 2002). Por lo que es importante el estudio de las diferentes alternativas de control, entre las que se encuentra el control biológico, mediante especies nativas, o introducidas. Con mayor frecuencia se utilizan más los insectos parasitoides que los depredadores, debido a que éstos últimos presentan ciertas desventajas con respecto a los parasitoides, y a que tienen menos especificidad (contra especies y etapas de desarrollo), menor adaptación, menor movilidad y menor eficiencia alimentaria que los parasitoides (Badii et al., 2000). La avispa *Psyllaephagus bliteus* (Pb) fue liberada a partir de julio del 2002 en el Parque Guadiana de la ciudad de Durango (CONAFOR-DGO, 2002) y tiene un ciclo de vida de 21 a 27 días en invernadero (Guerra, 2002). El presente trabajo tuvo como objetivo conocer en nivel de parasitismo por la avispa Pb y su distribución en siete áreas de la ciudad de Durango.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en el Parque Guadiana, la Ciudad de Durango y en el Laboratorio de Entomología del CIIDIR -IPN Unidad Durango.

La avispa encírtida Pb fue liberada en el Parque Guadiana de la ciudad de Durango, en cuatro ocasiones en el período de julio a septiembre del 2002. Para conocer el porcentaje de parasitismo se efectuó una evaluación semanal de enero a junio 2003. Para la obtención y evaluación del parasitoide, en cada fecha de muestreo se eligieron al azar 3 árboles por área (con y sin riego). En cada árbol se revisaron 10 hojas, siendo un total de 30 hojas por área y 60 por fecha de muestreo, en donde se contó el número

total de ninfas del psílido presentes en el haz de las hojas, y se registraron las ninfas sanas y parasitadas del 4° y 5° instar. Los datos obtenidos se registraron utilizando el formato proporcionado por INIFAP-Pabellón (Sánchez, 2002) en el que se incluyen los instares N1 (ninfa gota), N2 y N3 (ninfa amarilla) de Gb, que no fueron considerados para la inspección del parasitoide. Únicamente se consideraron los instares ninfales 4° y 5° de Gb, para verificar las ninfas sanas y las ninfas parasitadas por la avispa Pb.

Para conocer la distribución del parasitoide en la ciudad de Durango, se aplicó el formato anterior en los diferentes puntos cardinales. Las siete áreas muestreadas fueron: Escuela Secundaria Técnica # 19, Fracc. 20 de Noviembre, Escuela de Ciencias Forestales, el Zoológico Sahuatoba, Blvd. Domingo Arrieta, Antiguo Camino a Contreras y Parque Guadiana.

En la evaluación del parasitismo, se revisó un número total de ninfas de los instares N1 a N5 de 14,096 individuos, únicamente para el Parque Guadiana. En el caso de las otras siete áreas evaluadas de la Ciudad de Durango, se hizo una inspección de 8,638 ninfas del N1 a N5 revisadas, por lo que el número total de ninfas de Gb de los cinco instares contabilizadas para el presente trabajo, fue de 22,734 insectos.

Resultados y Discusión

Areas sin riego

En estas áreas del Parque Guadiana, se contó un total de 7,797 ninfas de Gb, de la N1 a N5, donde las ninfas pertenecientes al 4° y 5° instares revisadas fueron 6,258, y 572 presentaron parasitismo por Pb equivalente al 9.14%.

Areas con riego

El número total de ninfas de Gb de los instares N1 a N5 fue de 6,299, de las cuales 5,088 pertenecen a los instares 4° y 5° (sanas y parasitadas), siendo 314 ninfas parasitadas, lo que representa un parasitismo del 6.17%.

De acuerdo a los registros que se tomaron, se muestran los resultados en las Figuras 1 y 2 (zonas sin riego y con riego, respectivamente), donde se observa que conforme aumenta la cantidad de las ninfas sanas de los últimos dos instares ninfales de Gb, también se eleva el número de ninfas parasitadas. Las tendencias de los datos consideran los factores temperatura y humedad relativa (CONAGUA, 2003).

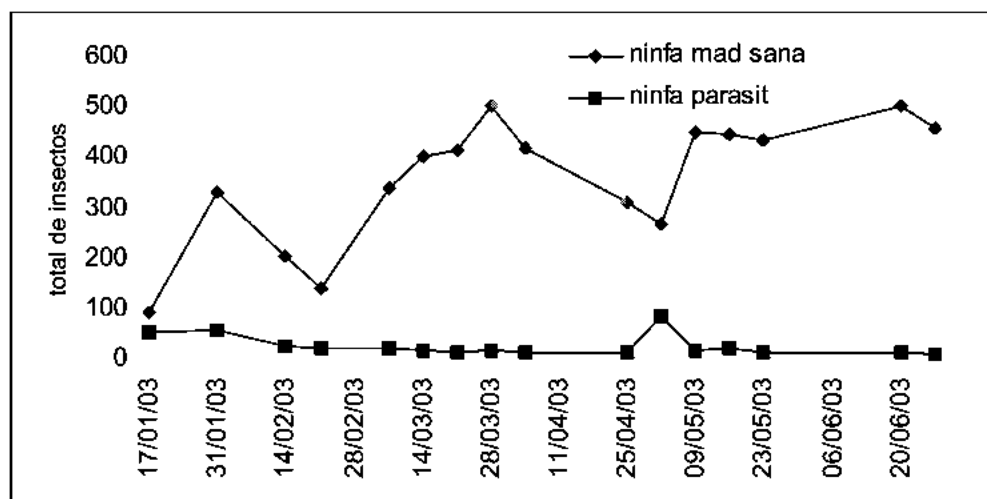


Figura 1. Ninfas sanas y parasitadas de Gb por Pb, en áreas sin riego.

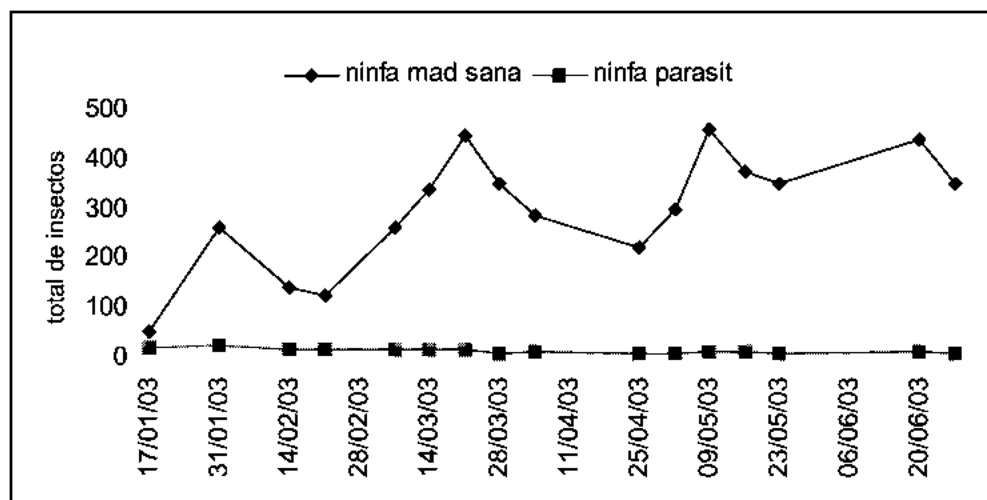


Figura 2. Ninfas sanas y parasitadas de Gb por Pb, en áreas con riego.

Se realizaron dos evaluaciones para conocer la distribución del parasitoide en los periodos Marzo-Abril 2003, Agosto-Septiembre 2003 en nueve áreas de la ciudad de Durango. El cuadro 1 y 2 nos muestran que se encontraron ninfas momificadas de 4° y 5° instar de Gb a causa del parasitoide, observando que en el cuadro 2 el porcentaje es mayor que en el primero, lo cual indica que Pb ya está establecido en la ciudad y en sus alrededores, como en los sitios Escuela Secundaria Técnica #19, Zoológico, Escuela de Ciencias Forestales, Aeropuerto, Fracc. 20 de Nov., Antiguo Camino a Contreras, Blvd. Domingo Arrieta y Parque Guadiana.

Ubicación	Ninfas contabilizadas	N1(ninfa gota) N2 y N3 (ninfa amarilla)	N4 y N5 sanas	N4 y N5 parasitad	%Parasitismo de N4 y N5
EST # 19	246	48	197	1	0.5%
Blvd. Domingo Arrieta	555	93	434	28	6.06%
Zoológico	582	73	491	18	3.53%
E.C.F.	334	134	195	5	2.5%
Total			1,317	52	12.59%

Cuadro 1. Parasitismo presente en la ciudad de Durango periodo Marzo-Abril 2003.

Ubicación	Ninfas contabilizadas	N1(ninfa gota) N2 y N3 (ninfa amarilla)	N4 y N5 sanas	N4 y N5 parasitad	%Parasitismo de N4 y N5
Parque Guadiana	408	211	194	3	1.5%
Parque Zahuatoba	641	379	250	12	4.5%
Frac. 20 de nov.	541	349	179	13	6.7%
Antig. Camino a Contreras	532	182	340	10	2.8%
D. arrieta	480	132	322	26	7.4%
Total			1285	64	22.6%

Cuadro 2. Parasitismo presente en la ciudad de Durango periodo Agosto-Septiembre 2003.

Conclusiones

Conforme aumenta la población de ninfas sanas de los últimos dos instares ninfales de *G. brimblecombei*, se eleva también el número de ninfas parasitadas por *P. bliteus*, tanto en zonas con riego y sin riego.

Áreas sin riego.- La población de ninfas de 4º y 5º instar tanto sanas como parasitadas es mayor debido a la densidad de eucaliptos presentes en el área, lo cual facilita que el insecto tenga una mayor dispersión tanto para Gb como para Pb.

Áreas con riego.- La cantidad de ninfas sanas de Gb en ésta área, así como las parasitadas es menor en comparación a las áreas sin riego, al igual que el porcentaje de parasitismo. Cabe destacar que en esta área se presenta una densidad menor de eucaliptos.

Para la primera evaluación de marzo-abril 2003, el parasitoide Pb se encuentra establecido y distribuido en la ciudad de Durango, con un total de 12.59% de parasitismo, donde la mayor abundancia de ninfas momificadas de Gb se presentó en el Blvd. Domingo Arrieta con un 6.6% de parasitismo y el menor porcentaje de parasitismo fue en la E.S.T.# 19 con un 0.5%.

En la segunda evaluación realizada en el periodo de Agosto a Septiembre se comprobó su establecimiento y el porcentaje de parasitismo aumentó cerca del doble del hallado en la primera inspección, la cual fue de 22.6%. Al igual que en la primera evaluación, el Blvd. Domingo Arrieta presentó el mayor porcentaje de parasitismo en la segunda evaluación, siendo éste del 7.4% y el sitio con bajo porcentaje de parasitismo fue el Parque Guadiana con el 1.5%

Con lo anterior se infiere que Pb ya esta establecida y va en incremento conforme aumenta la población de Gb en estado ninfal, y que ambas poblaciones tienen influencia por la temperatura y humedad relativa que exista en el ambiente.

Literatura Citada

- Alvarez Z., R., M. Piedra S. 2001. Detección, distribución y dinámica poblacional del psílido del eucalipto (*Glycaspis brimblecombei*) en Durango. In: Memorias de la II Reunión Estatal de Ciencia y Tecnología. Universidad Juárez del Estado de Durango y Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango. Del 14 al 16 de noviembre del 2001. Durango, Dgo. pp. 239-240.
- Alvarez Z., R. y M. Piedra S. 2002. Detección y daños del psílido del eucalipto (*Glycaspis brimblecombei* Moore) en Durango. Ponencia presentada en el XXXVII Congreso Nacional de Entomología y 50th Annual Meeting of the SWB-ESA. 24-27 de febrero del 2002. Guanajuato, Gto.
- Badii H., M.; A. Flores E. y L. J. Galán W. 2000. Fundamentos y perspectivas de control biológico. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León. pp. 79-80.
- Cibrián T., D. 2002. Conchuela del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Psylloidea; Spondyliaspidae) una nueva plaga del eucalipto introducida a México. Memorias del XXVIII Simp. Nacional de Parasitología Agrícola. Sept. Acapulco, Gro. pp. 179-181.
- CONAFOR-DGO. 2002. Liberación de la avispa P.b. en Durango. Cardoso N., G. y A. Benítez.
- CONAGUA-DGO. 2002. Datos climatológicos del 2001-2003 en la Cd. de Durango. Observatorio climatológico. Durango, Dgo.
- Guerra S. J. 2002. *Psyllaephagus bliteus*, eficaz contra la plaga de la conchuela. Cuautitlán, Edo. de México. Página internet:
<http://www.semarnat.gob.mx/zacatecas/recnat/sanidafor.shtml>. 4p.
- Iñiguez H., G. 2001. Conchuela del Eucalipto *Glycaspis brimblecombei* Plaga exótica del Eucalipto. In V Congreso Mexicano de Recursos Forestales. Guadalajara, Jal. pp. 209-211
- Lomeli F., R.; K. G. Clemente M. y A. Equihua M. 2002, Factibilidad del uso de depredadores en el control del psílido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Spondyliaspidae) en México. In: Reunión NAPPO-SEMARNAT sobre intercambio técnico para el control del psílido del eucalipto. Cuernavaca, Morelos, México.
- Sánchez M., G. 2002. Formato para la evaluación de parasitismo por *Psyllaephagus bliteus* en Aguascalientes. INIFAP-Pabellón. Aguascalientes, Ags. 1 p.

FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DE *Glycaspis brimblecombei* MOORE (HOMÓPTERA: PSYLLIDAE) Y *Psyllaephagus bliteus* RIEK (H HYMENÓPTERA: ENCYRTIDAE) EN SAN LUIS POTOSÍ.

Ovidio Díaz Gómez¹, Carlos Flores Martínez¹, David Cibrián T.², Carmen Torres C.¹

Fac. de Agronomía, UASLP. Á. Obregón 64 Centro, C.P. 78000. San Luis Potosí, S.L.P. México. E-mail: odg@uaslp.mx, cafma_3@hotmail.com. ² División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo, México.

Palabras Clave: *Glycaspis brimblecombei*, *Psyllaephagus bliteus*.

Introducción.

Las especies de eucalipto introducidas en México tienen importancia por presentar características de rápido crecimiento, desarrollo y adaptación a una amplia gama de condiciones ambientales, además derivan en beneficios económicos y ecológicos en áreas donde se introducen. Sin embargo traen consigo la aparición de plagas exóticas como la "escama del eucalipto" (*Glycaspis brimblecombei* Moore), originaria de Australia. En México se detectó en junio del 2000 en dos estados, Baja California y Jalisco, y se considera que actualmente esta distribuida en la mayoría de las áreas donde existe el hospedero (Cibrián, 2001). Las estrategias e investigaciones encaminadas a controlar *G. brimblecombei* mediante control biológico, cultural y químico llevan el propósito de recuperar las plantaciones afectadas. En el estado de San Luis Potosí, en el año 2001, a raíz de las investigaciones hechas sobre la identificación y manejo de esta especie (Díaz, *et al.*, 2001), se observó en campo un parasitoide asociado a *G. brimblecombei* identificado como *Psyllaephagus bliteus* Riek, específico de ninfas de esta plaga (Dahlsten, 2002). Debido a la importancia que representan las plantaciones de eucaliptos en el estado de San Luis Potosí, es necesario generar conocimiento sobre la biología, ecología y comportamiento tanto del psilido como de su parasitoide, para llevar a cabo medidas de manejo fitosanitario sustentables. Considerando lo anterior, el objetivo del presente estudio es conocer la dinámica poblacional de adultos del psilido y del parasitoide en diferentes áreas de infestación en el estado de San Luis Potosí.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en tres municipios del estado de San Luis Potosí: parque Tangamanga I, ubicado al sur de la ciudad; Fac. de Agronomía de la UASLP, en el municipio de Soledad de Graciano Sánchez y Sierra de Álvarez, en el municipio de Villa de Zaragoza. Se realizaron muestreos cada 10 días, a partir de junio y hasta de noviembre del 2002. Se utilizaron trampas cromáticas elaboradas con tapas de plástico transparente de 12 cm de diámetro, las cuales se pintaron de color amarillo y se les aplicó, como adherente, aditivo para aceite. Cada trampa se colocó a una altura promedio de 3 a 4 metros en árboles de eucalipto (10 trampas/área). Las colectas en

trampas se llevaron al laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía donde se contabilizó el número de adultos de *G. brimblecombei* y de *P. bliteus*. Con los datos se determinó la dinámica poblacional de ambas especies y su importancia por zona en el estado.

Resultados y Discusión

La Figura 1 corresponde a la dinámica poblacional de *G. brimblecombei* y *P. bliteus* en el área del parque Tangamanga I. Se aprecia una tendencia a la reducción poblacional a través del tiempo en ambas especies y que los límites de variación en densidad poblacional del parasitoide son más estrechos que los identificados en su huésped. Las máximas capturas de *G. brimblecombei* se observan en junio, con 2877 y agosto, 2702 adultos/10 trampas. Con *P. bliteus* las máximas densidades de población ocurrieron a finales de junio, 401 adultos y la primera semana de septiembre con 413 adultos/10 trampas.

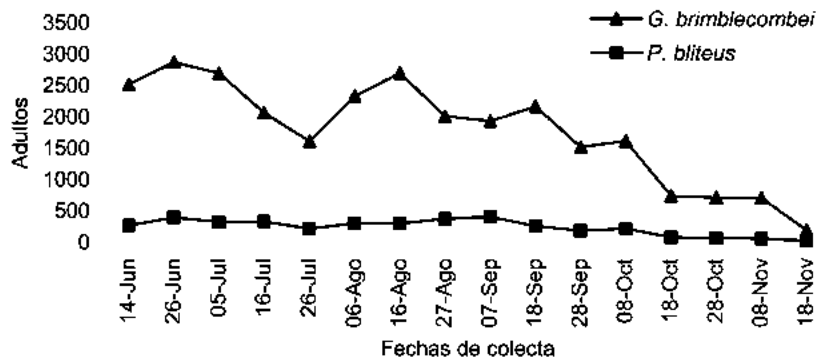


Figura 1. Dinámica poblacional de *G. brimblecombei* y *P. bliteus* en el parque Tangamanga I. San Luis Potosí, S.L.P.

La Figura 2 muestra los resultados en la Fac. de Agronomía. A partir del tercer muestreo, las variaciones poblacionales entre el psilido y el parasitoide disminuyen, debido a un decremento en la densidad población del psilido; después de estas fechas, a medida que se vuelve a incrementar la población de *G. brimblecombei* tiende a incrementarse la de *P. bliteus*. Las máximas capturas de *Glycaspis* se observan en junio, con 1253 y al final de este mes, 880 adultos; con *P. bliteus* las máximas se presentaron a finales de octubre, 57 adultos y principios de noviembre, 65 adultos. Las densidades poblacionales son menores en esta área que con respecto a las registradas en el Parque Tangamanga I.

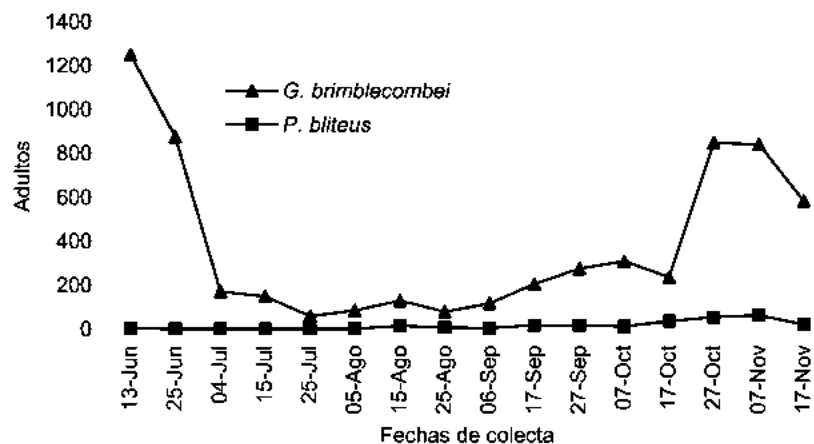


Figura 2. Dinámica poblacional de *G. brimblecombei* y *P. bliteus* en la Fac. de Agronomía. Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

En la Figura 3 se observan los resultados de la Sierra de Álvarez; en este sitio se registraron las más bajas densidades de población de las dos especies. Además se aprecia que con niveles de densidad poblacional menores, la relación de denso-dependencia es mayor entre el parasitoide y su huésped. Las máximas capturas de *G. brimblecombei* se presentan a mediados de junio, con 17 y las mínimas en julio, 2 adultos. Para *P. bliteus* la máxima captura se presentó en junio, 13 adultos y existen fechas de muestreo en las que no se detectó al parasitoide.

Se hipotetiza que las variaciones en distribución y abundancia de ambas especies en cada de los sitios muestreados se debe principalmente a dos factores: diversidad de hábitat (número de especies vegetales y su edad por área) y factores climáticos. En el parque Tangamanga I, sitio con mayor densidad de capturas de adultos de ambas especies se tiene baja diversidad de especies vegetales, aproximadamente 90% son eucaliptos, junto con la edad de los árboles, son los más jóvenes de las tres áreas muestreadas, y si se combina con los más altos promedios de temperatura, hacen al sitio mas susceptible para incrementar la sobrevivencia y reproducción del psilido. Estos componentes del ecosistema explican, en parte, la mayor densidad de *G. brimblecombei* y por lo tanto, la disponibilidad de alimento para *P. bliteus*, incrementando con ello las probabilidades de su establecimiento.

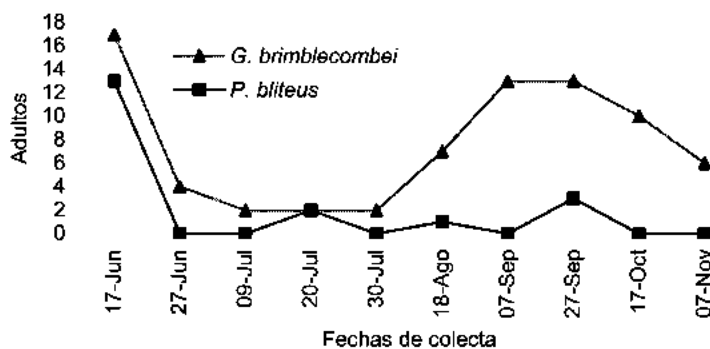


Figura 3. Dinámica poblacional de *G. brimblecombei* y *P. bliteus* en la Sierra de Álvarez. Villa de Zaragoza, S.L.P.

En la Fac. de Agronomía se observa una mayor diversidad de especies forestales, eucaliptos de mayor edad y en menor número, situación que contribuye a una menor densidad poblacional por sitio lo cual se refleja en la menor captura por trampa. En la Sierra de Álvarez no se observaron altas densidades de población de adultos de ambas especies en comparación con las observadas en el parque y Agronomía, debido a la mayor diversidad de especies forestales y vegetales que prevalece en la reserva, condiciones climáticas (baja temperatura y alta humedad relativa) y posiblemente a la altura sobre el nivel del mar en donde se encuentra la población de eucaliptos, están a 2280 m.s.n.m. La especificidad del parasitoide se comprueba con su establecimiento en la sierra de Álvarez, a pesar de que no existen otras especies de psilido y a la clara relación denso-dependiente que tiene con *Glycaspis*.

Literatura Citada

- Cibrián, D. 2001. Conchuela del eucalipto. *Glycaspis brimblecombei* Moore (Homóptera: Psyllidae, Spondyliaspidae). Una nueva plaga introducida a México. In: Memoria del congreso nacional de entomología. SME. Querétaro. Qro. Méx. p: 95.
- Dahlsten, D. L. (2002). Biological control of the red gum lerp psyllid, a pest of eucalyptus species in California. Disponible en <http://www.cnr.berkeley.edu/biocon/dahlsten/rglp/RLP-quar.htm> (Revisada el 25 de Abril del 2002).
- Díaz, G. O., B. Juárez S., C. Flores Mtz. 2001. Alternativas para el manejo del psilido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* Moore en San Luis Potosí. In: Memoria del congreso nacional de control biológico. SMCB. Hermosillo, Sonora. Méx. pp: 52-54.

PARASITISMO NATURAL DE *Cydia caryana* (FITCH) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) EN EL SUR DEL ESTADO DE COAHUILA.

Adriana A. Urrutia C.¹, Luis A. Aguirre U., Eugenio Guerrero R. y Alejandro González H.

¹Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. C.P. 25315, Buenavista, Saltillo, Coah. eugenioqr9@hotmail.com

Palabras Clave: Barrenador del ruezno, nogal, parasitoides.

Introducción

En el sur del estado de Coahuila, el barrenador del ruezno *Cydia caryana* (Fitch) es una plaga clave debido a que es difícil de monitorear además de que las aspersiones de insecticidas tienen eficacia limitada porque el estado larval está la mayor parte del tiempo dentro del ruezno (Flores, 1989). Esta plaga se encuentra distribuida tanto en el centro como en el sur de Coahuila (Aguirre *et al.* 1984). Inverna en el ruezno o cáscara de la nuez de donde se alimenta haciendo túneles o galerías lo cual causa un pobre llenado de la almendra y pegado del ruezno a la nuez (Phillips *et al.* 1964), pudiendo causar niveles de daño hasta del 80 % (Arévalo, 1992; Sánchez y Aguirre, 1982).

Las estrategias de combate se basan fundamentalmente en el uso de insecticidas con las consecuencias negativas ya conocidas (Nava y Ramírez, 2003). Existen estudios regionales de organismos naturales que pueden ayudar a regular las poblaciones del barrenador del ruezno, sin embargo no existen datos de niveles de incidencia de parasitoides en huertos de nogal en el sureste de Coahuila que permitan integrar el control biológico en un programa de manejo integrado de plagas.

Materiales y Métodos

El presente estudio se realizó en huertas comerciales y nogales de traspatio de tres municipios del sur de Coahuila que son; Parras de la Fuente (Parras), General Cepeda (G. Cepeda) y Saltillo. Las colectas de rueznos dañados por la plaga en estudio se realizaron a partir de diciembre del 2001 hasta noviembre del 2002 con un total de 15 colectas para Parras, 12 para G. Cepeda y 18 para Saltillo. Las muestras se tomaron tanto de frutos caídos en el suelo como de la copa del árbol, colocándolas en bolsas de plástico las cuales fueron transportadas al Departamento de Parasitología de la Universidad. Los rueznos fueron depositados en copitas individuales de 103 ml de capacidad y cubiertas con muselina, y se esperó la emergencia de adultos o parasitoides.

Resultados y Discusión

Del total de 45 muestras de las tres localidades, se colectó y observó 2800 larvas de *C. caryana*. Se detectaron 14 especies de himenópteros de las familias Ichneumonidae,

Braconidae, Eulophidae, Pteromalidae, Eupelmidae y Eurytomidae, lo cual concuerda en gran parte con lo reportado por Aguirre *et al.* (1991). En las tres regiones los parasitoides mas comunes fueron el ichneumonídeo *Calliephialtes grapholithae* (Cress.) y los braconídeos *Phanerotoma fasciata* Provancher y *Apanteles* sp. lo cual concuerda con los resultados encontrados en Texas por Gunasena y Harris en 1988.

De ellas 13 se presentaron en G. Cepeda siendo este municipio el mas rico en cuanto al número de especies encontradas seguido por Parras y Saltillo en donde se encontraron 12 especies.

En Saltillo se encontró el mayor número de larvas parasitadas con 246 mientras que en Parras se encontraron 156 y 126 en G. Cepeda. En cuanto a los niveles de parasitismo en Saltillo fue donde se encontró el mas alto porcentaje con 23.19 seguido por G. Cepeda con un 20.03 y 14.53 en Parras. En las tres regiones *C. grapholithae* fue el que presentó el mas alto porcentaje siendo de 13.20 en Saltillo, 13.22 en G. Cepeda y 4.94 en Parras (promedio anual), cabe mencionar que en ciertas épocas pueden alcanzar hasta 28 % en Saltillo, 23.73 % en G. Cepeda y 13.22 en Parras. El parasitoide menos abundante fue *Cerocephala rufa* el cual no había sido reportado parasitando *C. caryana* sino a coleópteros de las familias Anobiidae y Scolytidae.

Los porcentajes globales de parasitismo y las especies encontradas en las tres regiones se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Especies de parasitoides presentes en el sureste de Coahuila, parasitando larvas de *Cydia caryana* (Fitch) y su porciento de parasitismo.

Parasitoide	% de Parasitismo		
	Parras	G. Cepeda	Saltillo
<i>Calliephialtes grapholithae</i>	4.94	13.22	13.20
<i>Phanerotoma fasciata</i>	0.65	0.64	2.83
<i>Apanteles</i> sp.	0.28	1.75	1.04
<i>Hyssopus</i> sp.	2.61	1.27	1.23
<i>Pteromalus</i> sp.	1.30	1.11	1.70
<i>Pteromalus</i> sp. 2	1.12	0.48	0.94
<i>Bassus</i> sp.	0	0	0.75
<i>Eupelmus</i> sp.	0.93	0.31	0.66
<i>Eurytoma</i> sp.	1.30	0.80	0.28
<i>Braconido</i> 4	0.09	0	0.09
<i>Braconido</i> 5	0.37	0.15	0
<i>Phaeogenes</i> sp.	0.19	0.15	0.19
<i>Eurytoma</i> sp. 2	0.47	0.15	0
<i>Cerocephala rufa</i>	0.28	0	0.28

Literatura Citada

- Aguirre U., L. A.; F. A. Cabezas M. y E. Espinoza R. 1984. Presencia de plagas del nogal (*Carya illinoensis*) en relación al desarrollo fenológico del cultivo en Coahuila. XIX Congreso Nacional de Entomología. Soc. Mex. de Entomol. Guanajuato, Gto. México. Pp. 143-144.
- Aguirre U., L. A.; F. A. Cabezas M. y M. Flores D. 1991. Factores naturales de mortalidad de las larvas invernantes del gusano barrenador del ruezno del nogal *Cydia caryana* (Fitch) en Parras, Coahuila. Memorias XIV Congreso nacional de control biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Pp. 297-301.
- Arévalo, G. L. G. 1992. Impacto económico del barrenador del ruezno *Cydia caryana* Fitch (Lepidoptera: Tortricidae) en áreas nogaleras del sureste de Coahuila. Tesis Licenciatura. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 106 p.
- Flores D., M. 1989. Barrenador del ruezno *Laspeyresia caryana* (Fitch), (Lepidoptera: Olethreutidae) su ciclo biológico en unidades calor y relación fenológica cultivo-plaga en Delicias, Chih. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. 49 p.
- Gunaseena. G. H. and M. K. Harris. 1988. Parasites of hickory shuckworm and pecan nut casebearer with five new host-parasite records. *The Southwest Entomologist* 13(2): 107-111.
- Nava C., U. Y M. Ramírez D. 2003. Uso de depredadores en el control de plagas de nogal. Memorias del curso Nacional Identificación y Aprovechamiento de Depredadores en Control Biológico: Chrysopidae y Coccinellidae. INIFAP, UANL. México. Pp. 138-154.
- Phillips, A. M., J. R. Large and J. R. Cole. 1964. Plagas de insectos y enfermedades del nogal en Florida. *Agr. Exp. Stat., Univ. of Florida, Gainesville. USA. Bulletin* 619-A.
- Sánchez E. F. y L. A. Aguirre U. 1982. Estudio preliminar de la presencia de plagas del nogal relacionadas a la fenología del árbol. XVIII Congreso Nacional de Entomología. Soc. Mex. De Entomología. Saltillo, Coahuila. 87 p.

EVALUACIÓN E IMPACTO DE ENTOMÓFAGOS Y ENTOMOPATÓGENOS

CONTROL BIOLÓGICO DEL BARRENADOR *Eoreuma loftini* Dyar CON LA MOSCA DE JALISCO *Lydella jalisco* Woodley (Diptera: Tachinidae) Y SU CRÍA A NIVEL EXPERIMENTAL

Adolfo Caro Gastelum¹

¹Cia. Azucarera de Los Mochis S. A. de C. V. prolongación Vicente Guerrero sur s/n Col. Azucarera Los Mochis, Sinaloa. mcg_y_secq@hotmail.com

Palabras clave: *Lydella jalisco*, control biológico, *Eoreuma loftini*

Introducción

Los barrenadores del tallo *Diatraea-Eoreuma* representan uno de los factores limitantes de la producción de caña de azúcar en el área de abastecimiento del ingenio Los Mochis. En 1988 un nuevo parasitoide fue descubierto en barrenadores de la caña de azúcar *Eoreuma loftini* en Ameca Jalisco por Rodríguez del Bosque y Smith. De las larvas emergieron adultos de un taquinido los especímenes fueron montados y enviados para su identificación a Norman E. Woodley, del Systematic Entomology Laboratory, en Beltsville, Md. y a D.M. Wood, del Canadian National Museum se determinó que el taquinido era una nueva especie del género *Lydella jalisco* es un endoparasitoide solitario específico de las larvas de *Eoreuma loftini*.

Materiales y Métodos

La cría se inició en Mayo del 2001 siguiendo la metodología de Rodríguez del Bosque y Smith utilizada en Weslaco, Texas con algunas modificaciones. Dieta para *Eoreuma loftini* Dyar (Lepidoptera: Pyralidae) agua destilada 3785ml, agar 94.20grs., paquete 1 olote molido esterilizado 321.40grs. azúcar 137.10grs., harina de soya 158.50grs., germen de trigo 137.10grs., sales de wesson 38.50 grs., fibra 20.30grs., paquete 2 vitaminas vanderzant 46grs., aureomycina 9.30grs., methylparaben 7.50grs., ácido sórbico 4.20grs., fumidil-b 2.10grs., formol 10% 16ml, solución propionica-fosfórica 23.50ml, se pesan los ingredientes de la dieta y en una olla de aluminio se colocan tres litros de agua destilada, en la estufa hasta que hierva, por separado se disuelve el agar en 785ml de agua destilada y se le agrega al agua hirviendo, se mezcla bien y se retira la olla de la estufa, se espera a que la temperatura baje a 60° C y en la licuadora se colocan los componentes del paquete 1 y se licúan durante un minuto, se agrega el paquete 2 se licúa 30 segundos se le agrega el formol y la solución propionica fosfórica y se licúa 30 segundos y luego se vacía la dieta en los frascos Gerber 2cms. de dieta por frasco estos se tienen que tapar de inmediato con algodón esterilizado. La dieta también se coloca en charolas y posteriormente ya fría se corta con espátula en cuadros de 1cm a la dieta que está en los frascos se le hace una ralla con una aguja de disección esterilizada y se colocan los huevecillos por eclosionar dentro del frasco. Obtención de ovipositoras en tubos de pvc de 6 pulgadas por 23cms de altura se colocan tiras de papel en grupos de 6 engrapadas una sobre otra para que ovipositen

los adultos se introducen 60 hembras y 60 machos de *Eoreuma loftini* cubiertos en la parte superior con una tela de plástico, los papeles se retiran a diario y se desinfectan. Obtención de pupas, las larvas que se dejan para pupa se mantienen por 34 días en frascos Gerber con dieta a 27° C se extraen de los frascos, luego se desinfectan con una solución de formaldehído al 0.1% durante 1 minuto después se enjuaga durante 1 minuto y se colocan en cajas petri con una lamina de algodón humedecido y papel filtro se les agrega humedad diariamente hasta su emergencia.

Cría de la mosca de Jalisco *Lydella jalisco* Durante Mayo y Junio del 2001 recibimos 650 puparios enviados de The Entomology Laboratories At Texas Agricultural Research And Extensión Center At Weslaco, Texas, USA. Con este material biológico se inicio la cría de *Lydella*, se utilizaron jaulas de madera con 4 caras cubiertas con tela mosquitero, la parte de abajo de triplay y una tapa corrediza de acrílico con medidas de 25x25x25cms. cuando emergen las moscas se sexan y se introducen 25 parejas por jaula, se alimentan de agua y miel diluida solución al 30% y se coloca una caja petri con esponja y agua destilada. Las moscas deben mantenerse expuestas a la luz natural para que se apareen. Después de 11 a 14 días de emergidas se toman las hembras y se extrae el saco embrionario con 2 pinzas de precisión se colocan 2 gotas de formaldehído al 0.7% en una caja de cristal y ahí se rompe el saco embrionario para desinfectar las larvas de la mosca luego se enjuagan 3 veces con agua destilada posteriormente con la ayuda de una pipeta y un estereoscopio se coloca una larva de mosca sobre el dorso de una larva de *Eoureuma loftini* de 15 días de edad y se mantiene en una caja de acrílico con un cuadro de dieta, a los 11 días se obtienen los puparios de mosca, son colocados 10 puparios en una caja petri de 35x10mm dentro de un frasco con tapadera hasta su emergencia la cual ocurre entre los 11 y 14 días.

Resultados y Discusión

Cuadro No.1 cantidad de adultos de mosca de Jalisco *Lydella jalisco* producidas y liberadas en el área de abastecimiento de ingenio Los Mochis, Sinaloa durante el periodo 2001-2003.

Año 2001		2002		2003	
Moscas Producidas	Moscas Liberadas en el Campo	Moscas Producidas	Moscas Liberadas en el Campo	Moscas Producidas	Moscas Liberadas en el Campo
17,399	5,200	25,024	17,009	11,996	8,228

En el año 2001 de las 5200 moscas liberadas en el campo, 2692 fueron hembras y 2508 fueron machos. En el año 2002 de las 17,009 moscas liberadas en el campo, 8405 fueron hembras y 8604 fueron machos. En el año 2003 de enero a julio de las 8228 moscas liberadas en el campo, 4072 fueron hembras y 4156 fueron machos.

Cuadro No.2 colecta de larvas de *Eoreuma loftini* de campo para la recuperación de la mosca de Jalisco *Lydella jalisco* en el área de abastecimiento del ingenio Los Mochis, Sinaloa durante el periodo 2001-2003.

AÑO 2001						
Mes	Larvas de <i>Eoreuma loftini</i> colectadas	No. De puparios de <i>Lydella jalisco</i>		Otros Parasitoides encontrados		
		Campo	Laboratorio	<i>Chelonus sonorensis</i>	<i>Mallochia pyralidis</i>	<i>Macrocentrus prolificus</i>
Julio	4	0	0	0	0	0
Agosto	110	0	0	11	11	8
Septiembre	63	0	0	0	2	6
Octubre	4	0	0	0	0	0
Noviembre	69	0	0	0	0	0
Diciembre	155	0	1	2	0	0
Total	405	0	1	13	13	14
AÑO 2002						
Enero	154	0	0	4	2	0
Febrero	75	0	0	12	3	0
Marzo	62	0	0	8	3	1
Abril	53	0	0	7	3	0
Mayo	87	0	0	9	0	1
Junio	204	0	0	6	5	1
Julio	136	1	0	2	0	4
Agosto	134	0	0	6	8	4
Total	905	1	0	54	24	11
AÑO 2003						
Marzo	19	0	0	0	0	0
Abril	6	0	0	0	0	0
Mayo	58	2	0	2	3	0
Junio	49	0	0	3	0	0
Julio	152	0	0	0	0	3
Agosto	262	0	2	2	2	7
Total	546	2	2	7	5	10

De julio del 2001 a agosto del 2003 se colectaron 1856 larvas de *Eoreuma loftini* para la recuperación de *Lydella jalisco* obteniendo un pupario de mosca en diciembre del 2001 y un pupario de mosca en julio del 2002. 2 puparios de mosca en mayo y otros 2 puparios en agosto del 2003. De acuerdo con los resultados obtenidos en campo nos indican que *Lydella jalisco* tiene potencial para el control biológico de *Eoreuma loftini*. Estos resultados se consideran preliminares debido a que se continúa con la cría de mosca de jalisco y las liberaciones en campo.

Literatura Citada

- Rodríguez del Bosque Luis Ángel 1994 control biológico de barrenadores del tallo mediante la utilización de moscas taquinidas memoria del curso sobre control biológico de barrenadores en caña de azucar tecoman, Colima.
- Vejar Cota Guadalupe y Caro Gastelum Adolfo informe de la comisión a Texas Agricultural Experiment Station, Weslaco Texas, USA del 10 al 17 de Septiembre del 2000 Cia. Azucarera de Los Mochis S.A. de CV. (Inédito).

CONTROL BIOLÓGICO DEL GUSANO BARRENADOR DE LA CAÑA DE AZÚCAR (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE), COMO BASE DEL MIP EN EL NORTE DE SINALOA

Guadalupe Vejar Cota¹

Compañía Azucarera de Los Mochis S.A. de C.V.¹. Prol. Vicente Guerrero s/n sur, Col. Centro. Los Mochis, Sin. 81200. E-mail: vejargpe@hotmail.com

Palabras clave: *Caña de Azúcar, Gusano Barrenador, MIP.*

Introducción

Actualmente, existen 80 años de intentos por combatir al gusano barrenador en los cañaverales del ingenio Mochis; desde el uso de insecticidas hasta la reproducción de enemigos naturales y su liberación en campo. Ningún método por si solo ha reducido de manera significativa las poblaciones del gusano barrenador. A partir de la llegada del consorcio AGA a tierras sinaloenses, se dio un nuevo empuje y se definieron nuevas técnicas y estrategias de manejo. A partir de 1992, el ingenio de Los Mochis suspendió totalmente las aplicaciones de insecticidas en el cultivo de la caña de azúcar, lo que favoreció el incremento de las especies de parásitos nativos (Pérez y Hernández, 1994). Con estos cambios en el manejo del cultivo se propiciaron las condiciones para establecer el "*Programa de Manejo Integrado del Gusano Barrenador basado en el Control Biológico*", el cual ya cuenta con 10 años de existencia y a continuación se presentan las principales estrategias y resultados obtenidos.

El problema

Los barrenadores del tallo representan un problema importante para los cultivos como el maíz, sorgo, arroz y caña de azúcar. En cualquier región del mundo donde se cultiva alguna gramínea, se presenta por lo menos una especie de barrenador que ocupa el nicho que ofrece el tallo. Los daños y pérdidas provocados por los barrenadores dependen de las especies, región y diversos factores ambientales y demanda del cultivo. Las principales especies del barrenador alrededor del mundo pertenecen al orden Lepidoptera y en particular a las familias Pyralidae, Noctuidae, y Castnidae (Rodríguez del Bosque, 1994). En México existen siete especies de barrenadores pertenecientes a la familia Pyralidae, de las cuales *Diatraea considerata* (Heinrich), *D. grandiosella* Dyar y *Eoreuma loftini* (Dyar) están presentes en Sinaloa, afectando alrededor de 30 mil hectáreas de caña (Flores, 1994; Anónimo, 1987); con pérdidas estimadas en 100 millones de pesos anuales (Anónimo, 1999).

El programa MIP actual

La estrategia actual para el control del gusano barrenador consiste en acciones agrupadas en tres vertientes: Manejo del cultivo, Control genético y el Control Biológico, lo que forman el "*Manejo Integrado del Gusano Barrenador basado en el Control Biológico*", el cual a través de la continua investigación busca nuevas opciones que puedan incorporarse a este esquema.

El Control Biológico y su filosofía

La filosofía actual en el manejo del gusano barrenador basado en el control biológico dentro del MIP, es liberar y establecer parásitos de los diferentes estados de desarrollo del gusano barrenador, es decir, contar con parásitos eficientes en cada uno de los estados de desarrollo para que en su conjunto, sean los que regulen las poblaciones de esta plaga. A la fecha se han estudiado y liberado un total de 12 especies (Cuadro 1), de los cuales solo *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner y *Macrocentrus prolificus* Wharton se encuentran establecidos con éxito en la región.

Cuadro 1. Relación de agentes de control biológico liberados en los últimos 10 años en la región cañera del ingenio Mochis.

Estado de desarrollo del gusano barrenador	Especie utilizada en los últimos 10 años	Situación actual
Huevo (2.3%)* (45.0%)*	<i>Trichogramma pretiosum</i> (1992-1997)	Establecida
	<i>T. atopovirilia</i> (1997-2001)	Establecida
Larva externa (14.0%)	<i>Macrocentrus prolificus</i> (1995-2001)	Establecida
Larva interna (0%)E (0.57%)E (2.24%)E (0.5%)E (0%)E (0%)E	<i>Apanteles deplanatus</i> (1992 y 1997)	establecida
	<i>Cotesia chilonis</i> (1997-1998)	No establecida
	<i>Cotesia flavipes</i> -brasileña-(1992-1997)	No establecida
	<i>Cotesia flavipes</i> -venezolana-(1999-2000)	No establecida
	<i>Palpozenillia palpalis</i> (1992)	No establecida
	<i>Paratheresia claripalpis</i> (1992)	No establecida
	<i>Lydella jalisco</i> (2001 a la fecha)	Experimental
Pupa (0%)E	<i>Xanthopimpla stemmator</i> (1995-1996)	No establecida
	<i>Conura</i> (= <i>Spilochalcis</i>) <i>acuta</i> (2000 a la fecha)	Experimental

E = Especies que tendieron a la extinción, es decir, ya no fueron recuperadas en años posteriores a su liberación

* Especies previamente establecidas en la región.

Según los resultados del Cuadro 1, la mayoría de los intentos por establecer agentes de control biológico en la región han fracasado. Sin embargo, también es cierto que de todas las estrategias y/o intentos que se han utilizado para el control del gusano barrenador, solo ha funcionado el uso de agentes de control biológico.

Alcances y beneficios económicos obtenidos

Según los registros del desaparecido IMPA (Instituto para el Mejoramiento de la Producción de Azúcar), en la zona cañera de Los Mochis se presentaban infestaciones promedio del barrenador del 30%, con oscilaciones que variaban entre 25 al 34% de infestación (Caro, 2002.Com. pers.¹). Los resultados de los últimos 10 años señalan

una disminución de la infestación promedio al 21.5%, con oscilaciones que varían entre el 19 y 25% de infestación (Figura 1). Estos resultados reflejan una recuperación promedio de azúcar del 5.0% de la pol, lo que equivale a alrededor de los 20 millones de pesos anuales. A pesar de estos resultados, el grado de infestación sigue siendo alto por lo que se requiere seguir buscando nuevas alternativas de control.

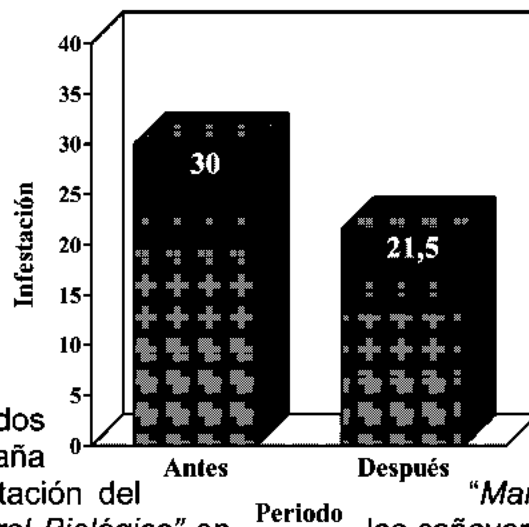


Figura 1. Resultados de la infestación del barrenador de la caña de azúcar, después de 10 años de implementación del "Manejo Integrado de Plagas basado en el Control Biológico" en los cañaverales del ingenio Mochis.

¹_Caro, G. A. 2002. Ex-técnico Entomólogo del Instituto para el Mejoramiento de la Producción de Azúcar.

Literatura Citada

- Anónimo. 1987. *Informe Técnico del Instituto para el Mejoramiento de la Producción de Azúcar*, Córdoba, Veracruz, México. 166 pp.
- Anónimo. 1999. *La industria azucarera en Sinaloa*. Consorcio AGA, ingenio Mochis; Zucarmex, ingenio La Primavera; Grupo Azucarero México, ingenio El Dorado. Secretaría de Desarrollo Económico del gobierno del estado de Sinaloa. s/p.
- Flores, C.S. 1994. *Las plagas de la caña de azúcar en México*. Servicios Gráficos Orejel. Córdoba, Veracruz, 350 pp.
- Pérez, F. A. y C. Hernández G. 1994. *Implementación del control biológico de barrenadores en el Ingenio de Los Mochis, Sinaloa*. Curso sobre control biológico de barrenadores en caña de azúcar, Colima, México. pp. 49 – 50.
- Rodríguez del Bosque, J.L. 1994. *Control biológico de los barrenadores del tallo mediante la utilización de moscas taquínidas*. Curso de control biológico de barrenadores en caña de azúcar. Colima, México. Pp. 31-37.

INTRODUCCIÓN, COLONIZACIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE *Macrocentrus prolificus* Wharton (HYMENOPTERA:BRACONIDAE) EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN EL NORTE DE SINALOA

Guadalupe Vejar Cota¹, David Sahagún Hernández

¹Compañía Azucarera de Los Mochis S.A. de C.V. Prol. Vicente Guerrero s/n sur, Col. Centro. Los Mochis, Sin. 81200. E-mail: vejargpe@hotmail.com

Palabras clave: *Caña de Azúcar*, *Gusano Barrenador del tallo*, *Macrocentrus prolificus*.

Introducción

El primer intento de control biológico del gusano barrenador del tallo en caña de azúcar (Lepidoptera:Pyralidae), en la zona norte del estado de Sinaloa, fue realizado por Zwaluwenburg en 1921 (Zwaluwenburg, 1923) mediante la liberación de la mosca taquinida *Lixophaga diatraea* Towns. A partir de entonces, se han intentado otros métodos de control, incluyendo el uso de insecticidas, los cuales demostraron su ineffectividad. A partir de 1992, el ingenio de Los Mochis suspendió totalmente las aplicaciones de insecticidas en el cultivo de la caña de azúcar, lo que favoreció el incremento de las especies de parásitos nativos (Pérez y Hernández, 1994). Con estos cambios en el manejo del cultivo se propiciaron las condiciones para establecer el "*Programa de Control Biológico del Gusano Barrenador de la Caña de Azúcar*", el cual ha involucrado hasta la fecha la reproducción y liberación de 12 especies de agentes de control biológico. De estas, solo *Macrocentrus prolificus* Wharton ha sido la única especie introducida que se ha recuperado posteriormente en áreas no liberadas (Figura 1). *M. prolificus* fue introducida por primera vez a la zona cañera del ingenio Mochis en mayo de 1995, a partir de entonces se reprodujo y se liberó de manera regular hasta el 2001 (7 años). Las cantidades promedio que se liberaron fue de 18 millones de especímenes al año. A partir de 1999, se iniciaron las recuperaciones en áreas sin liberación, observándose cada vez mayor parasitismo, por lo que se decidió evaluar el estatus de establecimiento y el efecto en las poblaciones del gusano barrenador mediante su liberación inundativa.

Material y Métodos

El estudio se realizó en el área de influencia del cultivo de la caña de azúcar en el valle del Fuerte, Sinaloa, de abril del 2001 a febrero del 2002. Se evaluó la especie *Macrocentrus prolificus* (parásito de larvas externas), bajo dos programas de liberación: inoculativo (método tradicional) e inundativo (aumento), dejando áreas sin liberación de parásitos para determinar el grado de establecimiento. Se seleccionaron cuatro áreas, donde cada área constituyó una repetición. Se utilizaron en total 400 ha por tratamiento, con el 50% de plantas y el 50% de socas, debido a que el gusano barrenador ejerce diferente presión, dependiendo del tiempo de desarrollo del cultivo (18 y 12 meses, respectivamente). Las liberaciones de parásitos se realizaron bajo un programa establecido de acuerdo a las épocas de aparición de la plaga. Mensualmente se

determinó el parasitismo ocasionado por *M. prolificus*. Al final del crecimiento del cultivo y previo a la cosecha se tomaron muestras de caña para cuantificar los daños que ocasionaron las larvas del barrenador durante el desarrollo del estudio. La información obtenida fue analizada utilizando un diseño experimental en bloques completos al azar. Los datos fueron transformados al $\arcsen \sqrt{p}$ para normalizarlos y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($p = 0.05$) (Reyes, 1980; Wayne, 1985).

Figura 1. Parasitismo ocasionado por *Macrocentrus prolificus* en larvas del gusano barrenador de 1995 - 2001 en los cañaverales del ingenio Mochis.

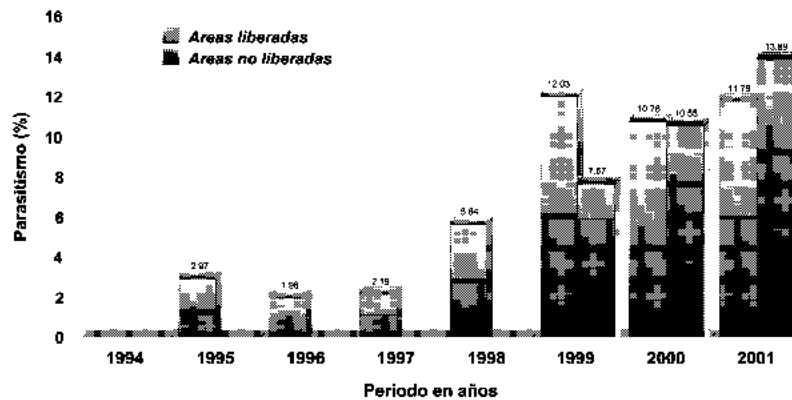


Figura 2. Comportamiento poblacional de las larvas del gusano barrenador y el parasitismo ocasionado por *M. prolificus* en cada uno de los tratamientos en el ciclo Planta. Medias con la misma letra se consideran estadísticamente iguales (Tukey = 0.05).

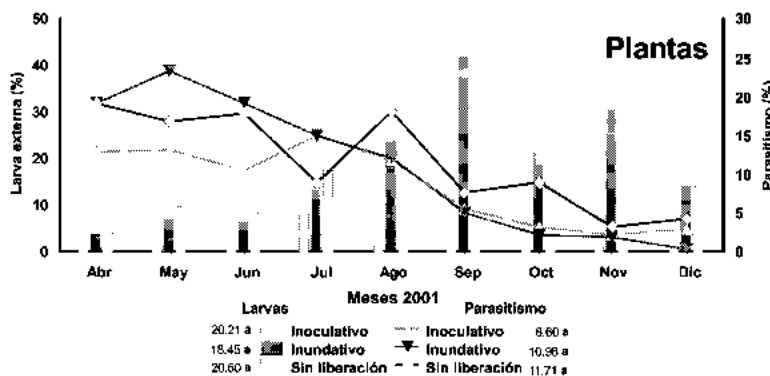


Figura 3. Comportamiento poblacional de las larvas del gusano barrenador y el parasitismo ocasionado por *M. prolificus* en cada uno de los tratamientos en el ciclo Soca. Medias con la misma letra se consideran estadísticamente iguales (Tukey = 0.05).

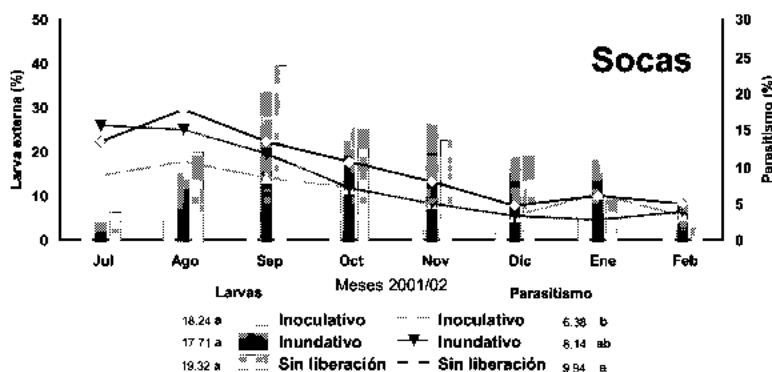
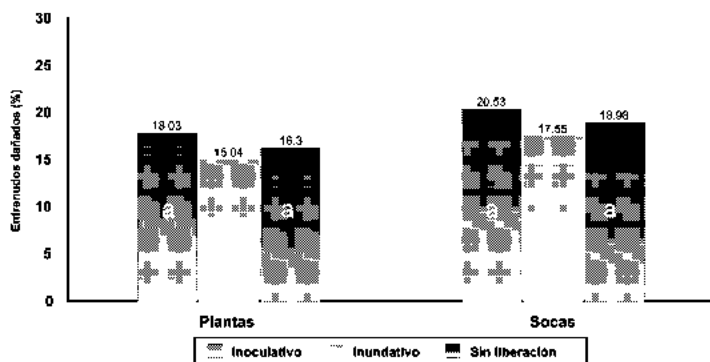


Figura 4. Comportamiento del daño ocasionado por el gusano barrenador en ambos ciclos del cultivo de la caña de azúcar, bajo dos programas de liberación de *M. prolificus*. Medias con la misma letra se consideran estadísticamente iguales (Tukey = 0.05).



Resultados

Tanto en el ciclo Planta como en Soca, el comportamiento de las larvas del gusano barrenador fluctuaron de manera normal (según los registros obtenidos anteriormente), no presentándose diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 2 y 3). Por otro lado, durante el periodo de muestreo se presentaron bajas densidades de los parásitos de larvas *Mallochya pyralidis* Wharton, *Chelonus sonorensis* Cameron y el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Viull. Con respecto al parasitismo, los resultados señalan que *M. prolificus* bajo el programa de liberación inoculativa e inundativa se comportó de manera similar a las áreas donde no se realizó liberación alguna ($p = 0.05$) (Figura 2 y 3). En ambos ciclos de cultivo, los daños ocasionados por el gusano barrenador fue similar para cada uno de los tratamientos ($p = 0.05$), es decir,

las áreas donde no se liberó *M. prolificus* mostró tanto daño como en las áreas donde se liberó de manera inoculativa e inundativa (Figura 4).

Conclusiones

En resumen, con los resultados del presente estudio se concluye lo siguiente: (1). La estrategia de control biológico por incremento de *M. prolificus* para el control del gusano barrenador, no es la mejor manera para reducir los daños ocasionados por esta plaga en un ciclo de cultivo de la caña de azúcar; (2). El mejor programa de manejo del barrenador se obtiene utilizando el control biológico clásico, es decir, mediante liberaciones inoculativas hasta obtener la colonización y el establecimiento del parásito; (3). *M. prolificus* se encuentra establecido en la región por lo que ya no es necesaria su liberación en campo; (4). El parásito de larvas *M. prolificus* constituye el primer caso exitoso de introducción, colonización y establecimiento para el control biológico del gusano barrenador de la caña de azúcar en la región.

Literatura Citada

- Pérez, F. A. y C. Hernández G. 1994. Implementación del control biológico de barrenadores en el Ingenio de Los Mochis, Sinaloa. Curso sobre control biológico de barrenadores en caña de azúcar, Colima, México. pp. 49 – 50.
- Reyes, C. P. 1980. Bioestadística aplicada. Editorial Trillas. México, D.F. 216 pp.
- Wayne, W. D. 1985. Bioestadística. Editorial Limusa, México, D.F. 486 pp
- Van Zwaluwenburg, R.H. 1923. Tachinids and sarcophagids established in México J. Econ. Entomol. 16: 117.

MANEJO INTEGRADO DE MOSCAS, *MUSCA DOMESTICA* L. (DIPTERA: MUSCIDAE) EN ESTABLOS LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA

Urbano Nava Camberos¹, Ma. Ileana Estrada Coronado¹, Verónica Avila Rodríguez² y José Luis Palacios Vázquez³.

¹Campo Experimental La Laguna-INIFAP, Matamoros, Coahuila. navau@cirnoc.inifap.conacyt.mx. ²Laboratorio Bioinsectum, Carr. Gómez Palacio-Tlahualilo Km. 36, Glorieta, Dgo. ³Laboratorio de Parasitoides de Moscas, CREROB, Matamoros, Coahuila.

Palabras Clave: *Musca domestica*, establos lecheros, parasitismo, *Spalangia*, *Muscidifurax*.

Introducción

La Comarca Lagunera es una región ganadera por excelencia, ya que del total del valor de la producción agropecuaria durante el 2000 (\$10,990.8 millones), el 84.9% (\$9,330.5 millones) correspondió a la actividad pecuaria (El Siglo de Torreón, 2001).

La mosca doméstica, *Musca domestica* L., y la mosca del establo, *Stomoxys calcitrans* L., son un serio problema zoonosario en la Comarca Lagunera. Poblaciones elevadas de moscas causan los siguientes impactos negativos en los establos lecheros: provocan estrés y disminución del confort de los animales, lo que afecta negativamente su consumo de alimento y en consecuencia causan reducción de la producción de leche; contaminación de los productos pecuarios por los insectos; transmisión de enfermedades a los animales, e incrementos en costos de producción de la leche.

Las pérdidas estimadas en la producción de leche en la región por las moscas son del orden de \$0.9/vaca/día, lo que equivale a \$78 millones anuales, por cada 1% de reducción en la producción de leche, a nivel regional. Algunos encargados y propietarios de establos de la región consideran que una estimación conservadora de las pérdidas en la producción de leche se ubica en alrededor del 5% (Nava et al., 2002).

Por lo anterior, se estableció el presente estudio con los siguientes objetivos: 1) determinar los niveles de infestación de moscas en establos lecheros de la Comarca Lagunera que han implementado un manejo integrado de la plaga y 2) determinar los niveles de parasitismo de pupas de moscas por parasitoides y su relación con las poblaciones de moscas.

Materiales y Métodos

Ubicación del estudio

El presente estudio se llevó a cabo en ocho establos productores de leche de la Comarca Lagunera, de los cuales cinco (Deslac, El Comienzo, La Sagra, Sta. Mónica y

Ampuero) han establecido un manejo integrado de moscas consistente en manejo cultural del estiércol, control biológico mediante liberaciones de parasitoides (*Muscidifurax zaraptor* y *Spalangia* sp.) y control químico; mientras que los otros tres (Rancho Grande, Mápulas y Campanario) utilizaron principalmente el control químico y diferentes grados de manejo del estiércol, pero no efectuaron liberaciones de parasitoides. El trabajo de laboratorio se realizó en el Campo Experimental La Laguna (CELALA-INIFAP), Matamoros, Coahuila.

Infestaciones de moscas

El monitoreo de poblaciones de adultos de moscas se efectuó mediante la colocación de 10 trampas con atrayente por establo. El período de muestreo varió entre establos, pero se inició desde el 14 de abril y terminó el 16 de septiembre del 2003. Se utilizaron trampas de galones de plástico para la leche y como atrayente se usó el insecticida Snip. Las moscas capturadas en las trampas se contaron semanalmente.

Determinación de niveles de parasitismo. Para la determinación de niveles de parasitismo se siguió la metodología reportada por Jones y Weinzierl (1997). Se realizaron colectas mensuales de 200 pupas de moscas, las cuales se iniciaron el 15 de abril y concluyeron el 4 de septiembre del 2003. Las pupas se separaron del estiércol y se colocaron en cápsulas de gelatina. La evaluación de los parasitoides emergidos se realizó semanalmente a partir de la colecta durante un periodo de un mes.

Resultados y Discusión

Infestaciones de moscas. Las densidades de adultos de moscas variaron fuertemente entre establos y en función de la época del año. En general, los establos con buen manejo del estiércol presentaron las poblaciones más bajas de moscas (promedios anuales de 47.0 a 91.2 adultos/trampa/semana). Los establos con manejo deficiente del estiércol tuvieron densidades altas de moscas (promedios anuales de 96.5 a 345.0 adultos/trampa/semana). Se observó una menor infestación de moscas en los establos con manejo integrado, el cual se basó fuertemente en el control biológico mediante liberaciones de parasitoides (Cuadro 1).

Niveles de parasitismo. Los promedios de parasitoides emergidos por 200 pupas variaron grandemente entre épocas de muestreo y entre establos. Los establos con liberaciones de parasitoides presentaron niveles de parasitismo mayores que los establos sin liberaciones, particularmente a principios del año (abril a junio) (Cuadro 2).

Composición de géneros de parasitoides. Los parasitoides del género *Spalangia* fueron mas abundantes (48.1%) que los del género *Muscidifurax* (41.6%). Los parasitoides del género *Dirhinus* representaron una proporción baja (10.2%) (Cuadro 3).

Cuadro 1. Promedios de moscas por trampa por semana en establos lecheros de la Comarca Lagunera, durante el 2003.

Establo	Manejo de moscas			Moscas
	Cont. biológico	Cont. cultural	Cont. químico	
Deslac	Si	Bueno	Bajo	47.0
Ampuero	Si	Bueno	Medio	91.2
La Sagra	Si	Regular	Medio	96.5
Sta. Mónica	Si	Regular	Medio	204.2
El Comienzo	Si	Malo	Medio	126.2
Promedio				113.0
R. Grande	No	Bueno	Alto	61.9
Mápuas	No	Regular	Alto	110.1
Campanario	No	Malo	Alto	345.0
Promedio				172.3

Cuadro 2. Promedios de parasitoides emergidos de 200 pupas de moscas, durante el 2003.

Establo	Mes de colecta de pupas						Promedio
	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	
Deslac	22	6	95	21	101	---	49.0
Ampuero	---	---	44	13	---	5	20.7
Sagra	9	25	12	55	43	---	28.8
Sta. Mónica	22	17	34	22	12	---	21.4
Comienzo	58	10	---	34	---	14	29.0
Promedio	27.7	14.5	46.2	29.0	52.0	9.5	29.8
R. Grande	18	44	8	51	---	35	31.2
Mápuas	0	1	23	24	---	9	11.4
Campanario	0	2	0	35	20	---	11.4
Promedio	6.0	15.7	10.3	36.7	---	22.0	18.0

Cuadro 3. Composición de géneros de parasitoides de pupas de moscas, durante el 2003.

Establo	Pupas colectadas	Spalangia		Muscidifurax		Dirhinus		Total	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Deslac	995	95	38.8	141	57.5	9	3.7	245	100
Ampuero	600	17	27.4	14	22.6	31	50.0	62	100
Sagra	1209	46	30.3	89	58.5	17	11.2	152	100
Sta. Mónica	951	79	76.0	23	22.1	2	1.9	104	100
Comienzo	686	98	90.7	9	8.3	1	1.0	108	100
R. Grande	1055	72	44.7	58	36.0	31	19.2	161	100

Mápuas	998	20 35.1	31 54.4	6 10.5	57 100
Campanario	1000	28 49.1	29 50.9	0 0	57 100
Total	7494	455 48.1	394 41.6	97 10.2	946 100

Literatura Citada.

- El Siglo de Torreón. 2001. Resumen económico anual de la Comarca Lagunera. Edición Especial. Torreón, Coah. Lunes 1 enero de 2001. p. 40.
- Jones, C. J. and R. A. Weinzierl. 1997. Geographical and temporal variation in pteromalid (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitism of stable fly and house fly (Diptera: Muscidae) pupae collected from Illinois cattle feedlots. Environ. Entomol. 26: 421-432.
- Nava C., U., V. Avila R. y F. García G. 2002. Técnicas de liberación y evaluación de la efectividad de parasitoides de moscas, *Spalangia* y *Muscidifurax* (Hymenoptera: Pteromalidae). Memorias del curso-taller Técnicas de Liberación de Entomófagos y Aplicación de Entomopatógenos. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Hermosillo, Son. 11-13 de noviembre del 2002. pp: 36-43.

Agradecimientos.

Se agradece el financiamiento de la Fundación Produce Coahuila, A. C., Fundación Produce Durango, A. C. y del Patronato Para la Investigación Fomento y Sanidad Vegetal de la Comarca Lagunera.

EFFECTIVIDAD DE INSECTICIDAS A BASE DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS EN EL CONTROL DE LA MOSQUITA BLANCA, *BEMISIA ARGENTIFOLII* BELLOWS & PERRING (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE), EN MELON

Urbano Nava Camberos¹, Pedro Cano Ríos¹, Cipriano García Gutiérrez², Enrique Esquivel Gutiérrez³ y Elizabeth Soto Trejo⁴.

¹Campo Experimental La Laguna-INIFAP, Matamoros, Coahuila. ²IPN, CIIDIR, Unidad Durango. ³Tesista de Maestría, FAZ-UJED, Venecia, Dgo. ⁴Tesista de Licenciatura, UAAAN-UL, Torreón, Coah.

Palabras Clave: *Bemisia argentifolii*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*.

Introducción

La mosquita blanca de la hoja plateada (MBHP), *B. argentifolii*, constituye actualmente uno de los principales problemas fitosanitarios de muchos cultivos de la Comarca Lagunera (Sánchez et al. 1996). Se han reportado más de 20 especies de hongos comúnmente usados como agentes de control biológico de mosquitas blancas y pulgones, entre los que destacan por su efectividad los siguientes: *Paecilomyces fumosoreosus*, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii* y *Aschersonia* spp. (Fransen, 1990). Sin embargo, existen pocos antecedentes sobre evaluaciones o uso comercial de insecticidas microbiales o biorracionales para el control de estas dos plagas en la Comarca Lagunera. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar la efectividad de insecticidas microbiales a base de los hongos entomopatógenos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* para el control de la MBHP, en el cultivo del melón.

Material y Métodos

Condiciones de invernadero.

Se establecieron dos experimentos bajo condiciones de invernadero dentro del Campo Experimental La Laguna (CELALA), Matamoros, Coahuila, durante el 2000. El primero se realizó en un invernadero con condiciones favorables para el desarrollo del hongo (temperatura media de 23 °C y humedad relativa media del 75%). El segundo experimento se realizó en un invernadero con condiciones poco favorables para el desarrollo del hongo (temperatura media de 28 °C y humedad relativa media del 43%). Se utilizó el híbrido de melón Cruiser, realizándose la siembra el 7 de septiembre del 2000. Se evaluaron los siguientes tratamientos: 1) Bea-Sin (*B. bassiana*), a la dosis de 2.0 lts/ha, 2) Bea-Sin, a la dosis de 1.0 lts/ha, 3) Pae-Sin (*P. fumosoreosus*), a la dosis de 2.0 lts/ha, 4) Pae-Sin, a la dosis de 1.0 lts/ha y 5) testigo sin tratar. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones. La unidad experimental fue una planta de melón. Las variables medidas fueron densidad de ninfas sanas e infectadas con los hongos por hoja. Se realizó un muestreo previo a los tratamientos (29 de septiembre) y muestreos a los 2, 4, 6, 8 y 11 días después (1, 3, 5,

7 y 10 de octubre). Los datos obtenidos se analizarán mediante análisis de varianza y prueba de DMS (0.05).

Condiciones de Campo.

El experimento se estableció en un lote de melón, híbrido Cruiser, ubicado dentro del CELALA, durante el 2002. Se evaluaron los siguientes tratamientos: 1) Pae-sin, con dos aplicaciones, 2) Pae-sin, con cuatro aplicaciones, 3) Bea-sin, con dos aplicaciones, 4) Bea-sin, con cuatro aplicaciones, 5) Killwalc (piretrina natural) con cuatro aplicaciones, 6) Endosulfán + Mitac (endosulfán + amitraz) con cuatro aplicaciones y 7) testigo sin tratar. Los insecticidas se aplicaron con una aspersora motorizada de moschila a la cual se le adaptó un aguilón con cuatro boquillas Tee Jet 8002 de abanico plano, utilizándose un volumen de agua de 400 lts/ha. Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones. La parcela experimental fue de 2 camas de 1.8 m de ancho por 6 m de largo (21.6 m²). La variable medida fue la densidad ninfas de la MBHP. Para el conteo de ninfas se tomaron hojas basales (hojas verdaderas 1 a 3) y se llevaron al laboratorio para su revisión. El período de muestreo fue del 19 de julio al 9 de agosto.

Resultados y Discusión

Condiciones de Invernadero.

La Figura 1 muestra los porcentajes de ninfas infectadas en los tratamientos evaluados en el invernadero con condiciones favorables de humedad (media de 75% H. R.) y temperatura (media de 23 °C) para los hongos. No se detectaron ninfas infectadas por hongos a los 2 días (1 de octubre) después de las aplicaciones en ninguno de los tratamientos. Posteriormente los porcentajes de ninfas infectadas se incrementó gradualmente hasta alcanzar un máximo de 54 y 77 % para las dosis baja y alta de *B. bassiana* y de 34 y 84% para las dosis baja y alta de *P. fumosoreosus*, respectivamente; en tanto que en el testigo sin tratar se encontró un 3% de ninfas infectadas, a los 11 días (10 de octubre). Estos resultados muestran que la dosis alta (2 lts/ha) de ambos hongos fueron efectivas para el control de las ninfas de la MBHP, bajo condiciones climáticas favorables para el desarrollo de los entomopatógenos. Se observó una menor efectividad de los hongos para el control de la plaga bajo condiciones climáticas de invernadero poco favorables de humedad (media de 43% H. R.) y temperatura (media de 28 °C). La mayor actividad fue de 52% (mortalidad corregida de 30%, considerando un 31% de mortalidad en el testigo) y 60% (42% de mortalidad corregida) de ninfas infectadas para *B. bassiana* y *P. fumosoreosus*, respectivamente, bajo estas condiciones de clima.

Condiciones de Campo

Los tratamientos a base de dos y cuatro aplicaciones del insecticida microbial *P. fumosoreosus* a la dosis de 1.0 lt por hectárea (Pae-sin) redujeron gradualmente las densidades de ninfas; en el último muestreo realizado el 9 de agosto se observó una reducción de la plaga del 79 y 81.2%, con respecto al testigo sin tratar,

respectivamente. En los tratamientos de dos y cuatro aplicaciones del insecticida microbial *B. bassiana* (Bea-sin) a la dosis de 1.0 l/ha, se observó una reducción máxima de la plaga del 83.0 y 86.6%, con respecto al testigo sin tratar, respectivamente, en el último muestreo. El tratamiento a base de cuatro aplicaciones de la piretrina natural (Killwalc) causó una reducción máxima de la plaga del 81.0 % en el último muestreo, en comparación con el testigo sin tratar. El tratamiento a base de cuatro aplicaciones de la mezcla de los insecticidas convencionales endosulfán + amitraz (Endosulfán + Mitac), causó una reducción máxima de la plaga del 87.9% en el último muestreo, en comparación con el testigo sin tratar (Cuadro 1). Los resultados del presente estudio, muestran que los insecticidas microbiales a base de los hongos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*, fueron efectivos para el control de ninfas de la MBHP y su efectividad fue similar a la del insecticida natural Kilwalc y a la mezcla de los insecticidas convencionales endosulfán + amitraz.

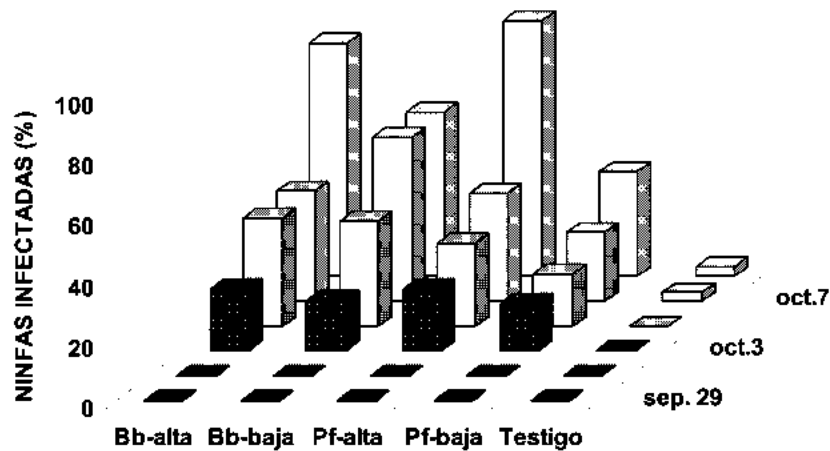


Figura 1. Efectividad de hongos entomopatógenos en el control de la MBHP en melón, bajo condiciones de invernadero. CELALA, 2000.

Cuadro 1. Porcentaje de reducción de la densidad de ninfas de *B. argentifolii* en los tratamientos de insecticidas, con respecto al testigo sin tratar.

Tratamiento	Fecha de muestreo			
	Jul-25	Jul-31	Ago-05	Ago-09
<i>P. fumosoroseus</i> 2 aplic.	42.7	50.9	71.5	79.2
<i>P. fumosoroseus</i> 4 aplic.	0	60.3	62.0	81.2
<i>B. bassiana</i> 2 aplic.	0	33.3	61.3	83.0
<i>B. bassiana</i> 4 aplic.	0	25.7	67.8	86.6
Killwalc	7.8	61.4	65.2	81.0
Endosulfán + Amitraz	0	44.7	74.1	87.9

Literatura Citada

Fransen, J. J. 1990. Natural enemies of whiteflies: fungi. *In*: Whiteflies: their bionomics, pest status and management. (D. Gerling, ed.). Intercept Ltd. Andover, Hants, UK. Pp: 187-210.

Sánchez G. , H., P. Cano R., G. de Avila D. y G. Rodríguez L. 1996. Informe de actividades, Campaña contra la mosquita blanca de la hoja plateada, *B. argentifolii* B. & P., en la Región Lagunera. Comité Coordinador de la Campaña contra la Mosquita Blanca, SAGAR.

EFICIENCIA DE LOS PARASITOIDES *Eretmocerus eremicus* ROSE Y ZOLNEROWICH Y *Encarsia formosa* GAHAN (HYMENOPTERA: APHELINIDAE) EN EL CONTROL DE LA MOSQUITA BLANCA *Trialeurodes vaporariorum* WESTWOOD (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE)

¹Félix García Valente, ¹Laura D. Ortega Arenas, ¹Héctor González Hernández, ²Fernando Tamayo Mejía y ¹Ariel W. Guzmán Franco.

¹Colegio de Postgraduados, Km. 36. 5 Carr. México-Texcoco, Montecillo Edo. de México. C.P. 56230. ²Sanidad Vegetal, SDA. Av. Irrigación s/n Col. Monte Camargo, Celaya, Gto. MEXICO. E-mail: garciaf@colpos.mx, ladeorar@colpos.mx.

Palabras clave: Parasitoides, mosquita blanca, eficiencia.

Introducción

La gama de enemigos naturales de las mosquitas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) es muy amplia (entomopatógenos, parasitoides y depredadores), sin embargo, relativamente pocas especies se han utilizado como agentes de control biológico (Gerling, 1990; Onillon, 1990). Las familias de himenópteros que contienen especies parasitoides de mosquitas blancas son: Aphelinidae, Platygastridae, Eulophidae y Signiphoridae (Gerling, 1990; Rose y Zolnerowich, 1997). Las especies más importantes que atacan a la mosquita blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, a la mosquita blanca del camote *Bemisia tabaci* Gennadius y a la mosquita blanca de la hoja plateada *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring, se encuentran dentro de los géneros *Encarsia* y *Eretmocerus* (Onillon, 1990). La utilización de los parasitoides para el combate de las mosquitas blancas es una alternativa viable que permite disminuir el uso de plaguicidas, sin embargo, para su mejor aplicación, es indispensable conocer las condiciones que permitan el mayor desempeño de cada especie en particular. Por lo tanto, en la presente investigación se planteó conocer el porcentaje de mortalidad ocasionado por los parasitoides *E. eremicus* y *E. formosa*, a diferente proporción de liberación, sobre la mosquita blanca *T. vaporariorum*, y comparar la eficiencia de los parasitoides en el control de la mosquita blanca, en condiciones de invernadero.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el invernadero del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, donde se estableció una colonia de la mosquita blanca *T. vaporariorum*. Los parasitoides *E. eremicus* y *E. formosa*, fueron donados por la empresa productora de organismos benéficos Koppert B. V. Biological Systems, mediante el producto Enermix®.

Para cada especie de parasitoide se aplicaron tres tratamientos, que consistieron en la liberación de una proporción baja (una hembra), una proporción media (dos hembras) y una proporción alta (tres hembras) dentro de cajas clip colocadas en los foliolos de

hojas de frijol con 100 ninfas de segundo instar de la mosquita blanca, por 1 día. También se incluyó un testigo (sin liberación de parasitoides). La unidad experimental consistió de un foliolo con 100 ninfas de segundo instar de *T. vaporariorum* y se realizaron dos repeticiones por día, durante 5 días, para cada tratamiento. Se registró el porcentaje de mortalidad (hospederos alimenticios y hospederos parasitados), el cual se sometió a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de medias (Tukey) a un nivel de significancia del 0.05, con el programa computacional SAS (SAS Institute, 1999).

Resultados

La mortalidad de ninfas de *T. vaporariorum* producto de la acción de los parasitoides *E. eremicus* y *E. formosa* esta relacionada con la proporción de individuos liberados, a mayor proporción de liberación, mayor mortalidad (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad (hospederos alimenticios y hospederos parasitados) ocasionada por las diferentes proporciones de liberación de *E. eremicus* y *E. formosa*, sobre ninfas de segundo instar de *T. vaporariorum*.

Tratamientos No. Parasitoides liberados	Porcentaje de Mortalidad		
	H. alimenticios	H. parasitados	Mortalidad total
3 <i>E. formosa</i>	9.9	11.4	21.3 a*
2 <i>E. formosa</i>	7.6	9.7	17.3 a b
3 <i>E. eremicus</i>	9.3	4.8	14.1 b
2 <i>E. eremicus</i>	9.6	3.0	12.6 b
1 <i>E. formosa</i>	4.0	2.8	6.8 c d
1 <i>E. eremicus</i>	3.9	1.4	5.3 c d
Testigo	-	-	3.2 d

* Medias con la misma letra en la misma columna no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

Para ambas especies de parasitoides se observa que la proporción de liberación media y alta fueron estadísticamente similares en su efecto sobre las ninfas de mosquita blanca, en cambio, el efecto obtenido con la proporción baja de liberación fue estadísticamente igual al testigo, por lo tanto, no presentó un efecto significativo en el control de la mosquita blanca. El parasitoide *E. eremicus* presentó un máximo de 8.0 hospederos alimenticios en un día y se registró un promedio de 3.8 hospederos alimenticios por parasitoide; con relación a los hospederos parasitados, se encontró un promedio de 1.5 ninfas por parasitoide, con un número máximo de 6.0 ninfas parasitadas en 1 día. Para *E. formosa*, el mayor número de hospederos alimenticios atacados por un parasitoide en 1 día fue de 6.0 ninfas, con un promedio de 3.5 hospederos alimenticios por parasitoide, también se observó que un parasitoide logró parasitar hasta 11 ninfas en 1 día, con un promedio de parasitismo de 3.9 hospederos por parasitoide.

Discusión

Los resultados muestran que a mayor proporción de liberación, se presenta un mayor efecto de los parasitoides sobre la mosquita blanca. Estos resultados son similares a los encontrados por Van Driesche *et al.* (2001) quienes con liberaciones semanales de tres hembras de *E. eremicus* por planta, controlaron en un 99.8% la población de *B. argentifolii* en nochebuena; así como con Parrela *et al.* (1991), quienes encontraron que *E. formosa* en proporciones de liberación de tres a cinco hembras por planta por semana, ejercieron un efecto significativo en la disminución de la población de *B. tabaci*. Sin embargo, esto es opuesto a lo reportado por Hoddle *et al.* (1998a), quienes reportan un mayor control de *B. argentifolii* en nochebuena cuando liberaron una baja proporción del parasitoide *E. eremicus* (una hembra por planta por semana), comparado con liberaciones de tres hembras por planta por semana. En la presente investigación, *E. formosa* presentó una mayor eficiencia en el control de las ninfas de la mosquita blanca, con liberación de tres hembras. Sin embargo, con los resultados obtenidos, no se puede establecer que un parasitoide sea mejor que otro. *E. formosa* fue efectivo en las condiciones en que se desarrolló el experimento (densidad de ninfas fijo y localizadas dentro de cajas clip), pero para el control de la mosquita blanca en cultivos de campo o invernadero, donde los parasitoides deben recorrer áreas más grandes y las densidades de ninfas son mayores, la habilidad de búsqueda es un factor determinante para un buen control, y en algunos estudios se menciona que *E. eremicus* presenta una mayor habilidad que *E. formosa* (Hoddle *et al.*, 1998b; Hoddle y Van Driesche, 1999).

Literatura Citada

- Gerling D. 1990. Natural enemies of whiteflies: predators and parasitoids. pp: 147-185. *In: Whiteflies: their bionomics, pest status and management.* Gerling, D. (ed). Intercep Ltd. Great Britain.
- Hoddle M. S., R. G. Van Driesche, J. P. Sanderson, and O. P. J. M. Minkenberg. 1998a. Biological control of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on poinsettia with inundative releases of *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae): do release rates affect parasitism? *Bull. Entomol. Research* 88: 47-58.
- Hoddle M. S., R. G. Van Driesche, S. J. Elkinton, and J. P. Sanderson. 1998b. Discovery and utilization of *Bemisia argentifolii* patches by *Eretmocerus eremicus* and *Encarsia formosa* (Beltsville strain) in greenhouses. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 87: 15-28.
- Hoddle M. S. and R. G. Van Driesche. 1999. Evaluation of inundative releases of *Eretmocerus eremicus* and *Encarsia formosa* Beltsville strain in commercial greenhouses for control of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on Poinsettia stock plants. *J. Econ. Entomol.*, 92: 811-824.
- Onillon J. C. 1990. The use of natural enemies for the biological control of whiteflies. pp: 278-313. *In: Whiteflies: their bionomics, pest status and management.* Gerling, D. (ed). Intercept Ltd: Great Britain.
- Parrela M. P., T. D. Paine, J. A. Bethke, K. L. Robb, and J. Hall. 1991. Evaluation of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) for biological control of

- sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on poinsettia. *Environ. Entomol.*, 20: 713–719.
- Rose M. and G. Zolnerowich. 1997a. The genus *Eretmocerus* (Hymenoptera: Aphelinidae): parasites of whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). Technical brochure produced for California Department of Food and Agriculture. 8p.
- SAS Institute. 1999. SAS Companion for Microsoft Windows, release 6.12. SAS Institute, Cary, N. C.
- Van Driesche R. G., M. S. Hoddle, S. Roy, S. Lyon, and J. P. Sanderson. 2001. Effect of parasitoid release pattern on whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) control in commercial poinsettia. *Florida Entomologist* 84: 63–69.

COMPATIBILIDAD DE LOS HONGOS *Paecilomyces fumosoroseus* (WISE) BROWN Y SMITH Y *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN (DEUTEROMYCOTINA: HIPHOMYCETES), CON EL PARASITOIDE *Encarsia formosa* GAHAN (HYMENOPTERA: APHELINIDAE), EN EL CONTROL DE LA MOSQUITA BLANCA *Trialeurodes vaporariorum* WESTWOOD (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE).

¹Félix García Valente, ¹Laura D. Ortega Arenas, ¹Héctor González Hernández, ²Fernando Tamayo Mejía y ¹Ariel W. Guzmán Franco.

¹Colegio de Postgraduados, Km. 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo Edo. de México. C.P. 56230. ²Sanidad Vegetal, SDA. Av. Irrigación s/n Col. Monte Camargo, Celaya, Gto. MEXICO. E-mail: garciaf@colpos.mx, ladeorar@colpos.mx.

Palabras Clave: Parasitoides, entomopatógenos, compatibilidad.

Introducción

El parasitoide *E. formosa* es aplicado exitosamente para el control de poblaciones de *T. vaporariorum* en cultivos de tomate en condiciones de invernadero (Van Lenteren y Woets, 1988), sin embargo, en otros cultivos como pepino, el control obtenido no siempre es efectivo, debido a la baja eficiencia del parasitoide y la alta susceptibilidad de la planta a las mosquitas blancas (Hua *et al.*, 1987). Entre las tácticas disponibles para incrementar o reemplazar la mortalidad obtenida por *E. formosa* y mantener los niveles de *T. vaporariorum* dentro de límites aceptables, se encuentra la aplicación de hongos entomopatógenos (Dowell, 1990). Poprawski *et al.* (2000) reportan una alta susceptibilidad de ninfas de *T. vaporariorum* a la infección por *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Por lo tanto, el estudio de la compatibilidad entre hongos y los parasitoides es esencial para el manejo exitoso de las mosquitas blancas. En el presente trabajo se evaluó la efectividad de aplicaciones combinadas del parasitoide *E. formosa* con los hongos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*, a diferente intervalo de tiempo, para el control de *T. vaporariorum*, para conocer el tipo de relación que se presenta entre estos enemigos naturales en condiciones de invernadero.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el invernadero del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, donde se estableció una colonia de la mosquita blanca *T. vaporariorum*. La producción de los hongos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* se realizó en el laboratorio de Patología de Insectos del Instituto de Fitosanidad. El parasitoide *E. formosa*, fue donado por la empresa productora de organismos benéficos Koppert B. V. Biological Systems, mediante el producto Enermix[®].

Las pruebas se dividieron en dos fases. En la primera fase se realizó la aplicación de una solución de 1×10^8 esporas/mL de los hongos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* sobre 100 ninfas de segundo instar de *T. vaporariorum* presentes en un foliolo de frijol, posteriormente éstas se expusieron a la acción de tres hembras del parasitoide *E.*

formosa, liberadas dentro de cajas clip colocadas en los foliolos, pero en intervalos de 1, 2 y 3 días después de la aplicación de los hongos. En la segunda fase, las ninfas se expusieron a la acción de tres hembras de *E. formosa* y después se trataron con una solución de 1×10^8 esporas/ mL de cada especie de hongo a los 2, 4, 6 y 9 días después de la liberación de los parasitoides. En ambas fases se incluyó un testigo absoluto, un testigo del parasitoide y un testigo de cada especie de hongo. En todas las pruebas la unidad experimental consistió de un foliolo con 100 ninfas de segundo instar de *T. vaporariorum* y en total se efectuaron seis repeticiones por tratamiento y testigos.

El porcentaje de mortalidad obtenido se sometió a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de medias (Tukey) a un nivel de significancia del 0.05, con el programa computacional SAS (SAS Institute, 1999).

Resultados

Compatibilidad entomopatógenos-parasitoide.- La mortalidad de ninfas de *T. vaporariorum* por efecto de la combinación del hongo *P. fumosoroseus* y el parasitoide *E. formosa*, fue superior a la mortalidad por efecto de la exposición de las ninfas a la acción individual de cada enemigo natural. El mayor porcentaje de mortalidad (66.9%) se registró en el tratamiento donde se expusieron las ninfas a la acción del parasitoide un día después de la aplicación del patógeno. En los tratamientos donde se expusieron las ninfas a la acción de *E. formosa* 2 y 3 días después de la aplicación del entomopatógeno, los porcentajes de mortalidad fueron menores (56.8 y 49.3 %, respectivamente). La mortalidad registrada por efecto de la combinación del hongo *B. bassiana* y el parasitoide *E. formosa* se incrementó de 52.6 a 61.9%, al aumentar el intervalo entre la aplicación del entomopatógeno y la exposición a los parasitoides.

Compatibilidad parasitoide-entomopatógenos.- En la combinación *E. formosa* y *P. fumosoroseus*, la mortalidad de ninfas disminuyó de 75.4 a 49.0%, conforme se incremento el intervalo y no se presentó diferencia estadística significativa entre los tratamientos. La mortalidad producto de la exposición de las ninfas a la acción de *E. formosa* y la posterior aplicación de *B. bassiana* en un lapso igual o menor a 6 días, osciló de 84.5 a 76.4%. En ambas combinaciones (*E. formosa* - *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*), los mayores porcentajes de mortalidad se registraron en los tratamientos donde se aplicaron los entomopatógenos 2 días después de que las ninfas fueron expuestas a la acción del parasitoide.

Discusión

El mayor porcentaje de mortalidad de ninfas de *T. vaporariorum* por efecto de la combinación entre *P. fumosoroseus* y *E. formosa* se presentó en el tratamiento donde éstas se expusieron a la acción de los parasitoides 1 día después de la aplicación del entomopatógeno. Por lo tanto, la aplicación del entomopatógeno posiblemente ocasionó una mayor susceptibilidad de las ninfas al ataque por los parasitoides. Rosenheim *et al.* (1995) mencionan que entre los aspectos benéficos de las interacciones entre

microorganismos patógenos y parasitoides, se encuentra una mayor susceptibilidad de los hospederos infectados al parasitismo. Se presentó una interacción sinérgica entre los dos agentes de control sobre las ninfas con el intervalo de 1 día, sin embargo, la disminución en la mortalidad de las ninfas a medida que se amplió el intervalo de tiempo, entre la aplicación del hongo y su exposición al parasitoide, indica que entre estos dos enemigos naturales existe una interacción complementaria para el control de la mosquita blanca.

En la combinación entre *B. bassiana* y *E. formosa* se presentó una relación inversa. Cuando las ninfas de *T. vaporariorum* se expusieron a la acción del parasitoide 1 día después de la aplicación del hongo, la mortalidad registrada fue la más baja, lo cual indica que la acción del parasitoide pudo ser afectada por la aplicación previa de *B. bassiana*. Fransen y Van Lenteren (1993) encontraron que el hongo *Aschersonia aleyrodinis* Webber (Deuteromycotina: Coelomycetes) es el vencedor en la competencia con *E. formosa*, cuando los hospederos son parasitados poco tiempo después de la aplicación del hongo. En el presente trabajo, se observó que, con un mayor intervalo entre la exposición a los dos agentes de control la mortalidad aumentó, por lo tanto, si se incrementa aún más el tiempo, el control ejercido también incrementará, llegando a establecerse una interacción sinérgica entre ellos, esto debido a la capacidad de discriminación entre hospederos infectados y sanos por el parasitoide.

Los porcentajes de mortalidad de las ninfas de *T. vaporariorum* obtenidos por la combinación del parasitoide *E. formosa* y los hongos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*, presentan una relación inversa con el intervalo de exposición a cada agente de control. En ambos casos, el mayor porcentaje de mortalidad se registró en los tratamientos donde el hongo se aplicó 2 días después que las ninfas fueron expuestas a la acción de los parasitoides, lo cual indica que los parasitoides incrementaron la susceptibilidad de las ninfas a ser infectadas. Estos resultados coinciden con los reportados por Powell *et al.* (1986), quienes mencionan que la presencia de los parasitoides incrementa significativamente la mortalidad de los hospederos por efecto de los entomopatógenos, cuando éstos son aplicados hasta 2 días después del ataque de los parasitoides. Se presentó una interacción complementaria entre el parasitoide y los entomopatógenos cuando el intervalo de tiempo, entre la exposición de las ninfas a los parasitoides y la aplicación de los entomopatógenos, fue igual o menor a 6 días.

Literatura Citada

- Dowell R. V. 1990. Integrating biological control of whiteflies into crop management systems. pp. 315–335. In: D. Gerling (ed.). *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercep Ltd. Great Britain.
- Fransen J. J. and J. C. Van Lenteren 1993. Host selection and survival of the parasitoid *Encarsia formosa* on greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, in the presence of hosts infected with the fungus *Aschersonia aleyrodinis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 69: 239–249.
- Hua L. Z., Lammes F., J. C. Van Lenteren, P. W. T. Huisman, A. Van Vianen, and O. M. B. De Ponti 1987. The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* Gahan

- (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Applied Entomology*, 104: 297–304.
- Poprawsky T. J., S. M. Greenberg, and M. A. Ciomperlik. 2000. Effect of host plant on *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* induced mortality of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Environ. Entomol.*, 29 (5): 1048–1053.
- Powell W., N. Wilding, P. J. Brobyn, and S. J. Clark. 1986. Interference between parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) and fungi (Entomophthorales) attacking cereal aphids. *Entomophaga* 31 (3): 293–302.
- Rosenheim J. A., H. K. Kaya, L. E. Ehler, J. J. Marois, and B. A. Jaffee. 1995. Intraguild predation among biological-control agents: Theory and Evidence. *Biological Control* 5: 303–335.
- SAS Institute. 1999. SAS Companion for Microsoft Windows, release 6.12. SAS Institute, Cary, N. C.
- Van Lenteren J. C., and J. Woets 1988. Biological and integrated pest control in greenhouses. *A. Rev. Entomol.*, 33: 239–269.

EVALUACIÓN DEL BIO_LOGIC (*Bacillus APLICACIÓN subtilis*) EN AL PLANTERO EN EL DÉsarROLLO DE PLÁNTULAS DE JITOMATE

Juan Carlos Castillo¹, Rodolfo Carrillo y Ernesto Hernández Mendieta.

¹Industrias Gustafson, S.A. de C.V. Prolongación Américas 1600. 4º Piso. Col.Country Club. 44610. Guadalajara, Jalisco. Tel. (33) 3678 92 70 E-mail: juancarloscastillo@prodigy.net.mx

Introducción.

El crecimiento vegetal es el proceso que le proporciona a la humanidad su sustento. Hace más de un siglo, el científico Justus von Liebig dijo que el crecimiento de las plantas es "la fuente primaria de donde el hombre y los animales obtienen los medios que sustentan su crecimiento y existencia". El crecimiento es fundamentalmente uno de los atributos del protoplasma vivo. Este representa un cambio progresivo e irreversible en la forma, que indica la formación de nuevas células y su agrandamiento y maduración en los tejidos y órganos de las plantas (CFA, 1995). Estas deben tener, en grado variables, el mismo suministro básico para su crecimiento como luz, calor, energía, agua, oxígeno, carbono y elementos minerales. Por lo regular, el suelo les proporciona la mayoría de estas condiciones, en tanto que la atmósfera el oxígeno y el dióxido de carbono que requieren. El crecimiento se detiene, se inicia o al menos se modifica conforme cambian las condiciones ambientales, tanto en la zona de la raíz como en torno a la porción aérea de las plantas.

Además del grupo de bacterias que intervienen en la descomposición de los materiales orgánicos (bacterias heterótrofas), hay otro (bacterias autótrofas) que obtiene su energía de la oxidación de materiales minerales como el amonio, azufres y hierro. Este último grupo realiza la nitrificación (la oxidación del amonio a nitrato) del suelo, proceso de importancia en el suministro de nitrógeno para el crecimiento de las plantas (Foth, 1984). Sin embargo, debido a la diversidad de suelos y sustratos y a la variación en tipo y cantidad de microflora, se requieren productos específicos a base de microorganismos que ayuden en el desarrollo de los cultivos desde sus primeras etapas de desarrollo de manera más amplia, para favorecer al cultivo con mejores condiciones de desarrollo y vigor y complementar así, el manejo integrado que requiere, por lo que se llevó a cabo el presente estudio con los siguientes objetivos:

Objetivos.

Evaluar el efecto del Biologic (*Bacillus subtilis*) en el desarrollo y vigor de plántulas de jitomate.

Materiales y Métodos.

El presente estudio se llevó a cabo en los invernaderos del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo en Chapingo, Edo. De México, empleándose un cultivo de jitomate de la variedad Río Grande tipo Saladette. Se evaluaron dosis de 0.6, 0.8 y 1.0 l/3.5 pies³ de sustrato de Bio_Logic (*Bacillus subtilis*), 0.5 l/ha de Probacil (*Bacillus subtilis*) y un testigo absoluto. Los tratamientos fueron alojados en un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones, teniéndose una charola de germinación con 200 cavidades como unidad experimental (800 plantas por tratamiento) Los tratamientos se aplicaron después de la siembra, con el primer riego que se dio al sustrato, siendo este "PetMoss" saturándolo con la solución de cada uno de estos. Para el caso de la siembra, se colocó una semilla/cavidad, es decir se tuvieron 800 plantas/tratamiento. A los 7 y 14 días después de la siembra se evaluó el porcentaje de germinación, muestreando la totalidad de la charola y a los 14, 21 y 28 días después de esta se evaluó la altura de plantas, grosor de tallo, longitud de raíz y peso de raíz. En cada uno de los parámetros se muestrearon al azar 20 plantas por unidad experimental y para el caso de la longitud y peso de raíz, las plántulas se extrajeron y se midió la longitud y luego se cortó la raíz para medir el peso fresco. El posible efecto fitotóxico se evaluó con la escala de puntuación EWRS. A los datos del porcentaje de germinación, altura de plantas, grosor de tallo, longitud de raíz y peso de raíz se les aplicó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey con un $\alpha=0.05$ con el paquete de análisis estadístico SAS®, haciendo un análisis por evaluación.

Resultados y discusión.

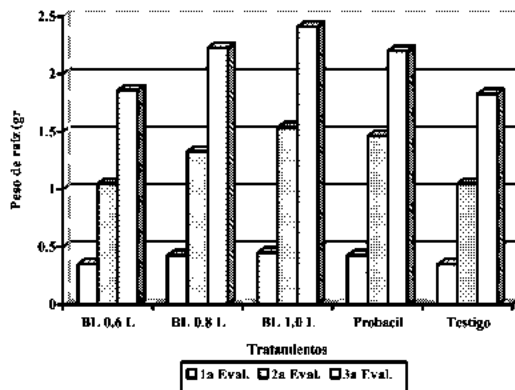
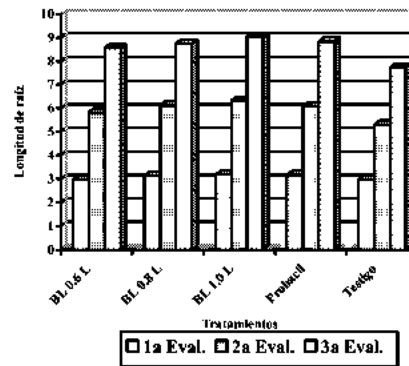
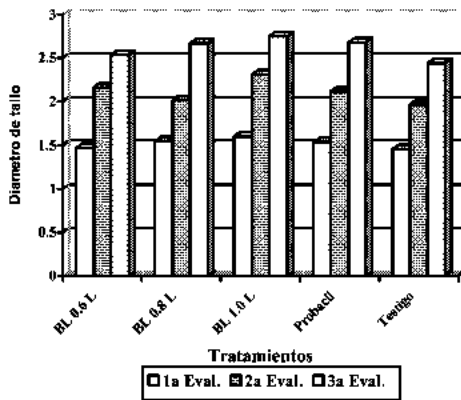
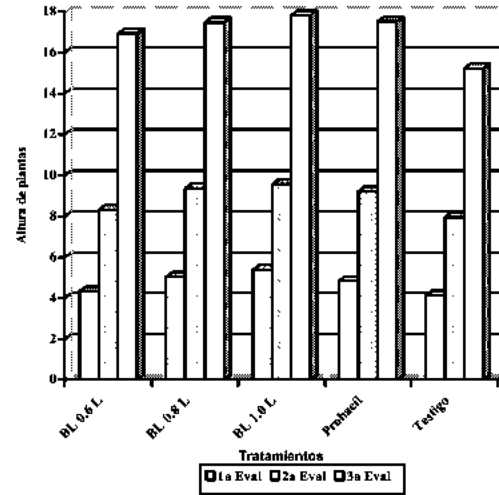
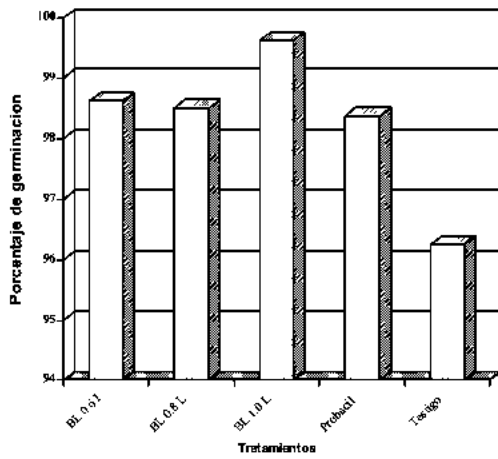
El producto Bio-Logic (*Bacillus subtilis*), así como el Probacil ejercieron un efecto positivo sobre la semilla de jitomate que favoreció su germinación y emergencia así como en el desarrollo de las plántulas de este que motivó un mayor desarrollo y vigor de estas.

Las dosis evaluadas de 1.0, 0.8 y 0.6 l/3.5 pies³ de sustrato de Bio-Logic, así como la dosis de 0.5 l de Probacil favorecieron un mayor porcentaje de emergencia de las plántulas de jitomate donde se aplicaron estas, y en las tres evaluaciones, mostraron un mayor porcentaje de emergencia que el testigo absoluto, sobresaliendo la dosis de 1.0 l de Bio-Logic con un 99.62% de emergencia.

De las dosis evaluadas de Bio-Logic, la que mostró el mayor efecto sobre la altura de plantas, grosor de tallo, longitud de raíz y peso de raíz fue la de 1.0 l/3.5 pies³; sin embargo, las diferencias encontradas con la dosis de 0.8 l del mismo producto fueron poco significativas en cada uno de los parámetros evaluados por lo que también se sugiere el uso de esta última, reduciendo así el costo del tratamiento; mientras que la dosis de 0.6 l, pese a que también favoreció el desarrollo de las plántulas de jitomate, su efecto fue menos significativo y considerando que se requiere tener planta sana y vigorosa para el trasplante, no se sugiere el uso de esta última dosis.

El Probacil presentó un efecto similar al de la dosis de 0.8 l de Bio-Logic, siendo estadísticamente igual a este en la mayoría de los parámetros evaluados y superior a la dosis de 0.6 l de este último producto.

Tanto el Bio-Logic como el Probacil, no presentaron efectos fitotóxicos a la semilla y plántulas de jitomate así como a las plántulas de este que interfirieran con el buen desarrollo de estas.



Distribución del porcentaje de germinación (A), altura de plantas (B), diámetro de tallo (C), longitud de raíz (D) y peso de raíz (E) en los tratamientos evaluados sobre plántulas de jitomate en Chapingo, Edo. De México.

BL=Bio_Logic

Literatura citada.

- C.F.A. 1995. Manual de fertilizantes para horticultura. UTEHA. Noriega Editores. México, D.F.
- Foth, H.D. 1984. Fundamentals of Soil Science. Seventh Edition. John Wile & Sons, Inc.

COMPARACIÓN DE LA VIRULENCIA DE AISLADOS DE *Paecilomyces MOSQUITA fumosoroseus* (ASCOMICOTA MITOSPÓRICO), DE MÉXICO HACIA LA BLANCA POR EL ÍNDICE DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO FÚNGICO

Judith Castellanos-Moguel¹, Teresa Mier¹, Rocío Reyes-Montes², Conchita Toriello²

¹Depto el Hombre y su Ambiente, UAM-Xochimilco, México D.F. mjcastellanos@yahoo.com ²Depto de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina UNAM, México D.F. toriello@servidor.unam.mx

Palabras clave: Virulencia, Índice de Crecimiento y Desarrollo Fúngico, *Paecilomyces fumosoroseus*

Introducción

Paecilomyces fumosoroseus (Wize) Brown y Smith es un hongo mitospórico reportado como patógeno para la mosquita blanca, que es una plaga polífaga de gran importancia en nuestro país. Debido a la variabilidad fenotípica exhibida por este hongo (Vidal *et al.* , 1996), se caracterizaron tres aislados previamente seleccionados por su actividad enzimática (Castellanos-Moguel *et al.* , 2001), por el índice de crecimiento y desarrollo fúngico (ICDF. Este índice *ha sido recomendado para estudios de compatibilidad con agroquímicos, ya que es un bioensayo de utilidad para discernir la repercusión de los mismos en el insecto plaga antes de aplicarlo en campo* (Landa *et al.* , 1994.

En el presente trabajo, se utilizó el ICDF para tener una aproximación de los eventos involucrados en el mecanismo de infección del hongo hacia ninfas de la mosquita blanca y observar diferencias en la virulencia entre aislados de una misma especie.

Materiales y Métodos

Aislados fúngicos. Se utilizaron cultivos monospóricos (Cavallazzi *et al.* , 2001) de tres aislados provenientes del Centro Nacional de Referencia en Control Biológico, DGSV, SAGARPA, Tecomán, Colima. Fueron utilizados por la presencia de alta (EH-506/5), media (EH-503/12) y baja (EH-520/6) actividad enzimática de proteasas y quitinasas (Castellanos-Moguel *et al.* , 2001.

Índice de Crecimiento y Desarrollo Fúngico. Se realizó por el método descrito por Landa *et al.* (1994), modificado por García-Juárez *et al.* (1999. Brevemente, se seleccionaron y desinfectaron 25 ninfas de cuarto estadio, las cuales fueron depositadas en cajas de Petri de 3.5 cm de diámetro que contenían agar-agua (23g/l.

Las ninfas se infectaron depositando 3 μ l de la suspensión del monospórico a probar (1×10^7 conidios/ml) sobre cada una. Las cajas se incubaron a 28°C y con un foto período de 16:8 (luz-oscuridad. Posteriormente se hicieron observaciones a las 0, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 h, y se tomaron fotografías para seguir el desarrollo de la infección. El desarrollo fúngico en el insecto fue evaluado con base en una escala de 0 a 3.0, y comparado con ninfas testigo, las cuales fueron cubiertas solamente con tween

80 al 0.05% estéril. La escala del ICDF correspondiente a números de 0 a 3 está descrita en el pie de la tabla 1.

Resultados

Se observó diferencia en la virulencia de los tres monospóricos hacia ninfas de mosquita blanca utilizando el ICDF, ya que los números de la escala propuesta fueron diferentes para cada uno a las mismas horas de la infección (tabla 1. El cultivo monospórico, EH-506/5, utilizado por su alta producción de proteasas, fue el que penetró más rápidamente, ya que a las 6h ya presentaba conidios con tubos germinativos en el área cercana a la ninfa, y a las 18 horas el ICDF era de 2.5, esto es, se había iniciado la esporulación del hongo sobre la ninfa (figura 1a. El monospórico EH-503/12, con alta producción de quitinasas solamente presentaba conidios hinchados a las 6 h (ICDF=0) y hasta las 36 h las hifas comenzaron a emerger y formar conidióforos (figura 1b. El monospórico EH-520/6, con poca producción de ambas enzimas, permaneció con un ICDF= 0 hasta las 12 h, y en general, el desarrollo de la infección fue muy lento, ya que hasta las 60 h el hongo emergió del insecto y esporuló (figura 1c y tabla 1.



Figura 1. Cultivos monospóricos de *P. fumosoroseus* infectando ninfas de cuarto estadio de *Bemisia tabaci* a las 18 h de incubación. a) EH-506/5, b) EH-503/12, c)EH-520/6

Tabla 1. Comparación del Índice de crecimiento y desarrollo fúngico de tres aislados de *P. fumosoroseus* inoculados en mosquita blanca.

Tiempo	EH-503	EH-506	EH-520
0 h	0	0	0
6 h	0	0.5	0
12 h	0.5	2.0	0.5
18 h	1.5	2.5	0.5
24 h	2.0	2.5	1.0
36 h	2.5	2.5	1.5
48 h	3.0	3.0	2.0
60 h	3.0	3.0	3.0
72 h	3.0	3.0	3.0
84h	3.0	3.0	3.0
96 h	3.0	3.0	3.0

0.0= ninfa rodeada de conidios no germinados

0.5= germinación de conidios con uno o dos tubos germinativos en el área cercana a la ninfa

1.0= crecimiento de tubos germinativos y presencia de hifas

1.5= crecimiento inicial de hongo orientado al insecto y primer contacto de las hifas con la ninfa

2.0= crecimiento micelial dentro y en la superficie y área alrededor de la ninfa

2.5= inicio de la esporulación, conidios que cubren la superficie de la ninfa

3.0= esporulación completa, ninfa cubierta con micelio y conidios del hongo

Discusión y Conclusiones

Los tres cultivos monospóricos de *P. fumosoroseus* estudiados mostraron ICDF muy distintos entre sí, lo que indicó diferencias en la virulencia de los mismos. El que presentó una mayor actividad de proteasas (EH-506/5) fue también el más virulento (18h, ICDF=2.5), mientras que EH-503/12 seleccionado por su producción alta de quitinasas, fue también virulento (36 h, ICDF=2.5); es interesante mencionar que con este aislado se observaron zonas completamente destruidas y huecos en el exoesqueleto de las ninfas, lo que evidenció la acción de las quitinasas sobre el insecto. El EH-520/6, seleccionado por la producción media de ambas enzimas, mostró una colonización lenta de los insectos (60 h, ICDF=3.0. En el presente trabajo pudo observarse mediante el índice de crecimiento y desarrollo fúngico, variabilidad fenotípica en diferentes cultivos monospóricos de la misma especie fúngica. También se observó una relación entre la actividad enzimática y la rapidez de penetración del hongo en la ninfa en el modelo estudiado. Se presentaron las mismas etapas de desarrollo del hongo sobre el insecto reportadas para otros entomopatógenos.

Literatura Citada

- Castellanos-Moguel J, R. Cruz-Camarillo, E. Aranda y C. Toriello. 2001. Selección de aislados de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith, con base en sus niveles de proteasa y quitinasa. Memoria del IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Veracruz, Veracruz. CIV-33
- Cavallazzi-Vargas G, Pérez-Mejía A, Berlanga Padilla A, Hernández-Velázquez V, Toriello C. 2001. Selección de cultivos monospóricos de *Paecilomyces fumosoroseus* con base en sus características fenotípicas. En: Nevárez-Morillón GV, Sánchez-Martínez G, Muñoz-Castellanos LN (Eds.). Memorias del XXIV Congreso Nacional de Control Biológico, 9-10 Agosto, Chihuahua, Chih. pp 112-115.
- García-Juárez, M; C. Toriello y T. Mier. 1999. Compatibilidad *in vitro* de *Verticillium lecanii* con un insecticida piretroide y su efecto sobre la patogenicidad del hongo en la mosquita blanca. Revista Mexicana de Micología 15: 11-16.
- Landa, Z., L. Osborne, f. López y J. Eyal. 1994. A Bioassay for Determining Pathogenicity of Entomogenous Fungi on Whiteflies. Biological Control. 4:341-350

Vidal C, Lacey LA, Fargues J. 1996. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay method. J Econ Entomol 90: 765-700.

Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado con el apoyo de Conacyt, megaproyecto grupal G-31451-B, en colaboración entre UNAM, CNRCB y UAM-X. La estudiante de doctorado Judith Castellanos Moguel agradece a Conacyt la beca otorgada a través de este proyecto.

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD BIOLÓGICA DEL NEMATICIDA BIOLÓGICO “BIOSTAT WP” (*Paecilomyces lilacinus*) PARA EL CONTROL DEL NEMATODO NODULADOR (*Meloidogyne incognita*) EN EL CULTIVO DE MELÓN.

Javier Farias Larios¹. Fernando J. Cantú Galindo²

¹Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima ²Depto. de Servicios Técnicos & Desarrollo. Buckman Laboratories S.A. de C.V. Carretera Fed. A Cuautla Km. 13.5 Jiutepec, Morelos. f_cantu@buckman.com

Palabras Clave: Melón, *Paecilomyces* spp., Control Biológico.

Introducción

El cultivo del melón (*Cucumis melo* L.) en el estado de Colima es afectado por una diversidad de plagas, malezas y enfermedades. Uno de los problemas menos perceptibles por los productores, pero con severos daños al sistema radical, es la elevada incidencia de nematodos. Estos daños han sido, tradicionalmente minimizados; sin embargo sus efectos sobre el cultivo son muy evidentes.

En el estado de Colima, se han reportado diversos géneros de nematodos: *Dorylalmus*, *Rhabditis*, *Aphelenchus*, *Aphelenchoides*, *Pratylenchus* y *Meloidogyne*, en cultivos como sandía, chile jalapeño y melón. La especie que sobresale por sus daños es *Meloidogyne incognita*, este nematodo tiene una distribución cosmopolita. Tradicionalmente este nematodo ha sido controlado con aplicaciones de Carbofuran, en presembrado y recientemente con Oxamil (Vydate L), aplicado en el sistema de riego. Sin embargo, los resultados no han sido satisfactorios y los daños son cada vez más severos.

Una nueva alternativa lo representa el uso de microorganismos antagonistas para el control biológico de estos nematodos. Entre estos agentes, destaca el hongo *Paecilomyces lilacinus* (Siddiqui y Mahmood, 1996). Buckman Laboratories, S.A. de C.V. ha generado un producto comercial denominado "Biostat WP"; el cual es un nematocida biológico elaborado a base de una cepa del hongo, con una concentración de por lo menos 2×10^7 conidias viables por gramo de producto. Este nematocida actúa parasitando los huevos y hembras de los nematodos, causando deformaciones (principalmente del estilete impidiendo que el nematodo siga alimentándose de la planta), destruye los ovarios y reduce la eclosión. Igualmente bajo condiciones de pH ligeramente ácido produce toxinas que afectan el sistema nervioso de los nematodos. Ambos efectos ocurren simultáneamente y reducen sensiblemente los niveles poblacionales.

Materiales y Métodos

El cultivo de melón se estableció mediante siembra directa bajo el sistema de acolchado con plástico negro calibre 100 y fertirrigación. La siembra se realizó el 25 de

enero, depositando una semilla cada 25 cm en el centro de la cama. Las camas tuvieron un ancho de 1 m. Durante todo el desarrollo del cultivo se fertilizó con la fórmula 150-80-150 kg de nitrógeno, fósforo y potasio por ha. Antes de la siembra se fertilizó con la mitad del nitrógeno, todo el fósforo y la mitad del potasio. El resto del nitrógeno y potasio; así como algunos elementos complementarios (calcio, magnesio, molibdeno, etc.) fueron incorporados en el sistema de riego por goteo.

Los tratamientos se observan en el siguiente cuadro.

N o.	Nematicida	Ingrediente activo	Dosis en P.F. G/Ha	No.aplicaciones	Intervalo entre aplicaciones
1	Biostat	<i>P. lilacinus</i>	50	3	15 días
2	Biostat	<i>P.lilacinus</i>	100	3	"
3	Biostat	<i>P.lilacinus</i>	200	3	"
4	Furadan	Carbofuran	5.0 L*	3	15 días
5	T. absoluto	---	0	0	0

*Esta dosis fue fraccionada en tres aplicaciones para evitar posibles daños al cultivo.

Diseño del experimento. Se evaluaron cinco tratamientos con cuatro repeticiones en un diseño experimental de bloques completos al azar. La parcela experimental consistió de tres camas de 10 m de largo 30 m²/tratamiento. La parcela útil consistió en la cama central excluyendo 1 m en cada extremo.

Para evaluar la efectividad biológica del nematicida Biostat WP sobre el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Koford & White) Chitwood se consideraron los siguientes parámetros:

- Porcentaje de agallamiento en raíces, a través de la escala propuesta por Daulton y Nusbaum (1961).
- Población de nematodos en suelo y raíces.
- Porcentaje de control (eficacia de los tratamientos).
- Porcentaje de daño al cultivo (fitotoxicidad) a los 15 y 30 días después de la aplicación (estimación visual basado en la Escala propuesta de la EWRS, de uso común).

Resultados y Discusión

Los resultados de las aplicaciones de BIOSTAT WP sobre el porcentaje de agallamiento en raíces de melón y su porcentaje de eficacia se muestran en los siguientes cuadros:

Cuadro. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de Biostat WP en el porcentaje de agallamiento en plantas de melón a distintas fechas de estudio. Ixtlahuacán, Colima. 2003.

Nematicidas	Dosis de P.F. g/ha	Muestreo previo	Días después de la aplicación			Media
			15	30	45	
Biostat	50	10.25 a	8.75 b	33.75 bc	37.50 b	22.56
Biostat	100	7.75 a	6.25 b	17.50 c	23.75 b	13.81
Biostat	200	6.25 a	4.00 b	13.75 c	21.25 b	11.31
Carbofuran	5.0 L	30.0 a	4.25 b	50.00 b	78.75 a	40.75
Testigo absoluto	0	11.25 a	68.75 a	93.75 a	95.00 a	67.18

Medias con diferente literal en misma columna, indican diferencia significativa según prueba de Tukey al 0.05.

Cuadro . Porcentaje de eficacia de tres dosis de Biostat WP aplicadas en diferentes tiempos para el control de *Meloidogyne incognita* en plantas de melón. Ixtlahuacán, Colima. 2003.

Nematicidas	Dosis de P.F. g/ha	Días después de la aplicación			Media
		15	30	45	
Biostat	50	41.42 b	48.30 b	70.77 b	53.49
Biostat	100	61.75 a	71.68 ab	77.97 ab	70.46
Biostat	200	74.59 a	77.41 a	83.46 a	78.48
Carbofuran	5.0 L	60.83 a	49.27 b	71.87 b	60.65
Testigo absoluto	0	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00

Medias con diferente literal en misma columna, indican diferencia significativa según prueba de Tukey al 0.05.

Conclusiones

La aplicación repetida de Biostat WP en dosis de 50, 100 y 200 g/ha redujo el porcentaje de agallamiento en plantas de melón, comparado con las plantas tratadas con Carbofuran y con las del testigo absoluto.

Las plantas tratadas con Biostat WP en la dosis de 200 g/ha mostraron apenas un 11.31% de agallamiento. También se redujo el número de nematodos a sólo 85/50 g de raíces.

Las plantas tratadas con las tres dosis de Biostat WP (50, 100 y 200 g/ha) y Carbofuran, presentaron la menor incidencia de nematodos en suelo.

La aplicación de las diferentes dosis de Biostat WP no provocó daños (fitotoxicidad) en las plantas de melón. Con fines comerciales, se recomiendan tres aplicaciones de Biostat WP en las dosis de 100 y 200 g/ha por ciclo de melón. Las plantas del testigo absoluto, mostraron elevados porcentajes de agallamiento y número de nematodos

tanto en raíces como en suelo. Lo que demuestra la importancia económica de estos fitopatógenos en los predios comerciales de melón.

Literatura Citada

- Aguilar, C., I. Pujol, J. Sala and J. Guarro. 1998. Antifungal susceptibilities of *Paecilomyces* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 42 (7): 1601-1604.
- Agrios, N.G. 1986. Fitopatología. Primera reimpresión. Editorial Limusa. México, D.F. 756 p.
- Blancard, D., H. Lecoq y M. Pitrat. 1996. Enfermedades de las cucurbitáceas: Observar, identificar, luchar. Ediciones Mundi-prensa. Madrid, España. 300 p.

**EVALUACION DE EFECTIVIDAD BIOLOGICA DEL FUNGICIDA "MYCOBAC"
(*Trichoderma lignorum*) PARA EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN RADICAL EN EL
CULTIVO DE CHILE SERRANO.**

Rogelio Salinas¹, Fernando J. Cantú Galindo²

¹Profesor-Investigador de la Facultad de Agronomía. de la Universidad Autónoma de Nuevo León. ²Depto. de Servicios Técnicos & Desarrollo Buckman Laboratories S.A. de C.V. Carretera Fed. A Cuautla Km. 13.5 Jiutepec, Morelos. f_cantu@buckman.com

Palabras Clave: chile, *Trichoderma* spp., control biológico.

Introducción

El uso del control biológico de algunas de las enfermedades del suelo que afectan a una gran cantidad de cultivos hortícolas ha sido incrementado debido los buenos resultados obtenidos en tratamientos en invernaderos y a nivel de campo. El uso de cepas de hongos antagónicos a especies patógenas en el suelo demuestran que este tipo de control es posible como una excelente alternativa de manejo en combinación o sustitución del control químico. El control de diversas especies de hongos como la roña de la papa *Rhizoctonia solani*, pudriciones radicales causadas por *Fusarium oxysporum* o *Phytophthora* spp o *Pythium* spp ha sido señalada por diversos autores por algunas especies de hongos como el caso de *Trichoderma lignorum* o *T. harzianum*.

Materiales y Métodos

El presente trabajo fue desarrollado dentro del campo experimental de la Facultad de Agronomía de la UANL donde fueron evaluadas 3 dosis del fungicida biológico "Mycobac" con 3 aplicaciones durante el ciclo del cultivo siendo la primera al trasplante de las plantas en campo y las siguientes cada 30 días entre ellas. Se incluyó a un testigo regional y un testigo absoluto. Los tratamientos fueron aplicados mediante aspersión dirigida a la base de las plantas utilizando una mochila de motor, previamente calibrada, antes del riego por surcos. Se utilizó un diseño de bloques al azar con 5 tratamientos y 4 repeticiones siendo el tamaño de parcela de 4 surcos de 10 mts de largo. La distancia entre plantas fue de 30 cm. a doble hilera por surco. La variedad de chile serrano fue la Tampiqueño.

Se contabilizaron en la parcela útil el número de plantas con una clara afectación por ataque de enfermedades radiculares (analizadas por un laboratorio) y evaluadas en base a su grado de afectación (infección muy leve hasta infección muy fuerte). Con estos datos se obtuvo el porcentaje de severidad de la infección así como el porcentaje de eficacia de los tratamientos con la formula de Abbott.

Resultados y Discusión

Las tablas siguientes muestran los resultados obtenidos para cada variable:

Tabla de datos para la variable porcentaje de eficacia de los tratamientos en el experimento con el fungicida biológico "Mycobac" en chile serrano.

		BLOQUES			
Tratamientos		1	2	3	4
1. Mycobac	50 g/ha	74.3100	86.54	79.6400	74.7100
2. Mycobac	100 g/ha	78.4200	74.42	83.9700	87.4400
3. Mycobac	200 g/ha	88.6300	88.99	91.8200	98.3400
4. Ridomil Gold	4 E 2.0 lt/ha	87.0100	71.90	44.7300	45.2700

Análisis de varianza para la variable porcentaje de eficacia de los tratamientos en el experimento con el fungicida orgánica Mycobac en chile.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	1808.875000	602.958313	3.8003	0.052 NS
Bloques	3	131.875000	43.958332	0.2771	0.841 NS
Error	9	1427.945313	158.660583		
Total	15	3368.695313			

C.V. = 16.04%

NS = No significancia estadística entre tratamientos ni entre bloques.

Tabla de medias para evaluar la variable porcentaje de eficacia de los tratamientos.

Tratamiento		Media
1. Mycobac	50 g/ha	78.800003 a
2. Mycobac	100 g/ha	81.062500 a
3. Mycobac	200 g/ha	91.945000 a
4. Ridomil Gold	4 E 2.0 lt/ha	62.227501 a

Aunque sin obtener significancia estadística entre los tratamientos con control, como puede observarse en el cuadro anterior, el tratamiento con la dosis alta de Mycobac (T3) obtuvo el más alto porcentaje de eficiencia, mientras que el tratamiento con el testigo regional Ridomil Gold 4 E (T4) el más bajo; los tratamientos con las dosis baja y media de Mycobac (T1 y T2) obtuvieron porcentajes intermedios entre los dos anteriores

Conclusiones

1. Se encontró diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos para las variables número de plantas afectadas y porcentajes de infección, en los tres muestreos realizados.

2. Para la variable porcentaje de eficacia de los tratamientos no se obtuvo diferencia estadística entre los cuatro tratamientos con control.
- 3.- Para la variable número de plantas afectadas el tratamiento con la dosis alta Mycobac (T3) obtuvo el valor medio más bajo, aunque guardando igualdad estadística con los tratamientos: dosis media (T2) y dosis baja (T1) de Mycobac (primer muestreo) y con éstos y el testigo regional Ridomil Gold 4 E (T₄) (segundo y tercer muestreos).
- 4.- Para la variable porcentaje de infección, el tratamiento con la dosis alta de Mycobac (T3) obtuvo el valor mas bajo para los tres muestreos realizados, aunque guardando igualdad estadística con el resto de los tratamientos con control, siendo todos éstos superiores y estadísticamente superiores con respecto al testigo absoluto.
- 5.- Para la variable porcentaje de eficacia de los tratamientos los cuatro tratamientos con control guardan igualdad estadística entre ellos, aunque el tratamiento con la dosis alta de Mycobac (T3) obtuvo el mas alto porcentaje y el testigo regional Ridomil Gold 4 E (T₄) el mas bajo.
- 6.- El producto sujeto a prueba Mycobac y el testigo regional Ridomil Gold 4 E obtuvieron una significancia estadística similar para las tres variables bajo estudio, aunque en todos los casos los valores medios de los tratamientos con Mycobac fueron mas favorables que con Ridomil Gold 4 E.
- 7- No se presentaron efectos fitotóxicos al cultivo para ninguno de los tratamientos establecidos, valor de 1, sin efecto (EWRS):

Literatura Citada

- Diccionario de Especialidades Agroquímicas. Edición 2001. Ediciones PLM, S.A. de C.V. México, D.F.
- Garcidueñas, R.M. Manual Teórico Práctico de herbicidas y fitorreguladores. Segunda Edición. Primera reimpresión. 1986. Editorial Limusa México, D.F.
- National Academy of Science. Vol. 1 Desarrollo y Control de las Enfermedades de las Plantas. 1978. Editorial Limusa. México, D.F.

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Trichoderma (Gliocladium) virens* GL 21 SOBRE HONGOS FITOPATÓGENOS EN CONDICIONES *IN VITRO* E *IN VIVO*

Creta Ishtar Estrada-Astudillo¹, Gil Virgen-Calleros¹, L. Gerardo González-R².

¹Departamento de Producción Agrícola CUCBA-U de G Apdo. Postal 39-82 CP. 45110 e-mail: gvirgen@cucba.udg.mx, ²Certis México, S.A. de C.V. Río San Lorenzo 633-B Ote. Col. Fuentes del Valle, C.P. 66220 San Pedro Garza García, N.L.

Palabras Claves: fungicida, parasitismo, antibiosis.

Introducción

En años recientes el incremento en el uso de productos biológicos ha cobrado cada vez mayor interés, entre estos se encuentran aquellos con capacidad de controlar plagas insectiles, enfermedades y malezas, así como aquellos que estimulan el crecimiento de las plantas, los cuales se han denominado PGPR (por sus siglas en inglés Plant Growth Promotion Rhizobacteria). Las enfermedades causadas por hongos nativos del suelo de los géneros *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium* causan diversas enfermedades tales como marchitamientos vasculares, cánceres de tallo y damping off; y son considerados como los patógenos económicamente más importantes que habitan en el suelo, así mismo, éstos patógenos están ampliamente distribuidos localizándose en áreas templadas, tropicales y subtropicales así como en zonas frías, atacando una amplia gama de hospederos, entre los cuales se encuentran, hortalizas, básicos (granos), forestales y frutales. Por ejemplo en México destaca el cultivo del melón, el cual es de suma importancia en la región pacífico centro (Colima, Michoacán, Jalisco y Nayarit) en donde se siembran cerca de 7, 658 hectáreas con un valor de producción anual de 375 millones de pesos (SAGARPA 2000). Se estima que el 5% de la superficie cultivada es afectada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, lo que representa 850 hectáreas con un costo de 28.9 millones de pesos sin tomar en cuenta los demás fitopatógenos (Orozco y Virgen, 2001).

El control de fitopatógenos se realiza básicamente mediante la aplicación de compuestos químicos. Sin embargo, es sabido que las poblaciones de microorganismos benéficos, y los suelos se ven afectados de manera considerable (Ristaino y Thomas, 1997). Sin embargo, este tipo de combate puede causar serios problemas al ambiente, así como elevar el costo de producción. El control biológico de enfermedades a base de microorganismos parásitos y antagónicos es sin duda una alternativa sustentable contra diferentes fitopatógenos incluyendo *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, entre otros, en los diferentes cultivos que estos atacan, entre ellos destaca el micoparásito *Trichoderma (Gliocladium) virens*, el cual ha mostrado efectos de control muy satisfactorios sobre diferentes hongos nativos de suelo. Es necesario precisar el comportamiento de agentes de biocontrol que son introducidos en nuevas áreas, para conocer su capacidad de adaptación.

Dado lo anterior, se planteo el siguiente trabajo, el cual tuvo los siguientes objetivos:

1. Evaluar la efectividad micoparasítica y del extracto crudo de *Trichoderma (Gliocladium) virens* GL-21 (SoilGard 12G) sobre *F. oxysporum*, *R. solani* y *S. rolfsii*.
2. Establecer el efecto del pH y fungicidas sobre el desarrollo de *T. virens* en condiciones de laboratorio.
3. Comparar distintas dosis de *T. virens* GL-21 (SoilGard 12G) en melón bajo condiciones de invernadero.

Materiales y Métodos

Aislamiento de los Hongos Fitopatógenos

Fusarium oxysporum f. sp. *melonis* y *Rhizoctonia solani* AG-4, se aisló de plantas de melón, *Fusarium oxysporum*, se aisló de agave, mientras que *Rhizoctonia solani* AG-3, y *Sclerotium rolfsii*, se aislaron de plantas enfermas de papa y chile respectivamente. Estos se aislaron en medio de cultivo Agar Dextrosa Papa Acidificado con ácido láctico al 80% (PDAA), y se incubaron a una temperatura de 25°C.

Efectividad Micoparasítica de *Trichoderma Virens* GI-21

Discos de micelio de 8 mm de diámetro y de 4 días de sembrado de los patógenos señalados anteriormente, se colocaron en un extremo de una caja de petri, con medio de cultivo PDAA, en el extremo opuesto se colocó un disco de micelio de 8 mm de diámetro del hongo *T. virens* GL-21. Las cajas inoculadas con el patógeno y el micoparásito se incubaron de 25°C \pm 1°C durante 72 horas a 7 días o hasta el momento en que las hifas se translaparon totalmente. De la región de translape se cortó una sección de 1 cm², esta se tiñó con azul de tripano y se observó al microscopio compuesto a 400X para observar el parasitismo. También se cortaron 10 discos de micelio de la zona de translape los cuales se sembraron en medio de cultivo PDAA., esto se realizó para determinar el porcentaje de control, para ello se consideró el 100% de micoparasitismo si creció solo *T. virens* GL-21. El ensayo se condujo bajo un diseño completamente al azar que incluyó 5 tratamientos con 4 repeticiones, en donde cada repetición consistió de una caja de petri con 10 discos sembrados. Los datos obtenidos para esta y todas las pruebas se analizaron mediante una ANOVA y una prueba de medias (Tukey $p = 0.05$). Finalmente se calculó la eficacia de *T. virnes* sobre los tratamientos mediante la fórmula de Abbott la cual se indica a continuación:

$$\% \text{ de Efectividad} = \frac{Gte - Gta}{Gte} (100)$$

Donde:

Gte = Germinación del fitopatógeno en el testigo

Gta = Germinación del fitopatógeno en el tratamiento

Actividad del Extracto Crudo de *T. virens* Sobre Hongos Fitopatógenos

Se preparó Caldo Papa estéril y se inoculó un disco de micelio de *T. virens*, en un matraz Erlenmeyer, el matraz fue cubierto con papel aluminio y papel destreza para

evitar el efecto de la luz sobre el desarrollo del hongo y evitar con ello la degradación del compuesto. Los matraces se colocaron en un agitador vertical por un periodo de 48 horas a temperatura ambiente, posteriormente se dividió el extracto crudo para realizar un tratamiento de pasteurización y la otra parte se filtro con membrana millipore. Posteriormente se colocó en frascos la cantidad de 20 ml de cada uno de los tratamientos (extracto pasteurizado y extracto filtrado) incluyendo un testigo (Caldo Papa Dextrosa) e inoculando en cada uno de ellos, los fitopatógenos *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *F. oxysporum*, *R. solani* AG-4, *R. solani* AG-3 y *S. rolfsii*. Incubándose a 25°C durante 5 días. El micelio se cosechó de los diferentes tratamientos a través de un filtrado en papel filtro No. 4, enjuagándose los frascos con agua destilada para obtener todo el micelio. Este se secó a 70°C durante 48 horas, para obtener el peso seco del mismo.

Efecto del pH Sobre el Desarrollo de *T. virens*

Para determinar el efecto del pH sobre el crecimiento micelial de *T. virens*, se sembró el hongo en diferentes rangos de pH, desde 4.0 a 8.5 con incrementos de 0.5. Todos los rangos de pH fueron probados en el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). Así mismo se incluyó un testigo de PDA. Para alcalinizar el medio de cultivo se utilizó NaOH 1N, mientras que para acidificarlo se uso HCl al 0.1N. La incubación se llevó a cabo por 3 días a una temperatura de 25° C \pm 1° C, cada 24 horas se tomaron las lecturas de crecimiento radial del micelio, tomándola en dos direcciones y promediándola, para obtener un solo valor. El experimento se llevo a cabo bajo un diseño completamente al azar, el cual incluyó 11 tratamientos cada uno con 3 repeticiones.

Susceptibilidad a Funguicidas

La susceptibilidad de *T. virens* a diferentes fungicidas, se llevó a cabo en medio de cultivo Agar Dextrosa Papa, cuando el medio alcanzó una temperatura de 45°C después de esterilizado, se agregó la cantidad de 515 ppm, 600 ppm y 700 ppm de los fungicidas Derosal 500 D (Carbendazim), Quintoceno (Pentacloronitrobencono), Ridomil Gold 4E (Metalaxil) y Tecto 60 (Tiabendazol), se inoculó un disco de 8 mm del hongo *T. virens* y se incubó a una temperatura de 25°C midiendo su crecimiento en centímetros por día. El experimento se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento.

Evaluación de *T. virens* Bajo Condiciones Invernadero

Se aplicaron 3 dosis de *T. virens* (SoilGard) las cuales fueron; 0.227 Kg, 0.454 Kg y 0.681 Kg además de un testigo sin producto. Se adicionó una mezcla de propágulos de *F. oxysporum*, *R. solani* y *S. rolfsii* a una cantidad de 10,000, 5,000 y 5,000 respectivamente. Los tratamientos y protocolo para evaluar *T. virens* GL-21 para el control de los fitopatógenos; *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *R. solani* y *S. rolfsii*, se llevo a cabo usando semillas de melón tipo Cantaloupe de la variedad ovation. Cinco semillas se sembraron en macetas de plástico con una mezcla de tierra-sustrato estéril en una proporción 3:1. La inoculación con los diferentes fitopatógenos se realizó al sustrato 5

días antes de la siembra, y se colocaron a una temperatura promedio máxima entre 30°C - 35°C y mínima de 19°C - 21°C dentro del invernadero. El riego de las plantas se realizó de acuerdo a las necesidades de las plantas mismas. La evaluación se realizó tomando en cuenta el porcentaje de marchitez y la longitud de las guías de las plantas.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos (Cuadro 1) muestran que *T. virens* presenta un 100% de efectividad sobre *R. solani* AG-3, *R. solani* AG-4, y *S. rolfsii*, 24 horas después de incubados a 25°C, no así sobre *F. oxysporum* f. sp. *melonis* en el cual el parasitismo se presentó en un 50%, y en *F. oxysporum* aislado de agave presentó un 65%, 72 horas después de incubado. Sin embargo se alcanzó un parasitismo del 100% sobre ambas especies de *Fusarium* entre 7 y 10 días después de incubado. Por otra parte, el análisis de varianza mostró diferencia significativa solo en *F. oxysporum* tanto en la f. sp. *melonis* como el aislamiento de agave, indicando que el mejor tratamiento fue el parasitismo sobre *R. solani* AG-3 y AG-4 además de *S. rolfsii*, (Cuadro 1), esto implica mayor efectividad de parasitismo sobre estos hongos (Figura 1), sin embargo existe un control total de *F. oxysporum* f. sp. *melonis* y *F. oxysporum* (Agave), 7 días después de inoculado. Incluso se muestra mayor actividad parasítica hacia *F. oxysporum* de agave que a *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. Esto puede ser posible a la gran variabilidad de la especie de *F. oxysporum*, concluyendo que la eficacia puede estar ligada a la diversidad genética, así como a las razas fisiológicas de este hongo (Klein y Correll, 2001). Lo cual puede sugerir aplicar *T. virens* (SoilGard 12G) con anticipación a nivel de campo al menos 4 días antes de la siembra, particularmente en el caso de *F. oxysporum*.

Cuadro 1. Porcentaje de eficacia de *T. virens* sobre diferentes hongos fitopatógenos 3 y 7 días de sembrado (Eficacia Abbott), y número de discos germinados de los fitopatógenos después de confrontados con *T. virens*.

Fitopatógenos	Eficacia Abbott*				Germinación	
	1 ^a	2 ^a		1 ^a	2 ^a	
	Evaluación (3 dds**) T. virens	Testigo	Evaluación (7 dds**) T. virens	Testigo	Evaluación	
<i>R. solani</i> AG-3	100	-	100	-	0.0 C	0.0 A
<i>R. solani</i> AG-4	100	-	100	-	0.0 C	0.0 A
S. rolfsii	100	-	100	-	0.0 C	0.0 A
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	50	-	100	-	5.0 A***	0.0 A
<i>F. oxysporum</i> (Agave)	65	-	100	-	3.5 B	0.0 A

* Promedio de 4 repeticiones

** dds = días después de sembrado

*** Tukey ($p = 0.05$)

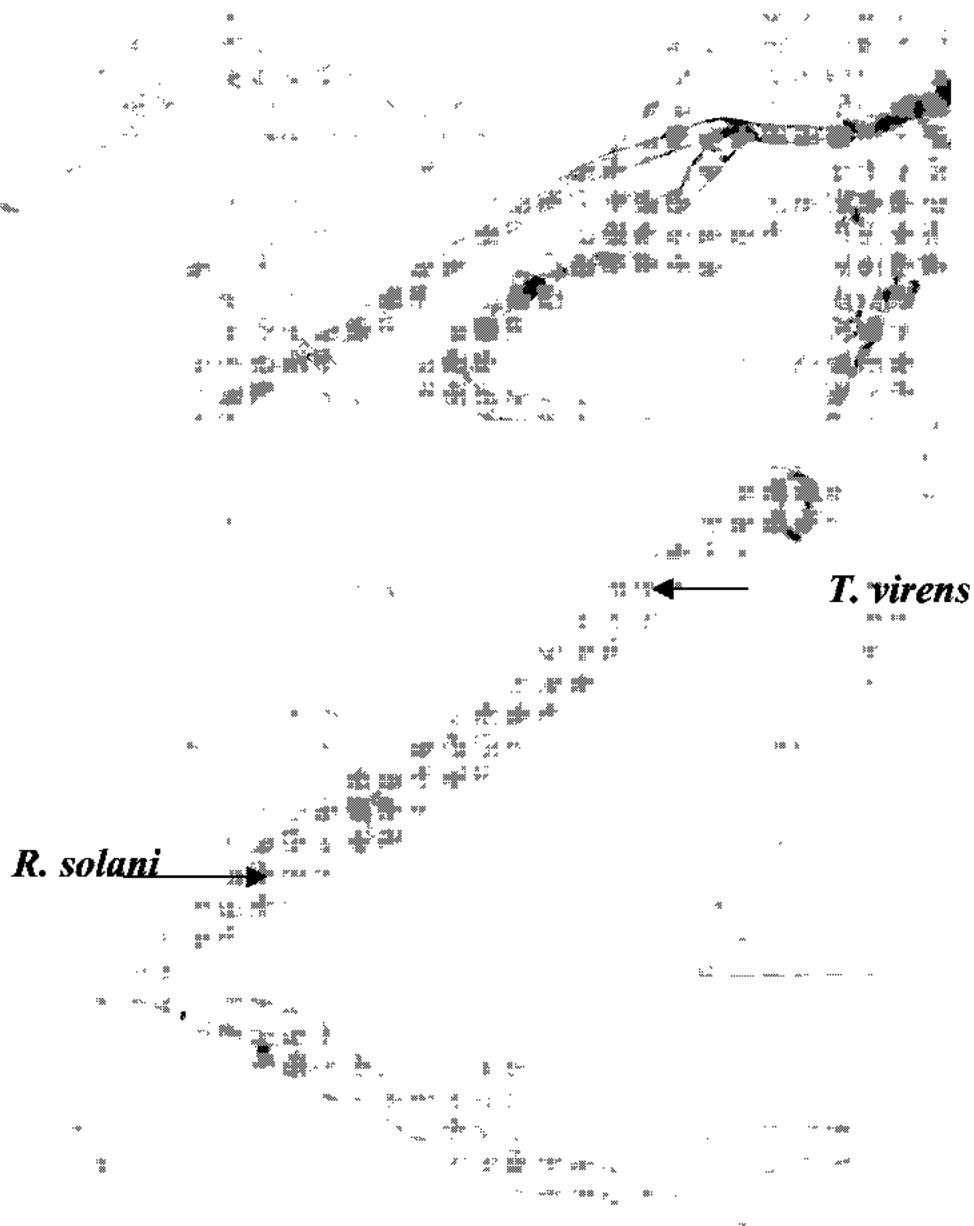


Figura 1. Micoparasitismo de *Trichoderma virens* sobre *R. solani* AG-3 y AG-4. A) Confrontación de hifas de *T. virens* y *R. solani*; B) Parasitismo de *T. virens* sobre *R. solani* y C) Lisis de la hifa de *R. solani*.

Por otro lado en el experimento realizado para conocer la actividad del Extracto crudo de *T. virens* sobre diferentes hongos fitopatógenos (Cuadro 2 y 3), se encontró que con respecto al testigo en el caso de *S. rolfsii* sí presentó diferencia de la actividad biológica

del extracto filtrado de *T. virens*, indicándonos que probablemente el calor al cual fue sometido el extracto pasteurizado disminuyó la actividad biológica sobre este fitopatógeno. En las especies de *Rhizoctonia* se observa que tanto en el extracto filtrado crudo como pasteurizado ejerce una fuerte inhibición en el peso seco del micelio. Este efecto de actividad antibiótica también la pudimos apreciar durante las pruebas de eficacia *in vitro* de *T. virens* sobre *Rhizoctonia solani* AG-4, al inhibir el crecimiento micelial de este fitopatógeno; y aunque el antibiótico gliotoxin o gliovirin reportado en la literatura es fuertemente inhibitorio para *R. solani* AG-4, la importancia de este antibiótico en el proceso de biocontrol no está aún confirmado. Con respecto a *F. oxysporum* (Agave) la actividad en el extracto filtrado, parece ser la diferencia entre el testigo y el extracto pasteurizado, en cuanto a actividad biológica, no así, en *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, en donde no se aprecia ninguna actividad del extracto crudo. Con los datos anteriores, se pone de manifiesto que puede existir la producción de un antibiótico en la formulación del SoilGard cuyo principio activo es *Trichoderma virens*. Resaltando la importancia del método de extracción del antibiótico.

Cuadro 2. Peso seco del micelio de los fitopatógenos *Rhizoctonia* y *Sclerotium*, crecidos en el extracto crudo filtrado y pasteurizado de *T. virens*.

Tratamiento	Peso seco del micelio (gr*)		
	<i>R. solani</i> AG-3	<i>R. solani</i> AG-4	<i>S. rolfsii</i>
Extracto filtrado	0.1766 B**	3.1466 B	0.3800 A
Extracto pasteurizado	0.2266 B	0.2066 C	1.2775 B
Testigo (Caldo Papa Dextrosa)	3.7266 A	8.0566 A	1.9475 B

* Promedio de 3 repeticiones

** DMS (0.05)

Cuadro 3. Peso seco del micelio de los fitopatógenos *Fusarium*, crecidos en el extracto crudo filtrado y pasteurizado de *T. virens*.

Tratamiento	Peso seco del micelio (gr*)	
	<i>F.o. f. sp. melonis</i>	<i>F.o.</i> (Agave)
Extracto filtrado	0.7533 A**	0.520 B
Extracto pasteurizado	2.3966 A	1.360 AB
Testigo (Caldo Papa Dextrosa)	3.7833 A	2.490 A

* Promedio de 3 repeticiones

** Tukey ($p = 0.05$)

El crecimiento de *T. virens* a diferentes valores de pH (Cuadro 4) no mostró efecto alguno en el desarrollo del micelio del micoparásito *Trichoderma virens*, ya que de acuerdo al estudio cuantitativo en base al análisis mediante una ANOVA y una separación de medias usando la prueba de Tukey ($p = 0.05$), y un montaje al microscopio no se encontró gran variabilidad de crecimiento. Concluyendo que *T. virens* no es susceptible a condiciones de pH, el cual fue sometido tanto a pH básicos como

ácidos entre los rangos de 4.0 a 8.5.; factor que también se determinó bajo condiciones de invernadero en donde el pH del sustrato se mantenían entre los rangos de entre 5.96 y 6.84 y en el agua de riego obtuvimos lecturas de 6.0 y 7.0. Dato importante ya que el pH es un factor de suma importancia para el desarrollo de varios patógenos del suelo, esto nos habla del amplio espectro de aplicación que tiene este micoparásito de crecer en diversos tipos de suelos que van desde los suelos ácidos hasta suelos alcalinos.

Cuadro 4. Efecto sobre el crecimiento micelial de *T. virens* a diferentes valores de pH; 24, 48 y 72 horas después de incubado a 25°C.

<i>Trichoderma virens</i>	1ª Evaluación*	2ª Evaluación	3ª Evaluación
Testigo	2.00 A**	6.10 A	8.1 A
pH 4.0	2.03 A	6.07 A	8.1 A
pH 4.5	2.30 A	5.80 A	8.1 A
pH 5.0	2.33 A	5.76 A	8.1 A
pH 5.5	2.42 A	5.68 A	8.1 A
pH 6.0	2.40 A	5.70 A	7.5 A
pH 6.5	2.00 A	6.35 A	8.1 A
pH 7.0	2.38 A	5.70 A	8.1 A
pH 7.5	1.63 A	6.46 A	6.7 A
pH 8.0	2.15 A	5.95 A	8.1 A
pH 8.5	2.08 A	6.01 A	8.1 A

*Promedio de 3 repeticiones

**Tukey (p = 0.05)

El micoparásito *T. virens* mostró variabilidad de respuesta o crecimiento a diferentes fungicidas (Cuadro 5), se puede observar que los fungicidas Tecto 60 y Derosal 500 D tienen un efecto muy fuerte en la inhibición del crecimiento de *T. virens*, no así con los fungicidas Quintoceno (PCNB) y Ridomil Gold 4E (Metalaxil) a las concentraciones de 515 ppm, 600 ppm y 700 ppm. Lo anterior sugiere que *T. virens*, al ser un hongo perteneciente al grupo de los deuteromicetos no se vea afectado por metalaxil y probablemente el PCNB requiera de mayores concentraciones para su inhibición. Mientras que se sabe que el grupo de fungicidas del tipo bencimidazoles inhiben fuertemente a los deuteromicetos, de tal manera que bajo condiciones de campo sería recomendable no mezclarlo con aquellos que lo inhiben, pero se puede combinar con metalaxil.

Cuadro 5. Crecimiento de *Trichoderma virens* en diferentes fungicidas 5 días después de inoculado.

	Testigo* <i>T. virens</i>	PCNB	RIDOMIL	TECTO	DEROSAL
515 PPM	5.88 A**	3.64 A	4.25 A	0.3 B	0.0 B
600 PPM	5.40 A	4.13 A	4.38 A	0.0 B	0.0 B
700 PPM	5.52 A	2.85 AB	3.74 A	0.0 B	0.0 B

*Promedio de 3 repeticiones

**Tukey (p= 0.05)

De acuerdo a los resultados obtenidos analizados por medio de un ANOVA y una separación de medias (Cuadro 6 y 7) deducimos que aquellas plántulas de melón que fueron tratadas con *T. virens* fueron las que mejores resultados mostraron en el desarrollo de la planta y longitud de sus guías. Siendo los mejores tratamientos 1 y 2, aunque estos no difieren del tratamiento 3, pero si del testigo. Nuestras observaciones mostraron que *T. virens* en sustrato, protegió de manera eficaz a plantas de melón de los patógenos *R. solani*, *S. rolfsii* y *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. Esto nos habla de un buen control por parte del micoparásito *T. virens*, ya que sospechamos que al controlar los patógenos nocivos del suelo, favorece el desarrollo y crecimiento de la planta. Aunado a esto se encontró que en sustrato inoculado con *T. virens* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, 48 horas después solo fue recuperado *T. virens*, dato interesante ya que también consideramos el efecto de la temperatura en el sustrato, en donde determinamos temperaturas desde 18°C en los días nublados hasta 36°C en los días más calurosos, concluyendo que *Trichoderma virens* es un hongo saprofito y antagónico resistente al calor; lo que habrá la posibilidad de su uso en combinación con la solarización, resultando sin duda alguna una estrategia potencial para el control de las enfermedades causadas por hongos patógenos.

Cuadro 6. Germinación de semillas de melón en invernadero bajo la influencia de *Trichoderma virens*.

	Testigo	Dosis 1**	Dosis 2	Dosis 3
<i>R. solani</i> AG-4	5.00 A*	3.00 A	4.00 A	2.25 A
<i>S. rolfsii</i>	5.00 A	3.25 A	3.00 A	3.75 A
<i>F. o. f. sp. melonis</i>	5.00 A	2.00 B	4.00 AB	3.25 AB
<i>T. virens</i>	5.00 A	3.00 A	4.75 A	3.50 A
Patógenos	5.00 A	3.75 B	4.00 A	4.00 A

*Promedio de 5 semillas

** Tukey (0.05)

Cuadro 7. Longitud de las Guías de Melón.

<i>R. solani</i> AG-4		<i>S. rolfsii</i>		<i>F. o. f. sp. melonis</i>		<i>T. virens</i>	
Testigo	122.5 C	Testigo	122.5 C	Testigo	122.5 B	Testigo	122.5 BC
Dosis 1**	148.75 A*	Dosis 1	142.50 A	Dosis 1	152.50 A	Dosis 1	146.25 A
Dosis 2	135.00 B	Dosis 2	131.75 B	Dosis 2	131.50 AB	Dosis 2	136.25 AB
Dosis 3	146.25 A	Dosis 3	127.50 B	Dosis 3	127.50 B	Dosis 3	111.25 C

*Promedio de 4 repeticiones

** DMS (0.05)

Literatura Citada

- SAGARPA, 2000. Anuario estadístico de la Producción Agrícola del Estados Unidos Mexicano, Fuente de servicio de información estadística agroalimentaria y pesquera.
- Orozco S., Virgen G. et al. 2001. "Ecología y manejo integrado de la marchites por *Fusarium* en Cucurbitáceas" Simposium internacional sobre manejo integrado de patógenos de suelo en hortalizas. 1-15.
- Ristaino, B. J. and Thomas, W. 1997. Agriculture, Methyl bromide, and the ozone hole. Can We Fill the Gaps?. *Plant Disease* 81: 964-977.
- Klein and Correll. 2001. Chapter 6 of *Fusarium*.

**SUITABILITY OF *DIORHABDA ELONGATA* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)
FOR BIOLOGICAL CONTROL OF SALT CEDARS (*TAMARIX* SPP.) IN THE
SOUTHERN UNITED STATES AND NORTHERN MEXICO**

Lindsey R. Milbrath¹, John C. Herr², Allen E. Knutson³, James L. Tracy¹, Dan W. Bean²,
Luis A. Rodríguez-del-Bosque⁴, Raymond I. Carruthers² and C. Jack DeLoach¹

¹ U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Grassland, Soil and Water Research Laboratory, 808 E. Blackland Road, Temple, Texas 76502 USA. jdeloach@spa.ars.usda.gov; ² Exotic and Invasive Weeds Research, Western Regional Research Center, 800 Buchanan Street, Albany, California 94710 USA; ³ Texas A&M University Research and Extension Center, 17360 Coit Road, Dallas, TX 75252-6599; ⁴ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Apdo. Postal 172, Río Bravo, Tamaulipas, Mexico. rodrigul@cirne.inifap.conacyt.mx

Key Words: Biological control, *Tamarix*, *Diorhabda elongata*

Introduction

Populations of the leaf beetle, *Diorhabda elongata* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Fukang, China and Chilik, Kazakhstan, released into the open field in May 2001, initially appear to be achieving highly successful biological control of saltcedar (*Tamarix* spp.) in the United States at 5 release sites north of the 38th parallel. However, these beetles have not established at 4 more southern release sites at Seymour in northern Texas and at Bishop, Hunter-Liggett and Cache Creek in central California, probably because daylength in these southern areas is too short (Lewis et al. 2003). Laboratory tests by one of us (Dan Bean) demonstrated that these beetles require 14 hr 45 min daylength to avoid entering premature overwintering diapause. However, maximum summer daylength at Seymour, TX is only 14 hr 20 min, is only 14 hr 10 min at Temple, TX, and is even less further south. This causes the beetles to enter diapause in early July and they probably starve before food becomes available the following March. Thus, these beetles cannot control damaging stands of saltcedar from southern California to Texas and in northern Mexico. Additional studies by Dan Bean demonstrated that populations of *D. elongata* we have received from Crete, Greece; Tunisia; Karshi, Uzbekistan; and Turpan, China are more adapted to short daylengths and may be able to establish in the area from the 38th parallel and into northern Mexico.

Materials and Methods

We have established laboratory and field-cage colonies of *D. elongata* beetles from Crete, Tunisia, Uzbekistan and Turpan at locations in Texas and southern New Mexico to determine their ability to establish in the field. We are using climate matching models to predict their area of geographic adaptation. Host specificity studies are in progress to determine their safety for release in the open field.

Results

To determine overwintering ability in the southern areas (Texas and New Mexico), adult Crete beetles were placed in a field cage at Temple, TX during August 2002. They reproduced throughout September and were active through October. Nearly all of them overwintered successfully and emerged in March 2003 in synchrony with the appearance of new saltcedar buds. They have continued to reproduce at a high rate throughout the summer and to severely damage saltcedar in the field cages. Beetle cultures from Tunisia, Uzbekistan and Turpan were received later and similar overwintering studies are in progress with them. Climatic matching by one of us (James Tracy) suggests that the Turpan beetles may be best adapted to northern Texas, the Crete beetles to central Texas, the Uzbekistan beetles to western Texas and New Mexico, and the Tunisia beetles to southern Texas and northern Mexico. James Tracy also is investigating morphological differences between these beetle populations as related to hybridization (some of the hybrids are sterile) and taxonomy.

Host specificity of the 4 new beetle populations is being tested by three of us (Lindsey Milbrath and James Tracy at Temple, TX and John Herr at Albany, CA). At Temple in 2002, larvae of the Crete beetles in a no-choice test in vials developed from egg to adult on *T. aphylla* at 93% the rate as on the 7 saltcedar accessions. In multiple-choice tests, neonate larvae selected *T. aphylla* 67% as frequently as on the 4 saltcedar accessions (differences not significant). Also at Temple in 2002, multiple-choice tests in large 3X3X2 (h)m outdoor cages showed that presence of the adults on the plants (selection for alighting and resting) and for oviposition was less than 1% as much on *Frankenia jamesii* and *F. johnstonii* as on the natural host *Tamarix ramosissima*. In the same tests, presence of adults on the plants was only half as much on athel (*T. aphylla*) as on the average of 3 other *Tamarix* species tested, and oviposition was only 23% as much on athel. Thus, the larval survival X oviposition rate for athel was 21% as much as for saltcedar.

Paired-choice tests of the Crete, Tunisia, Uzbekistan, and Turpan beetles were conducted at Temple in July 2003 using 1 plant of *T. ramosissima* and 1 plant of *Frankenia* in each of the small (56X67X122(h) cm) outdoor cages. Presence of all beetle types on the plants averaged 14.3 adults per plant on *Tamarix* vs only 0.5 per plant on the 2 *Frankenia* plants (*F. jamesii* and *F. johnstonii*). Eggs laid per plant averaged 464 on the *Tamarix* and only 1.6 on the *Frankenia*. Similar tests are being initiated to compare *T. ramosissima* and *T. aphylla*. Tests of the Crete and Tunisia populations of *D. elongata* are being initiated in the large outdoor cages and in open field tests at Kingsville, TX to compare overwintering ability, attraction to and oviposition on, and damage to the local *Tamarix* (probably *T. canariensis*) and *T. aphylla*. The Kingsville site is isolated from any other *Tamarix* by many miles and the beetles are unlikely to disperse from there to other *Tamarix* plants.

Results from the Albany tests are similar to the Temple tests: 89% of the Crete beetle larvae developed from egg to adult on *T. ramosissima*, 75% on *Frankenia salina*, 64% on *T. parviflora*, 44% on *T. aphylla* (49% as much as on *T. ramosissima*), and 39% on *F. jamesii*. In multiple-choice tests in small (1X1X1.5 m) cages in the greenhouse at

Albany, Crete adults oviposited ca. 46% as much on athel as on *T. ramosissima*; the combined larval survival X oviposition rate on *T. aphylla* was only 23% as great as on *T. ramosissima*. In no-choice tests, oviposition was 27% as much on *T. aphylla*, giving a larval X oviposition rate of 13% as great on *T. aphylla* as on *T. ramosissima*. At both Temple and Albany, developmental rate of Crete and Fukang (China) larvae were similar on *Tamarix* (including athel) but Crete larval development was ca. 14% greater than for Fukang larvae on *Frankenia*. Damage to *Frankenia* in the field is more unlikely.

Our tests so far indicate that some feeding and possibly some minor damage may occur to athel in the most southern areas where athel grows. Some of our tests also show some effect of cage size, with host specificity increasing (less attack on non-target plants) in the larger cages. The Kingsville tests are designed to demonstrate if beetles released in the open field will attack *T. aphylla* even less than in the large cages, and thus pose little risk of damage to *T. aphylla* if biological control is initiated in south Texas and Mexico.

Permits now have been issued to release the Crete, Tunisia, Uzbekistan and Turpan beetles in field cages at 8 Texas and 2 New Mexico sites to determine which is the best in each climatic zone. During the summer of 2003, the Crete beetles were placed into cages at 6 sites, Turpan and Uzbekistan beetles each at 2 sites, and Tunisia beetles at 1 site. The Crete beetles have been released in the open field at Seymour and Lake Thomas, TX and Artesia, NM, and the Turpan beetles at Seymour. The Crete beetles have severely defoliated plants in the cages at 3 sites and the Turpan beetle at 1 site. So far, the Crete beetles appear the most likely to overwinter. Releases into the open field along the Rio Bravo at Candelaria and Zapata, TX are being postponed until agreement is obtained from the Mexican government.

Literature Cited

- Lewis, P.A., C.J. DeLoach, A.E. Knutson, J.L. Tracy and T.O. Robbins. 2003. Biology of *Diorhabda elongata deserticola* (Coleoptera: Chrysomelidae), an Asian leaf beetle for biological control of saltcedars (*Tamarix* spp.) in the United States. *Biological Control* 27:101-116.

**BIOLOGICAL CONTROL OF SALT CEDAR (*TAMARIX*: TAMARICACEAE)
IN THE UNITED STATES COULD BE EXTENDED TO INCLUDE
CONTROL IN NORTHERN MEXICO**

C. Jack DeLoach¹, Raymond I. Carruthers², and Luis A. Rodríguez-del-Bosque³

¹ U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Grassland, Soil and Water Research Laboratory, 808 E. Blackland Road, Temple, Texas 76502 USA. jdeloach@spa.ars.usda.gov ; ² Exotic and Invasive Weeds Research, Western Regional Research Center, 800 Buchanan Street, Albany, California 94710 USA; ³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Apdo. Postal 172, Río Bravo, Tamaulipas, Mexico. rodrigul@cirne.inifap.conacyt.mx

Key Words: Biological control, *Tamarix*, *Diorhabda elongata*

Introduction

Saltcedars (*Tamarix*: Tamaricaceae: Tamaricales) are a genus of 54 species of small trees or shrubs native only in the Old World. The genus evolved in riparian habitats in arid, saline areas of Central Asia, with a secondary center of speciation in the eastern Mediterranean area. Ten species have been introduced into the United States since 1823 as ornamentals and to control streambank erosion in the West. Four species and their hybrids have become serious pests in the West: *T. ramosissima*, *T. chinensis* (both widespread), *T. canariensis* (Gulf of Mexico coast), and *T. parviflora* (California). All are deciduous, deep rooted, facultative phreatophytes, with pink flowers and with foliage of juniper (cedar) – like bracts. The large, evergreen tree, *Tamarix aphylla* (athel), that is a common shade tree of the Chihuahuan and Sonoran deserts, is less aggressive and is not a target for biological control.

Saltcedars rapidly invaded most riparian areas of the West after the 1920s. Today they occupy over 800,000 ha of highly valuable land along streams and lakeshores from the 100th meridian to the Pacific and from Montana into northern Mexico. They often completely displace native plant communities, degrade wildlife habitat, and contribute to the population decline of many species of birds, fishes, mammals and reptiles, including some 40 species of threatened or endangered species, increase wildfires and soil salinity, lower water tables and reduce recreational usage of parks and natural areas. Saltcedar thickets typically use 4 to 5 acre feet of water per year that in the present drought severely reduces water available for agricultural irrigation and municipal use. Saltcedars have invaded northern Mexico from the USA (de León and Vásquez 1991). They contribute to default of water agreements between states and between the U.S. and Mexico and damage natural area reserves bordering the Río Bravo.

Saltcedars are difficult to control by mechanical methods, fire or many herbicides because of their ability to resprout from underground buds and to reinvade from its windblown seeds. Recently, “arsenal” (imazapyr) as an aerial spray and “garlon” (triclopyr) as a cut-stump treatment provide good control. However, both are expensive and arsenal also kills many native plants. These controls are unsatisfactory in natural

areas of mixed vegetation where the objective is to kill the invading weed and preserve the beneficial and native plants.

Materials and Methods

Biological control of weeds is best suited to control exotic, invasive weeds in relatively stable ecosystems such as natural areas and rangelands, by the introduction of the natural enemies (insects or sometimes plant pathogens) that regulate the weed's abundance in its native region. The objective is to permanently reduce the weed's abundance below the damaging level, but not to eradicate the weed. This method has been used worldwide since 1865 against 133 weed species in 51 countries. In North America, it began in 1945 and has been used against 40 exotic weeds of rangelands and natural areas. It has been highly successful in a third of the attempts (often with no additional control ever needed over wide areas) and partially successful in another third. The method also has been very safe, with only 8 reported cases of non-target feeding worldwide (7 minor and 1 of moderate damage), all before 1965 and all predicted in the pre-release testing.

We conducted overseas explorations for and tested insect natural enemies through cooperators in France, Israel, Turkmenistan, China and Kazakhstan from 1991 to the present time. Some 20 candidate biological control insects are under investigation overseas and 7 species in quarantine at Temple, TX and Albany, CA. One species, the leaf beetle *Diorhabda elongata*, so far has been approved by all agencies, and was released into the open environment in 7 states in the USA in 2001 and 2003.

Results

The beetles from Fukang, China and Chilik, Kazakhstan (latitude ca. 43°N, or equivalent to northern Wyoming) overwintered at 6 sites in the more northern areas (all north of the 38th parallel), reproduced well, and defoliated the saltcedar plants in the field cages. After release into the open field in May 2001, these beetles increased to large numbers by August 2003 and defoliated ca. 150 ha of saltcedar at Lovelock, NV; 40 ha at Pueblo, CO; 5 ha at Schurz, NV; and were strongly feeding on the *Tamarix* at Delta, UT and Lovell, WY.

However, in the southern areas (south of the 38th parallel) the beetles could not overwinter and did not establish in the field. Daylength in those southern areas is too short (these northern beetles require 14 hr 45 min daylength to avoid entering overwintering diapause); daylength in northern Texas is only 14 hr 20 min, and is even less further south. In the south, the beetles began overwintering in early July and probably starved to death before spring.

To resolve this problem, one of us (Carruthers) found a biotype of *D. elongata* feeding on *Tamarix* in Crete, Greece at a latitude of ca. 35°30'N, equivalent to the latitude of Amarillo, TX. Laboratory tests by Dr. Dan Bean (ARS, Albany, CA) indicate that

daylength in the southern areas is suitable for these beetles as well as for other strains of *D. elongata* we have obtained from Turpan, China; Uzbekistan, and Tunisia. At Temple, TX (ca. 31°N) the Crete beetles overwintered very successfully during the winter of 2002-03 in outdoor cages, reproduced well, and strongly attacked *Tamarix* in cages during the spring and summer. We are now testing the overwintering capability and efficacy of these 4 types of beetles in field cages at Seymour, Lake Thomas, Big Spring, Dallas, Temple, Kingsville and Zapata, TX; and at Artesia, NM. We have released the Crete beetles into the field at Seymour, Lake Thomas and Artesia and the Turpan beetles at Seymour.

Conclusions

The above preliminary results indicate that the program on biological control of saltcedar has a high probability of providing good control of saltcedar over much of the infested area of the United States. Saltcedar also has invaded large areas in northern Mexico, where it is damaging natural areas and contributing to the acute water shortages along the Rio Bravo and in other areas. The U.S. program easily can be extended into Mexico through the cooperation of Mexican scientists, and at very low cost.

Literature Cited

- de León González, L.L. and R. Vásquez Aldape. 1991. Distribución, abundancia y utilización del pinabete (*Tamarix* spp.) en el Norte de México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Departamento de Recursos Naturales Renovables, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. USDA-ARS/UAAAN 58-7MNI-7-121. 106 pp.
- DeLoach, C.J., R.I. Carruthers, J.E. Lovich, T.L. Dudley and S.D. Smith. 2000. Ecological interactions in the biological control of saltcedar (*Tamarix* spp.) in the United States: Toward a new understanding. In: N.R. Spencer (ed.), Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds, 4-14 July 1999, Montana State University, Bozeman, Montana. pp. 819-873.
- DeLoach, C.J., P.A. Lewis, J.C. Herr, R.I. Carruthers, J.L. Tracy and J. Johnson. 2003. Host specificity of the leaf beetle, *Diorhabda elongata deserticola* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Asia, a biological control agent for saltcedars (*Tamarix*: Tamaricaceae) in the Western United States. *Biological Control* 27:117-147.
- Lewis, P.A., C.J. DeLoach, J.C. Herr, T.L. Dudley and R.I. Carruthers. 2003. Assessment of risk to native *Frankenia* shrubs from an Asian leaf beetle, *Diorhabda elongata deserticola* (Coleoptera: Chrysomelidae), introduced for biological control of saltcedars (*Tamarix* spp.) in the western United States. *Biological Control* 27:148-166.

The information presented here is taken from many published papers and unpublished reports. These have been reviewed by DeLoach et al. (2000, 2003) where the original sources are given.

**IMPACTO DE LOS ENEMIGOS NATURALES DEL PICUDO DE LAS ESPINAS,
Cylindrocopturus biradiatus Champion (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)**

Jaime Mena-Covarrubias¹

¹Campo Experimental Zacatecas, INIFAP, Apartado Postal 18, Calera, Zacatecas, 98500. jmena@inifapzac.sagarpa.gob.mx

Palabras clave: Control biológico, fenología poblacional, nopal.

Introducción

La conceptualización del control natural es clave para entender como los enemigos naturales controlan las plagas y como ellos pueden ser utilizados en los programas de control biológico (Huffaker *et al.*, 1984), y se considera como el impacto de todo el ambiente sobre la dinámica poblacional de las poblaciones de insectos (Oneil, 2000). El control biológico que ocurre naturalmente es solo una parte del control natural, y esta constituido principalmente por depredadores y parasitoides, los cuales, muchos de ellos responden de una manera dependiente a la densidad poblacional.

El picudo de las espinas, *Cylindrocopturus biradiatus* es un insecto que se encuentra ampliamente distribuido en las nopaleras silvestres y cultivadas del altiplano mexicano. En nopales cultivados destruye las yemas de las pencas nuevas; afecta un promedio de 40, 48 y 33 yemas por penca en los cultivares de tuna naranjona, cristalina y burrona, respectivamente (Mena Covarrubias, 2003). La hembra del picudo de las espinas pone sus huevos dentro de las glóquidas (grupo de espinas pequeñas que se encuentran en la base de las espinas), y la larva se alimenta dentro del tejido que se encuentra en la base de la espina, lo cual le ofrece una protección inmejorable al huevo o a la larva (Mena Covarrubias, 2003).

Sin embargo, existe una serie de enemigos naturales que afectan las poblaciones del picudo de las espinas, en las que sobresalen insectos parasitoides y ácaros parásitos (González *et al.*, 2003). Con el fin de poder manejar estos artrópodos benéficos para potencializar su efecto, es necesario conocer su fenología a través del ciclo de desarrollo de la plaga, y este fue el objetivo que se persiguió durante el desarrollo del presente trabajo.

Materiales y Métodos

El presente estudio se llevó a cabo en el área nopalera de La Victoria, Pinos, Zacatecas durante el año 2002 y 2003. El trabajo consistió en coleccionar al menos dos pencas infestadas por picudo de las espinas por sitio, en dos sitios diferentes; las pencas se obtuvieron cada siete o 15 días en promedio. El material obtenido en campo se llevó al laboratorio para ahí disectar la base de las espinas de cada penca y observar la

presencia de las diferentes estados inmaduros o adultos del picudo de las espinas, o bien, los diferentes enemigos naturales que se encontraban dentro de ellas.

La fenología del picudo de las espinas se siguió de la siguiente manera: se identificaron los cuatro instares larvarios con base al tamaño de la cápsula cefálica, además de la fase de pupa y adulto, y la emergencia de los adultos a través del orificio de salida que dejan los mismos sobre las espinas atacadas. Con el fin de estimar la "edad promedio" de la población muestreada en cada fecha, se le dio un valor de 1, 2, 3 y 4 al instar larvario uno, dos, tres y cuatro; el valor 5, 6 y 7 a la pupa, el adulto dentro de la espina y al adulto emergido, respectivamente. La edad promedio se calculó al multiplicar el número de insectos en cada fase de desarrollo por su valor asignado, después se sumaron todos estos valores, y finalmente se dividió entre el número total de insectos encontrados (Jansson y Smilowitz, 1992).

Resultados y Discusión

Los enemigos naturales del picudo de la espina se empezaron a detectar fácilmente en campo entre la segunda quincena del mes de febrero y la última quincena del mes de mayo (Cuadro 1). Los artrópodos benéficos mas importantes son dos especies de avispas parasitoides, y dos familias de ácaros parásitos, donde sobresale por su abundancia la familia Pyemotidae; estos enemigos naturales se encontraron atacando larvas y pupas, solo se encontró un adulto de picudo de las espinas atacado por ácaros piemótidos. Únicamente se encontró una larva atacada por el hongo entomopatógeno *Beauveria sp* (Cuadro 1). El impacto de estos enemigos naturales en promedio fue de $13.3 \pm 3.3\%$ durante los primeros cinco meses del año (Cuadro 1), aunque durante la primer semana del mes de marzo esta mortalidad alcanzó un 52.4% (Cuadro 1).

El factor de mortalidad mas importante es la falla en la colonización de las larvas del picudo de las espinas (probablemente debido a las defensas del nopal), la cual en promedio representa un $58.0 \pm 4.3\%$ de la población total, y fluctúa desde un mínimo de 17.9 hasta un máximo de 85.8% (Cuadro1).

De 968 larvas, pupas y adultos de picudo de las espinas monitoreados, 40 fueron destruidos por avispitas parasitoides y 58 por ácaros, lo cual es similar a lo encontrado por González (1998) en nopal tunero en Aguascalientes durante el período del 1 al 13 de mayo de 1998 (69 insectos afectados por avispitas parasitoides y 49 por ácaros), aunque en ese caso fueron mas abundantes las avispitas parasitoides; una tendencia similar se encontró en el porcentaje de colonización fallida (58.0 vs 63.8%).

Además del monitoreo del picudo de las espinas y sus enemigos naturales en huertas de nopal tunero cultivadas, en este trabajo también se tomaron muestras en nopal silvestre (nopal cardón, *Opuntia streptacantha*). La fenología en el desarrollo de los estados inmaduros y la emergencia de los adultos del picudo de las espinas es muy similar tanto en nopales silvestres como cultivados, de la misma manera que sus enemigos naturales.

De manera preliminar se puede concluir que para el manejo de este insecto plaga del nopal, y sus enemigos naturales, es importante considerar sus poblaciones tanto en las huertas cultivadas, como en las áreas silvestres que se encuentran en sus alrededores.

Cuadro 1. Importancia de los diferentes factores bióticos de mortalidad sobre la población del picudo de la espina, *Cylindrocopturus biradiatus* en huertos de nopal tunero en Pinos, Zac. Campo Experimental Zacatecas, INIFAP, 2002.

FECHA	Población no parasitada	Larvas y pupas parasitadas	Larvas y pupas con ácaros	Larvas con hongo	Colonización fallida (%)	Control Biológico (%)
08-I-02	57					0.0
15-I-02	53				49.0	0.0
23-I-02	88				33.8	0.0
06-II-02	57				43.6	0.0
20-II-02	30		4		59.7	11.8
05-III-02	10	3	8		72.0	52.4
13-III-02	46	3	0		17.9	6.1
19-III-02	49	10	7		46.4	25.8
26-III-02	19	2	1	1	60.8	17.4
02-IV-02	42	4	14		74.1	30.0
09-IV-02	40	4	8		64.5	23.1
16-IV-02	49	1	2		85.8	5.8
23-IV-02	21	3	3		74.5	22.2
30-IV-02	41	4	4		52.6	16.3
09-V-02	92	6	2		42.1	8.0
15-V-02	61		2		82.1	3.2
23-V-02	38		0		61.4	0.0
31-V-02	76		3		64.9	3.8

Literatura Citada

- González, E., M. Perales, S. Padilla, L. Reyes y F. Esquivel. 2003. Control de plagas del nopal tunero en Aguascalientes. In G. Esparza, M. Salas, J. Mena y R. Valdéz (eds). Memoria del IX Congreso Nacional y Séptimo Congreso Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal, 2-6 septiembre del 2003, Zacatecas, Zac. pp 121-125.
- González, G. E. 1998. Factores de mortalidad natural de picudo de la espina *Cylindrocopturus birradiatus* Champs. (Coleoptera: Curculionidae). In Memoria del XXI Congreso Nacional de Control Biológico, Río Bravo, Tamaulipas, 5-6 de noviembre del 1998. pp 138-140.
- Huffaker, C. B., A. A. Berryman and J. E. Laing. 1984. Natural control of insect populations. In C. B. Huffaker and R. L. Rabb, (eds). Ecological Entomology. Wiley Interscience, New York. pp. 359-398.
- Jansson, R.K., Z. Smilowitz. 1985. Influence of nitrogen on the population parameters of potato insects: abundance, development and damage of the Colorado potato

- beetle, *Leptinotarse decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Environ. Entomol. 14: 500-506.
- Mena Covarrubias, J. 2003. Manejo integrado de las plagas del nopal: una propuesta para tomar mejores decisiones de control. In G. Esparza, M. Salas, J. Mena y R. Valdéz (eds). Memoria del IX Congreso Nacional y Séptimo Congreso Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal, 2-6 septiembre del 2003, Zacatecas, Zac.
- Oneil, R. 2000. Biological control: theories and models. <http://www.inhs.uiuc.edu/cee/biocontrol/theoriesmodels/natcontrol.html>. (21 Aug. 2000).

**PATOGENICIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana*
(DEUTEROMYCOTINA: HYPHOMYCETES) EN EL CONTROL DEL GUSANO
BLANCO DEL NOPAL *Lanifera cyclades* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)**

Julio Lozano Gutiérrez¹, Martha Patricia España Luna, Dagoberto Navarro Espino.

¹Unidad Académica de Agronomía de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Apdo. Postal 640 Suc. "C" C.P. 98068 Zacatecas, Zac. jlozano_75@yahoo.com.mx

Palabras claves: Patogenicidad, *Lanifera cyclades*, *Beauveria bassiana*.

Introducción

En la República mexicana, el estado de Zacatecas es uno de los productores de tuna más importantes en México, sin embargo, la producción se ve mermada por diversas plagas, entre las que se encuentra el gusano blanco del nopal *Lanifera cyclades* Druce. El adulto es una palomilla que deposita los huevos en las pencas, al nacer las larvas se introducen y completan su ciclo de vida dentro del nopal. Las larvas tienen hábitos gregarios y se pueden encontrar más de 50 juntas alimentándose de la parte interna de la planta formando grandes galerías que afectan la producción desde el primer año de infestación, y en dos o tres años ocasionan la muerte de la planta. La presencia de la plaga se detecta debido a que las larvas hacen orificios por donde expulsan sus excrementos, que al caer al suelo forman los llamados "montoncitos de arroz". El control de esta plaga se dificulta debido a sus hábitos y difícil acceso, ya que las larvas no son fáciles de localizar en las galerías.

Una de las alternativas en el control biológico de plagas agrícolas es el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, organismo que ha sido estudiado ampliamente, y se ha probado su virulencia sobre muchos insectos plaga en el mundo (Feng *et al.*, 1994). Los lepidópteros son huéspedes importantes de este hongo, incluyendo la Familia Pyralidae (Cagan y Svercel, 2001).

El objetivo de esta investigación fue determinar la efectividad del hongo entomopatógeno *B. bassiana*, a través de la aplicación de esporas en los orificios de excreción de las larvas de *L. cyclades*, bajo condiciones de laboratorio y campo.

Materiales y métodos

Para los bioensayos de patogenicidad en laboratorio, se seleccionaron pencas de nopal sanas, a las cuales se les construyó un orificio de 20 cm de longitud y 1 cm de diámetro, similares a los realizados por las larvas en campo, en ellos se introdujeron 20 larvas del tercer estadio de *L. Cyclades* (15 repeticiones). Después de una semana, en el orificio se adicionó esporas del aislado BbZac1 del hongo entomopatógeno *B. bassiana* en dosis de 1.25×10^9 conidias por ml. *B. bassiana* se reprodujo previa a la aplicación en larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Posteriormente se determinó el

por ciento de mortalidad acumulado y el TL_{50} utilizando análisis probit mediante el programa ED50plus v1.0.

Para la evaluación en campo, en el municipio de Noria de Ángeles, Zac., se seleccionó una huerta de nopal que presentaba alta infestación de *L. cyclades*, donde se seleccionaron 20 plantas de nopal infestadas con *L. cyclades* a las cuales, a través de los orificios naturales de excreción, se les adicionó las esporas de *B. bassiana* en la misma dosis aplicada en laboratorio. A partir del cuarto día de la aplicación las plantas fueron muestreadas para observar emergencia y llevar a cabo la colecta de larvas enfermas, en el octavo día se realizó la extracción del total de larvas para determinar el por ciento de mortalidad, las larvas vivas se concentraron en cajas petri para continuar con la evaluación. Se determinó el por ciento de mortalidad, previa transformación angular. Además se determinó el TL_{50} . Se contrastaron los resultados de laboratorio y campo obtenidos al noveno día posterior a la inoculación mediante prueba t de student.

Resultados

El método de control de larvas de *L. cyclades* con esporas de *B. bassiana* depositadas en los orificios de excreción, presentó por cientos de mortalidad que alcanzan hasta el 90% (con datos transformados) a los 10 días en laboratorio y 11 días en campo (Fig. 1).

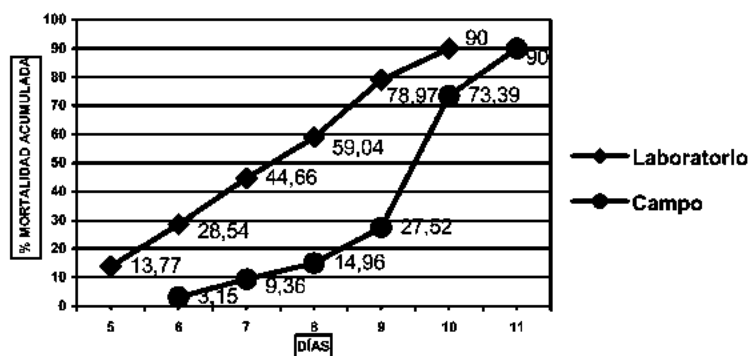


Figura 1. Por ciento de mortalidad acumulada de *Lanifera cyclades* por *Beauveria bassiana*, bajo condiciones de laboratorio y campo.

El tiempo necesario para matar al 50% de la población (TL_{50}) obtenido en laboratorio fue de 6 días, mientras que en campo fue de 9 días.

Discusión

Las larvas muestran la susceptibilidad que se ha observado en otras larvas de la familia Pyralidae entre las que se tiene a *Phthorimaea operculella* y *Ostrinia nubilalis* (Bing y Lewis, 1992). La susceptibilidad de la larva al hongo así como el ambiente húmedo y oscuro dentro de la planta, favorece el desarrollo y efectividad del hongo (Champlin et al., 1981)

Un aislado es virulento cuando presenta un tiempo letal medio menor de 14 días (Samuels *et al.*, 1989), por lo que el aislado BbZac1 es virulento al originar un TL_{50} de 6 y 9 días en laboratorio y campo respectivamente, similares a los obtenidos por Gupta *et al.* (1994) con aislados de *B. bassiana* en larvas de la palomilla de la cera *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) que pertenece a la misma familia de *L. cyclades* con valores de TL_{50} de 4 a 7 días.

Los hábitos de *L. cyclades* en el nopal, permiten la acción de *B. bassiana* sin la necesidad de que prevalezca un ambiente de humedad estricto, por lo que el hongo puede controlar a la plaga aún bajo condiciones de sequía, siempre que se aplique dentro de la planta. El aislado BbZac1 de *B. bassiana* es una alternativa eficaz de control para el gusano blanco del nopal *L. cyclades*, y puede ser aprovechada por los productores dedicados al cultivo del nopal.

Literatura Citada

- Bing, L. A., and L. C. Lewis. (1992). Temporal relationships between *Zea mays*, *Ostrinia nubilalis* (Lep.; Pyralidae) and endophytic *Beauveria bassiana*. *Entomophaga* 37(4): 525-536.
- Cagan, L. and M. Svercel. (2001). The influence of the ultraviolet light on pathogenicity of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin to the european corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lepidoptera: Crambidae). *Journal Central European Agriculture* No.3-4:228-234.
- Champlin, F. R., Cheung, P. Y. K., Pekrul, S., Smith, R. J. Burton, R. L., and E. A. Gula. (1981). Virulence of *Beauveria bassiana* mutants for the pecan weevil. *J. Econ. Entomol.*, 74(5):617-621.
- Feng, M. G., T. J. Poprawski and G. G. Khachatourians (1994). Production, Formulation and Application of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* for Insect Control: Current Status. Review. *Biocontrol Sci. Technol.* 4:3-34.
- Gupta, S. C., T. D. Lethers, G. N. El-Sayad, and C. M. Ignoffo (1994). Relationships among enzyme activities and virulence parameters in *Beauveria bassiana* and *Trichoplusia ni*. *J. of Inverteb. Pathol.* 64:344-352.
- Samuels, K. D. Z., Heale, J.B. and M. Llewellyn. (1989). Characteristics relating to the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* toward *Nilaparvata lugens* *J. of Inverteb. Pathol.* 53:25-31.

EFFECTO DE *Baculovirus anticarsia* EN CUATRO ESPECIES DE LARVAS DE LEPIDOPTERA EN CONDICIONES DE LABORATORIO, UTILIZANDO HOJAS DE SOYA COMO FUENTE DE INOCULO

1

Joel Avila Valdez¹

¹INIFAP. Campo Experimental Sur de Tamaulipas. Apdo. Postal No. 31 Altamira, Tam. C.P. 89601. E-mail: cestam@prodigy.net.mx; cestam@infosel.net.mx

Palabras Clave: Soya, defoliadores, *Baculovirus*

Introducción

Los virus de poliedrosis nuclear (NPV), han sido utilizados con éxito principalmente en el control de plagas de lepidóptera (Granados y Federici, 1986). Dentro de los más estudiados por su efectividad en campo se encuentran el virus de la palomilla gitana *Lymantria dispar* y el virus del gusano terciopelo de la soya *Anticarsia gemmatalis* (Moscardi, 1999; Granados, 2000), así como el VPN de *Autographa californica*, el cual se puede utilizar en diferentes larvas de lepidóptera, ya que no es tan específico como la mayoría de los virus de poliedrosis nuclear, debido a sus inclusiones múltiples (Miller *et al*, 1983).

En el caso de *Baculovirus anticarsia*, presenta una especificidad muy alta para *A. gemmatalis*, que es su hospedero natural, ya que con una dosis de 800 poliedros por larva causa el 100% de mortalidad (Moscardi, 1983). Sin embargo, otras especies también pueden ser afectadas con dosis más altas como es el caso de *Trichoplusia ni*, la cual presenta 100% de mortalidad con 1.25×10^6 poliedros por larva y *Spodoptera latifascia* con 2.1% de mortalidad a dosis de 8×10^5 poliedros por larva, según lo consignan Moscardi y Corso (1981). El efecto de mortalidad de *B. anticarsia* en otras especies se pudo observar en el caso de *Pseudoplusia includens* y *Trichoplusia ni* en soya comercial en aplicaciones dirigidas a larvas de *A. gemmatalis* en el sur de Tamaulipas, México (Avila, 2002b). El objetivo del presente trabajo fue medir en condiciones de laboratorio el efecto de *Baculovirus anticarsia*, en términos de mortalidad, en cuatro especies de larvas de lepidóptera asociadas a la planta de soya.

Materiales y Métodos

El trabajo fue realizado en el ciclo primavera-verano 2002 en el laboratorio de control biológico del Campo Experimental Sur de Tamaulipas del INIFAP, a una temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ y humedad relativa del 70%. Las especies utilizadas fueron *Trichoplusia ni*, *Pseudoplusia includens*, y *Spodoptera exigua* colectadas de plantas de soya libres de aplicación, y *Spodoptera frugiperda*, obtenida de plantas de maíz y sorgo. El *Baculovirus anticarsia* aplicado fue obtenido de larvas de *A. gemmatalis* infectadas provenientes de lotes de soya comerciales del ciclo P-V del 2001. Las concentraciones utilizadas fueron tres, las cuales se originaron de la maceración de uno, dos y tres

larvas de *A. gemmatalis* de 0.4 g, respectivamente, con las cuales se prepararon las soluciones impuras correspondientes.

La inoculación de las larvas fue realizada infectando hojas enteras de 25 mm² aproximadamente cortadas de plantas sin tratar de soya variedad Huasteca 200, con 2 mL de cada solución; las hojas fueron colocadas individualmente en cajas petri con fondo de papel filtro humedecido; en cada caja petri fueron puestas en alimentación cinco larvas de segundo estadio de cada especie, considerándose dos cajas petri como una repetición. En el caso del testigo absoluto sólo se utilizó agua purificada.

A las 72 horas de alimentación, las larvas fueron colocadas individualmente en cajas petri las cuales contenían hojas de soya sin tratar. La mortalidad se midió a los siete días después de iniciada la alimentación en todos los casos. El mismo procedimiento se repitió una vez más en una segunda evaluación. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza bajo el diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones y donde se encontró diferencia estadística significativa se hizo una comparación de medias, según la prueba de Tukey.

Resultados y Discusión

Los resultados indican que en todas las especies sometidas a la evaluación, hubo respuesta biológica al virus, expresada en mortalidad larvaria en las dos pruebas realizadas. La especie más susceptible fue *Trichoplusia ni* con 100% de mortalidad a la concentración más baja y la menos susceptible fue *Spodoptera frugiperda* con 57.5% de mortalidad a la concentración más alta, con el testigo absoluto sin presentar mortalidad (Cuadros 1 y 4).

Cuadro 1. Mortalidad Larval de *Trichoplusia ni* a Tres Concentraciones de *Baculovirus anticarsia* Bajo Condiciones de Laboratorio. CESTAM, INIFAP, 2003.

Tratamiento	No. de larvas Tratadas	No. de larvas Muertas	Porcentaje de mortalidad
AgVPN (1 larva)	40	39	97.5 a
AgVPN (2 larvas)	40	40	100.0 a
AgVPN (3 larvas)	40	40	100.0 a
Testigo	40	0	0.0 b
Segunda evaluación			
AgVPN (1larva)	40	40	100.0 a
AgVPN (2 larvas)	40	40	100.0 a
AgVPN (3 larvas)	40	40	100.0 a
Testigo	40	0	0.0 b

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad. AgVPN = Virus de poliedrosis nuclear de *Anticarsia gemmatalis*.

Los datos obtenidos muestran que *T. ni*, que forma parte del complejo de defoliadores en soya en forma natural, presenta una gran susceptibilidad a *B. anticarsia*, lo cual comprueba lo consignado por Moscardi (1983) y otros autores que indican resultados similares con otros virus de poliedrosis nuclear (Volkman *et al*, 1976; Granados, 2000). En lo que respecta a *Pseudoplusia includens*, especie que también es parte del complejo defoliador en soya y que es difícil de controlar con los insecticidas convencionales, presenta poca mortalidad a la concentración más baja (15.0%), pero en las concentraciones media y alta, la mortalidad alcanza 87.5% (Cuadro 2), lo que es muy importante para fines de control en campo, ya que después de *A. gemmatalis*, es la especie más voraz y la que aumenta los costos de control al necesitar de insecticidas caros o de aplicaciones múltiples.

Cuadro 2. Mortalidad Larval de *Pseudoplusia includens* a Tres Concentraciones de *Baculovirus anticarsia*, Bajo Condiciones de Laboratorio. CESTAM, INIFAP, 2003.

Tratamiento	No. de larvas tratadas	No. de larvas muertas	Porcentaje de mortalidad
AgVPN (1 larva)	40	6	15.0 c
AgVPN (2 larvas)	40	20	50.0 b
AgVPN (3 larvas)	40	35	87.5 a
Testigo	40	0	0.0 d
Segunda evaluación			
AgVPN (1larva)	40	7	17.5 c
AgVPN (2 larvas)	40	22	55.0 b
AgVPN (3 larvas)	40	31	77.5 a
Testigo	40	0	0.0 d

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad.

Spodoptera exigua ocasionalmente forma parte del complejo defoliador en soya, y cuando esto sucede, el daño causado es importante. Los resultados de la evaluación (Cuadro 3), indican que en concentraciones altas, el *B. anticarsia* controla entre el 50 y 90% de la población, porcentaje muy elevado en comparación con el 2.1% que consigna Moscardi y Corso en 1981, respecto a una especie cercana como es *Spodoptera latifascia*.

El caso de *Spodoptera frugiperda*, es diferente a las otras tres especies, ya que normalmente no forma parte del complejo defoliador de soya, sin embargo, se incluyó en la prueba para observar el potencial del *B. anticarsia* con otras larvas de lepidóptera de importancia económica en la región, con todas las reservas del caso. Los resultados obtenidos indican que, a concentraciones altas, se puede lograr un control del 50% de la población (Cuadro 4), aunque se tendría que considerar que el sustrato ingerido con el virus, no es el alimento natural del insecto y eso pudo influir en el moderado grado de infección alcanzado, sin tener los datos de consumo, parámetro que no se incluyó en la prueba; no deja de ser importante el resultado, ya que no hay antecedentes de infección con *B. anticarsia*, aunque sí con otros VPN (Van der Wilk *et al*, 1987).

Cuadro 3. Mortalidad Larval de *Spodoptera exigua* a Tres Concentraciones de *Baculovirus anticarsia* Bajo Condiciones de Laboratorio. CESTAM, INIFAP, 2003.

Tratamiento	No. de larvas tratadas	No. de larvas muertas	Porcentaje de mortalidad
AgVPN (1 larva)	40	3	7.5 c
AgVPN (2 larvas)	40	23	57.5 b
AgVPN (3 larvas)	40	39	97.5 a
Testigo	40	0	0.0 d
Segunda evaluación			
AgVPN (1 larva)	40	2	5.0 c
AgVPN (2 larvas)	40	19	47.5 b
AgVPN (3 larvas)	40	35	87.5 a
Testigo	40	0	0.0 d

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad.

Cuadro 4. Mortalidad Larval de *Spodoptera frugiperda* en Tres Concentraciones de *Baculovirus anticarsia* Bajo Condiciones de Laboratorio. CESTAM, INIFAP, 2003.

Tratamiento	No. de larvas tratadas	No. de larvas muertas	Porcentaje de mortalidad
AgVPN (1 larva)	40	3	7.5 c
AgVPN (2 larvas)	40	12	30.0 b
AgVPN (3 larvas)	40	23	57.5 a
Testigo	40	0	0.0 d
Segunda evaluación			
AgVPN (1 larva)	40	1	2.5 c
AgVPN (2 larvas)	40	10	25.0 b
AgVPN (3 larvas)	40	21	52.5 a
Testigo	40	0	0.0 d

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad.

En general, las perspectivas del uso de *Baculovirus anticarsia* en soya son promisorias, ya que su efecto es directo, con mayor o menor grado, en las especies del complejo defoliador, pero también al ser específico, contribuye al establecimiento e incremento de la población de organismos benéficos asociados al cultivo (Avila 2002a), lo que aumenta los índices de control de los insectos dañinos y reduce la dependencia del control químico. Se puede indicar en base a los resultados obtenidos, que existen condiciones para la implementación de un MIP de soya, con énfasis en control biológico, utilizando como agente principal a *Baculovirus anticarsia*, por el impacto directo en la población de larvas defoliadoras, y en forma indirecta, por su inocuidad, al favorecer el establecimiento y aumento de la entomofauna benéfica natural asociada al cultivo de la soya, lo que incrementa las posibilidades de control de todas las especies plaga que lo afectan.

Literatura Citada

- Avila, V.J. 2002. Interacción de *Baculovirus anticarsia* con otros agentes de control biológico natural en el cultivo de la soya en el sur de Tamaulipas. Actas, XXV Congreso Nacional de Control Biológico. Soc. Mex. de Cont. Biol. p. 37-40.
- Avila, V.J. 2002. Comparación de tres manejos comerciales en el control de defoliadores de soya en el sur de Tamaulipas. Entomología Mexicana. Vol. 1; 254-255.
- Granados, R.R. and B.A. Federici. 1986. The biology of baculoviruses. Vol. I, Practical Application For Insect Control. CRC. Press, Boca Raton, Fl. 276. pp.
- Granados, R.R. 2000. Baculovirus pathogenesis: Viral and Insect transgenes with implication for insect control. Conferencia Magistral. In: Memorias XXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Nov. 16-18, Guanajuato, Méx. Desplegable.
- Miller, L.K., A.J. Linng, and L.A. Bulla. 1983. Bacterial, viral, and fungal insecticides. Science. 219: 715-721.
- Moscardi, F. y I.C. Corso. 1981. Acao de *Baculovirus anticarsia* sobre lagarta de soja (*Anticarsia gemmatalis*, Hübner). e outros lepidopteros. In: Anais do Seminario Nacional de Pesquisa de Soja, 2 EMBRAPA-CNPSO, Londrina, Brazil, pp. 52-61.
- Moscardi, F. 1983. Utilizacao de *Baculovirus anticarsia* para controle de lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis*. Londrina. EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa da Soja. Comunicado técnico No. 23. 21 p.
- Moscardi, F. 1999. Assessment of application of Baculoviruses for control of lepidoptera. Ann. Rev. Entomol. 44: 257-259.
- Van der Wilk, F., J.W.M. Lent and J.M. Vlak. 1987. Inmunogold detection pf polyhedrin, P10 and virion antigens in *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus-infected *Spodoptera frugiperda* cells. J. Gen. Virol. 68: 2615-2623.
- Volkman, C.E., M.D. Summers and C.M. Hsieh. 1976. Occluded and nonoccluded nuclear polyhedrosis virus grown in *Trichoplusia ni* comparative neutralization, comparative infectivity, and *in vitro* growth studies. J. Virol. 19: 820.

EFFECTO DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS EN LA CHICHARRITA DEL MAIZ (*Dalbulus maidis*) (HOMOPTERA: CICADELLIDAE)

Griselda Ibarra Aparicio¹, Gustavo Moya-Raygoza¹, y Angélica Berlanga Padilla²

¹ Departamento de Botánica y Zoología, C.U.C.B.A., Universidad de Guadalajara, km 15.5 carretera Guadalajara-Nogales, Apartado Postal 139, C.P. 45110 Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México. ² Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, DGSV-SAGAR, Apartado Postal 133, C.P. 28130, Tecomán, Colima, México.

Palabras Clave: *Beauveria bassiana*, maíz, *Metarhizium anisopliae*.

Introducción

La chicharrita *Dalbulus maidis* (Delong & Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) es una de las principales plagas del maíz en América Latina, debido a que es un eficiente vector de tres patógenos; el virus rayado fino del maíz (*Maize dwarf virus*), el espiroplasma del maíz (*Spiroplasma kunkelii*), y el fitoplasma del maíz (Nault, 1990).

A pesar de que individuos de *D. maidis* han sido encontrados en el campo con evidencias de muerte por los hongos entomopatógenos *Metarhizium* sp. y *Beauveria* sp., no se han hecho estudios bajo condiciones controladas para determinar el efecto de estos hongos sobre la chicharrita del maíz. Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue determinar la mortalidad y la esporulación de tres aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok y tres aislamientos de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin sobre adultos de *D. maidis*.

Materiales y Métodos

Los seis aislamientos probados contra *D. maidis* tienen la característica en común que atacan a homópteros. Las esporas de cada aislamiento fueron sembradas en Agar Dextrosa Sabouraud y mantenidos a 27° C ± 2° C. Las esporas surgidas de la siembra fueron contadas de la siguiente manera. 1 ml de esporas, se diluyó en 100 ml de agua estéril y una gota de Estravon 40. La anterior suspensión fue homogenizada y se tomo una muestra para contar las esporas en la cámara hematocitométrica de Neubauer y bajo el microscopio. Una vez conocido la cantidad de esporas por ml, se hicieron diluciones para obtener una concentración de 1 X 10⁷.

Se utilizaron 3 ml de la anterior concentración para aplicarlos con un atomizador a plántulas de maíz con cinco adultos de *D. maidis* por jaula. Cada jaula tenía cinco adultos y fueron usadas cuatro jaulas por repetición y cuatro repeticiones por tratamiento. En total se tuvieron tres tratamientos (aislamientos) para *M. anisopliae*, tres tratamientos (aislamientos) para *B. bassiana* y el testigo al que sólo se le aplico Estravon 40 diluido en agua.

Después de asperjar los adultos, se mantuvieron a 27° C ± 2° C y un fotoperiodo de 12 hr luz y 12 hr oscuridad. De cada uno de adultos, se determino cada 24 horas el

número de individuos muertos, el día que murieron, número de individuos esporulados y el día en que esporularon después de muertos. La comparación en mortalidad y esporulación entre los tratamientos fue realizada con un análisis de varianza y la comparación entre medias fue hecha con la prueba Tukey.

Resultados y Discusión

Este es el primer estudio que muestra el efecto de los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* sobre *D. maidis*, bajo condiciones de laboratorio. Los aislamientos M362 y M379 de *M. anisopliae* produjeron la mayor mortalidad de adultos de *D. maidis* con un 40.1 % y 37.2 %, respectivamente y a los 10 días después de haber efectuado la aspersión. En otros homópteros se han encontrado resultados similares. Por ejemplo, la mosca pinta *Aeneolamia varia* (Fabricius) (Cercopidae) fue muerta por *M. anisopliae* en un 46.1 % (Arango et al. 1994).

El mayor porcentaje de esporulación sobre los adultos muertos de *D. maidis* fue mostrado por el aislamiento M362 ($F = 4.14$; g.l. = 5,18; $P = 0.01$) con un 52.8 %. Mientras que los porcentajes de esporulación por los tres aislamientos de *B. bassiana* fueron entre un 5.7 % y 32.4 %. A diferencia de estos resultados, *B. bassiana* produjo mayor porcentaje de esporulación en insectos que no son homópteros. Tal es el caso de *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) quien tuvo un 90 % de esporulación por *B. bassiana* (Noma y Strickler 2000).

Los aislamientos M362 y M379, quienes produjeron su mortalidad en 10.5 y 10.3 días respectivamente, mataron significativamente ($F = 4.37$; g.l. = 5,338; $P = 0.01$) más rápido a los adultos de *D. maidis*. Para efectos de control sobre vectores de patógenos con mecanismo de propagación persistente-propagativo, eso es positivo. Lo anterior significa que estos aislamientos matan al vector antes de que transmita a los patógenos, debido a que es necesario un periodo de latencia de dos o tres semanas para que *D. maidis* transmita a los tres patógenos. En conclusión el aislamiento M362 de *M. anisopliae* fue el que produjo en adultos de *D. maidis* mayor porcentaje de mortalidad, mayor porcentaje de esporulación, mata más rápido y esporula más pronto.

Literatura Citada

- Arango, G.L., C. Torres, y S.L. Lapointe. 1994. Patogenicidad de tres cepas de *Metarhizium anisopliae* sobre huevos y ninfas de *Aeneolamia varia* (Fabricius) (Homoptera: Cercopidae). *Revista Colombiana de Entomología* 20: 43-46.
- Nault, L.R. 1990. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhopper, a case study. *Maydica* 35: 165-175.
- Noma, T. y K. Strickler. 2000. Effects of *Beauveria bassiana* on *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) feeding and oviposition. *Environmental Entomology* 29: 394-402.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con apoyo financiero del CONACYT dado al proyecto número 38689-B. Se agradece a H. C. Arredondo Bernal por todas las facilidades que otorgo el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico para realizar gran parte de este estudio. Además, damos las gracias a G. Virgen Calleros, M. Vázquez García, E. Félix Fregoso y J. Bojorquez Martínez por sus comentarios y revisión de una versión anterior a este texto.

**CONTROL BIOLÓGICO DE LOS GORGOJOS COMÚN Y MEXICANO DEL FRIJOL
CON EL ECTOPARASITOIDE *Dinarmus basalis* (RONDANI) (HYMENOPTERA:
PTEROMALIDAE) EN EL CENTRO DE VERACRUZ.**

A. Bonet,¹ C. O. Morales, I. López, C. V. Rojas y S. P. Méndez.

¹Instituto de Ecología. Km 2.5 antigua carretera a Coatepec. Apartado Postal 63. C. P. 91000 Xalapa, Veracruz, México. Correo electrónico: bonetart@ecologia.edu.mx

Palabras Claves: *Acanthoscelides obtectus* (Say), control biológico, *Zabrotes subfasciatus*.

Introducción

El gorgojo común [*Acanthoscelides obtectus* (Say)] y mexicano (*Zabrotes subfasciatus* Boheman) del frijol son dos especies cosmopolitas de la familia Bruchidae que producen hasta un 20 % de daños en promedio, a las semillas de frijol almacenadas en las casas de los campesinos que viven de la autosuficiencia (Leroi *et al.*, 1991; Bonet *et al.*, 2000). Una medida alterna para su control es el uso de enemigos naturales de los gorgojos.

En el centro de Veracruz se encontró al himenóptero parasitoide *Dinarmus basalis* (Rondani) atacando al gorgojo mexicano del frijol sobre semillas de una variedad local de frijol. En el laboratorio se estudió su biología reproductiva (Rojas, 2000) encontrándose que tiene una alta fecundidad y proporción sexual de la progenie sesgada a hembras, con un ciclo de vida de 20 días para el macho adulto y 22 días para la hembra. *D. basalis* puede ser considerado como un agente potencial de control biológico para las poblaciones de gorgojos en frijol almacenado.

El presente trabajo tiene como objetivo liberar en forma experimental por única vez al himenóptero parasitoide *D. basalis*, en sacos con semillas de frijol almacenado de las variedades locales y Michigan; así como conocer su efecto sobre ambos hospederos, el gorgojo común y el gorgojo mexicano del frijol en dos comunidades campesinas del centro de Veracruz (Santa Rosa Cintepec y Xicola).

Materiales y Métodos

Para la cría de *Dinarmus* es necesario tener cultivos de *A. obtectus* y *Z. subfasciatus* de 15 a 21 días (tercer estadio o pupa) de haber sido infestado; se mantienen en una cámara de cría rectangular de aproximadamente 50 cm de largo, 31.5 de ancho y 31.5 de alto. El insecto tarda en desarrollarse de 20 a 22 días aproximadamente (12 horas luz/12 horas oscuridad, 25/23 °C, H. R. 70 %).

Se siguió una metodología similar a la realizada por Ouedrago *et al.*, 1996 en relación a los tratamientos utilizados a excepción de los recipientes en que nosotros utilizamos sacos de tela de manta. Cada tratamiento con dos réplicas (la unidad de muestreo es

cada saco). En el laboratorio se pusieron ocho costales de manta con semilla limpia y sana (3 kg cada uno). A cada saco se les agregó por única vez 150 semillas que contienen 200 gorgojos (50, 1er estadio, 50, 2do estadio, 50, 3er estadio y 50 pupas) con la finalidad de que siempre hubiera hospederos para la avispa. En los sacos control no se adicionaron avispas.

A los sacos con tratamiento se adicionaron avispas de 48 horas por única vez con estas características: (I) 20 parejas de parasitoides, (II) 40 parejas de la avispa y (III) se dejó la semilla con gorgojos durante tres meses y posteriormente se agregaron 40 parejas de parasitoides. Los sacos se colocaron en ambas comunidades con dataloggers para registrar la temperatura y humedad relativa de cada localidad. Los sacos se revisaron cada mes hasta el sexto mes final del experimento. Se cuantificaron y separaron los adultos muertos de los gorgojos y parasitoides, registrando el sexo de estos últimos. Se comparó el peso inicial de la semilla con el final de cada tratamiento, registrándose la pérdida de peso de la semilla entre los mismos.

Resultados

Liberación de *D. basalis* Sobre Frijol Almacenado de la Variedad Michigan y Vaina Blanca con *Z. subfasciatus* en Santa Rosa Cintepec (Mpio. de Hueyapan de Ocampo).

En el interior de la casa de Doroteo Chima se colocaron los sacos con frijol de las variedades Michigan y Vaina Blanca, ésta última de la localidad. Durante seis meses se registró la temperatura (24 ± 3 °C) dentro del cuarto, tiempo durante el cual hubo una elevada humedad relativa (77 ± 3 %). Los sacos control de las dos variedades de frijol (Michigan y Vaina Blanca) tuvieron un crecimiento notable del gorgojo mexicano del frijol. El número máximo de gorgojos se dio en el cuarto mes para después caer la cantidad de individuos muertos encontrada, llegándose a contar en promedio 45,000 y 38,000 individuos en cada variedad, respectivamente. Al final de los seis meses se encontraron en los sacos control un total de 204,398 y 178,829 gorgojos muertos. En los tratamientos I y II se observa una disminución notable de la población de gorgojos. El máximo promedio de gorgojos se ubicó en el quinto mes con 10,000 y 6,000 individuos, respectivamente. Los tratamientos I y II en relación al control hicieron disminuir un 70 y 81 % de gorgojos, respectivamente en la variedad Michigan; en el caso de la variedad Vaina Blanca la disminución fue de 85 y 74 %, respectivamente. El pico máximo de adultos muertos encontrados se observa también en el tratamiento III aunque con menor densidad. Este pico ya no se observa en los tratamientos I y II por efecto de las avispas.

Como en anteriores experimentos de laboratorio, los parasitoides lograron reproducirse durante los siguientes seis meses utilizando a los hospederos dentro de las semillas. La densidad de parasitoides es mucho menor a los hospederos, todavía mucho más, si se compara con los gorgojos de los sacos control. La disminución de los gorgojos a causa de los parasitoides en los tratamientos I y II, es de 70 y 81% en la variedad Michigan y 85 y 74 % en la variedad Vaina Blanca. En el tratamiento III la disminución fue mucho menor 19 y 39 %. Desde el cuarto y quinto mes en ambas variedades de frijol, pasa de

los 1000 el número de avispas muertas encontradas, su número aumenta en los meses restantes. El peso protegido por las avispas en los tres tratamientos respecto al peso final de las semillas de los sacos control es de 37, 48 y 21 % para la variedad Michigan y 33, 31 y 22 % para la variedad Vaina Blanca.

Liberación de *D. basalis* en *A. obtectus* en Frijol Almacenado de la Variedad Michigan y Aztoya en Xicola (Mpio. de Alpatláhuac).

En la casa de Antelmo García se colocaron en el cuarto principal los sacos con frijol de las variedades Michigan y Aztoya, esta última criolla local. Durante seis meses se registró la temperatura (17 ± 5 °C) dentro del cuarto, así como la humedad relativa (82 ± 3 %). La temperatura registrada resultó baja afectando el crecimiento de las poblaciones de gorgojos y parasitoides, no obstante la alta humedad relativa propicia para la reproducción del parasitoide.

En Xicola los sacos control de las variedades de frijol (Michigan y Aztoya) presentaron una densidad baja del gorgojo común. El número máximo se presentó en el tercer mes para después caer la cantidad de gorgojos muertos encontrada, se encontraron en promedio 270 y 170 gorgojos muertos en cada respectiva variedad. Al final de los seis meses se registró en los sacos control, la cantidad total de 846 y 924 individuos muertos. A pesar de mostrar una densidad baja, se observa un pico máximo de gorgojos en el tercer mes con la consiguiente caída. Este pico también se observó para *Z. subfasciatus* en Santa Rosa. En los tratamientos I y II se observa una mayor mitigación de los gorgojos en la variedad Michigan que en la Aztoya. El máximo promedio de gorgojos muertos encontrados se ubicó para el tratamiento I y II en 150 y 70 en la variedad Aztoya, así como 30 y 30 en la variedad Michigan. Los tratamientos I y II en relación al control hicieron disminuir un 56 % y 51 % de gorgojos, respectivamente en la variedad Aztoya; en la variedad Michigan la disminución fue de 70 y 59 %. En el tratamiento III de las dos variedades de frijol también se observa el pico máximo, en los tratamientos I y II ya no se observa por el efecto de las avispas. El escaso número de gorgojos en los tratamientos se debe al efecto de los parasitoides a pesar de estar en una temperatura baja para su crecimiento aunque sí con humedad relativa fuerte. El peso protegido por las avispas en los tres tratamientos respecto al peso final de las semillas de los sacos control es de 11, 11 y 19 % para la variedad Aztoya y 3, 3, 0 % para la variedad Michigan. En esta última variedad no hubo protección suficiente del parasitoide.

Discusión

Se demostró que la avispa *D. basalis* puede establecerse en envases con semillas de frijol recién cosechado sin necesidad de alimentarse, logrando buscar y reproducirse en los hospederos potenciales existentes en la semilla. Aún con pocos individuos es posible afectar y detener la tendencia explosiva de reproducción de los gorgojos común y mexicano del frijol. Se comprobó que a distintas temperaturas: bajas (17 ± 5 °C), constante (23 ± 0.6) con poca humedad (50 %) y altas (24 ± 3 °C) con mucha humedad

(80 %) el parasitoide puede reproducirse. Pocas diferencias se observaron en la eficiencia del parasitoide en relación a la variedad de frijol utilizada.

Literatura Citada

- Bonet, A., J. Carbonell, M. Cruz, D. García, S. Méndez y C. Rojas. 2000. *El gorgojo insecto que ataca a las semillas de frijol*. Instituto de Ecología A. C. 14 pp.
- Leroi, B., B. Richard, A. Bonet & J. Montes. 1991. Family stocks of beans in Mexico and control of dried bean beetle. *In*: Fleurat-Lessard, F. & P. Ducon (Eds.). Proceedings of the 5th International working conference on stored-product protection. INRA. Paris, Francia. 1639-1647.
- Rojas, C. 2000. Aspectos relevantes de la biología, ecología y comportamiento de un himenóptero parasitoide que ataca al gorgojo pinto del frijol (*Zabrotes subfasciatus* Boh.). Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. 78 pp.
- Ouedrago, P. A., S. Sou, A. Sanon, J. P. Monge, J. Huignard, B. Tran & P. F. Credland. 1996. Influence of temperature and humidity on populations of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) in two climatic zones of Burkina fasso. *Bull. Entomol. Res.* 86: 695-702 pp.

CONTROL BIOLÓGICO DE LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) DEL MANGO EN EL ESTADO DE SINALOA

Carrillo F., A¹, Carrillo H. R¹, Allende M, R¹. , García E., R. S¹. , Márquez Z. I¹, Patiño V. M² y Galindo E².

¹CIAD AC Unidad Culiacán. AP 32 A CP 80129. Culiacán, Sinaloa acarrillo@victoria.ciad.mx. ²Unidad de Escalamiento y Planta Piloto, Instituto de Biotecnología, UNAM, P. O. Box 510-3, Cuernavaca, Morelos. , CP 62271, México.

Palabras Claves: Antagonistas, antracnosis, mango

Introducción

En el Estado de Sinaloa las principales variedades de mango que se siembran son: Haden, Tommy Atkins, Kent y Keitt. Este cultivo presenta diversos problemas fitosanitarios como son: Plagas (principalmente moscas de la fruta del género *Anastrepha*) y enfermedades (antracnosis, cenicilla, pudrición de pedúnculo, entre otras. La antracnosis, es ocasionada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. y es considerada como una de las principales causas patológicas que originan pérdidas precosecha y poscosecha en este cultivo, sobre todo en regiones con temperaturas elevadas y humedades relativamente elevadas (Fitzell y Peak, 1984. Esta enfermedad se presenta en todas las etapas fenológicas del cultivo, y causa pérdidas considerables en producción tanto en precosecha como en poscosecha (Cook, 1975) En México, esta enfermedad se encuentra diseminada en las 24 entidades federativas en donde se produce mango, con ataques destructivos en floración, fructificación y poscosecha (Becerra, 1995; Allende, 2001)

La utilización de productos químicos tanto en condiciones de campo como en empaque, son el sistema más usado para el control de esta enfermedad; sin embargo, actualmente cada vez son mayores las objeciones de orden higiénico-sanitarias que éstos plantean, puesto que los fungicidas se presentan como potenciales agentes oncogénicos cuando son aplicados a las frutas y hortalizas. Debido al grave problema que representan los residuos de productos químicos para la salud humana, los países más desarrollados han establecido una serie de límites máximos de residuos (LMR) bastante restrictivos, en muchos casos por debajo de los recomendados por el "Codex alimentarius" (FAO/OMS) (Viñas *et al*, 2002)

Por lo que una de las principales líneas de investigación que se están retomando actualmente por los investigadores y técnicos en agricultura y como uno de los mayores retos, es encontrar alternativas al control químico de enfermedades de las plantas. En este estudio se plantea la presente alternativa de control biológico, la cual no representa un impacto negativo en el medio ambiente, es económica y socialmente viable. La propuesta planteó el siguiente objetivo: Determinar el efecto de *Rhodotorula minuta* y *Bacillus subtilis* aplicados en campo sobre la severidad de antracnosis en frutos de mango de la variedad Haden.

Materiales y Métodos

El presente estudio se realizó en Culiacán, Sinaloa en el año de 2002, en un huerto de mango cv Haden. Donde se evaluó el efecto de las aplicaciones en precosecha de una cepa de *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) y la levadura *Rhodotorula minuta* (Saito) Harrison, en forma individual y a diversas concentraciones o mezclas de estos: 1. - *Rhodotorula minuta* 10^8 ufc/ml; 2. - *Bacillus subtilis* 10^6 ufc/ml; 3. - *Rhodotorula minuta* + *Bacillus subtilis* 10^8 ufc/ml + 10^6 ufc/ml; 4. - *Rhodotorula minuta* + *Bacillus subtilis* 10^6 ufc/ml + 10^4 ufc/ml; 5. - *Rhodotorula minuta* + xanohana 10^8 ufc/ml + 0.1 g/l; 6. - *Bacillus subtilis* + xanohana 10^6 ufc/ml; 7. - *Rhodotorula minuta* + *Bacillus subtilis* + xanohana 10^8 ufc/ml + 10^6 ufc/ml; 8. - *Rhodotorula minuta* + *Bacillus subtilis* + xanohana 10^6 ufc/ml + 10^4 ufc/ml; 9. - Testigo regional (Benlate) 0.5/l y 10. - Testigo absoluto. Para ello se utilizaron cuatro (repeticiones) plantas de mango de la variedad Haden para cada uno de los tratamientos, para lo cual se realizaron cinco aplicaciones al follaje de las plantas (desde floración hasta la cosecha) con un intervalo de tiempo de un mes (febrero - junio 02) entre ellas. La cosecha de los frutos se realizó al momento de su madurez fisiológica, donde se seleccionaron al azar 40 frutos de cada tratamiento y estos fueron almacenados a condiciones de mercadeo (20°C. El parámetro de evaluación fue la severidad de antracnosis en los frutos de mango de los árboles tratados y almacenados bajo condiciones de mercadeo (20°C) y evaluados a los 5, 10, 15 20 y 25 días después del almacenamiento. Para ello, se tomó como indicador la presencia de síntomas de la enfermedad (antracnosis), donde se utilizó la escala hedónica propuesta por Smoot y Seagall (1963): 0 = sano, 1 = trazas (manchas cloróticas sobre la fruta); 2 = ligero (lesiones oscuras de 1- 5 mm de diámetro); 3 = mediano (lesiones oscuras de 6 mm en adelante); 4 = severo (lesiones oscuras hundidas y con presencia de estructuras fungosa.) Los datos obtenidos de las evaluaciones de cada tratamiento, se sometieron al análisis unilateral de varianza por rangos de Friedman respectivamente en el sistema estadístico (SAS, 1998.)

Resultados y Discusión

Las evaluaciones de la severidad de la antracnosis en los frutos donde se realizaron los tratamientos aplicados en precosecha y evaluados bajo condiciones en poscosecha en almacenamiento a los 5, 10, 15, 20 y 25 días después del almacenamiento, se observan en el Cuadro 1.

Donde los resultados nos indican que los tratamientos (*Rhodotorula minuta* 10^6 + *Bacillus subtilis* 10^4 ufc/ml y *Rhodotorula minuta* 10^8 ufc/ml sola, mostraron mayor efectividad para controlar antracnosis en los frutos de mango Haden, los cuales mostraron menores índices de severidad (rango 5.1450^a y 5.1600^a) respectivamente; comparados con el tratamiento testigo comercial (benlate), el cual presentó un índice de rangos de severidad de 5.6700^{ab}); Mientras que el tratamiento testigo absoluto presentó un valor de índice de rango de severidad de 6.54000^c.

Los resultados nos indican que el efecto antagonista de la levadura más la combinación con la bacteria, incrementaron los mecanismos de acción antagónico, lo cual se reflejo

en la disminución de la severidad de la enfermedad ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*,

Cuadro 1. Severidad de antracnosis en frutos de mango Haden (huerto Facultad de Agronomía) tratados en precosecha y expresada en rangos.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGOS
Testigo absoluto	0.90000	6.5400 ^c
Lev 1 x 10 ⁶ + Bac 1 x 10 ⁴ ufc/ml + xanthana	0.70000	5.9500 ^{bc}
Lev 1 x 10 ⁸ + Bac 10 ⁶ ufc/ml	0.70000	5.9000 ^{bc}
Lev 1 x 10 ⁸ + Bac 1 X 10 ⁶ ufc/ml + xanthana	0.66000	5.7900 ^{ab}
<i>Bacillus</i> 1 x 10 ⁶ ufc/ml	0.62000	5.6850 ^{ab}
Químico (Benlate) 0.5g/L de agua	0.66000	5.6700 ^{ab}
Lev 1 x 10 ⁸ ufc/ml + xanthana	0.63000	5.6050 ^{ab}
Bac 1 x 10 ⁶ ufc/ml + xanthana	0.61000	5.5550 ^{ab}
Levadura 1 x 10 ⁸ ufc/ml	0.53000	5.1600 ^a
Lev 1 x 10 ⁶ + Bac 10 ⁴ ufc/ml	0.50000	5.1450 ^a

Rangos con diferente literal difieren estadísticamente. (P<0.05).

Literatura Citada

- Allende, R., Juárez, C., García, E. R., Carrillo F. A., Patiño M. y Galindo, F E. 2001. *Rhodotorula minuta* agente de control biológico potencial contra *Colletotrichum gloeosporioides* en mango. Fitopatol. Bras. 26 (supp.) Agosto. P. 461
- Becerra, L.E.N. 1995. Enfermedades del cultivo del mango. En: La producción del mango en México. Eds. Mata B.I. y R.V. Mosqueda (eds) Editorial Uteha/Noriega Editores. México 159 p.
- Cook, A.A. 1975. Disease of tropical and subtropical fruits and nuts, 1^{er}. Edn. New York Hafner Press. 231 p.
- Fitzell, R. D. and C. .M. Peak. 1984. The epidemiology od antracnose disease of mango: Inoculum sources, spore production and dispersal. Ann. Appl. Biol. 104: 53-59.
- Viñas, I., Usail, J., Teixido, N., Abadías, M., Torres, R. y Fons, E. 2002. Control biológico de mohos en poscosecha de frutas. Unidad de Patología, Centro UdL -IRTA (Lleida.)

BLASTOSPORAS DE *BEAUVERIA BASSIANA* (VUILL) SOBRE *BRACHYSTOLA MAGNA* (GIRARD) (ORTHOPTERA: ACRIDIDAE)

Cipriano García-Gutiérrez¹, María Berenice González-Maldonado¹ y Patricia Tamez-Guerra².

¹CIIDIR COFAA-IPN Unidad Durango. Sigma s/n Fracc. 20 de nov. II. Durango, Dgo. C.P. 34220. Tel. (618) 8142091. Fax. (618)8144540. ²Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL. Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza N.L C.P. 64451. garciacipriano@hotmail.com.

Palabras clave: Plaga de chapulín, *Brachystola magna*, *Beauveria bassiana*.

Introducción

En Durango, *Brachystola magna* se presenta abundantemente en los meses de agosto y septiembre, causando daños a los cultivos de maíz y frijol. Actualmente el control del chapulín se realiza con la aplicación de insecticidas como Paratión metílico, Acefate y Malatión (SAGAR, 2000). En relación al control biológico, Jenkins *et al.* (1998) realizaron aplicaciones exitosas de *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Sorokin) a nivel de campo sobre langosta, dentro del programa LUBILOSA (*Lutte Biologique contre le Locusts et les Sauteriaux*) en Africa; en México se han utilizado bioinsecticidas a base de los hongos *M. anisopliae*, *Metarhizium flavoviride* y *B. bassiana* para el control de la falsa langosta *Pterophila beltrani* en Nuevo León y Tamaulipas (Barrientos *et al.*, 1998). Respecto a la evaluación de la efectividad tóxica de hongos entomopatógenos, Hernández y Berlanga (1998) evaluaron la toxicidad de cepas de *M. anisopliae*, *M. flavoviridae*, *B. bassiana* y *P. fumosoroseus*, las cepas más virulentas fueron *M. anisopliae* y *M. flavoviridae* con un tiempo letal 50 (TL₅₀) de 4.5 y 5 días; las tres cepas ocasionaron 100% de mortalidad, a los 8 días después de haber estado en contacto con el hongo. El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de blastosporas de *Beauveria bassiana* producidas en fermentador, utilizando un medio de cultivo líquido a base de melaza, sobre ninfas del chapulín *B. magna* de 5 días de desarrollo.

Materiales y Métodos

El hongo fue producido en un fermentador Marca Bioflo III de 7l, utilizando melaza® como fuente de carbono. En la etapa de producción del hongo, se tomaron muestras del fermentador cada 24 h para determinar el número de blastosporas producidas durante la fase de crecimiento exponencial; el conteo final de blastosporas, se realizó a los 6 días de incubación utilizando un hematocímetro, siguiendo la técnica descrita por Goettel e Inglis (1994). El caldo de cultivo proveniente del fermentador tuvo una concentración de 1.2×10^9 blastosporas/ml, y fue utilizado para preparar seis diluciones (cuadro 1); como control se uso agua destilada.

Para la cría masiva del chapulín se utilizaron jaulas de 1x0.8x0.5m. La cría se inicio con chapulines adultos, los insectos se confinaron sobre plantas de frijol, en macetas, las cuales les sirvieron como alimento; dentro de las jaulas se colocaron charolas con

arena blanca lavada con una solución de cloralex al 1%, la arena se utilizó como sustrato de 10cm de espesor para la oviposición de las hembras; las ootecas se recogieron a partir del mes de agosto y septiembre, y se pusieron en cajas petri sobre papel filtro, la incubación de huevecillos se realizó en una cámara climática ajustada a 24°C y 60% de HR hasta la eclosión de las ninfas.

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad y promedio de ninfas de *B. magna* por blastosporas de la cepa BbP1 de *B. bassiana*.

Dosis Blastosporas/ ml	Tiempo			Efecto	
	24 h %-X	48 h %-X	72 h %-X	Dosis- mortalidad	Tiempo- mortalidad
1.2x10 ⁹	96-72	100-75	100-75	*F = 7.614	F = 0.544
7x10 ⁷	80-60	92-69	96-72	*p = 0.001	p = 0.584
2.3x10 ⁷	72-54	76-57	80-60		
7.77x10 ⁶	52-39	68-51	72-54		
2.6x10 ⁶	20-15	28-21	36-27		
8.6x10 ⁵	1-1	1-1	4-3		
TESTIGO	0-0	0-0	0-0		

* Existe efecto significativo ($p \leq 0.05$) ANOVA/MANOVA.

Se utilizó el método de bioensayo por inmersión para lo cual círculos de hojas de frijol de 50mm de diámetro fueron inmersas en cada una de las diferentes diluciones por un tiempo de 3 minutos, después se dejaron secar por un periodo de 5 minutos; posteriormente los insectos se transfirieron a cajas petri de 55cm de diámetro en grupos de 5 ninfas/caja y finalmente se colocaron en la cámara climática. Las hojas inmersas sirvieron como medio de contacto hongo-insecto y fuente de alimento durante 72h; en cada dilución se usaron 25 ninfas por tratamiento, con 3 repeticiones. Se determinó el número de insectos muertos a las 24, 48 y 72h. Para analizar el efecto de las diferentes concentraciones y el efecto del tiempo de contacto insecto-hongo en la mortalidad de ninfas, se uso el programa ANOVA/MANOVA del paquete Statistica (1993) con un diseño factorial de dos entradas. Para determinar la concentración letal 50 (Cl₅₀) de la cepa estudiada, se utilizó el programa PC Polo (1987). Los insectos tratados se mantuvieron en una cámara de cría a 25°C y 70% de HR, durante el mismo periodo de tiempo para observar el desarrollo de la micosis y determinar el número de insectos micosados en cada dilución.

Resultados y Discusión

La producción de blastosporas de *B. bassiana* en medio de cultivo líquido fue de 1.2x10⁹ blastosporas/ml, con un tiempo de incubación de 6 días. En el cuadro 1 se observa el porcentaje de mortalidad de ninfas de *B. magna* a las 24, 48 y 72h después de que el hongo e insectos estuvieron en contacto, así como la mortalidad promedio en cada dilución. En estos datos se observa que la concentración de 1.2x10⁹ de la cepa de *B. bassiana* BbP1 causó una mortalidad máxima de 100% a las 48 y 72h, mientras que la mínima fue de 4% en la concentración de 8.6x10⁵ a las 72h, lo cual indica la

susceptibilidad del insecto y la toxicidad de la cepa a las concentraciones evaluadas. La Cl_{50} de la cepa BbP1 sobre *B. magna* tuvo un valor de 5.1×10^6 blastosporas/ml, con límites fiduciales de 2.8×10^6 - 8.3×10^6 y un valor de pendiente de 1.7 ± 0.1 , este último valor indica una respuesta homogénea de los insectos de prueba al tóxico. Resultados de toxicidad de conidios de *B. bassiana* mejores fueron encontrados por Inglis *et al.* (1996) a concentraciones de 5.8×10^3 - 1.0×10^5 conidios/ml sobre ninfas de 14 días de edad de *M. sanguinipes*, sin embargo en este trabajo es importante destacar que los cuerpos infectivos fueron blastosporas producidas en medio de cultivo líquido y las ninfas tuvieron solo 5 días de edad, a diferencia de los 14 días de edad de *M. sanguinipes*. Los insectos manifestaron el inicio de la invasión del hongo a las 24h, quedando totalmente cubiertos por micelio a las 72h, después de haber aplicado las diferentes dosis. El mayor número de insectos micosados se presentó en las diluciones con concentraciones de 1.2×10^9 y 7.0×10^7 disminuyendo notablemente en el resto de las diluciones. El resultado de los datos analizados con el programa ANOVA/MANOVA, con el diseño correspondiente indicaron que existió un efecto directo de las diferentes concentraciones sobre la mortalidad de ninfas ($F=7.614$, $p=0.001$), pero no así con el tiempo de infección ($F=0.544$, $p=0.584$). Esto significa que a mayor dosis, mejor respuesta al tóxico; sin embargo en esta prueba el tiempo para que se manifieste la micosis no depende de la dosis si no que de algunos otros factores como tamaño, peso y susceptibilidad de los insectos a la cepa evaluada. Otro aspecto importante es que el tipo de bioensayo por inmersión de hojas de frijol usado en este experimento fue efectivo para propiciar la contaminación de los insectos de prueba por ingestión del inóculo y por contacto, confirmando con esto los resultados obtenidos por Inglis *et al.* (1996), quienes utilizaron discos de lechuga con un inóculo del agente tóxico, logrando la infección de los insectos.

Literatura Citada

- Barrientos Lozano I., O. Astacio., F. Alvarez y O. Poot. 1998. Manual técnico sobre la langosta voladora (*Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker 1870) y otros acridoideos de Centro América y Sureste de México. FAO-OIRSA. México. 162 pp.
- Goettel, M.S and G.D. Inglis. 1994. Fungi: Hyphomycetes. 213-249 pp. *In*: L. Lacey (edit). *Manual of Techniques in insect pathology*. Academic Press. 409 p.
- Hernández Velázquez, V. M. y A. M. Berlanga-Padilla, 1998. *Control microbiano con hongos entomopatógenos*. SAGAR. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Tecomán, Col. México. 106 pp.
- Inglis G.D., D.L. Johnson and M.S. Goettel. 1996. An Oil-Bait bioassay method used to test the efficacy of *Beauveria bassiana* against Grasshoppers. *Journal of Invertebrate Pathology*, 67: 312-315.
- Jenking, N.E., R. Bateman and M.B. Thomas. 1998. The lubilosa programme-development of a micoinsecticide for locust and grasshopper control. *XXI Congreso Nacional. de Control Biológico*, Río Bravo, Tamps. México. p. 82.
- SAGAR. 2000. Antecedentes históricos de la contingencia contra el chapulín. 1993-1999.

XXVI Congreso Nacional de Control Biológico, Guadalajara, Jal. 2003

SAGAR Delegación Durango. *Simposio Control de Plaga de chapulin en Durango*. 9- 10 de marzo del 2000. Durango, Dgo. México.
STATISTICA Program ver. 4.3 Stat Soft, Inc. 1993.

EVALUACION DE FORMULACIONES DE *Beauveria bassiana* (Vuill.) EN CAMPO SOBRE *Amphidees* spp. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN ARTEAGA, COAHUILA.

R. P. Olayo-Paredes., G. Gallegos-Morales¹., E. Guerrero-Rodríguez., V. M Sánchez-Valdez., F. de J. Sánchez-Pérez. y M. Cepeda-Siller.

¹Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315. E-mail: [ggalmor@narro.uaaan.mx](mailto:galmor@narro.uaaan.mx).

Palabras Clave: Bioinsecticida, Picudo de la yema del manzano, Cepas nativas.

Introducción

El manzano se cultiva de manera extensiva en la Sierra de Arteaga, región suroeste de Coahuila, ocupando el 14% del área total de manzano en México (INEGI 2001). El picudo de la yema del manzano (complejo de plagas integrado por las especies *Amphidees latifrons*, *Amphidees macer* y *Amphidees* sp. Esta plaga se distribuye ampliamente en la zona manzanera de la región, afectando de noviembre a febrero yemas vegetativas y florales hasta en un 70 % (Sánchez *et al.* 1992). Durante los últimos años los productores han recurrido al uso inmoderado de insecticidas y mezclas entre los mismos, sin lograr un control adecuado. Existe interés por emplear hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* y *Beauveria bassiana*(*Bb*), ya descritos como agentes de control biológico de este insecto (Sánchez *et al.* 2001). Se planteo evaluar en campo dos cepas nativas de *B. bassiana* formuladas en citrolina, polvo y en suspensión acuosa, para el combate de adultos de *Amphidees* spp. en dos huertas de la Sierra de Arteaga, Coahuila, México.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad, y en las huertas El Conejo y Don Jesús de San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila, México ubicadas al suroeste del macizo montañoso de la Sierra Madre Oriental, en las coordenadas 101° 50' 24" longitud oeste y 25° 25' 58" latitud norte con alturas de 1700 a 3700 msnm. Se trabajó con dos cepas nativas de *Bb*, de claves SAA-1 y HCA-2, identificadas y evaluadas por Olayo *et al.* (2002), las que se propagaron bajo el procedimiento de cultivos bifásicos de dos etapas descrito por Tafuya *et al.* (1999). Las concentraciones de conidios empleadas de cada cepa para evaluar en campo fueron de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidios/ml en los diversos acarreadores (citrolina, agua y polvo) empleados para su formulación. En todas las formulaciones se realizaron pruebas de viabilidad de conidios; además en las formulaciones con citrolina y suspensión acuosa pruebas para mantener la emulsión por más de 20 min en agua y tener una buena suspensión en las aplicaciones en campo con bombas de aspersión manual.

Evaluación en campo. Previo a los bioensayos en campo se realizaron conteos de preaplicación del complejo de *Amphidees* spp., en trampas de cartón corrugado. Para aplicar los bioinsecticidas, se consideró el número de picudos y factores ambientales como temperatura y humedad relativa, por lo que se aplicó en los meses de junio-septiembre. Se incluyó un testigo comercial de *Bb* (Beasin^{MR}) y un testigo absoluto (agua). Para cada tratamiento las formulaciones de *Bb* SAA-1 y HCA-2 con citrolina, en polvo y líquida, se usaron a concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{13} conidias/ml teniendo 5 repeticiones. Post-aplicación se realizaron muestreos a los 4, 7, 15, 22, 28 y 36 días, registrando en estos conteos el número de individuos vivos, para establecer la eficiencia de los productos. Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó la fórmula de Henderson y Tilton (CIBA-GEIBY 1981), para estimar el porcentaje de eficiencia de los datos observados en campo. Con estos porcentajes de eficiencia, se usó un arreglo factorial con dos factores como modelo estadístico, en un diseño de bloques al azar, empleando el programa e computo estadístico para procesar los datos de medias de cada tratamiento Olivares (1994).

Resultados y Discusión

Las Medias generales del porcentaje de eficiencia en las huertas de manzano, El Conejo y Don Jesús se muestran en el cuadro 1, donde se observan los mejores tratamientos con la cepa nativa SAA-1 de *Bb* con citrolina a las concentraciones de 1×10^{13} y 1×10^{12} conidias/ml encontrando 32.71 % de eficiencia en la huerta el Conejo y 58.10 y 57.92 % respectivamente para la huerta de Don Jesús, que son superiores a los reportados por García *et al.* (1998), sobre el complejo *Amphidees* spp.

Cuadro 1.- Eficiencia de *Beauveria bassiana* (Vuill.), sobre el complejo de *Amphidees* spp., en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila, México.

TRATAMIENTO	DON JESUS			
	Media	*	Media	*
Bea-Sin	16.7991	AB	-205.4010	E
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	12.2928	ABC	58.1024	A
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	32.7193	A	57.9274	A
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	18.4480	AB	5.2725	ABCD
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	22.1344	AB	-44.7961	CD
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	17.6021	AB	44.9125	AB
SAA-1 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	-18.0026	BCDE	33.9655	ABC
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Citrolina	2.8734	ABCDE	-29.8841	BCD
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Citrolina	20.9565	AB	-36.7387	BCD
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Polvo	16.1001	ABC	-71.2600	D
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Polvo	-39.8552	E	-38.3625	CD
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹² + Líquido	-28.5171	CDE	16.5754	ABC
HCA-2 de <i>Bb</i> ¹³ + Líquido	-38.7079	DE	11.5468	ABC

- Valores seguidos de la misma letra se consideran estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de medias por DMS cuando ($P \leq 0.05$).

Estos resultados son concordantes con lo reportado para formulados en aceites por Pereira y Donald (1991), Bateman *et al.* (1993), quienes citan mayor eficiencia de control de formulaciones de entomopatógenos al usar emulsiones con citrolina. Los formulados en polvo en la huerta el Conejo y líquidos en la huerta de Don Jesús, son estadísticamente iguales ($P \geq 0.05$), manteniendo una menor eficiencia pero son formulados viables de emplearse tal y como lo menciona, Hernández y Lezama (2000).

Entre cepas la que mostró mayor patogenicidad es la cepa SAA-1 en sus diferentes formulados, ya que la cepa HCA-2 muestra valores negativos en la mayoría de los tratamientos en ambas huertas. Entre concentraciones de los formulados existió una diferencia de eficiencia de control de picudos de la yema del manzano, lo que podría deberse a la concentración de conidias viables en atención a las condiciones externas del medio ambiente tal como lo señalan Burgos *et al.* (1998) y Alatorre (2000).

Literatura Citada

- Alatorre, R. R. 2000. Hongos entomopatógenos. Memorias. XI Curso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, México. Pp. 123-134.
- Bateman, M. R. P., Moore C. D. and Prior C. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviridae* in oil formulations to desert locust at low humidities. *Ann. Appl. Biol.* 122: 145-152.
- Burgos, C. W., González, I. J. S., Hernández, V. I., Jiménez, Z. J. y Mánica R. Ma. L. 1998. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Moniliales: Moniliaceae), para el control de la broca del grano del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológica. Río Bravo, Tamaulipas, México. Pp. 247-248.
- CIBA-GEIGY. 1981. Manual para ensayos de campo en protección vegetal. CIBA GEIGY S.A. Basilea, Suiza. p 33.
- García, M. M., Sánchez P. S. R., Quechulpa M. F. y Castelán I. C. 1998. Aplicación en laboratorio y campo de hongos entomopatógenos contra el picudo de la yema del manzano *Crocidema* sp. (Coleoptera: Curculionidae). Memorias. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. Río Bravo, Tamaulipas, México. Pp. 252-254.
- Hernández, V. V. M. y Lezama G. R. 2000. Formulación y aplicación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* párale control de *Schistocerca piceifrons* en México. Memorias. XXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, México. Pp. 194-196.
- INEGI, 2001. Anuario estadístico: Coahuila de Zaragoza. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Pp. 331-349.
- Olayo, P. R. P., Gallegos M. G., Guerrero R. E. y Sánchez V. V. M. 2002. Evaluación de cepas nativas de *Beauveria bassiana* (Vuill.) SOBRE *Amphidees* spp. (Coleoptera: Curculionidae) de Arteaga, Coahuila. Memorias. XXV Congreso Nacional de Control Biológico. Hermosillo, Sonora, México. pp 193-195.

- Olivares, S. E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N. L.
- Pereira, R. M. and Donald W. R. 1991. Alginate and cornstarch mycelial formulations of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. J. Econ. Entomol. 84(6): 1657-1661.
- Sánchez, P. S. R., Quechulpa M. F. y García M. M. 2001. Natural enemies of the apple bud weevil (Coleoptera: Curculionidae), an apple pest in Coahuila, Mexico. J. Entomol. Sci. 36(2):211-213.
- Sánchez, V. V. M., Martínez V. R. A. y Sánchez P. F. de J. 1992. Ecuaciones predictivas de daño en base a la densidad y tiempo de exposición de *Anametis* sp. (Coleoptera: Curculionidae) en manzano. XXVII Congreso Nacional de Entomología. San Luis Potosí, México. Pp. 266-267.
- Sawicka, E. M. and Couch T. L. 1983. Formulations of Entomopathogens. Pesticide Formulations and Application Systems: Third Symposium, ASTM STP 828, T. M. Kaneko and N. B. Akesson, Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia. Pp. 5-11.
- Tafoya, R. G., Gallegos M. G., Olayo P. R. P. y Cepeda S. M. 1999. Efecto de dos cofactores de crecimiento sobre el contenido de conidias producidas por *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., en un sistema tradicional sólido de producción bifásica. In: Memorias. XXII Congreso Nacional de Control Biológico. Colegio de Postgraduados Montecillos, Edo. de México. Pp. 208 – 210.

Agradecimientos

A los Ing's. Edgar Quintero Cadena, Francisco Bautista Cristóbal y Adrián Sánchez Rodríguez por su colaboración y apoyo para llevar a cabo este trabajo.

PARASITISMO DE *Amphidees* spp. (COLEOPTERA:CURCULIONIDAE) EN HUERTAS DE MANZANO INFLUENCIADAS POR SU MANEJO, EN ARTEAGA, COAHUILA.

Víctor M. Sánchez V¹., Nectalí López Raymundo, Eugenio Guerrero R., y Donny M. Gaytan Mota.

¹Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. C.P. 25315, Buenavista Saltillo, Coah. eugenio9@hotmail.com

Palabras Clave: picudo de la yema del manzano, *Oestrophasia* spp., Pteromalidae

Introducción

El estado de Coahuila ocupa el tercer lugar a nivel nacional en superficie sembrada de huertos de manzano. En la región de la Sierra de Arteaga, actualmente esta producción está siendo afectada por un complejo de picudos plaga de las especies *Amphidees latrifrons* (Sharp), *A. macer* y *A. sp.*, comúnmente conocidos como picudos de la yema del manzano. Debido a su gran voracidad y a su alta población de adultos por árbol, se ha convertido gradualmente en una plaga clave en huertos en los cuales se efectúa un uso intensivo de plaguicidas para el control de la palomilla del manzano. Sin embargo, en huertos donde no se utiliza plaguicidas el picudo se presenta como un fitófago sin importancia económica. Este uso inadecuado de plaguicidas ha provocado un rompimiento en la estabilidad de los enemigos naturales lo que genera que plagas secundarias se conviertan en un grave problema (Perales, 1992). Lazcano (2000) señala la presencia de un tachinido importante como parásito del picudo. Por lo anterior, se requieren trabajos de investigación que evalúen el daño ocasionado por los pesticidas sobre las poblaciones de parasitoides y su actividad parasítica sobre *Amphidees* spp., tal es el caso del tachinido *Oestrophasia* sp.

Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó en tres huertos de manzano con diferentes edades y tipos de manejo, ubicadas en San Antonio de las Alazanas. A partir del 24 de febrero hasta el día 24 de noviembre del 2001. Se procedió a medir el efecto y la población de parasitoides que actúan sobre el género *Amphidees*. Para este fin se colocaron 30 bandas de cartón corrugado en troncos de 30 árboles de manzano distribuidos en 6 hileras de manzano. Cada semana se colectaron los picudos de 5 bandas los que se colocaron en vasos de plástico transparente, añadiendo secciones de varetas de manzano con yemas vegetativas con el fin de alimentar a los adultos, se estuvieron observando diariamente hasta ver la emergencia de parasitoides, por un período de 55 días por muestra. Los picudos colectados de la quinta banda fueron disectados para observar larvas del parasitoide *Oestrophasia* sp. y larvas de la avispa de la familia Pteromalidae. Las variables evaluadas fueron número de picudos por muestra, porcentaje de picudos parasitados por *Oestrophasia* sp. y Pteromalidae. Para este fin se contabilizó la emergencia de larvas, cambio a pupa y emergencia de adulto de

Oestrophasia spp., mientras que para la familia Pteromalidae se cuantificó el número de picudos parasitados al detectar un orificio de salida en el dorso del abdomen y en los élitros. Con los datos obtenidos se construyeron dinámicas poblacionales de los hospederos *Amphidees* spp. y sus parasitoides. En las cuatro últimas muestras del estudio se disectaron 30 larvas de *Oestrophasia* sp. para descartar antagonismo en los dos parasitoides evaluados. Para la discusión de los datos obtenidos se hace referencia a las dinámicas poblacionales obtenidas en los ciclos 1998, 1999, y 2000 con el fin de comparar el efecto del uso de pesticidas sobre los niveles de parasitismo en *Amphidees* spp. (Sánchez *et. al.*, 2000)

Resultados y Discusión

De acuerdo a los datos obtenidos de la presente investigación se observa para la huerta uno una alta población de picudos, aunado a un alto porcentaje de parasitismo, en los meses de marzo y abril estableciéndose una relación denso-dependencia entre ambas poblaciones; sin embargo, se observó tres meses en los cuales la incidencia del picudo es muy alta contrastando con la densidad del parasitoide que es prácticamente nula, dichos meses son mayo, junio y septiembre que es cuando se recurre al uso de pesticidas dirigidos al control de la palomilla del manzano. Con respecto a la avispa de la familia Pteromalidae se encontró presente casi todo el año, en muy baja población.

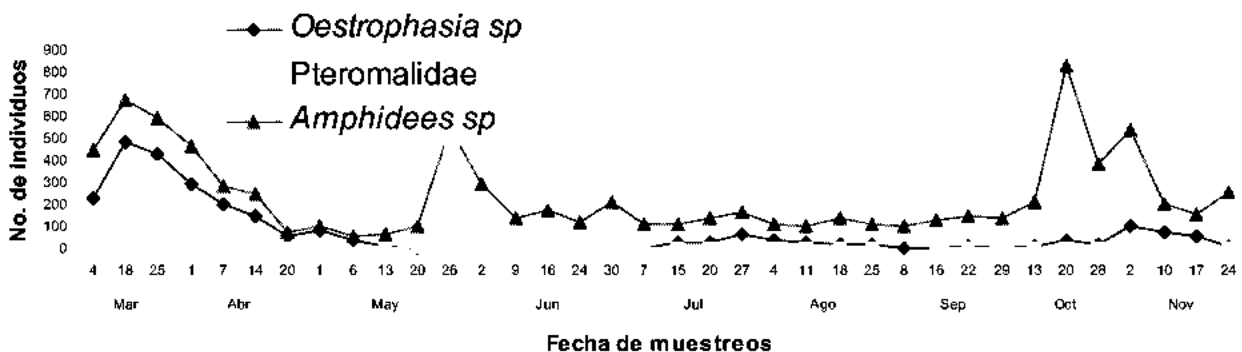


Figura 1.- Fluctuación poblacional de parasitoides sobre *Amphidees* spp. en la huerta 1.

En la figura 2, correspondiente al segundo huerto monitoreado se aprecia claramente la denso dependencia que existe entre *Oestrophasia* sp y *Amphidees* spp. durante los meses de abril y mayo debido a que en estas fechas no se realizó ninguna aplicación de insecticidas. Posteriormente la población de picudos se dispara drásticamente, a partir de junio y se mantiene alta hasta octubre, la población del parasitoide bajo debido a la aplicación de insecticidas dirigidos a la segunda generación de *C. pomonella*. Con respecto a la avispa se mantiene igual que en la huerta uno.

En la huerta 3 donde el control de plagas se ha realizado mediante plaguicidas en los últimos tres años; por lo que solo en el mes de marzo se observó una denso dependencia, entre el hospedero y el parasitoide, debido a que al inicio del ciclo y en la etapa de reposo invernal no se utilizan plaguicidas. No obstante, a finales del mes de

mayo se observó la caída drástica de la población del parasitoide *Oestrophasia* spp. debido a las primeras aplicaciones de insecticidas dirigidas al control de la palomilla de la manzana. También se observa una reducción en la población del picudo dado que en esta huerta se realizan aplicación de pesticidas específicamente para su control, lo cual logró mantener poblaciones de picudo muy por debajo de las observadas en los dos anteriores huertos.

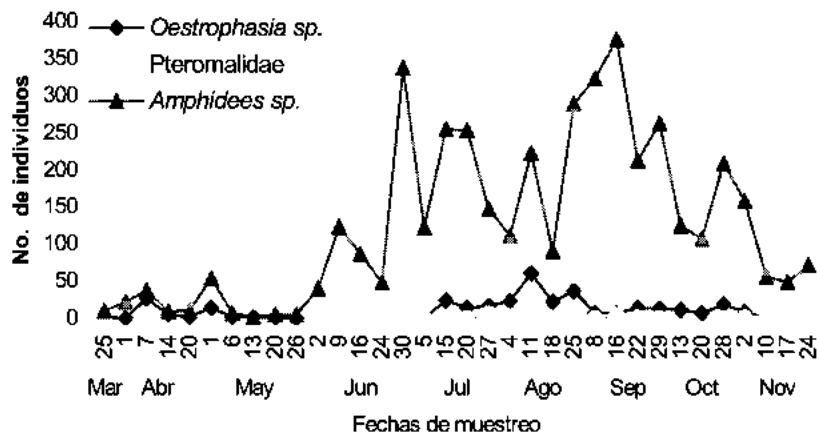


Figura 2.- Fluctuación poblacional de parasitoides sobre *Amphidees* spp. en el huerto 2.

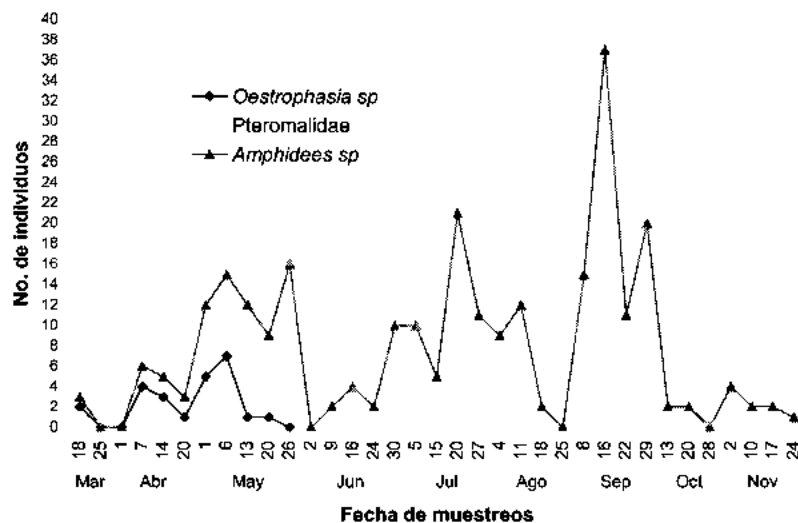


Figura 3.- Fluctuación poblacional de parasitoides sobre *Amphidees* spp. en la huerta 3.

Con estos resultados se confirma claramente que el uso de insecticidas dirigidos a la palomilla de la manzana abaten los enemigos naturales de otras plagas; convirtiéndolas en plagas de importancia económica causando serios problemas para el agricultor.

Literatura Citada

- Lezcano, B.J.A. 2000. Biología de *Amphidees latrifons* (Sharp). (Coleoptera: Curculionidae) y susceptibilidad de sus larvas a insecticidas de la Sierra de Arteaga, Coah. Tesis de Maestría. UAAAN. 52p.
- Perales, G.M.A. 1992. Parasitismo de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera:Tortricidae) y el picudo de la yema del manzano *Anametis* spp.Horn (Coleoptera:Curculionidae) en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de Maestría. UAAAN. 49 pp.
- Sánchez, V.V.M; Cerda,G.P.A y Landeros, F.J. 2000b. Manejo integrado de la palomilla de la manzana. *Cydia pomonella* L. Manual para productores 1ra. Edición. Buenavista, Saltillo, Coah. 30 pp.

AGENTES DE CONTROL NATURAL DE NEMATODOS NODULADORES ASOCIADOS A GUAYABA EN CALVILLO, AGUASCALIENTES.

G. Gallegos, M.¹, Cepeda, S. M.¹, E. González, G.², A.M. Acosta, Z.¹ y R. Velásquez V.²

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. de Parasitología, Buenavista Saltillo, Coahuila, Mex. Cp 25315. *Email: ggalmor@narro.uaaan.mx. ² Campo Experimental Pabellón, INIFAP – CEPAB. Km. 32.5 Carr. Ags. – Zac. AP. 20 Cp 20660. Pabellón de Arteaga, Ags.

Palabras clave: *Psidium guajava*, *Meloidogyne*, Control natural.

Introducción

Los principales factores que disminuyen la productividad de las huertas de guayabo son: escasez y uso ineficiente del agua de riego, poco uso de fertilizantes químicos, podas inadecuadas, presencia de plagas (“picudo de la guayaba” *Conotrachelus* spp, “mosca de la fruta” *Anastrepha striata* y “temolillo” (*Cyclocephala lulinata*) y la incidencia de enfermedades como *Pestalotia* spp (“clavo”) y “peca” (deficiencia de Zn y Cu), así como la presencia del nematodo agallador *Meloidogyne* spp; este último se encuentra presente en el 90% de la superficie cultivada (González, 2002). Este problema constituye uno de los factores limitantes de este cultivo debido a las grandes pérdidas en la producción que fluctúan entre el 48 y 57% en la reducción del rendimiento.

Para el control biológico de esta plaga el agente bacterial más conocido es *Pasteuria penetrans*, aunque este tiene el inconveniente de que es un parásito obligado, lo cual reduce su aplicabilidad; existen reportes de otros microorganismos que afectan las poblaciones de nematodos noduladores (Zavaleta y Van Gundi, 1985; Abbot, 1997 y Jatala y col. 1979, entre otros); el objetivo del presente estudio fue explorar el sistema nematodos noduladores – guayabo presente en la zona de Calvillo, Ags., y determinar los agentes de control natural que están incidiendo sobre la población de nematodos.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en cuatro huertas ubicadas en Cerro Blanco, Mesa Grande, La Labor y Malpaso, del municipio de Calvillo, Ags, en cada huerta se seleccionaron 20 árboles que presentaban síntomas externos de daño por nematodos (corteza gris, hojas pequeñas y cloróticas y poca o nula producción y agallas en la raíz). De cada árbol se obtuvo una submuestra de 2.0 kg de suelo y 200 g de raíz a una profundidad de 0 – 30 cm, las submuestras se mezclaron, y se obtuvo una muestra de 10.0 kg de suelo y 1.0 kg de raíz. Para determinar la especie de nemátodo agallador de *Meloidogyne*, se seleccionaron al azar hembras de las cuales se obtuvo el patrón perineal, que se compararon con los presentados por Eisenback *et al.*, (1983). Para la identificación de los nemátodos depredadores se procedió a extraerlos del suelo mediante la técnica del

embudo de Baermann; se realizaron montajes y se identificaron mediante claves pictóricas (Mai & Lyon, 1975).

Se realizaron aislamientos de bacterias del género *Bacillus* del suelo de huertas de guayabo mediante la técnica de solución salina al 0.85 %, en diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-5} ; posteriormente se sembró 0.1 ml en caja petri con agar nutritivo solidificado, después de 48 horas a una temperatura de 28 °C se seleccionaron colonias bacterianas que presentaron las características de forma y borde irregular, color blanco cremoso y seco, que corresponden al género *Bacillus*. En forma alterna hembras de *Meloidogyne* que presentaron una coloración amarilla a café oscura, presumiblemente por el ataque de una enfermedad, éstas se extrajeron de la agalla y se colocaron en cajas petri con agar nutritivo y se siguió el procedimiento descrito para las bacterias obtenidas del suelo.

Para la identificación de las cepas obtenidas se realizaron las siguientes pruebas: tinción de Gram y de esporas, prueba de oxidación fermentación (crecimiento anaeróbico en medio Hugh y Leifson), crecimiento a 50°C (turbidez en caseína + glucosa); crecimiento en NaCl al 7%, producción de ácido y gas de glucosa (titulación en medio Hugh y Leifson y gas en tubo de Durban invertido), crecimiento en pH 5.7; utilización de citrato (titulación en agar Citrato de Simmons), hidrólisis de almidón (halo transparente alrededor del crecimiento bacteriano cuando se aplica lugol al medio agar almidón) y producción de acetoina (anillo rojo en la superficie del medio YS + glucosa al aplicar KOH y Naftol). Para identificar las subespecies de *B. cereus* se utilizó el sistema de pruebas Biolog.

Para el aislamiento de hongos de las raíces noduladas se extrajeron 60 hembras aparentemente parasitadas, a las cuales se les proporcionó un proceso de desinfección superficial con una solución al 0.2 % de NaCl durante tres minutos. Se colocaron en medio de cultivo con (PDA) y se incubaron a 24° C durante tres semanas y se reaislaron en PDA.

Resultados y Discusión

La especie que esta ocasionando las agallas en guayabo es *M. incognita*, se detectó también en una baja proporción a *M. javanica*. Solo se detectaron dos géneros de nematodos depredadores *Rhabditis* spp y *Mononchus* spp cuya presencia no se había reportado en el cultivo del guayabo en Aguascalientes.

Se aislaron 18 colonias bacterianas del suelo y de hembras parasitadas, las colonias numeradas 1, 2, 5, 8, 13, 14, 15, 16, 17, 17a y 17b fueron positivas al género *Bacillus*. La identificación por medio de las pruebas bioquímicas ubicó a la cepa 8 como *B. subtilis* y a las cepas 1,2, 5, 14, 15 y 16 como *B. megaterum* estas cepas se aislaron del suelo de cajetes de guayabo. Mientras que las cepas 13, 17, 17a y 17b obtenidas de hembras de *Meloidogyne* se identificaron como *B. cereus*; las pruebas del Biolog y bioquímicas indicaron que la subespecie que parasita las hembras de *Meloidogyne* es

B. cereus/thuringiensis, bacteria ya reportada por Zavaleta y Van Gundy (1985) como la más activa para el control de *M. incognita*.

El hongo que se encontró parasitando a hembras de *M. incognita* en el cultivo del guayabo en Aguascalientes se identificó como *Paecilomyces farinosus*. Este hongo no se ha reportado previamente como parásito de hembras de *Meloidogyne*, ya que es más común que se reporte como parásito de insectos.

De las bacterias aisladas, *B. subtilis* y *B. cereus* se ha reportado que producen sustancias volátiles involucradas en la activación y muerte de larvas J2 de *Meloidogyne incognita* (Zavaleta y Van Gundy, 1985), por lo cual es necesario realizar pruebas de campo para determinar la factibilidad de su empleo como agentes de control biológico regionales.

En forma comercial la especie de hongo que se comercializa para el control de nematodos es *P. lilacinus*; sin embargo, en el presente estudio se aisló de hembras de *M. incognita* parasitadas a *P. farinosus*, por lo cual es necesario realizar pruebas de patogenicidad y confirmar la identificación antes de su producción masiva.

Es necesario determinar la dinámica poblacional de *Rhabditis* spp y *Mononchus* spp para determinar sus picos poblacionales y con base en ello realizar actividades que incrementen sus poblaciones.

Literatura Citada

- Abbot laboratories. 1997. Ditera, Biological Nematicide. Technical bulletin. Abbot Laboratories. Agricultural Products. Chicago, USA. 16p.
- Eisenback ,J.D., H. Hirschmann, J.N. Sasser, and A.C. Triantaphyllou. 1983. Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nematodo agallador (*Meloidogyne* especies), con una clave pictórica. Departamento de Fitopatología, Universidad del Estado de Carolina. Raleigh, N.C.p. 48
- Jatala, P., R. K. Altenbach y M. Bocangel. 1979. Biological control of *Meloidogyne incognita* acrita and *Globodera pallida* en potatos. J. Nematol. 11: 303
- Gonzalez, G. E. 2002. Enfermedades y nematodos. In Libro Técnico No1 "Guayaba su Cultivo en México". González,G. E., J. S. Padilla, R., L. Reyes, M., M.A. Perales de la C. y F. Esquivel V. INIFAP CIRNOC CEPAB. México. pp 112 – 127.
- Mai, N. F. y Lyon, H. H.1975. Pictorical key to genera of plant – parasitic. 4ta. Ed. Edit. Coinstock Publising, Cornell University press. Ithaca USA. 220p.
- Zavaleta, M.E. and D. Van Gundy S. 1985. Antagonist effect of bacteria on second stage larvas of *Meloidogyne incognita* in "in vitro" conditions. XXV Annual Meting. American Phytopatological society Caribbean Divition . Guanajuato, méxcio.p 198

EN GUAYABO CON DITERA (*Myrothecium verrucaria*) EN CALVILLO, AGS.

Cepeda, Siller Melchor,¹ E. González, G.², G. Gallegos M.¹, J. S. Padilla, R.², L. Reyes, M.² y J López**³.¹

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. de Parasitología, Buenavista Saltillo, Coahuila, Mex. Cp 25315. *Email: mcepsil@uaaan.mx ²Campo Experimental Pabellón, AP. 20 Cp 20660. Pabellón de Arteaga, Ags. ³ Valent de México, S.A. Zapopan, Jalisco Cp 45010. ** valentmx@prodigy.net.mx

Palabras Clave: *Psidium guajava*, *Meloidogyne*, *Myrothecium verrucaria*.

Introducción

Los guayabos afectados por nematodos tienen una apariencia raquítica, con la corteza del tronco y ramas color grisáceo y no desprendible (un árbol sano se descascara constantemente al ir creciendo), con escasos crecimientos vegetativos y poca ó nula producción. Este problema reduce la vida productiva del árbol y ocasiona una muerte prematura del mismo (Ruiz, 1980. En la región guayabera Calvillo – Cañones, se ha evaluado una tecnología de manejo integrado de los nematodos (Padilla *et al.*, 1999); sin embargo, depende en gran medida de la reducción de la población del nematodo mediante productos químicos. Con la finalidad de tener una alternativa de manejo que cumpla con la misma función que los nematicidas pero no tenga los efectos colaterales, se estableció la presente evaluación del nematicida de origen biológico Ditera^R. Este producto es producido por la fermentación del hongo *Myrothecium verrucaria* aislado de *Heterodera glycine* seleccionado por su actividad contra *Meloidogyne incognita*, el producto es una composición microbial muerta; actúa por contacto sobre la quitina por lo que tiene acción ovicida y sobre los músculos del estilete de los J2, impidiendo la penetración del nematodo a la raíz (Abbot, 1997).

Materiales y Métodos

El trabajo se estableció en una huerta de guayaba de 28 años, ubicada en Mesa Grande, Calvillo, Ags. En julio del 2001, se seleccionaron árboles muy cenizos, indicativo de la presencia de nematodos. Las prácticas agronómicas las realizó el productor cooperante, la programación de la cosecha se consideró como normal – tardía (en 2001, de nov. – ene. y en 2002, de oct. – dic.). El experimento se estableció como un bloques al azar con 4 repeticiones los tratamientos que se evaluaron fueron: 1) Ditera DF 1.5 kg/ha, 2) Furadan^R 5G, 40 kg /ha, 3) Ditera DF 0.75 kg/ha y 4) Testigo manejo del productor.

Antes de aplicar los tratamientos se realizó un muestreo preliminar para determinar la población de nematodos filiformes y el grado de daño a las raíces; se consideraron los cuatro puntos cardinales, se quitaron los 10 cm superficiales y se extrajo una submuestra a una profundidad de 10 a 30 cm, se mezcló y se obtuvo una muestra de un 1.0 kg por cada repetición. En forma posterior y antes de cada aplicación de Ditera

se realizó otro muestreo de suelo. Respecto a la muestra de raíces, se obtuvo una muestra de 100 gramos de raíces alimentadoras por repetición. El muestreo de raíces solo se realizó al inicio del ciclo y se volvió a repetir cuando se finalizó la cosecha. Las muestras se procesaron en el laboratorio de Nematología de la UAAAN. Para determinar el daño a las raíces se utilizó la siguiente escala de agallamiento 1 = 1 a 3, 2 = 4 a 10, 3 = 11 a 30, 4 = 31 a 100, 5 = mas de 100 nodulos y/o masas de huevecillos. Mientras que para la determinación de los juveniles se utilizó el método del embudo de Baerman y se identificaron los especimenes con base al procedimiento descrito por Cepeda (1996).

Los tratamientos se aplicaron de la siguiente manera en el ciclo 2001 se aplicó el Ditera en cuatro ocasiones con una periodicidad mensual a partir del julio, para el ciclo 2002 se realizaron seis aplicaciones a partir de marzo. El Furadan se aplicó a dosis de 200 gr/árbol aplicados en un anillo en una sola ocasión (24 de julio en 2001 y 26 de marzo en 2002) y un testigo en blanco sin aplicación de ningún correctivo. Para la aplicación de los tratamientos de Ditera, se utilizó una aspersora manual con boquilla de cono hueco, la cual se calibro para tirar tres litros de la suspensión por árbol, el producto se aplicó al piso del cajete y en forma posterior se aplicó el riego mediante microaspersores.

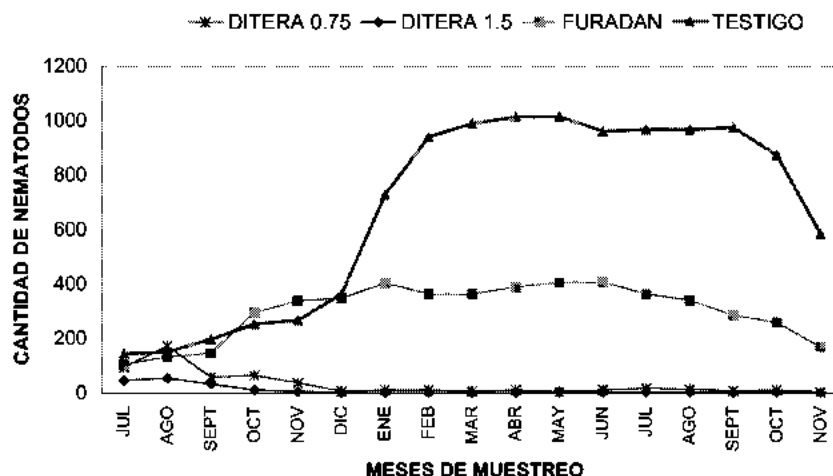
Las variables de productividad evaluadas fueron: número total de frutos, longitud de 20 brotes y cosecha, en donde se consignó el peso y número de frutos producidos por árbol y su calidad (extra >100 gr, primera >50 < 100 gr y segunda < 50 gr). En forma adicional, se realizó una evaluación del grado de descascaramiento de las ramas; se contabilizó el número de ramas con descascaramiento y número de ramas grises para en forma posterior convertir los datos a porcentaje. La evaluación se realizó en forma separada para el tronco, ramas gruesas (> 5.0 cm de diámetro) y ramas delgadas (< 2.0 cm de diámetro). Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico de la UANL (Olivares, 1989), los datos se transformaron a raíz cuadrada de $x + 0.5$, para sensibilizar el ANVA y las pruebas de diferencia entre medias de tratamientos se manejan con la prueba de Tukey con alfa 0.05%

Resultados y Discusión

La mayor producción de frutos se observó en el testigo que fue superior al tratamiento con Furadán, pero no difirió estadísticamente de los tratamientos con Ditera. La longitud promedio de los brotes, se incrementó a 14 y 15 cm en promedio en todos los tratamientos siendo superior a la registrada en la primera evaluación. La calidad de la fruta cosechada, fue baja en todos los tratamientos en 2001 y muy buena en el 2002 en los tratamientos, en donde se aplicó Ditera fue del 40%, mientras que en el testigo y Furadán se ubicó del 24 al 30%. El descascaramiento de ramas pequeñas fue el parámetro que mostró la mayor diferencia entre tratamientos; el testigo y el Furadán presentaron el 70% de sus ramas descascarando, mientras que en Ditera, se observó un mayor porcentaje (alrededor del 86%). Los mayores porcentajes de reducción de las raíces agalladas se presentaron en los tratamientos con Ditera con 62 y 73% para Ditera .75 y Ditera 1.5 respectivamente, mientras que el Furadán solo mostró una

reducción del 27% y en el Testigo se incremento el daño en un 7%. Los nematodos asociados al suelo encontrados fueron: Dorylaimus, Rhabditis, Aphelenchus, Aphelenchoides, Meloidogyne, Helycotylenchus, Tylenchus y Pratylenchus.

Figura 1.- Comportamiento general de las Poblaciones de Nematodos en los árboles bajo tratamiento de control con DITERA DF, durante el ciclo 2001 – 2002.



Las poblaciones de nematodos en los tratamientos con Ditera, durante julio y agosto (primeros meses de aplicaciones) fueron iguales o más altas que las que se presentaron en el Testigo y/o el Furadán; sin embargo, las poblaciones se fueron reduciendo paulatinamente y después de cinco meses las poblaciones fueron muy bajas en comparación las que se presentaron en el Testigo y/o el Furadán (Figura 1.)

El mejor tratamiento fue el Ditera a dosis de 1.5 kg/ha, seguido por el Ditera a dosis de 0.75 kg/ha, mientras que el Furadán no mostró efecto en la recuperación de los árboles y en algunos parámetros fue inferior al del testigo sin correctivo, por lo cual se considera el plaguicida puede ser substituido.

Literatura Citada

- Abbot laboratories. 1997. Ditera, Biological Nematicide. Technical bulletin. Abbot Laboratories. Agricultural Products. Chicago, USA. 16p.
- Cepeda, 1996 Cepeda, S. M. 1996. Prácticas de nematología agrícola. 1ª edición. Editorial Trillas, México. UAAAN. 105 p.
- Olivares, S. E. 1989. Paquete de diseños experimentales FAUANL versión 1.4. Facultad de agronomía UANL, Marín N.L. México
- Padilla, R. J. S., E. González, G., C. S. Valadez, M., F. Esquivel, V. y L. Reyes, M. 1999. Manejo de problemas radicales en guayabo en la zona de Calvillo, Aguascalientes. Hort. Mex. 7: 403 – 409.
- Ruiz, O. J. R. 1980. Fitonematodos observados en el cultivo del guayabo y su control. Universidad Autonoma de Aguascalientes, Inedito. 41 p.

COLONIZACIÓN, ESTABLECIMIENTO Y MIGRACIÓN DE COCCINELLIDAE EN EL CULTIVO DE SORGO, EN EL NORTE DE TAMAULIPAS

Marco Antonio Reyes Rosas y Jesús Loera Gallardo.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Río Bravo (CERIB). Carretera Matamoros-Reynosa km. 61, Río Bravo, Tam., México. E-mail: cgrandis@cirne.inifap.conacyt.mx

Palabras Clave: *Hippodamia convergens*, *Rhopalosiphum maidis*, sorgo.

Introducción

La familia Coccinellidae incluye a los insectos denominados comúnmente como "caterinas", "vaquitas" o "mariquitas" que constituyen el grupo de depredadores más ampliamente conocido en el medio agrícola y más importante en el control biológico de plagas, con aproximadamente 5,200 especies descritas a nivel mundial (Bravo *et al.*, 2000). El uso de coccinélidos ha tenido éxito en la protección de plantas contra insectos no nativos y aún no se han registrado resultados que indiquen algún impacto negativo sobre otros organismos diferentes a la plaga (Dixon, 2000). Con excepción de algunas especies, casi todas son carnívoras, tanto en su fase larvaria como adulta, incluyendo en su dieta: ácaros, escamas, mosquitas blancas, áfidos, larvas y otros organismos de cuerpo blando (Jaques, 1951; Bravo *et al.*, 2000; Marín, 2003).

En el norte de Tamaulipas, el cultivo del sorgo es la actividad agrícola más importante y representa el 80% del total de la superficie sembrada. Durante los meses de marzo y abril es común la incidencia del pulgón del cogollo *Rhopalosiphum maidis* (Reyes 2002). Grandes poblaciones de este insecto durante la etapa de plántula (1-30 días) suelen causar grandes daños, mostrando bajos rendimientos en lotes donde la plaga ocasiona pérdidas de plantas (Loera y Vargas 1982). Como consecuencia de la infestación de pulgones, es frecuente observar en el sorgo la presencia de la catarina anaranjada de 12 puntos *Hippodamia convergens*, uno de los depredadores más voraces de pulgones y ampliamente adaptado a las condiciones de la región. Observaciones de campo han permitido detectar su ocurrencia en altas poblaciones y su gran capacidad depredadora (Anónimo 1981). Dada la importancia de los coccinélidos en la regulación natural de las poblaciones de pulgón, el presente estudio se realizó con el propósito de determinar su proceso de colonización, establecimiento y migración en el cultivo del sorgo, información básica indispensable para futuros manejos de este recurso natural en la región.

Materiales y Métodos

El estudio fue realizado en el Campo Experimental Río Bravo del INIFAP, en Río Bravo, Tam., en el ciclo agrícola otoño-invierno 2001-2002, durante los meses de marzo y abril del 2002, utilizando el híbrido de sorgo "Vamos 2001", con una densidad de 180,000 plantas/ha, en una superficie de 0.5 ha.

El procedimiento para conducir este ensayo se basó en el registro de las poblaciones de Coccinellidae y *R. maidis* encontradas, mediante muestreos en campo, iniciándose la primer semana de marzo de 2002. Los muestreos de Coccinellidae, consistieron en ocho inspecciones visuales en campo, de 24 m², contabilizando y anotando el total de larvas, pupas y adultos observados en las plantas de sorgo. Adicionalmente se determinaron las especies de los adultos de coccinélidos presentes, así como su abundancia, dividiendo el total de individuos de la misma especie, entre el total de individuos registrados y multiplicado por 100. Para determinar la población de *R. maidis*, en cada muestreo se colectaron cinco plantas seleccionadas al azar en los ocho sitios distribuidos uniformemente en la superficie sembrada. Las plantas se llevaron al laboratorio, para su disección y revisión. Se registraron los datos de la cantidad total de pulgones encontrados, en sus cuatro instars ninfales y adultos.

Resultados y Discusión

La detección de los primeros pulgones alados ocurrió el día cuatro de marzo (primer muestreo) y un día después se observaron las primeras catarinitas adultos "colonizadores", aunque el número de ellas fue registrado el ocho de marzo (Cuadro 1). La población de pulgones por planta aumentó gradualmente hasta alcanzar su máxima población el 28 de marzo (quinto muestreo) y conjuntamente se observó también el aumento gradual de la población de las catarinitas. Desde el dos de abril (sexto muestreo) en adelante, la población de pulgón es reducida drásticamente a causa de la depredación.

Las catarinitas adultos iniciaron su actividad de oviposición durante la misma semana de su arribo, registrándose las primeras larvas el 14 de marzo (tercer muestreo). La máxima población de larvas se observó el 28 de marzo (quinto muestreo) y posteriormente decreció gradualmente. La máxima población de pupas se registró el 2 de abril (sexto muestreo) y posteriormente decreció gradualmente. Después del 8 de marzo continuó la llegada de catarinitas adultos hasta el 21 de marzo y después de esta fecha inicia su migración como se puede observar por las cantidades registradas el 28 de marzo y el dos de abril, ocasionada por la competencia intraespecífica y a la falta de alimento. Las larvas del 28 de marzo son las causantes del incremento en el número de adultos que se observa el nueve de abril, los cuales inician su migración inmediata debido a la escasez de presas en esa época.

La fase de "colonización" de las catarinas (arribo de adultos) se inició inmediatamente con la presencia de los primeros pulgones el 8 de marzo y continuó hasta el 21 del mismo mes (13 días). La fase de "establecimiento" (aumento en el número de larvas) se observó desde el 14 de marzo, con la presencia de las primeras larvas de catarinas, hasta el 28 del mismo mes (14 días); cuando alcanza su máxima población. Durante esta época existe la infestación más alta de pulgones en el cultivo. La fase de "migración" (abandono del cultivo) se observa desde el 28 de marzo con las catarinitas adultos colonizadores y posteriormente el 16 de abril con la generación producida en el cultivo, que lo abandonan a causa de la reducción en el número de presas. En términos

generales existe una diferencia máxima de 32 días entre la fase de colonización (8 de marzo) y la fase de migración (2 y 9 de abril).

Cuadro 1. Presencia de *Hippodamia convergens* en sus diferentes etapas de desarrollo y pulgón *Rhopalosiphum maidis* en sorgo, en el ciclo O-I 2001-2002 en Río Bravo, Tam.

Fecha de muestreo	<i>Hippodamia convergens</i> /ha				<i>*R. maidis</i> por ha	Relación C: P
	Larvas	Pupas	Adultos	Total		
4 marzo 03	0	0	0	0	<0.18	-----
8 marzo 03	0	0	295	295	0.18	1: 610
14 marzo 03	521	0	729	1,250	4.68	1: 3,744
21 marzo 03	729	520	23,229	24,479	28.44	1: 1,161
28 marzo 03	26,667	3,333	11,250	41,250	36.54	1:885
2 abril 03	3,021	12,812	5,625	21,458	3.96	1:184
9 abril 03	1,771	2,604	30,937	35,312	3.78	1:107
16 abril 03	104	312	3,020	3,437	1.62	1: 471

* Millones, **C=Coccinélidos, P=*R.maidis*

Durante las etapas de mayor incidencia de coccinélidos, comprendida del 21 de marzo al 9 de abril del 2002, el 80% correspondió a *H. convergens*, el restante porcentaje estuvo distribuido entre la catarina roja, *Cycloneda sanguinea* (L), la catarina rosa *Coleomegilla maculata* (Degeer), la catarina japonesa *Harmonia axyridis* (Pallas) y la catarinita *Scymnus* Kugelann.

Conclusiones

El proceso de colonización, establecimiento y migración de los coccinélidos en sorgo cultivado durante el ciclo O-I 2001-2002 en el norte de Tamaulipas se realizó en período máximo de 32 días. Durante la etapa de mayor incidencia de la plaga, las poblaciones de Coccinellidae superaron los 40,000 individuos por hectárea, siendo la catarina *H. convergens* la que represento el 80% del total de individuos.

Literatura Citada.

- Anónimo. 1981. Insectos benéficos en la agricultura norte de Tamaulipas. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Subprograma de Sanidad Vegetal. Centro de Reproducción de Organismos Benéficos. Matamoros, Tam. pp. 3-4
- Bravo, H.; Badii, M.H. y Flores A.E. 2000. Artrópodos, depredadores y control biológico. In: Badii, M.H.; Flores A. E. y Galán, L.J. W. Fundamentos y perspectivas del control biológico. Monterrey, N.L. Méx. Universidad Autónoma de Nuevo León. p. 83.
- Dillon, E. and Dillon, L. 1972. A manual off common beetles of eastern North America. Dover Publications Inc. New York. 2: 435-455.

- Dixon, A. F. G. 2000. Insect predator-prey dynamics. Lady bird beetles and biological control. Cambridge University Press, Cambridge. England. 257 pp.
- Jaques, H.E. 1951. How to know of the beetles. Veinteava impresión. Pictured key nature service. USA. p. 197.
- Loera, G.J. y Vargas, C.J. 1982. Principales plagas del sorgo en la región noreste de México. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Centro de Investigaciones Agrícolas del Golfo Norte, Campo Experimental Río Bravo. Folleto Técnico. 17 p.
- Marín, J. A. 2003. Biología de Coccinellidae. *In*: López, A. J.I. y Rocha, P.A. (eds.). Identificación y Aprovechamiento de Depredadores en Control Biológico: Chrysopidae y Coccinellidae. Memorias. Monterrey, Méx. p. 52.
- Reyes, R.M. 2002. Uso de *Chrysoperla* para el control de pulgones en sorgo. Día del agricultor 2002. Publicación Especial N° 25. INIFAP-CIRNE-CERIB, Río Bravo Tam., p. 15-16

SIMPOSIO

“ANÁLISIS Y PERSPECTIVAS DEL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS DE RAÍZ “

HONGOS PATÓGENOS DE "GALLINA CIEGA" *Phyllophaga* spp (COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE) DE JALISCO Y NAYARIT

Víctor M. Hernandez-Velázquez¹, Angélica M. Berlanga-Padilla¹
y Juan F. Pérez-Domínguez²

¹ Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, DGSV-SAGAR, Apartado Postal 133, 18130 Tecomán, Colima MEXICO. ²Campo Experimental Centro de Jalisco, INIFAP-SAGAR, Apartado Postal 79, 47 800 Ocotlán, Jalisco, México.

Introducción

En México las plagas de suelo *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Melolonthidae) y *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) representan un serio problema en varias regiones del país, ya que atacan diversos cultivos, reportándose los daños más importantes en maíz (Ríos y Romero 1982 y Rodríguez del Bosque 1988). Debido al hábitat subterráneo durante su desarrollo larval las plagas de suelo son susceptibles a la infección de microorganismos como virus (Glare, 1992), bacterias (Milner, 1981), protozoarios (Brooks, 1988), hongos (Ferron, 1978) y nemátodos (Klein, 1990); teniendo éstos un alto potencial para ser utilizados en el control microbiano por incremento.

Una estrategia, ecológicamente segura aunque lenta para utilizar entomopatógenos en el combate de plagas de suelo, es basándose en la identificación del complejo de especies plaga y sus patógenos nativos para posteriormente seleccionar el microorganismo con mayor potencialidad tomando como criterios de referencia: virulencia, movilidad, persistencia, especificidad y los costos de producción del patógeno (Villalobos, 1992). Con el objetivo de tener una colección de referencia de hongos patógenos de plagas de suelo para su posterior evaluación, a partir de 1994 se han realizado exploraciones en localidades de los Estados de Nayarit y Jalisco y se han realizado bioensayos sobre larvas de *Phyllophaga* spp. y *Anomala* sp.

Materiales y Métodos

En forma directa se colectaron larvas infectadas con hongos (micozadas); asimismo se colectaron larvas vivas de *Phyllophaga* spp., aparentemente sanas, las cuales fueron trasladadas al área de cuarentena del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico en Tecomán, Col., donde fueron colocadas en forma individual en recipientes de plástico de 50 ml. de capacidad con pit-most esterilizado, se revisaron cada 24 horas durante 30 días para detectar larvas micozadas, las cuales se colocaron en forma individual en cajas Petri con papel filtro humedecido, para larvas muertas con otros síntomas se realizaron observaciones de tejido en microscopio de contraste de fases para detectar la presencia de otros patógenos. Para la detección indirecta se utilizó la técnica del insecto trampa (Zimmerman, 1986) utilizando larvas del "gusano de la cera" *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) criadas en laboratorio.

El aislamiento y purificación de los hongos entomopatógenos detectados se realizó por transferencia directa de conidios y/o micelio a tubos de ensayo con medio nutritivo a base de sabouraud, agar, extracto de malta, levadura y cloranfenicol como antibiótico.

Se evaluaron en laboratorio los aislamientos purificados con excepción de los *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin detectados sobre larvas de *G. Mellonella*, en cuanto a su capacidad para matar e infectar larvas de tercer estadio de *Anomala* spp. colectadas en campo; posteriormente se evaluaron otros seis aislamientos, tres de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin y tres de *B. Bassiana*, sobre larvas de tercer estadio de *Phyllophaga vetula*. Las larvas se expusieron a dosificaciones altas no controladas de conidios de los hongos entomopatógenos, el bioensayo es conocido como "prueba máxima" (Milner 1992). Para esto, grupos de 16 larvas de "gallina ciega" se colocaron sobre el hongo en esporulación dentro de cajas Petri y se hicieron rodar sobre éste; previamente las larvas fueron desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio al 2% y lavadas 2 veces en agua estéril, se manejo un tratamiento testigo. Posteriormente las larvas fueron colocadas en forma individual en recipientes de plástico de 50 ml. de capacidad con un trozo pequeño de zanahoria como alimento y cubiertos con pit-most esterilizado. Todos los tratamientos fueron colocados a una temperatura de 27+- 1°C. Las larvas fueron evaluadas semanalmente durante 21 días; las "gallinas ciegas" muertas se colocaron en forma individual en cajas Petri con un papel filtro humedecido. Se registro el número de larvas muertas y las que presentaron síntomas externos del hongo. Los criterios de selección de aislamientos para ser evaluados en pruebas más estrictas se basan en el porcentaje de mortalidad e infección.

Resultados y Discusión

En Nayarit, de las larvas de "gallina ciega" colectadas en campo y observadas en laboratorio, únicamente se detectaron 3 infectadas por *M. anisopliae*. El resto de los aislamientos (Cuadros 1 y 2) se purificaron de larvas micozadas colectadas en campo, no se observó otro microorganismo patógeno. En lo que respecta a las 16 muestras de suelo, 14 de ellas resultaron positivas detectándose 3 larvas de *G. mellonella* infectadas por *M. anisopliae* y 11 por *B. bassiana*, de estos se purificaron 3 aislamientos de cada género. En Jalisco el total de los aislamientos, tanto de *M. anisopliae* como de *B. bassiana* (Cuadros 1 y 2), fueron realizados de larvas micozadas colectadas en campo. *Beauveria bassiana* y *M. anisopliae* son patógenos abundantes en suelo bajo diferentes circunstancias y para este caso particular fue colectado tanto en Jalisco como Nayarit, en larvas de *Phyllophaga* sp. y *G. mellonella*. Los aislamientos purificados se conservan en refrigeración a 7°C en medio nutritivo, en gel de sílice y liofilizados en la Colección de Hongos Entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico en Tecomán, Col.

Los aislamientos que presentan un mayor porcentaje de infección son: BbGC2 y MaGL2N y MaGL4N (Cuadro3), así como los MaGC7 y 9 (Cuadro 4); los aislamientos con siglas GL fueron purificados de muestras de suelo de Nayarit utilizando larvas de *G.*

mellonella como insecto trampa, generalmente los hongos así aislados muestran menos virulencia que los purificados directamente del insecto blanco (Milner, 1992). En lo que respecta al grupo de *Beauveria* (BbGC) con excepción del aislamiento BbGC2 se observa una homogeneidad en cuanto al porcentaje de insectos micozados, es decir en los cuales se manifiesta el desarrollo del hongo (18.75%) y mortalidad en cuatro de ellos. En cambio en el grupo de los *Metarhizium* (Ma) se detecta una mayor heterogeneidad con excepción de los purificados de suelo (GL) que presentan una mayor mortalidad y porcentaje de insectos micozados.

Cuadro 1. Aislamientos de *Beauveria bassiana* purificados de plagas de suelo en Jalisco y Nayarit.

No.	CLAVE CNRCB	PATÓGENO	HUÉSPED	HOSPEDER O	ORIGEN
1	BbGC1	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Colima
2	BbGC2	<i>B. bassiana</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
3	BbGC3	<i>B. bassiana</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
4	BbGC4	<i>B. bassiana</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
5	BbGC5	<i>B. bassiana</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
6	BbGC6	<i>B. bassiana</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
7	BbGC7	<i>B. bassiana</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
8	BbGC8	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
9	BbGC9	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
10	BbGC10	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Suelo	Cofradia de la luz, Jal
11	BbGC11	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Suelo	Cofradia de la luz, Jal
12	BbGC12	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
13	BbGC13	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
14	BbGC14	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Jamay, Jal.
15	BbGC15	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	La barca, Jal.
16	BbGC16	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
17	BbGC17	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
18	BbGC18	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Jalisco
19	BbGC19	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Jalisco
20	BbGC20	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Tepatitlán, Jal.
21	BbGC21	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Tepatitlán, Jal.
22	BbGC22	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Tepatitlán, Jal.
23	BbGC23	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Tepatitlán, Jal.
24	BbGC24	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Tepatitlán, Jal.
25	BbGC25	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Tepatitlán, Jal.
26	BbGC26	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Tepatitlán, Jal.
27	BbGC27	<i>Beauveria</i> sp	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Tepatitlán, Jal.
28	BbG1	<i>Beauveria</i> sp	<i>Galleria</i> sp	Suelo	Jalisco
29	BbG2	<i>Beauveria</i> sp	<i>Galleria</i> sp	Suelo	Jalisco
30	BbGN2	<i>B. bassiana</i>	<i>Galleria</i> sp	Suelo	Nayarit

31	BbGN3	<i>B. bassiana</i>	<i>Galleria</i> sp	Suelo	Nayarit
32	BbGN4	<i>B. bassiana</i>	<i>Galleria</i> sp	Suelo	Nayarit

Cuadro 2. Aislamientos de *Beauveria bassiana* purificados de plagas de suelo en Jalisco y Nayarit.

N o.	CLAVE CNRCB.	PATÓGENO	HÚESPED	HOSPEDERO	ORIGEN
1	Ma GC	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i>	Maíz	Jalisco
2	MaGC2	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i>	C. azúcar	Nayarit
3	MaGC3	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Ocotlán, Jal.
4	MaGC4	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	La Barca, Jal.
6	MaGC6	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Cofradia de la luz, Jal.
7	MaGC7	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp.	Maíz	Unión de Tula, Jalisco.
8	MaGC8	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp.	Maíz	El Grullo, Jalisco.
9	MaGC9	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp.	Maíz	Lagunillas, Jalisco.
10	MaGC10	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp.	Maíz	Autlán, Jalisco.
11	MaGC11	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp.	Maíz	Jalisco.
12	MaGC12	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp.	Maíz	Jalisco.
13	MaGL2	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Suelo	Nayarit
14	MaGL3	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Suelo	Nayarit
15	MaGL4	<i>M. anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Suelo	Nayarit

Cuadro No. 3. Larvas de tercer estadio de *Anomala* sp., muertas*, vivas** y micozadas*** por 14 aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*.

Aislamientos	% de Mortalidad											
	Semana 1			Semana 2			Semana 3			Total		
BbGC1	7*	3**	9***	1*	-**	8**	2*	-**	6***	62.50	18.75***	
						*				*		

BbGC2	11	3	5	2	2	3	1	-	2	87.50	31.25
BbGC3	10	1	6	2	-	4	1	-	3	81.25	6.25
BbGC4	2	-	14	4	-	10	1	-	9	43.75	0.00
BbGC5	7	-	9	4	2	5	1	1	4	75.00	18.75
BbGC6	4	-	12	5	3	7	1	-	6	62.5	18.75
BbGC7	9	3	7	3	-	4	-	-	4	75.00	18.75
MaGL2	7	4	9	5	1	4	1	-	3	81.25	31.25
MaGL3	6	3	10	4	1	6	4	-	2	87.5	25.00
MaGL4	6	4	10	5	1	5	1	-	4	75.00	31.25
MaGC3	5	-	11	3	1	8	3	-	5	68.75	6.25
MaGC4	3	3	14	3	-	11	1	1	10	37.50	18.75
MaGC2	3	-	13	3	1	10	3	-	7	56.25	6.25
Testigo	1*	-	15	1	-	14	-	-	14	12.5	0.00

Cuadro 4. Mortalidad ocasionada por aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (Ma) y *Beauveria bassiana* (Bb) sobre de larvas de *Phyllophaga vetula*.

Clave CNRCB	Origen	% de Mortalidad	% de Esporulación*
MaGC7	Unión de Tula	80.00	53.33
MaGC8	El Grullo	53.33	26.66
MaGC9	Lagunillas	93.33	53.33
BbGC12	Ocotlán	46.66	26.66
BbGC15	La Barca	66.66	33.33
BbGC16	Ocotlán	13.33	00.00
Testigo		00.00	00.00

Literatura Citada

- Brooks, W.M. 1988. Entomogenous protozoa. In: CRC Handbook natural pesticides. Volume V Microbial insecticides. Part A Entomogenous protozoa and fungi. C.M. Ignoffo. Editor. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, USA. p 1-149.
- Ferron, P. 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Ann. Rev. Entomol. 23: 409-442.
- Glare, T. 1992. Viral diseases of scarabs. In: Use of pathogens in scarab pest management. Editors: T.A. Jackson y T.R. Glare. Intercept, England. p. 21-32.
- Keller, S. 1992. The *Beauveria-Melolontha* project: experiences with regard to locust and grasshopper control. In: Biological control of locusts and grasshoppers. Edited by C.J. Lomer and C. Prior. CAB International. p. 279-286.
- Klein, M.G. 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pests. In: Entomopathogenic nematodes in biological control. Editors: R. Gaugler and H.K. Kaya. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. p. 195-214.
- Milner, R.J. 1981. Identification of the *Bacillus popilliae* group of insect pathogens. In: Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Editor: H.D. Burges. Academic Press. England. p. 45-49.

- Milner, R.J. 1992. The selection of strains of *Metarhizium anisopliae* for control of white grub pest management. In: Use of pathogens in scarab pest management. Edited by T.A. Jackson and R. Glare. Andover, Gran Bretaña. Intercept. 298 p.
- Ríos, R.F. y Romero, S. 1982. Importancia de los daños al maíz por insectos del suelo. Folia Entomológica Mexicana. 52: 41-60.
- Rodríguez del Bosque, L.A. 1988. *Phyllophaga crinita* (Burmeister): historia de una plaga del suelo (1955-1988). III Mesa Redonda sobre plagas del suelo, México. p. 53-80.
- Villalobos, F.J. 1992. The potential of entomopathogens for the control of white grub pests of corn in Mexico. In: Use of pathogens in scarab pest management. Editors: T.A. Jackson y T.R. Glare. Intercept. England. p. 253-260.
- Woodring, J.L. and H.K. Kaya. 1988. Steinernematid and heterorhabditid nematodes: A handbook of techniques. Southern Cooperative Series Bulletin. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, Arkansas, USA. 30 pp.
- Zimmermann, G. 1986. The "*Galleria*" bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. Journal of Applied Entomology. 102: 213-215.

EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Metarhizium anisopliae* EN LA REGULACION DE LAS POBLACIONES DE MOSCA PINTA EN CAÑA DE AZUCAR

Marcelino Alvarez Cilva¹, Juan Francisco Pérez Domínguez², Víctor Manuel Hernández Velázquez³

¹ INIFAP-Campo Experimental Costa de Jalisco, km 204 Carr. Guadalajara-Barra de Navidad, Casimiro Castillo, Jalisco. ² INIFAP-Campo Experimental Altos de Jalisco, A.P. 79, C.P. 47800, Ocotlán, Jalisco. ³ Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, DGSV-SAGARPA, A.P. 133, C.P. 18130, Tecomán, Colima.

Palabras Clave: *Aeneolamia* spp., caña de azúcar, efectividad biológica.

Introducción

Mosca pinta o Salivazo es una de las principales plagas de la caña de azúcar en las zonas tropicales y subtropicales de México causa daños hasta en el 90% de la laminas foliares donde provoca necrosis y posterior reducción del crecimiento de los tallos otro daño no cuantificado es el realizado por estadio ninfal que este actúa sobre el sistema radicular superficial succionando los jugos. En cañaverales afectados por ambos estadios el rendimiento de caña se reduce entre dos y 14 ton/ha (Flores 1997, Alvarez 1999). Por tal razón el objetivo de este trabajo es el de evaluar la eficiencia de diferentes cepas de *Metarhizium* spp. en el control de la plaga.

Materiales y Métodos

los muestreo para evaluar la eficiencia se iniciaron a partir de los 13 días después de la primer aplicación del hongo y se suspendieron a los 32 días de la ultima aplicación. Se estableció un experimento en un diseño en franjas con testigo repetido donde se evaluaron cuatro cepas de hongo *Metarhizium anisopliae* siendo estas: M-362, M-361, M-364 y M-366, se realizaron tres aplicaciones 1.5×10^{12} conidias por hectárea contenidas en 100 gr de producto comercial obtenidas del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico de Sanidad Vegetal ubicado en Tecomán Colima. El experimento se ubicó en la parcela del productor, Ma. Concepción, en el campo La Zopilota del ejido Casimiro Castillo, Jal., en un suelo franco arcillo arenoso el cultivo de caña de azúcar es de ciclo resoca.

Los tratamientos se distribuyeron en franjas, realizando 3 aplicaciones de cada una de las cepas con un periodicidad de un mes, las aplicaciones se realizaron en forma manual, con bomba de mochila dirigiendo la aplicación a la base de los tallos, la dosis del material biológico fue de 1.5×10^{12} conidias por hectárea contenidas en 100 gr de producto comercial. La información se tomo de 10 cepas por franja o tratamiento por fecha de muestreo de donde se midió numero total inmaduros (ninfas) y adultos de mosca pinta tanto en el suelo como en el área foliar, numero de inmaduros y adultos muertos y aquellos con muestras superficiales de presencia de esporas del hongo

Metarhizium, calculando con estos datos el porcentaje de control (efectividad biológica) para cada fecha de muestreo, se capturo también información climática

Resultados

Los resultados muestran porcentajes de mortandad de adultos de la plaga de 5.2 a 60% para M-362, 2.1 a 60% para M-361, 1.8 a 16.6% con M-366 y cero a 25 % con M-364 los valores mas altos se encontraron cuando la población de la plaga es mas baja el periodo de muestreo fue de 7 de agosto al 31 de octubre.

Calidad del patógeno aplicado

Esta fue verificada por el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico de Tecomán Colima aplicándose una concentración de 10.5×10^{12} conidias por hectárea con mas del 90% de viabilidad. Su almacenamiento y transporte ocurrido a temperatura cercanas a los 5° C, mediante el uso de hielera y/o refrigerador y antes de realizar su aplicación se conservaron a temperatura ambiente durante 24 horas con el fin de aclimatarlas, la aplicación se realiza entre las 8 y 9 horas cuando la temperatura fue de 21 °C y 87 % de humedad ambiental. Bajo las características anteriores se puede deducir que los factores señalados se controlaron para no restar eficiencia al patógeno por estas causas.

Las aplicaciones de las cuatro cepas de hongo *Metarhizium* en evaluación, se realizaron a partir del 24 de julio, la segunda el 28 de agosto y la tercera el 28 de septiembre del 2002. Al iniciar el trabajo antes de la primer aplicación se realizo un muestreo para conocer población de la plaga la cual tenia 57.4 insectos por cepa de ellos el 38 % corresponde a inmaduros y el 62 % a adultos, estos valores representan una alta población de la plaga, ya que el umbral económico es menor a los 10 insectos/cepa, razón por la cual 8 días antes el productor había realizado una aplicación de 30 kg./ha de Paratión metílico al 3 % pero no logró reducir los niveles poblacionales de la plaga

Efectividad de las cepas

Como se puede observar en el cuadro 5 la variación en el numero de adultos micosados por *Metarhizium* es variable en cada fecha de muestreo alcanzando el mayor número la cepa M-362 con 88 insectos micosados el menor con la M-366

Como se puede observar en el cuadro número uno todas las cepas evaluadas mostraron capacidad infectiva desde la primer fecha de muestreo a los 13 días de aplicadas con excepción de la M-364 que lo hizo hasta el 11 de septiembre 17 días después

Al transformar a porcentaje de eficiencia los valores del cuadro 5 con respecto a la población total de adultos de la plaga se alcanzaron niveles hasta del 60% (tal como se observa en el cuadro número 6), sin embargo esto ocurre cuando las poblaciones de

adultos son bajas (24 por muestra en 30 cepas de caña) que equivale a 0.8 insectos por cepa y tiende a reducirse cuando se incrementa la población de adultos de la plaga. Posiblemente esto se deba a que no existe suficiente inoculo, ya que el numero de unidades infectivas presentes en el campo es un factor que de acuerdo a lo encontrado por Tonada y Kaya 1993 influyan la efectividad de control y concuerda con lo señalado por Hernández (1998) quien afirma que la densidad de población del insecto de la plaga es un factor que influye sobre la efectividad de los entomopatógenos. Los porcentajes en el promedio general para cada tratamiento es del 15.8 % para la cepa M-362, 11.8 % para M-361, 7.7 % en M-366 y 8.0 % de adultos micosados para M-364.

Cuadro 5. Comportamiento poblacional de adultos micosados por diferentes cepas de hongo *Metarhizium anisopliae*, en caña de azúcar zafra 2002/2003. INIFAP

Fecha	M-362	M-361	M-366	M-364	Testigo
07/08	31	6	2	0	0
11/09	9	3	2	1	11
19/09	25	22	14	8	10
26/09	15	13	6	7	9
07/10	1	1	1	2	2
14/10	2	2	3	7	3
23/10	3	1	4	12	4
31/10	2	6	6	12	2
Total	88	54	38	49	41
Promedio	11	6.75	4.75	6.12	5.12

Para comprobar estadísticamente la diferencia de la efectividad biológica de las cepas en evaluación realizo un análisis mediante la prueba de "T" de Student encontrándose diferencia estadística al 0.5% (con 7g de l). donde la cepa M-362 fue la más sobresaliente con un promedio de 11 adultos infestados *Metarhizium* por fecha de muestreo en 30 cepas de caña el rango fue de 1 a 31 insectos lo que equivale al 15.8% en promedio, las cepa con el menor porcentaje promedio de efectividad fue M-366 y M-364 con 7.7 y 8.0 % respectivamente.

Cuadro 6 Porcentaje de efectividad biológica de diferentes cepas de hongo *Metarhizium anisopliae*, sobre mosca pinta en caña de azúcar zafra 2002/2003. INIFAP

Fecha	M-362	M-361	M-366	M-364
07/08	41.4	20.0	18.0	0.0
11/09	22.3	20.3	9.0	7.0
19/09	28.3	21.66	16.2	16.3
26/09	60.0	60.0	16.6	25.0
07/10	5.5	3.7	1.8	3.6
14/10	6.4	9.0	6.3	9.0

23/10	5.2	2.1	6.1	13.6
31/10	6.1	14.6	13.3	24.5
X	21.9	18.9	10.9	12.4

Población del Insecto Plaga

La densidad de población de Mosca pinta se formó por inmaduros mas adultos de la plaga siendo variable para cada tratamiento o área asignada a cada cepa y fecha de muestreo del entomopatógeno y sus resultados se presentan en el cuadro número siete y como se puede observar la población promedio de la plaga durante la época en que se presento fue de 1.84 adultos y 4.6 ninfas por cepa con un total de 6.46 insectos que representa un valor por de bajo del umbral económico (que es de 10 insectos por cepa). De acuerdo con los valores señalados la cepa M-362, mostró mayor capacidad infectiva que el resto de ellas, principalmente durante el mes de septiembre y a partir de octubre se redujeron los valores el resto de los tratamientos presentando 13.3 insectos por cepa, de los cuales solo 11.6 son adultos o sea 1.6 por arriba del umbral económico lo que indica que la población de ninfas al 31 de octubre era de 0.6 por cepa, los valores mas altos por el resto de los tratamientos fue de 1.6 ninfas por cepa por los que dedujo que la plaga cerraba su ciclo presencia y daño para esta zafra 2002/2003. |

Cuadro 7 Población total de adulto de mosca pinta en 30 cepas por fecha de muestreo en caña de azúcar, zafra 2002/2003. INIFAP

Periodo	M-362	M-361	M-366	M-364
07/08	75	30	11	39
11/09	137	130	169	123
19/09	68	73	43	50
26/09	24	8	14	4
07/10	19	28	58	57
14/10	33	34	50	84
23/10	61	43	72	100
31/10	35	50	51	61
Total	452	396	468	518

En la figura 1 se presenta la población de adultos de mosca pinta en forma acumulada donde se observa a la cepa M-364 con el mayor número de insectos por muestreo.

Figura 1 Población acumulada de adultos de mosca pinta en la evaluación de cepas de hongo *Metarhizium anisopliae*, en caña de azúcar

En la figura 2 se presenta la población acumulada de adultos de mosca pinta micosados por las diferentes cepas de hongo *Metarhizium anisopliae* evaluadas en este trabajo

Finalmente es conveniente señalar que los porcentajes de eficiencia de las diferentes cepas evaluadas no redujeron las poblaciones de la plaga por debajo del umbral económico por lo que sugiero se realicen trabajos sobre dosis de producto comercial a nivel de campo en los mismos sitios donde realizó este trabajo

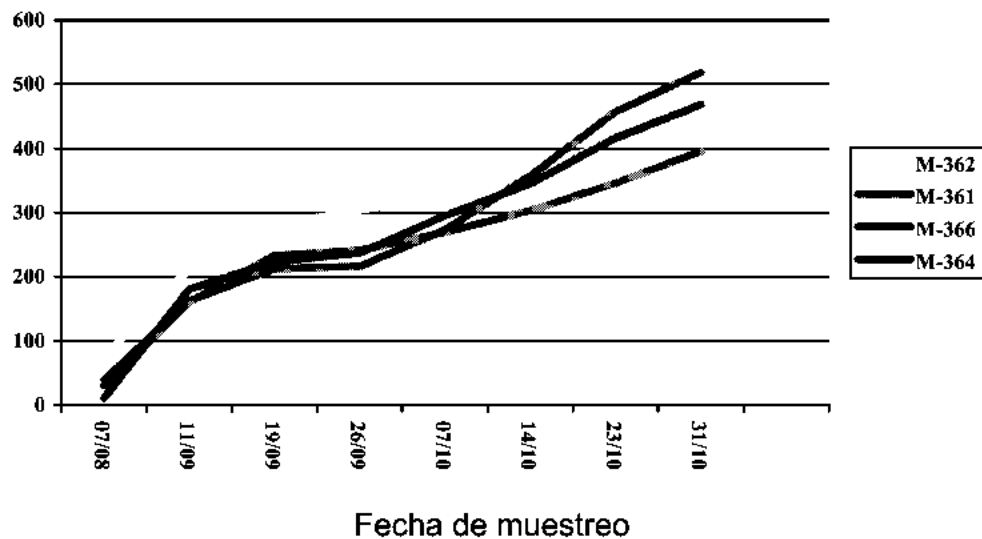
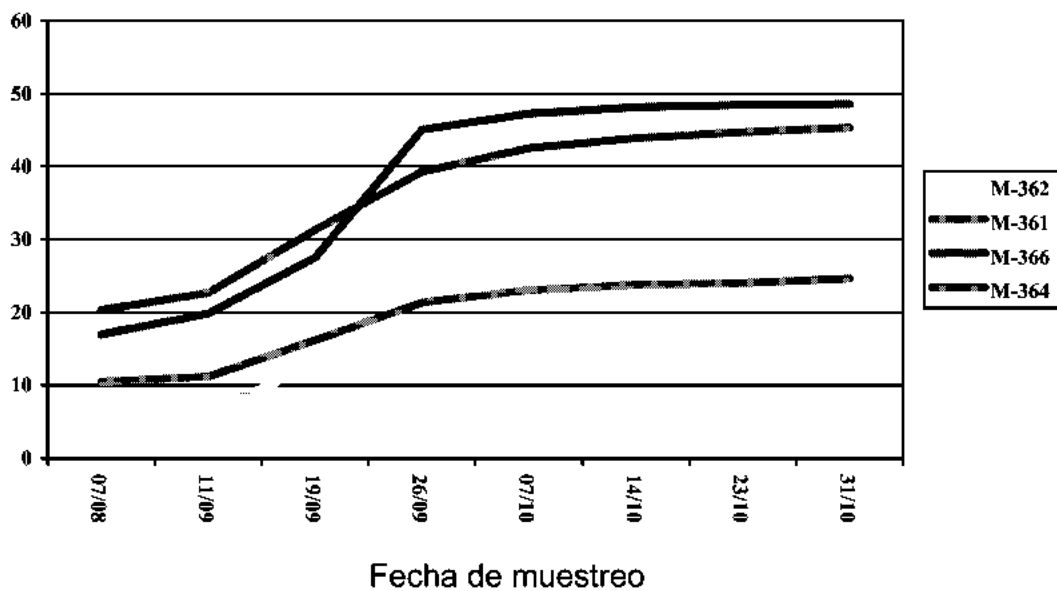


Figura 2 Población acumulada de adultos de mosca pinta micosados por hongo *Metarhizium anisopliae*



Resultados de las Parcelas Donde se Evaluaron por Separado Tres Cepas de Hongo *Metarhizium anisopliae*, en Cañas de Azúcar

La población de adultos en las cuatro parcelas fue bajo durante el periodo de evaluación de las cepas (julio-octubre), con excepción del muestro realizado el 30 de agosto del 2002 en la parcelas de Moisés Llamas e Irinea Flores quienes presentaron entre 6.86 y 27 insectos por cepa esta ultimo valor rebasa el umbral económico, por lo que en este periodo se efectuó una aplicación de insecticida utilizando el producto Zarpa Ultra (Acefate) en dosis de 500 gr./ha posteriormente se realizaron 2 aplicaciones más con Vydate (Oxamil) 1 lt/ha y debido a que las poblaciones de ninfas se incrementaron y de esta manera se mantuvo la plaga por abajo del umbral económico. En el cuadro 8 se observa la población encontrada en 30 cepas por fecha de muestreo.

Cuadro 8 Población de adultos de mosca pinta presentes en las diferentes fechas de muestreo en los cuatro sitios de estudio, zafra 2002/2003. INIFAP.

FECHA DE MUESTREO	MOISES M- 366	JOSEFINA M- 362	RADILLO M-364	IRINEA 57M-364
25/07	8	3	0	157
30/08	160	27	104	748
02/09	48	94	52	396
17/09	11	4	12	90
4/10	16	55	39	25
15/10	6	36	39	7
29/10	4	3	10	1

EVALUACIÓN DE BIOINSECTICIDAS PARA EL CONTROL DE GALLINA CIEGA EN CAMOTE MORADO EN VISTA HERMOSA, MICH.

Marcelino Vázquez García¹, Diego Gil Martínez¹, Ramón Torres Barrera¹ J. Manuel Becerra Lizardi¹ y Karla H. Ibarra Cortés.

¹ Centro Universitario de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Km 15.5 carr. Guadalajara-Nogales. Las Agujas, Zapopan, Jalisco. C.P. 45110. e-mail mvazquez@cucba.udg.mx

Palabras clave: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, bioinsecticidas, camote.

Introducción

El camote (*Convolvulus batatas*) es originario de América Tropical y deriva del vocablo "camotli" (Montaldo, 1972). Los aztecas hicieron abundante uso de la raíz en la alimentación (Fersini, 1975). En la actualidad, constituye un valioso recurso en la alimentación humana y ganadera, así como una importante materia prima en la industria. Sin embargo en el aspecto fitosanitario, el camote es muy susceptible al ataque de diversas plagas.

En el estado de Michoacán, los investigadores del INIFAP han reportado a la gallina ciega como una de las principales plagas (Najera, 1998). La diversidad y abundancia de géneros y especies está en función de la región, prácticas de cultivos y uso de agroquímicos (Nájera, 1997). Esta plaga se alimenta de la raíz así como del camote y llega a ocasionar la pérdida total del cultivo si no es controlado a tiempo y de manera eficaz. Convencionalmente, el manejo de plagas de suelo se hace con la aplicación de insecticidas químicos, lo cual, al paso del tiempo ha derivado en otros problemas tales como una degradación del terreno, así como en la creación de especies resistentes a los productos que año con año se han venido aplicando de manera irracional. Una de las opciones que en los últimos años han sido consideradas por algunos agricultores para reducir el daño al suelo y tener efectividad en el control de esta plaga son los insecticidas biológicos (*Beauveria bassiana* y *Metharizium anisopliae*).

Por lo cual en el presente estudio se pretende investigar un manejo adecuado de esta plaga en el cultivo del camote utilizando diversas dosis de estos insecticidas biológicos comparándolo con un insecticida químico (carbofuran) y estudiando el efecto de diversos factores como la época de siembra y la época de aplicación.

Materiales y Métodos

El estudio fue establecido en Vista Hermosa, Michoacán. El experimento fue establecido bajo un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones. Los tratamientos se describen en el Cuadro 1.


Cuadro 1. Tratamientos para evaluar el control de la gallina ciega en camote. Vista Hermosa, Michoacán. 2003

Trat	Nombre común	Nombre comercial	Dosis/Ha
1	1.- <i>M. anisopliae</i>	Bioprotec Ma	1.0 x 10 ¹² conidias
2	2.- <i>M. anisopliae</i>	Bioprotec Ma	2.0 x 10 ¹² conidias
3	3.- <i>B. bassiana</i>	Bioprotec Bb	1.0 x 10 ¹² conidias
4	4.- <i>B. bassiana</i>	Bioprotec Bb	2.0 x 10 ¹² conidias
5	5.- Carbofuran	Fugaz 5 G	20 Kg
6	6.- Testigo sin aplic	-----	-----

El tamaño de cada parcela fue de tres surcos separados a 1.5 metros y de 10 metros de largo, lo cual equivale a 45 metros cuadrados por parcela. La aplicación de los tratamientos se realizó con mochila manual, aplicando el insecticida en chorro. Los parámetros evaluados fueron el número de larvas vivas y evaluación visual de porcentaje daño en la superficie del camote, en un tramo de 0.5 metros por parcela. La evaluación de daño se realizó en base a una escala arbitraria, la cual se describe en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Escala utilizada para evaluar el daño en la superficie del camote

VALOR	PORCENTAJE DE SUPERFICIE DEL FRUTO DAÑADA
1	0.0
2	0.1 – 5.0
3	5.1 – 25.0
4	25.1 – 60.0
5	60.1 – 100.0



Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y la comparación de medias se realizó mediante la Prueba de Tukey al nivel de 5% de error.

Resultados

Efecto sobre gallina ciega.

Mediante los análisis de varianza se pudo observar que todos los tratamientos con insecticida fueron diferentes al testigo sin aplicación. La comparación de medias mostró que el mejor tratamiento fue *B. bassiana* 1.0x10¹² conidias/ha con 8.5 larvas. Se pudo

apreciar que la diferencia con la dosis de 2.0×10^{12} conidias/ha /ha de este mismo insecticida fue muy pequeña ya que se encontraron 8.7 larvas, sin embargo este tratamiento se ubicó en otro grupo estadístico junto con *M. anisopliae* 2.0×10^{12} conidias /ha y carbofuran 20 kg/ha los dos con 9.3 larvas.

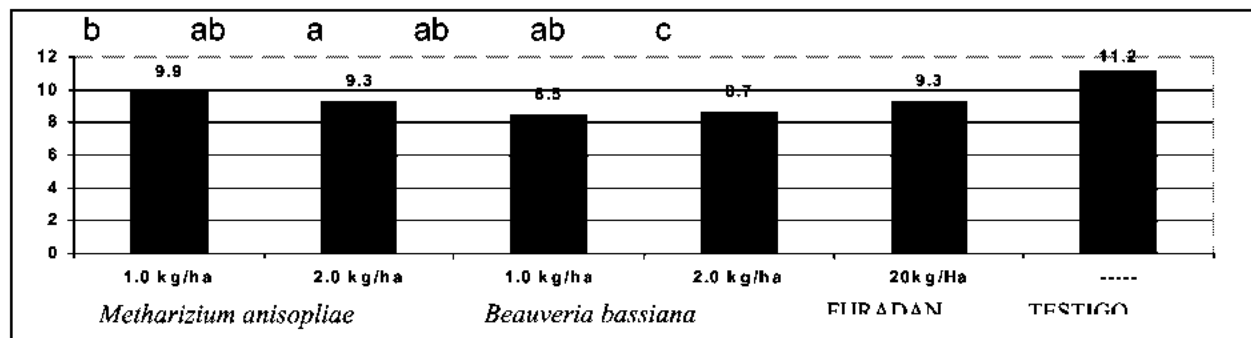


Figura 1. Promedio de larvas vivas de gallina ciega por tratamiento. Vista Hermosa, Michoacán. 2003.

Efecto sobre camote.

El daño sobre el camote, fue diferente en los diferentes tratamientos. Los tratamientos que fueron aplicados con insecticida fueron diferentes al testigo sin aplicación. El tratamiento que mejor protegió al cultivo fue carbofuran 20 kg/ha ya que el camote presentó en promedio un daño de 2.6 en la escala. En otro grupo estadístico se ubicaron los tratamientos de *M. anisopliae* 1.0×10^{12} conidias /ha y 2.0×10^{12} conidias /ha (con 2.8 en la escala de daño) y *B. bassiana* 1.0×10^{12} conidias /ha y 2.0×10^{12} conidias /ha (2.9 en la escala de daño. En el testigo el promedio de daño en el fruto se ubicó por encima del valor 3 en la escala de daño. El fruto que presenta un valor por encima del 3 en la escala ya no tiene valor en el mercado, en eso radica la importancia de mantener un daño inferior a este valor.

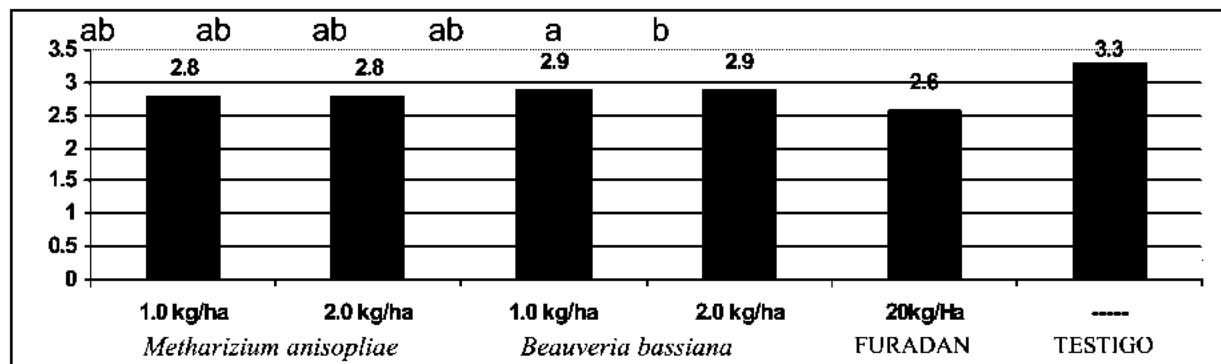


Figura 2. Media de los valores puntuales de la evaluación visual a la superficie dañada del fruto. Vista Hermosa, Michoacán. 2003.

Discusión

En general todos los tratamientos mantuvieron una población de larvas de gallina ciega más baja que el testigo sin aplicación. Cabe agregar que una de las razones de haber encontrado poblaciones altas fue el factor ambiental, que no permitió realizar las evaluaciones como estaban programadas, por lo cual la evaluación se llevo a cabo aproximadamente a los 60 días después de la aplicación.

En cuanto al porcentaje de daño en la superficie del camote, todos los tratamientos con insecticida mantuvieron un valor por debajo de 3 en la escala de daño, por lo cual la efectividad de todos los tratamientos en este aspecto fue buena, de tal manera que aunque el fruto no está completamente limpio, los niveles de afectación permiten que pueda ser comercializado,

En base a estos resultados y a los niveles tan altos de población, se recomienda realizar estudios a largo plazo que permitan observar mejor el efecto de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* sobre gallina ciega, con aplicaciones repetidas por varias temporadas.

Literatura Citada

- Montaldo, Alvaro. 1972. Cultivo de raíces y tubérculos tropicales. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Lima, Perú. 163.
- Fersini, Antonio. 1975. El cultivo de la Batata (camote).. Ed Diana. México. pp 13-17
- Nájera, M. 1997. El complejo "gallina ciega" en México. Curso taller de Plagas del Suelo. Amealco, Qro. México. p 21.

SUSCEPTIBILIDAD DE *Cyclocephala comata* Bates (Coleoptera: Scarabaeidae) A DIFERENTES AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO

¹Posos Ponce Pedro, ¹Carreón Amaya Javier, ²Guerrero Rodríguez Eugenio, ¹Serratos Arévalo Juan Carlos, ³Martínez Ramírez José Luis

¹Estudiante de Doctorado y Profesor-Investigador del ITA-CIGA. Tel. (333) 7980774, Tlajomulco de Zuñiga, Jal. ²Profesor-Investigador UAAAN Saltillo, Coahuila, ³Profesor-Investigador del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara

Palabras clave: *Cyclocephala comata*, Resistencia, bioinsecticidas

Introducción.

En el estado de Jalisco las plagas del suelo representan uno de los principales problemas de carácter fitosanitario en los diferentes cultivos que se siembran en la entidad. La superficie infestada es de aproximadamente 200,000 hectáreas en la zona centro (1). El grupo de plagas que atacan a las raíces de los cultivos son los insectos que se alimentan de la raíz, principalmente los géneros *Diabrotica*, *Phyllophaga* y *Cyclocephala* siendo las larvas de *Cyclocephala comata* Bates uno de los principales problemas de carácter fitosanitario, llegando a ocasionar pérdidas hasta de setenta por ciento de la producción normal (2). Las principales medidas de manejo que hasta la fecha se conocen son el control cultural y el control químico, y es este último el más generalizado en cuanto a su utilización se refiere. Debido a lo anterior, han entrado al mercado año con año nuevos y diversos insecticidas los que se han usado indiscriminadamente teniendo poco control de las plagas. En los últimos años se demostró que esta plaga presenta niveles de resistencia altos a los diferentes insecticidas utilizados en su control (3), por lo que el objetivo principal de esta investigación es identificar las diferentes vías de detoxificación involucradas mediante el uso de sinergistas en la resistencia de *C. comata*, y evaluar agentes de control biológico como alternativa de control. Una vez conociendo las vías de detoxificación, se podrá sugerir un manejo rotacional de insecticidas para el control de la plaga. Se plantearon las siguientes hipótesis: El uso de sinergistas permitirá conocer las diferentes vías de detoxificación de *C. comata* Bates (Coleoptera: Scarabaeidae) a los insecticidas de los diferentes grupos toxicológicos utilizados para su control.

Materiales Y Metodos.

El trabajo se realizó con población de larvas de *Cyclocephala comata* del municipio de San Martín Hidalgo, las cuales se colectaron en un medio de tierra húmeda mezclada con raíces de maíz y materia orgánica para así trasladarlas a los laboratorios del CIGA, en donde se seleccionaron por tamaño y peso, y posteriormente se procedió a correr los bioensayos. Los bioinsecticidas utilizados fueron los siguientes: Ajo, Cebolla, Nim, el hongo *Metarrhizium anisopliae* y los nemátodos *Esteirneinema* y *Heterorhabditis*.

Cada bioensayo consistió en aplicarle a 20 larvas un microlitro de la mezcla del bioinsecticida. A las 24 hrs. se midió la mortalidad. Con los datos de la mortalidad se procedió a realizar el análisis estadístico mediante el diseño de análisis Probit de Máxima Verosimilitud mediante el programa de computadora PCPROBIT (4).

Resultados y Discusión.

En todos los casos se observó que las ecuaciones de regresión mostraron una correlación alta en promedio un coeficiente de determinación de 0.80, lo que significa que la respuesta de la mortalidad está dada por la dosis aplicadas como se observa en el Cuadro No. 1, en donde el tratamiento a base del Hongo *M. Anisopliae* y los Nemátodos sí se observó una respuesta positiva e incluso estos se mostraron muy eficaces, como se observa en el Cuadro No. 1. Hay que señalar que el comportamiento de los tratamientos coincide con un trabajo realizado en Estados Unidos en donde se encontraron resultados similares (5).

Con lo que respecta a los hongos y los nemátodos estos coinciden con los resultados obtenidos por Opende (6), en donde se observa que poblaciones de plagas sometidas a control químico son muy susceptibles a agentes de control natural.

Cuadro 1. Respuesta de larvas de tercer estadio de *Cyclocephala comata* Bates a diferentes agentes de control biológico de San Martín Hidalgo, Jalisco.

Tratamiento	DL ₅₀	Límites Fiduciales Al 95%	DL ₉₅ *	Pendiente
<i>Metarhizium anisopliae</i>	41974	(28508-72147)	386577	0.0007 ± 0.0001
<i>Steinernema carpocapsae</i>	209*	(138-329)	135509	0.0311 ± 0.007
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	42	(27-57)	1519	0.0425 ± 0.014

* Dosis expresadas en ppm

**Dosis expresada en Nemátodos por larva

Cuadro 2. Estimadores estadísticos de las líneas de regresión dosis-mortalidad de los insecticidas biológicos en larvas de tercer estadio de *Cyclocephala comata* Bates en San Martín Hidalgo, Jalisco.

Tratamiento	Ecuación de regresión	r ²	X ²
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Y = 0.0008x+4.8851	0.91	0.0534
<i>Steinernema carpocapsae</i>	Y = 0.0312x+38.115	0.80	0.0048
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Y = 0.309x+66.047	0.75	0.0454

Conclusiones

En el presente trabajo se logró determinar que los productos a base de extractos de Cebolla, Ajo y Neem, ninguno mostró efecto sobre el insecto. Para el caso de *M.*

Anisopliae y los nemátodos *Steirneinema* y *Heterorabditis* las larvas de *C. comata* se mostraron muy sensibles.

Literatura Citada

- Félix, E. 1990. Plagas rizófagas de cultivos básicos de Jalisco. Dirección General de Sanidad Vegetal. SARH. Delegación Jalisco. Boletín Técnico. pp 2-3.
- Morón, M. A. 1990. Los escarabajos y las plantas cultivadas. En: Conacyt Revista de Información Científica y Tecnológica. 164 (12): 48-53 p.
- Posos, P. P. 1993. Niveles de resistencia de *Cyclocephala comata* Bates (Coleoptera: Scarabaeidae) a insecticidas de distintos grupos toxicológicos en Maíz de Arenal, Jalisco. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 99 pp.
- Camacho, C. O. 1991. PCPROBIT Versión 1.0 Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- Brogdon, W. G and Janet C. McAllister. 1998. Insecticide resistance and vector control. Center for Disease Control and Prevention. Atlanta, Georgia, USA. 4, (4): 605.
- pendler k and G.S. Dhaliwal 2001. Phytochemical Biopesticides Harwood Academic Publishers. Jalandbar, India.

CONTROL BIOLÓGICO DE GALLINA CIEGA (*Phyllophaga* sp) CON HONGOS ENTOMOPATOGENOS (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*) EN EL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*)

Leobardo Ramón Miranda, Q.A. Jesús Guerrero López².

¹Estudiante de Ing. Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana. Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n. Xalapa, Ver. leouv_79@latinmail.com. ²Responsable del Centro Regional de Estudios y Recursos Organismos Benéficos (CREROB) del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Veracruz. (CESVVER) y Académico de la Facultad de Ciencias Agrícolas. Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n de Xalapa, Veracruz, jg1372@hotmail.com

Palabras Clave: control biológico, Zea Mays, Hongos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, y *Phyllophaga* sp.

Introducción

Las gallinas ciegas (*Phyllophaga* sp), junto con otras plagas rizófagas, constituyen el problema entomológico del maíz (*Zea Mays*), uno de los cultivos más importantes del estado de Veracruz y México. (Pérez, 1991). Estas plagas son atacadas en forma natural por diversos entomopatógenos, entre los que destacan hongos (Forschler y Gardner, 1991), bacterias (Klen y Jachson, 1992) y nematodos (Poprawski y YULE, 1991), mismo que pueden ser utilizados como agentes de control biológico de este tipo de plagas. Sin embargo, se requiere de estudios de identificación, conservación y evaluación de organismos entomopatógenos de gallina ciega (*Phyllophaga* sp) nativos de cada zona, ya que éstos promueven la estabilidad en los agroecosistemas y ofrecen el mecanismo más importante de regulación poblacional de la plaga (Trujillo, 1992). Durante el ciclo primavera-verano del 2002 se llevó a cabo el presente estudio, con el objetivo de aislar e identificar los hongos entomopatógenos utilizados en este experimento como lo fueron *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, ambos asociados para el control de gallina ciega (*Phyllophaga* sp), presente en el cultivo de maíz (*Zea mays*) y su relación con características de suelo, clima y manejo del cultivo. El control biológico fue usado por primera vez por CSS. Smith (1991) para referirse al uso de enemigos naturales (introducidos o manipulados) para el control de insectos plagas. Aquí se entenderá como control biológico al uso de organismos vivos como agentes para el control de plagas (Greathhead y Waage, 1983).

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en la Comunidad de Cerro de León, ver., Mpio de Villa Aldama, la superficie en donde se llevo a cabo la aplicación de los hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*) fue de 3 ha, siendo el testigo el resto del predio de 625 metros cuadrados. El producto fue proporcionado por el Centro Regional de Estudios Reproducción de Organismos Benéficos (CREROB). Laboratorio que esta bajo la administración del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Veracruz (CESVVER).

Este bioinsecticida fue aislado de adultos de larvas de *Phyllophaga* sp en la zona de la colonia 6 de enero, Municipio de Xalapa. Su presentación es en dosis para una hectárea cumpliendo con una concentración de 1×10^{12} conidias/gramo. El producto fue aplicado de acuerdo a las recomendaciones de Sanidad Vegetal y con concentraciones que son descritas en el Diseño Experimental. (Cuadro 1).

Cuadro 1.

PRODUCTO	HOSPEDERO DE ORIGEN	CULTIVO	ORIGEN
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Cerro de León, Ver.
<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Phyllophaga</i> sp	Maíz	Cerro de León, Ver.

Se recolectaron larvas de gallina ciega (*Phyllophaga* sp) las se sustrajeron de "cepellones" de suelo de 30x30x30 cm de largo, ancho y profundidad, respectivamente; mismas que fueron colocadas en bolsas de plástico, para ser transportadas al laboratorio. Las larvas fueron llevadas al laboratorio, con el propósito de infectarlas con los hongos entomopatógenos a ensayar; Se lavaron las larvas con una solución de hipoclorito de sodio al 3% por 3 min, posteriormente se pusieron en una caja petri con esporas purificadas del hongo a tratar y dejarlas a temperatura de 26-28°C hasta el desarrollo del hongo, después, observar el crecimiento del hongo e identificar al hongo entomopatógeno desarrollado en la larva, bajo microscopio tomar una porción con el asa bacteriológica y colocarla en una caja petri, con medio de cultivo sólido y como conclusión se realizó la multiplicación masiva, para su aplicación en campo (Cesvver, 2002).

Resultados y Discusión

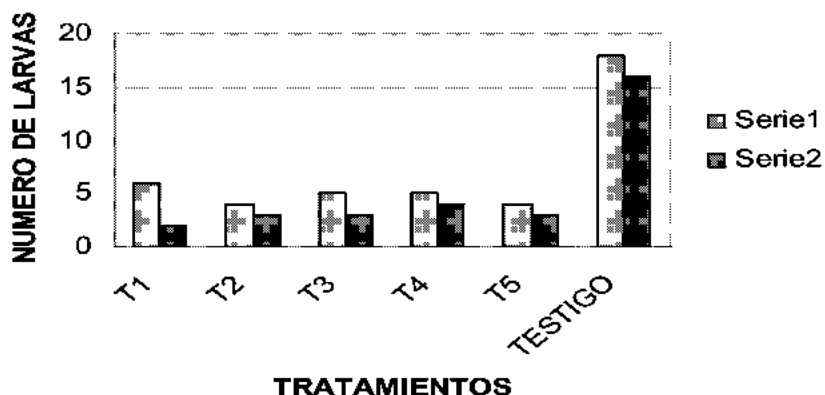
Los resultados obtenidos en el trabajo se muestran en la siguiente tabla y posteriormente en las graficas, en donde se muestra cada tratamiento con los hongos entomopatógenos.

FECHA DE APLICACIÓN Y EVALUACION	DESCRIPCION	No. LARVAS VIVAS.	No. LARVAS MICOZADAS	OBSERVACIONES
6-Abril-2002 20-Abril-2002	<i>Beauveria bassiana</i>	6 a 8	3 a 5	Que dando un promedio de 2 a 3 larvas no infectadas.
6-Abril-2002 20-Abril-2002	<i>Metarhizium anisopliae</i>	4 a 7	4 a 3	Que dando un promedio de 2 a 3 larvas no infectadas.
27-Abril-2002 11-Mayo-2002.	<i>Beauveria bassiana</i>	6 a 8	1 a 2	En esta evaluación ya no se

				encontraron larvas vivas
27-Abril-2002 11-Mayo-2002	<i>Metarhizium anisopliae</i>	4 a 7	3 a 2	En esta evaluación ya no se encontraron larvas vivas.
25-May-2002 8-Junio-2002	<i>Beauveria bsassina</i>	6 a 8		Se encontraron adultos
25-May.2002. 8-Junio-2002	<i>Metarhizium anisopliae</i>	4 a 7		Se encontraron adultos.

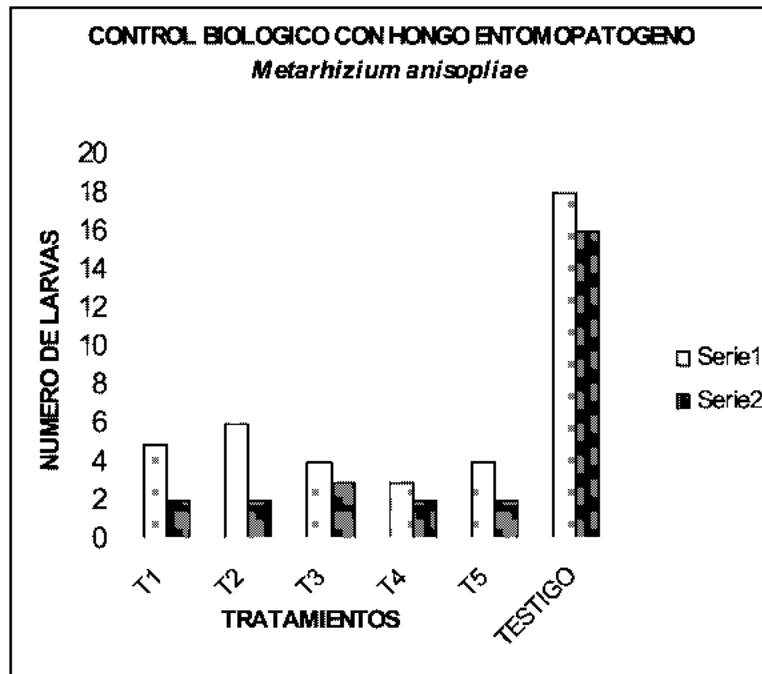
Resultados con *Beauveria bassiana*

CONTROL BIOLÓGICO CON HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana*



En esta tabla se puede observar los 5 tratamientos del hongo entomopatógeno, el número de larvas al inicio, y el tiempo que se dejó para realizar las evaluaciones según la literatura. El porcentaje de incidencia se redujo considerablemente cuando la dosis del entomopatógeno aumenta. Por lo que se pudo observar que los mejores tratamientos fueron de 100gr y 150gr, en la primera evaluación, 150gr y 200gr en la segunda aplicación.

Resultados con *Metarhizium anisopliae*



En esta tabla se puede observar los 5 tratamientos del hongo entomopatógeno, el número de larvas al inicio, y el tiempo que se dejó para realizar las evaluaciones según la literatura. El porcentaje de incidencia se redujo considerablemente cuando la dosis del entomopatógeno aumenta. Por lo que se pudo observar que los mejores tratamientos fueron 100 y 150 gr, en la primera evaluación, 150gr y 200gr en la segunda aplicación.

Literatura Citada.

- Altieri, M.A., J. Trujillo, L. Campos, C. Klein-Koch, C. S. Golod y J. R. Quezada. 1989. El control biológico clásico en América Latina en su contexto histórico. Manejo integrado de plagas. 12:82-107.
- Anónimo. 1990. Manual de capacitación en control biológico. CENICAFE/CIBC. Colombia, 174 pp.
- Barrera, J. F., Baker, A. Schwarz y J.A E Valenzuela, 1990. Introducción de dos especies de parasitoides africanos a México para el control biológico de la broca del café *Hypotrthenemus hampei* (Ferrari) (COLEOPTERA; Scolytadae). Folia Entomol. Méx., 79: 245:1324-139. Batra, S. W. T. 1982. Biological control in Agroecosistemasw. Science, 215:134-139.
- Carrillo-Sánchez, J. L. 1985. Evolución del control biológico de insectos en México. Folia Entomol, Méx., 65:139-146.
- DeBach, P. 1968. Éxitos tendencias y posibilidades futuras. Pp. 789-831. in:P. Debach, (ed)., control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. CECSA, México.

- Greathead, D. J Y J.K. Waage. 1983. Opportunities for biological control of agricultural pests in developing countries. The World Bank, Washington, D.C. World Bank Technical Paper Number 11, 44pp.
- Hokkanen, H.M.T. 1985. Success in classical biological control. *CRC Crit. Rev. Plant Sci*, 3; 35-72.
- Howart, F.G. 1983. Classical biocontrol: panacea o pandoras box. *Proc. Hawai Entomol. Soc.* 2/3:239-244.
- Rodríguez del Bosque, L. A. 1991. Teoría y bases ecológicas del control biológico.. in; L. A. Rodríguez del Bosque y R. Alatorre (eds.), *Memorias del II Curso de Control Biológico*. SMCB- UAAAN, Buena Vista, Saltillo, Coah, México. pp. 6-19
- Smith, H.D., H.L. Maltby y E.J. Jiménez. 1964. Biological control of the citrus blackfly in México. US Dept. of agriculture, Technical Bullentin 1311, 30 pp.
- Tejada, L.O. 1982. *Apuntes de Control biológico*. ITESM. (Tejada, 1982; Summy y Frech, 1988).
- Waage, J.K Y D Greathead. 1988. Biological control: Challenges and opportunities. Pp. 1-17. in R.K.S. Wood y M.J. Way (eds), *Biological control of pests, pathogens and weed: developments and prospects*. The Royal Society, London.

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE FORMULACIONES COMERCIALES DE *Metarrizium anisopliae* (VUILL) CONTRA ADULTOS DE GALLINA CIEGA EN MAÍZ DE LA CIÉNEGA DE CHAPALA, JALISCO

Juan Francisco Pérez-Domínguez¹, Víctor Hernández-Velasquez² y Antonio Arregui-Echegaray³.

INIFAP Campo Experimental Altos de Jalisco. Apdo. Postal 79 C. P. 47800 Ocotlán, Jalisco MEXICO ¹ ; DGSV-SAGARPA Centro Nacional de Referencia en Control Biológico. Apartado Postal 133, 18130 Tecomán, Colima MEXICO². INIFAP Campo Experimental Costa de Jalisco Km 204 Carr. Guadalajara-Barra de Navidad. C.P.48850 Casimiro Castillo, Jalisco, MEXICO ³

Palabras Clave: gallina ciega, maíz, *Phyllophaga ravidata*, *Cyclocephala lunulata*, efectividad biológica.

Introducción

En Jalisco, el problema de plagas de la raíz tiene mas de 40 años y durante ese tiempo la única opción de control usada por los agricultores ha sido el químico, mediante la aplicación de insecticidas líquidos, en polvo, impregnados en la semilla y granulados. Los hongos entomopatógenos, principalmente *Metarrizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* han mostrado excelentes resultados en el control de gallina ciega y diabrotica

A pesar de las ventajas de los microbiales, una de las causas por las que no se ha difundido la aplicación masiva de entomopatógenos es por falta de difusión, además de casos registrados de falta de efectividad para controlar gallina ciega. Existe la hipótesis de que la falta de efectividad registrada en los entomopatógenos aplicados contra gallina ciega en la región y en general en el centro de Jalisco, se debe a factores relacionados con el manejo agronómico o a manejo del entomopatógeno y no a factores del suelo o del clima que no son factibles de modificar. En Jalisco y otras entidades vecinas existen diversas empresas que producen y comercializan hongos entomopatógenos; pero no existe ningún estudio a nivel regional ni estatal acerca de la calidad y la efectividad biológica de éstos entomopatógenos bajo las condiciones del centro de Jalisco. El objetivo del presente estudio fue evaluar la efectividad biológica de formulaciones comerciales y cepas nativas de *M. anisopliae* aplicadas en aspersión y número de aplicaciones durante el ciclo para el control de adultos de gallina ciega en maíz.

Materiales y Métodos

Descripción del Área de estudio

La región denominada "Ciénega de Chapala" esta ubicada geográficamente al sureste del estado de Jalisco y al nor-noroeste del estado de Michoacán, entre los paralelos 20°

0' y 20° 60' de latitud norte y 102° 0' y 103°55' de longitud oeste (Pérez-Domínguez et al. 1991).

Experimento evaluación de cepas comerciales de entomopatógenos a dos dosis y cantidad de aplicaciones de *M. anisopliae* sobre adultos de gallina ciega.- Previo a la realización de estos experimentos, en mayo se realizaron pruebas de viabilidad, de pureza y de concentración de conidios en las cepas a aplicar. Se tomaron muestras de adultos para su correcta identificación. Durante mayo a Julio, se realizaron 2 tipos de experimentos, uno donde se evaluó la aplicación de cepas comerciales de entomopatógenos a dos dosis; la dosis recomendada de (1×10^{12} conidios/ mL) y la dosis (1×10^8 conidios/ mL) aplicadas en aspersión contra poblaciones de adultos de gallina ciega. En el otro tipo de experimento se evaluó el número de aplicaciones (1 o 2) necesarias en el ciclo. En ambos casos, los experimentos se realizaron bajo diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo en parcelas divididas, considerando en ambos casos como parcela grande cada una de tres cepas comerciales y una cepa que fue colectada en la región y conservadas en la micoteca del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, además de un testigo sin aplicación. La sub-parcela fue el número de aplicaciones (1 y 2) en un caso, y en el otro fueron las dosis (2). En todos los experimentos se incluyo un testigo sin aplicación de hongos y uno mas con aplicación de insecticida líquido. En el experimento de efectividad de cepas y dosis, cada unidad experimental consistió de 25 surcos de 30 m de longitud; en el de cepas y número de aplicaciones, la unidad experimental fue de 30 surcos de 20 m de longitud. En ambos casos, cada tratamiento se repitió 4 veces.

En estos experimentos se realizó muestreos de huevecillos por unidad experimental y fue cuantificado el número de adultos muertos en el centro de cada unidad experimental. Posteriormente, se continuó realizando muestreos de larvas para conocer el efecto de los hongos en las larvas que ocuparon ese espacio de suelo. A los huevecillos y adultos obtenidos en los muestreos y cuantificaciones, especialmente a las muertas, se les realizó un reconocimiento en laboratorio para observar la presencia de síntomas de infección por entomopatógenos. Además se obtuvieron muestras aleatorias de adultos o huevecillos con el mismo tamaño de muestra para cada tratamiento, para mantenerlos en condiciones donde se pueda desarrollar el hongo.

Antes de establecer el experimento fue realizado en todas las localidades, antes y durante el desarrollo del estudio, análisis de suelo para conocer condiciones de pH, textura de suelo, estructura, contenido de materia orgánica, contenido de nutrientes mayores (N P K) y de micronutrientes.

Extracción de huevecillos

En cada una de las áreas donde se hizo la aplicación de las dosis fueron realizados muestreos para extracción de huevecillos de gallina ciega. Se extrajeron 50 muestras por tratamiento quincenalmente durante cuarenta y cinco días. La extracción de huevecillos fue realizada siguiendo la metodología de Matteson (1966).

Se realizaron experimentos de campo con aplicación de *M. anisopliae* contra poblaciones de adultos. La localidad en estudio fue establecida en el predio El Corral Grande, municipio de Jamay, Jal. Esta localidad tuvo antecedentes de altas poblaciones de gallina ciega durante el ciclo agrícola anterior (poblaciones superiores a 2 larvas por planta en promedio).

Revisión de larvas

Fueron realizados muestreos de larvas en las áreas aplicadas con cada tratamiento, conservando vivos los especímenes capturados y mantenidos bajo conservación con alimento y suelo, para observar la posible incidencia de enfermedades.

En la localidad bajo estudio fueron capturados ejemplares adultos de gallina ciega, los cuales fueron revisados para identificarlos con claves taxonómicas a nivel especie y por comparación con ejemplares identificados por Miguel Angel Morón y Miguel Nájera Rincón.

Fitotoxicidad provocada por entomopatógenos

Se evaluó de acuerdo al número de plantas emergidas en toda la población de la parcela experimental al primer y séptimo día después de la emergencia del cultivo. El grado de fitotoxicidad fue evaluado mediante la escala de puntuación propuesta por la European Weed Research Society, que señala valores de uno a nueve, donde uno es sin efecto y nueve es muerte completa de plantas.

Resultados y Discusión

Debido a que en los experimentos para evaluación de efectividad biológica de *M. anisopliae* sobre larvas de gallina ciega las poblaciones de larvas plaga fueron predominantemente gallinas ciegas, los resultados de los muestreos aquí presentados fueron sobre gallina ciega.

Identificación de las poblaciones de adultos

La identificación de adultos se realizó siguiendo las claves de Morón et al. (2000) y Morón (1993) y por comparación utilizando ejemplares identificados por Miguel Angel Morón y Miguel Nájera Rincón. Los ejemplares encontrados en campo fueron: *Phyllophaga ravidata* 67% y *Cyclocephala lunulata* 33 % de la población total encontrada. Las aplicaciones, fueron realizadas sobre esas especies.

Experimentos con adultos

Las aplicaciones de los tratamientos fueron realizadas por la tarde, al inicio de la incidencia de poblaciones adultas. El cuadro 1 muestra los resultados del experimento donde fue realizada una la aplicación realizada el 12 de junio, siendo ésta la primera aplicación. Fueron aplicadas las formulaciones de *Metarhizium anisopliae* del Comité Estatal de Sanidad vegetal de Guanajuato (FITOSAN PH), de Dynamic Natural

Agriculture, una sociedad de producción rural de Tlajomulco, Jal. (Dynamic) y de Agrobiológicos del Noroeste (Metasin).

Fueron contabilizadas de 6.7 a 16.7% de adultos afectados de entre los capturados en cada tratamiento. En las revisiones fueron capturados en total 500 individuos en cada área donde fue aplicado cada tratamiento.

Cuadro 1.- Relación de adultos totales e infectados por hongos en la aplicación realizada el día 12 de junio del 2001. Experimento aplicación de hongos entomopatógenos en adultos de gallina ciega. El Corral Grande, Jamay, Jalisco.

TRATAMIENTO	PROMEDIO ADULTOS/MUESTRA	% DE DAÑO (O ENFERMEDAD)
<i>M. anisopliae</i> Dynamic	24	16.7 C
FITOSAN PH CESAVEG	30	6.7 B
<i>M. anisopliae</i> Cepa Local	44	16.5 C
Metasin – pH	60	15.0 C
Testigo sin aplicación	49	0.1 A

Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a Duncan al 0.05 % de Probabilidad.

Estos datos no reflejan que un tratamiento sea mas efectivo que otro, de acuerdo a sus porcentajes alcanzados. Lo que indican es que los tres tratamientos evaluados mostraron virulencia en forma casi inmediata, unos en mayor intensidad que otros, ya que las capturas de individuos fueron realizadas cada día durante los primeros días después de la aplicación, capturando 50 individuos en cada tratamiento por cada día.

En otra parcela realizada en la misma localidad pero en parcela vecina fue realizado el experimento aplicando dos veces.

El cuadro 2 muestra los resultados del experimento con dos aplicaciones de entomopatógenos. Ahí fueron aplicadas las formulaciones de *Metarhizium anisopliae* del Comité Estatal de Sanidad vegetal de Guanajuato CESAVEG (FITOSAN PH), de Dynamic Natural Agriculture, una sociedad de producción rural de Tlajomulco, Jal., de Agrobiológicos del Noroeste AGROBIONSA (Metasin) y una cepa nativa, obtenida en La Barca, Jal. y conservada y formulada por el Laboratorio Nacional de Referencia en Control Biológico, dependiente de la Dirección General de Sanidad vegetal.

El porcentaje de daño mencionado en la figura 2 se refiere a insectos adultos enfermos por *M. anisopliae*, al igual que con la figura 1 estos resultados indican también la

virulencia mostrada en los primeros veinte días. La cepa nativa conservada y formulada en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, mostró muy aceptable nivel de virulencia con los adultos de gallina ciega (estando al mismo nivel que Metasin PH), al ser comparada contra las formulaciones comerciales en polvo humectable del CESAPEG. Esto demuestra lo mencionado por diversos investigadores entre ellos Caudwell y Gatehouse (1996) en el sentido de que una cepa local tiene mas probabilidad de eficacia con respecto a cepas exóticas.

Cuadro 2.- Relación de adultos infectados y porcentaje de infectados en la aplicación de hongos realizada el día 14 de junio del 2001. Experimento aplicación de hongos entomopatógenos en adultos de gallina ciega (Experimento con dos aplicaciones). El Corral Grande, Jamay, Jalisco.

TRATAMIENTO	TOTAL DE ADULTOS	ADULTOS INFECTADOS	% DE INDIVIDUOS INFECTADOS
<i>M. anisopliae</i> Dynamic	119	5	4.2 A
<i>M. anisopliae</i> cepa local	83	19	22.8 B
FITOSAN PH pH CESAPEG	283	18	6.4 A
Metasin – pH	149	18	12.1 B
TESTIGO SIN APLICACIÓN	167	0	0 A
TRAMPA DE LUZ NEGRA	222	0	0 A

Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a Duncan al 0.05 % de Probabilidad.

Las larvas registradas en el testigo sin aplicación, desde los 40 días después de la aplicación mostraron un aumento en su patrón de fluctuación. Al ser realizados muestreos de extracción de huevecillos en cada una de las áreas de los tratamientos, en ningún caso se encontró huevecillos enfermos por *M. anisopliae*. Desde el inicio de la incidencia de poblaciones larvales, fueron realizados muestreos en los que las larvas fueron conservadas vivas, con plantas de maíz y en porción de suelo. Esto para detectar síntomas de infección por *M. anisopliae* en larvas. En la totalidad de las larvas de primer y segundo ínstar revisadas, no se encontró síntomas de infección por *M. anisopliae*. Las plantas de maíz de las áreas donde fueron aplicados los tratamientos evaluados, no mostraron síntomas de fitotoxicidad

Conclusiones

Las especies de gallina ciega predominantes en las localidades bajo estudio tanto para larvas como para adultos fueron: *Phyllophaga ravidata* y *Cyclocephala lunulata*.

En adultos, en las evaluaciones de eficacia de entomopatógenos si hubo respuesta al realizar una aplicación de entomopatógenos sobre poblaciones de adultos de gallina ciega. En esta evaluación, tanto *M. anisopliae* de Agricultural Dynamic, el FITOSAN PH de CESAVEG y el METASIN PH mostraron ser efectivos, pero *M. anisopliae* de Agricultural Dynamic y el METASIN PH mostraron tener la mayor efectividad.

Al realizar las aplicaciones de entomopatógenos sobre adultos no se pudo demostrar que el entomopatógeno aplicado en aspersión al suelo contra los adultos de gallina ciega, pueda infectar al huevecillo o larva. Aunque si fue demostrada la infección de las formulaciones de entomopatógenos sobre las poblaciones de adultos de gallina ciega, al ser aplicados directamente.

Los resultados entre realizar una y dos aplicaciones sobre los adultos, mostraron diferencias significativas estadísticamente entre las formulaciones comerciales, en la infección de las poblaciones de adultos, pero no hay diferencias en la mortalidad entre una o dos aplicaciones en cada tratamiento, por lo que se concluye que con una ocasión que un adulto esté expuesto a los entomopatógenos, será suficiente para consumir la infección.

Al ser realizada una segunda aplicación sobre poblaciones de adultos, el único tratamiento que mostró un incremento en el porcentaje de infección por entomopatógenos al ser aplicada una segunda ocasión fue la cepa local de *M. anisopliae*.

Literatura Citada

- Caudwell, R.W. and A.G. Gatehouse. 1996. Laboratory and field trials of bait formulations of the fungal pathogen *Metarhizium flavoviridae* against a tropical grasshopper and locust. *Biocontrol, Science and Technology* 6: 561-567.
- Matteson J. W. 1966. Flotation technique for extracting eggs of *Diabrotica* spp. and other organisms from soil. *J. Econ. Entomol.* 59: 223-224.
- Pérez Domínguez J.F. , Ochoa A, M., Mora N, R., Medina. O, S., Rivas, A., O y Soltero D, L. 1991. Marco de referencia para la planeación y evaluación de la investigación forestal y Agropecuaria en la Ciénega de Chapala. INIFAP Campo Experimental Auxiliar "Ocotlán". Documento de trabajo. INIFAP-CIRPAC. Ocotlán, Jal. 59 p.

CONTROL INTEGRADO DE INSECTOS EN EL CULTIVO DE MAÍZ , EN CLIMAS DEL VALLE DE APATZINGÁN, MICH.

Filiberto Caballero Hernández¹

¹Campo Experimental Valle de Apatzingán CIRPAC-INIFAP, Km 17 carretera Apatzingán-Cuatro Caminos, Antúnez, Mich. E-mail: apatzin@cirpac.inifap.conacyt.mx

Introducción

El uso de agroquímicos en México se ha incrementado considerablemente, sin que los daños causados por las plagas se hayan reducido, por lo contrario se han aumentado al pasar el tiempo, y la resistencia esta avanzando muy rápidamente, por lo que es necesario desarrollar mejores y mayores estrategias de control integrado para detectar este problema.

En el trópico de Michoacán, y específicamente en el Valle de Apatzingán, las principales plagas que atacan al cultivo de maíz son: “gallina ciega” ó “yupo” (*Phyllophaga spp.*), el “gusano de alambre” (*Pyrophorus mexicanus*), y “gusano cogollero” (*Spodoptera frugiperda*). El objetivo del presente trabajo fue observar el comportamiento de tipos de fertilizantes, y tipos de control de plagas, principalmente para: “gallina ciega”, “gusano de alambre” y “gusano cogollero”; al aplicarse en el trópico de Michoacán.

Materiales y Métodos

Se realizó un ensayo en el Campo Experimental Valle de Apatzingán (INIFAP), durante el ciclo agrícola de Primavera-Verano de 1997. La fecha de siembra fue el día 16 de julio.

El diseño experimental fue el de Bloques al Azar con arreglo de Parcelas Divididas, con cinco repeticiones; donde las parcelas grandes fueron tres tratamientos de tipos de fertilizantes: 1. Química (dosis INIFAP: 150 – 40 – 00). 2). Química-Orgánica (50 % c/u), y 3). Orgánico (composta orgánica: 2 ton/ha). Las parcelas chicas fueron para el control de insectos, y fueron cuatro tratamientos: 1). Biológico (Dipel: *Bacillus thuringiensis*, 500 gr/ha), 2). Alternativo: extracto vegetal de ajo (Bio Crack, 2 lt/ha), 3). Químico (Furadan 5 % G, 12 kg/ha), y 4). Testigo (sin control).

La variedad de maíz que se sembró fue: H-358. La aplicación de los fertilizantes fueron: el químico, 50 % en la siembra y el otro 50 % a los 40 días; el químico-orgánico y el orgánico en la siembra.

El tipo de control se aplicó, al momento de la siembra, a los 15 y a los 30 días posteriores a la siembra. Cada 20 días se realizaron muestreos de plagas tanto en la raíz, como en el follaje. Se realizó la determinación de rendimiento de kilogramos de grano por hectárea al 12 % de humedad, y de algunas características vegetativas de

plantas, como: días a floración, altura de planta y mazorca, así como la calificación del aspecto de planta y mazorca.

Resultados y Discusión

Al realizar un análisis estadístico del carácter rendimiento en kilogramos de grano/ha, en el factor de tipos de fertilizantes, se encontró que no existieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, pero numéricamente se aprecia que el de mayor rendimiento fue el fertilizante de origen químico-orgánico (50 % c/u), con 3202 kg de grano/ha; el fertilizante químico (150-40-00) obtuvo 3132 kg de grano/ha; y el fertilizante con origen orgánico rindió 2843 kg de grano/ha.

En el análisis estadístico del factor de tipos de control de insectos, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, pero numéricamente el mayor rendimiento lo presentó el control de origen biológico (Dipel: *Basillus thuringiensis* 500 gr/ha), con 3178 kg de grano/ha; el tratamiento alternativo (extracto vegetal de ajo, Bio Crak, 2 lt/ha), obtuvo un rendimiento de 3125 kg de grano/ha; el tratamiento químico (furadán 5 % G, 12 kg/ha), presentó 2973 kg de grano/ha; y el tratamiento testigo (sin control), fue el de menor rendimiento con 2963 kg de grano/ha.

Al observar la interacción tipo de fertilizante-tipo de control de insectos, se aprecia que el mayor rendimiento se presentó al interaccionar el fertilizante químico-orgánico (50% c/u), y el control de insectos biológico (Dipel, 500 gr/ha), con 3478 kg de grano/ha.

En general se observó que el 3° y 4° muestreo, del 8 y 29 de septiembre, fueron donde se registró la mayor presencia de plagas, principalmente la que atacan a las raíces. Al controlar la plaga "gusano de alambre", se observó que su incidencia fue menor cuando el control se realizó con el producto alternativo (ajo), y que fue igual que cuando se utilizó el producto químico (furadán 5 % G).

El número de "gallinas ciegas" fue menor para el tratamiento testigo, cuando las plantas no se controlaron. Para el "gusano cogollero", la menor presencia se presentó con el producto alternativo (ajo).

En el comportamiento de algunas características vegetativas de las plantas observadas en el tipo de control de insectos, el número de días a floración fue de 58 a 59 días, que son los días de floración de la variedad bajo las condiciones climáticas en Antúnez, Mich.; la menor altura de planta fue para el control químico, con 164 cm; y la mayor fue para el control testigo (sin control) con 171 cm; las mejores calificaciones de planta fueron cuando se usó control biológico (Dipel), y el alternativo (ajo), que fue ocho de calificación; en el aspecto de mazorca, la mayor calificación fue cuando se controló con el producto biológico (Dipel), que fue un 7.9 de calificación.

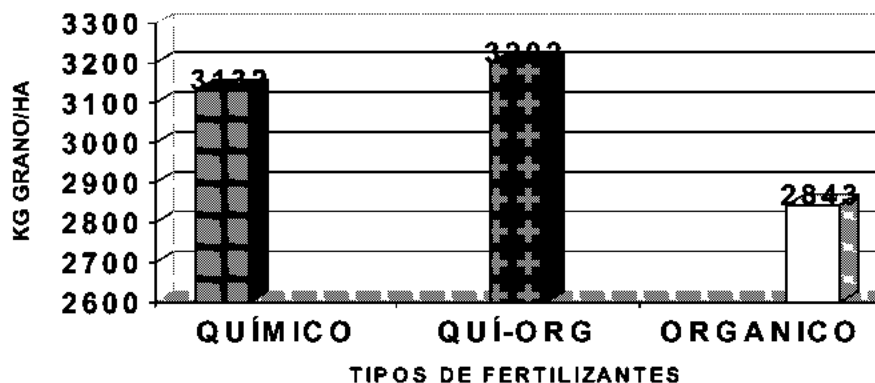


Figura 1. Rendimiento en Kg de grano/ha en los tipos de FERTILIZANTES. CEVA-INIFAO. (P-V) 1997



Figura 2. Rendimiento kg de grano/ha en tipos de CONTROL. CEVA-INIFAP. (P-V) 1997.

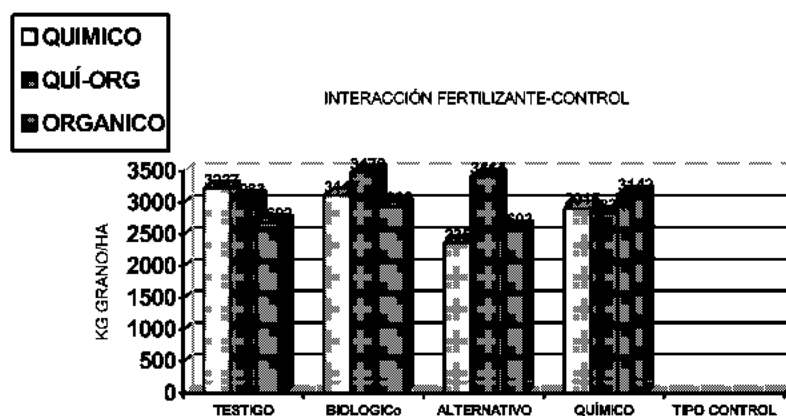


Figura 3. Rendimiento en la interacción tipos de FERTILIZANTES-CONTROL. CEVA-INIFAP. (P-V) 1997.

Literatura Citada

- Alvarez R., A. 1989. Pruebas de extractos vegetales para el control del gusano cogollero "*Spodoptera frugiperda*" J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en el noroeste de Michoacán, México. Tesis profesional Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agrobiología Pte. Juárez. UMSNH, Uruapan, Mich. México. 64 p.
- Dirección General de Sanidad Vegetal. 1980. Principales plagas del maíz. Folleto de divulgación. DGSV-SARH. México. 84 p.
- Elbadry, E., R. R. Abdeghar y H. S. Radwan. 1971. Laboratory cage studies on the effects of the antifeeding compound Du-Ter on the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* Soil (Lep. Noctuidae). Entomology Abstract (1972).3 (7) Ref. 3E-5042.
- García C., J. C. 1984. Estudios de gusano cogollero. Bases biológicas para un manejo de plagas. Cuadernos de investigación tecnológicas. Vol.1 No. 3 CIIDIR-IPN-U. DURANGO. Vicente Guerrero, Dgo. México. 58 p.
- Nájera R., M. B. Velásquez G., J. De J., Gallardo V., M., Caballero H., F. y Tello S., M. J. 1999. Contribución al manejo sostenible del complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en el estado de Michoacán, México. Resumen IV Simposio Internacional y V Reunión sobre agricultura sostenible. SOMA-UMSNH-FUNDACIÓN PRODUCE MICH. A,C, Morelia Mich. México.

SIMPOSIO VIRUS ENTOMOPATÓGENOS

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE NUCLEOPOLIEDROVIRUS PATÓGENAS A *Trichoplusia ni* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN MÉXICO, Y SU POTENCIAL COMO AGENTES DE CONTROL.

Ma. Cristina Del Rincón¹ Castro y Jorge E. Ibarra¹

¹CINVESTAV-IPN. Unidad Irapuato. Apdo. Postal 629, 36500 Irapuato, Gto. mdelrinc@ira.cinvestav.mx y jibarra@ira.cinvestav.mx

Palabras clave: baculovirus, *Trichoplusia ni*, AcNPV

Introducción

Los insecticidas microbianos en general, y los baculovirus en particular, poseen un gran potencial para utilizarse como agentes de control de plagas insectiles. Los baculovirus son virus entomopatógenos altamente específicos hacia los insectos, con algunos pocos miembros que han sido aislados de crustáceos y arácnidos (Evans & Entwistle, 1987). Existen más de 600 especies de baculovirus (Vlak, 1993), las cuales se han aislado en su mayoría de lepidópteros, dípteros e himenópteros, y muchos pueden causar epizootias naturales (Caballero *et al*, 1992). Por otro lado, conforme ha avanzado el tiempo, ha sido más difícil el control del falso medidor de la col, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) con insecticidas químicos, debido a los problemas de resistencia por parte de esta plaga, de ahí el creciente interés en otras alternativas de control. Debido a ello, en el laboratorio de Bioinsecticidas del CINVESTAV-Irapuato existe desde hace varios años, un programa de búsqueda y caracterización de cepas nativas de baculovirus en la zona del Bajío, con actividad hacia *T. ni*, con la finalidad de evaluar su potencial insecticida. Debido a lo anterior, en el presente trabajo se reporta el aislamiento, caracterización y pruebas de campo con baculovirus nativos del Bajío, con actividad hacia *T. ni*.

Materiales y Métodos

1) Aislamiento de las Cepas. Las larvas de *T. ni* con síntomas de infección, colectadas en campos de brócoli, se transportaron al laboratorio y se observaron en un microscopio de contraste de fases, para identificar los cuerpos de oclusión (CO). Posteriormente, las larvas se maceraron, se filtraron con una doble malla de organza y los CO's se purificaron por gradientes continuos de sacarosa del 40 al 66%.

2) Pruebas de campo. Se llevaron a cabo tres pruebas de campo donde se incluyeron a dos cepas de baculovirus: AcNPV y LBIV-1. Estas pruebas se realizaron en el campo experimental del CINVESTAV-Irapuato y en dos campos particulares de Cuerámara e Irapuato, Gto., en cultivos de brócoli. En los tres experimentos se probaron los mismos tratamientos y las mismas dosificaciones. Estas fueron: Ambush, 200 ml/ha (testigo positivo); Javelin, 1 Kg/ha (bioinsecticida testigo); AcNPV, 2×10^{12} CO/ha; LBIV-1, 2×10^{12} CO/ha; dos combinaciones del segundo con el tercero y con el cuarto, a la mitad

de las dosis de ambos, en cada caso; y el testigo negativo sin agente de control alguno. También en los tres experimentos se utilizó un diseño de bloques al azar con 7 tratamientos y 5 bloques en el primero y 6 en los dos restantes. Los muestreos se llevaron a cabo cuantificando el número de larvas del falso medidor por planta, de un total de 5 plantas por repetición, seleccionadas al azar.

3) Bioensayos. Se utilizaron concentraciones desde 14 hasta 0.02 CO/mm² colocadas en la superficie de dieta, para estimar la CL₅₀ de cada una de las cepas. Estas se aplicaron como suspensiones de 500 \square l por caja de Petri, y se utilizaron un mínimo de 6 por bioensayo. Se emplearon 20 larvas de *T. ni* de primer instar por concentración y un mínimo de 30 larvas por bioensayo como control negativo. Los bioensayos se incubaron bajo condiciones de insectario a 28°C, un fotoperíodo de 14:10 horas luz:oscuridad y una humedad relativa del 80%, por un período de 7 días. La relación dosis-mortalidad se obtuvo mediante análisis Probit (Finney, 1971).

4) Patrones de fragmentos de restricción. Se utilizaron concentraciones de 10¹⁰ y 10¹¹ CO/ml (1-5 ml) para obtener las partículas virales purificadas. Los CO's se disolvieron en álcali y los viriones se purificaron en gradientes continuos de sacarosa del 20 al 60%. El DNA se obtuvo a partir de 2 extracciones con fenol:cloroformo (1:1) y cloroformo:alcohol isoamílico (24:1), y posteriormente se dializó por 15 a 18 h. El DNA se digirió con las enzimas de restricción EcoRI, HindIII y BamHI.

Resultados

Aislamientos.- Se aislaron un total de 6 cepas nativas de baculovirus a partir de insectos de *T. ni* colectados en campo. Estas se registraron bajo las siguientes claves del cepario del Laboratorio de Bioinsecticidas: LBIV-1, LBIV-2, LBIV-3, LBIV-4, LBIV-5, y LBIV-6, las cuales fueron colectadas en Villagrán, Gto. (las dos primeras; Irapuato), Irapuato, Gto.; Querétaro, Qro.; Celaya, Gto. e Irapuato, Gto., respectivamente. Asimismo, en la caracterización se incluyó la cepa L-1 del AcNPV.

Pruebas de campo.- Para las pruebas de campo se utilizó solamente a la primera cepa de baculovirus nativa aislada, la LBIV-1 y el estándar AcNPV, previo a la caracterización a nivel de laboratorio. El primer experimento, realizado en el campo experimental del CINVESTAV, mostró diferencias significativas ($p > 0.95$) entre los tratamientos y el testigo. En este caso fue posible identificar cuatro grupos de tratamientos, el de Javelin y Ambush como los mejores, seguidos por la combinación LBIV-1/Javelin y el LBIV-1 actuando separadamente, sin existir diferencias significativas entre estos cuatro tratamientos. Un tercer grupo fue el de AcNPV solo y combinado con Javelin, los cuales muestran diferencias significativas con los dos primeros, y al final el testigo negativo. En el segundo experimento (en Cuerámaro), se detectó una alta diferencia significativa ($p > 0.99$) en el análisis de varianza, al cuantificar el número de larvas de *T. ni* por planta. Se identificaron cuatro grupos de tratamientos: el primero de Ambush, sin diferencias significativas con Javelin y la combinación de AcNPV/Javelin, que representan al segundo grupo. En el tercero y cuarto, la combinación LBIV-1/Javelin sin diferencias significativas entre el resto de los tratamientos y el testigo

negativo, respectivamente. En el último experimento (en Arandas Mpo. de Irapuato), se cuantificaron las larvas de *T. ni* en la planta completa, encontrándose una alta efectividad del Ambush, el Javelin, y la combinación AcNPV/Javelin, para dejar en segundo plano (sin detectar diferencias significativas) al LBIV-1 tanto solo como asociado al Javelin.

Bioensayos. La estimación de las CL₅₀s para cada una de las cepas mostró una amplia variación entre las cepas (tabla 1). De las siete cepas probadas se pueden diferenciar cinco niveles de virulencia: el primero, representado por la cepa silvestre LBIV-6, que fue la cepa más virulenta; el segundo por dos cepas silvestres, la LBIV-5 y la LBIV-4 las cuales, a pesar de mostrar niveles de virulencia menores al anterior, fueron estadísticamente más virulentas que el estándar (AcNPV); el tercero, representado por la cepa silvestre LBIV-3 y el estándar AcNPV; el cuarto nivel de virulencia lo representan las cepas silvestres LBIV-1 y LBIV-2.

Tabla 1.- Niveles de virulencia de cepas de virus de poliedrosis nuclear probadas contra larvas de *T. ni* de 1er. instar.

CEPA	CL ₅₀ (CO/mm ²)	D.E.	D.S.
LBIV-6	0.098	0.011	A
LBIV-5	0.256	0.050	AB
LBIV-4	0.266	0.054	AB
LBIV-3	0.455	0.028	BC
AcNPV	0.730	0.046	CD
LBIV-1	1.006	0.134	DE
LBIV-2	1.038	0.200	DE

CL₅₀: Concentración letal media; CO: cuerpo de oclusión; D.E.: Desviación estándar, D.S.: Diferencia significativa (Tukey, $p=0.95$)

4) Patrones de restricción.-Con las tres enzimas de restricción utilizadas, EcoRI, Hind III y Bam HI, se observó que las cepas LBIV-1, LBIV-2 y LBIV-3, son variantes del AcNPV, mientras que la cepa LBIV-4, muestra patrones de restricción únicos, que permiten definirla como una nueva cepa de baculovirus, distinta al AcNPV. Finalmente, las cepas LBIV-5 y LBIV-6 son mezclas de las variantes de AcNPV y de la cepa nativa LBIV-4.

Discusion

Sobre la efectividad en el campo de las cepas de baculovirus utilizadas, se puede generalizar que se presentaron en un segundo nivel de efectividad, con respecto al agente químico (Ambush) y al bioinsecticida Javelin. Sin embargo, es importante destacar que en todos los casos, al menos un tratamiento de baculovirus (solo o combinado con Javelin) mostró ser estadísticamente igual al resto de los tratamientos. También, ambas cepas virales (LBIV-1 y AcNPV), actuando independientemente, presentaron niveles de control muy similares (y estadísticamente iguales) a los del agente químico, después de una segunda aplicación (datos no presentados). Por otro lado, se puede afirmar que en la zona del Bajío, existen cepas silvestres de NPV's con

un alto potencial para ser utilizadas dentro de programas de control biológico. Dentro de estas cepas se encuentran variantes del AcNPV cuyo nivel de virulencia es igual o mayor al de esta cepa (LBIV-1 a 3). Asimismo, se encontró una nueva cepa, la LBIV-4, mezclada con las variantes silvestres del AcNPV (LBIV-5 y 6) con morfología, virulencia y patrones de restricción característicos, cuyo potencial como agente de control es mayor al AcNPV y podría utilizarse como un bioinsecticida contra *T. ni* en el Bajío.

LITERATURA CITADA

- Caballero, P., H. K. Aldebis, E. Vargas-Osuna & C. Santiago-Alvarez. 1992. Epizootics caused by a nuclear polyhedrosis virus in populations of *Spodoptera exigua* in southern Spain. *Biocontrol Sci. and Technol.* 2: 35-38.
- Evans, H. F. & P. F. Entwistle. 1987. Viral diseases. En: J. R. Fuxa & Y. Tanada (eds.), *Epizootiology of Insect Diseases*. pp. 257-322. Wiley-Interscience
- Finney, D. J. 1971. *Probit Analysis*. Third Edition. 333 pp. Cambridge University Press. London. .
- Vlak, J. M. 1993. Genetic engineering of baculoviruses for insect control. En: J. Oakeshott & M. J. Whitten (eds.), *Molecular Approaches to Fundamental and Applied Entomolgy*. pp. 90-127. Springer-Verlag.

POTENCIAL DE UN NUCLEOPOLIEDROVIRUS PARA EL CONTROL DE *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (Lepidoptera: Noctuidae) EN EL MAÍZ

Juan Cisneros¹, Dora I. Penagos¹ y Trevor Williams^{1,2}

¹ECOSUR, Apdo. Postal 36, Tapachula 30700, Chiapas, México. ²Depto. Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra, Pamplona 31006, España.

Palabras clave: baculovirus, *Spodoptera frugiperda*, control biológico.

Introducción

El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), es una de las más importantes plagas del maíz; niveles de infestación mayores al 55% pueden ocasionar una reducción del 15 al 73% en la cosecha (Hruska y Gould, 1997). Los daños ocasionados por la alimentación del gusano cogollero son muy aparentes y los agricultores hacen aplicaciones repetidas de insecticidas sintéticos para su control con repercusión en la incidencia de envenenamiento crónico (McConnell y Hruska 1993; Tinoco y Halperin, 1998). Se requiere de una estrategia alternativa al uso de insecticidas sintéticos que sea eficiente y sostenible.

Los baculovirus, como bioinsecticidas, tienen ciertas ventajas sobre las medidas convencionales de control: son altamente específicos, de aplicación simple que no requiere de nuevas tecnologías, factibles de manejar en diversas formulaciones, compatibles con la acción de los enemigos naturales y casi cualquier otra estrategia de control; además, son seguros para el ambiente y para el hombre (Enwistle y Evans, 1985). El presente documento expone los resultados de diversos experimentos dirigidos a la selección, formulación y evaluación de un nucleopoliedrovirus de *S. frugiperda* (SfNPV) como base para la implementación de un sistema de control sostenible del gusano cogollero del maíz.

Selección del aislamiento de SfNPV

De cuatro aislamientos originalmente caracterizados genética y biológicamente por Escribano *et al.* (1999), se seleccionó un aislado de Nicaragua, basado en su capacidad insecticida (el valor de la concentración letal 50%, CL₅₀), la cual fue de 2.04×10^5 poliedros/ml (rango de límites fiduciales 1.44×10^5 - 2.85×10^5).

Evaluación de control en campo mediante aplicaciones en aspersión

Mediante experimentos de campo bajo un diseño de parcelas al azar se estudió el efecto de la concentración y formulación del virus (aspersión y en azúcar granulada) en la infestación por *S. frugiperda*. La mortalidad en larvas de *S. frugiperda* recuperadas de campo fue positivamente correlacionada con la concentración de virus aplicado para larvas a 2 y 9 días post-aplicación. Así mismo, la proporción de larvas muertas por virus decreció con el tiempo. La mayor mortalidad por virus fue de ~40% y correspondió

al tratamiento de concentración más alta (1000 equivalentes larvales/ha). Se observó que la formulación con azúcar no tuvo un efecto significativo en la mortalidad por virus.

El parasitismo contribuyó en la mortalidad resultando en una máxima combinada, parasitismo + infección por virus, del 60% a los 2 días post-aplicación. Un tratamiento con clorpirifós exhibió patrones de mortalidad muy diferentes a los observados en tratamientos con virus, reduciendo casi a cero la recuperación de *S. frugiperda* a 2 días post-aplicación pero exhibiendo una reinfestación por *S. frugiperda*, 37% más intensa que la observada en el tratamiento control a los 15 días post-aplicación. Se planteó la posibilidad que los bajos niveles de infección por virus pudieran estar relacionados con la susceptibilidad a la luz ultravioleta (UV) y una posible dilución del inóculo viral por el rápido crecimiento del maíz (Williams *et al.*, 1999). Consecuentemente, se investigaron sustancias que protegieran el virus de la luz UV y que aumentan su capacidad insecticida.

Evaluación de sinergistas en el incremento de la infectividad del SfNPV

Se realizaron experimentos de laboratorio y campo con ácido bórico (Cisneros *et al.*, 2002) y un abrillantador óptico, Tinopal LPW (Martínez *et al.*, 2002), sustancias con reconocida actividad sinérgica a los baculovirus.

Se determinó el grado de sinergismo a nivel de la CL_{50} para ambas sustancias mediante bioensayos de laboratorio basados en la técnica descrita por Del Rincón e Ibarra (1997). En bioensayos con Tinopal LPW al 1%, se observó una marcada reducción en el valor de CL_{50} de 82.1 poliedros/mm² de superficie de dieta para el virus sólo a 0.71 poliedros/mm² para el virus mezclado con Tinopal LPW. El abrillantador óptico se asoció también con un incremento significativo en el tiempo promedio de muerte de 5.3 ± 0.4 a 7.6 ± 0.2 días para virus sólo y con Tinopal, respectivamente. El incremento en el tiempo promedio de muerte de las larvas infectadas con virus + abrillantador fue algo no esperado dado que en otros estudios (p. ej. Vail *et al.*, 1996) ha causado decremento en el tiempo letal.

Con ácido bórico a una concentración de 1%, la CL_{50} se redujo significativamente de 114 poliedros/mm² calculada para virus sólo, a 51 ci/mm^2 en la presencia de ác. bórico. El tiempo promedio de muerte no se vio afectado. Se confirmó un efecto de mayor inducción de mortalidad por virus a mayor concentración del ác. bórico dentro del rango probado de 0.5 a 4% ($R^2 = 0.87$). En experimentos de campo, sobre plantas individuales y en parcelas al azar, aplicando virus sólo o con ác. bórico formulado en gránulos, se encontraron diferencias significativas en la mortalidad por virus a los 2 y 5 días después de la aplicación para el experimento con plantas individuales y sólo a los 5 días para el de las parcelas al azar. De manera global, se demostró que el ác. bórico a una concentración de 1% incrementó del 15-25% la infectividad del virus. El patrón de infección a través del tiempo exhibió un comportamiento diferente al de estudios previos donde los picos de infección viral declinaban rápidamente después de los 2 días post-aplicación. Se planteó la hipótesis que la formulación en gránulos resultó en una mayor persistencia del inóculo en el campo.

Formulación granular como clave para mejorar la eficacia del SfNPV

Mediante el análisis de regresión lineal múltiple de experimentos independientes, siete con aplicación de virus en aspersión y ocho con una formulación de gránulos fagoestimulantes, se pudo comprobar que la persistencia de infección por virus se correlaciona positivamente con la cantidad de inóculo aplicado y negativamente con el tiempo post-aplicación para ambas formulaciones (aspersión y gránulos). Las sustancias fagoestimulantes, tales como la harina y el aceite de maíz y proteínas, aumenta la probabilidad de consumir una dosis letal del virus y así incrementa el grado de control de la plaga. La mortalidad por virus fue mayor cuando se aplicó en gránulos así como la persistencia de su actividad, con aproximadamente un 23% de la actividad original a los 8 días post-aplicación comparado con <1% para el virus en aspersión. La incidencia de parasitismo no se vio afectada por el tipo de formulación, por la cantidad de inóculo aplicado, ni por el intervalo entre la aplicación y el muestreo.

Harris y Dent (2000) señalan que la formulación es considerada como el factor más importante en la investigación enfocada hacia el desarrollo de insecticidas biológicos. Aunque los niveles de control y la persistencia del virus en formulación granular son alentadores, mayores estudios se requieren en el mejoramiento de la formulación y en la implementación de técnicas de producción de virus a escala comercial que permitan reducir costos para hacerlos más atractivos y redituables para los agricultores en México.

Literatura citada

- Castillejos, V.; Trujillo, J.; Ortega, L. D.; Santizo, J. A.; Cisneros, J.; Penagos, D. I.; Valle, J. & T. Williams. 2002. Granular phagostimulant nucleopolyhedrovirus formulations for control of *Spodoptera frugiperda* in maize. *Biol. Contr.* 24, 300-310.
- Cisneros, J.; Pérez, J. A.; Penagos, D. I.; Ruiz, J.; Goulson, D.; Caballero, P.; Cave, R. D. & T. Williams. 2002. Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Biol. Contr.* 23, 87-95.
- Entwistle, P. F. & H. F. Evans. 1985. Viral control. In: "Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology" G.A. Kerkut & L.I. Gilbert (Eds.), pp. 347-412. Pergamon, Oxford.
- Escribano, A.; Williams, T.; Goulson, D.; Cave, R.D.; Chapman, J. W. & P. Caballero. 1999. Selection of a nucleopolyhedrovirus for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): Structural, genetic and biological comparison of four isolates from the Americas. *J. Econ. Entomol.* 92, 1079-1085.
- Harris, J. & D. Dent. 2000. Priorities in biopesticides research and development in developing countries. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Hruska, A. J. & F. Gould. 1997. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): Impact of larval population level and temporal occurrence on maize yield in Nicaragua. *J. Econ. Entomol.* 90, 611-622.

- Martínez, A.M.; Goulson, D.; Chapman, J.W.; Caballero, P.; Cave, R. D. & T. Williams. 2000. Is it feasible to use optical brightener technology with a baculovirus bioinsecticide for resource-poor maize farmers in Mesoamerica. *Biol. Contr.* 17, 174-181.
- McConnell, R. & Hruska, A. 1993. An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries. *Am. J. Pub. Health* 83, 1559-1562.
- Tinoco, R. & D. Halperin. 1998. Poverty, production and health: Inhibition of erythrocyte cholinesterase through occupational exposure to organophosphate insecticides in Chiapas, Mexico. *Arch. Environ. Health* 53, 29-35.
- Vail, P. V.; Hoffmann, D. F. & J. S. Tebbets. 1996. Effects of a fluorescent brightener on the activity of *Anagrapha falcifera* (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus to four noctuid pests. *Biol. Contr.* 7, 121-125.
- Williams, T.; Goulson, D.; Caballero, P.; Cisneros, J.; Martínez, A.M.; Chapman, J. W.; Roman, D. X. & R.D. Cave. 1999. Evaluation of a baculovirus bioinsecticide for small scale maize growers in Latin America. *Biol. Contr.* 14, 67-75.

**SELECTION FOR RESISTANCE IN THE LABORATORY TO THE
Nucleopolyhedrovirus of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)
(AgMNPV)**

F. Moscardi¹, D.R. Sosa-Gómez¹, L. Morales², F.E. Paro¹ and I.L. Soldorio¹

¹ Embrapa Soja, C. Postal 231, Londrina, PR, CEP 86001-970; ² Emater, Londrina, PR, Brazil. moscardi@cnpso.embrapa.br

Introduction

The velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, is the key defoliator of soybean in Brazil, demanding frequent applications of insecticides to hamper crop yield losses (Moscardi 1993). Since 1983 a Nucleopolyhedrovirus of the insect (AgMNPV) has been employed in lieu to chemical insecticides and nowadays this biological insecticide has been used in over 1.7 million hectares annually in the country with considerable economic, ecological and social benefits (Moscardi 1999, Moscardi et al 2002). Due to the rapid expansion of the program in the late 1980's (when the program reached 1.0 million hectares per year), the possibility of selection for resistance by *A. gemmatalis* to AgMNPV became a concern amongst researchers and extension officers. Initial studies in this regards involved bioassays with *A. gemmatalis* populations collected from different regions in Brazil, in which the virus had been applied from zero to eight years. All populations from Brazil were highly susceptible to the pathogen, as well as two populations from the USA (Abot et al. 1995), indicating that all Brazilian populations of the insect were not selected for resistance to the virus in the field, despite its extensive application as a microbial insecticide for many years in some regions. However, initial selection pressure experiments in the laboratory with two of the Brazilian populations, revealed that true resistance to the virus could be detected in three generations, increasing subsequently to a resistance ratio [RR=LC₅₀ of the selected population ÷ LC₅₀ of the unselected population (susceptible)] from over 1,000 to 2,000 after 15 generations of selection pressure (Abot et al. 1996). The objective of this paper is to present a follow up of these studies, with regards to: 1) Status of resistance to the AgMNPV after six years of study in the laboratory; 2) Effect of releasing highly resistant insects to the AgMNPV from the selection pressure; 3) Effect of backcrossing highly resistant and susceptible populations of *A. gemmatalis* to the virus on reversion of resistance to the entomopathogen; 4) Possibility of cross resistance of AgMNPV resistant population with different groups of chemical insecticides used against the target insect; and 5) The potential of optical brighteners in breaking down the high levels of insect resistance to the AgMNPV.

Material And Methods

The insects were obtained from a colony of *A. gemmatalis* collected in the region of Sertanópolis, PR, in 1994 and maintained at Embrapa Soja, Londrina, PR, Brazil. The AgMNPV isolate was LD-79, obtained from AgMNPV naturally-killed larvae in the region of Londrina, PR, Brazil, in 1979. Bioassays of selected (80% mortality pressure in each

generation) and unselected populations were performed by incorporating crescent dosages of the virus in the insect diet, according to Morales et al. (1993), which was offered to 60 3rd instar *A. gemmatalis* larvae/dosage in 50-ml cups (3 larvae/cup), maintained at 26±1°C, RU of ca. 75% and photofase of 12h. Mortality and its causal agent were recorded daily and Probit analysis were performed on the data to estimate the mean lethal concentrations (LC₅₀) and associated parameters.

When the selected population reached high levels of resistance this population was subdivided to determine if release from selection pressure or backcrosses with the susceptible population would result in reversal of resistance and in how many generations, by using the same procedures described above. Furthermore, the highly resistant population was compared to the susceptible one regarding biological parameters, to evaluate the fitness of the resistant population. The possibility of reversal of the resistance by combining fluorescent brighteners (stilbenes) (0.5% wt:vol) with the AgMNPV was also investigated. In this case, the virus was spread in the insect diet at different concentrations/ml of suspension using 30 larvae/concentration/treatment, each treatment replicated three times. To evaluate the possibility of AgMNPV resistant *A. gemmatalis* population presenting cross resistance to chemical insecticides, five insecticides of different chemical groups were diluted to 0.5% in water and serial dilutions of each suspension were prepared and spread onto the insect diet in 150-ml plastic cups. Bioassays were performed with 2nd-instar larvae for both AgMNPV resistant and susceptible populations, and mortality data was submitted to probit analysis.

Results And Discussion

Under continuous selection pressure (CL80) in the laboratory, the insect exhibited true resistance already in F4 (Resistance Ratio-RR=3.6). The RR increased subsequently reaching, a value over 3000 in F15, and oscillated thereafter at high values. The RR between F47 and F52 oscillated above 10,000X. After generation 64 RR values of 100,000 and higher were commonly found. These results represent an unprecedented case of resistance potential to a baculovirus, considering studies with other viruses of the same group (Sosa-Gómez & Moscardi 2001). When the highly resistant population was released from selection pressure, a dramatic decrease in resistance was observed only after 11 generations (RR=11.6 in F11); however, the original levels of susceptibility were not reached, as RR varied from 2.1 to 9.0 from F12 to F19. Biological parameters of AgMNPV resistant and susceptible populations of *A. gemmatalis* presented only small differences regarding pupal weight, oviposition period and adult longevity. When the highly resistant VBC population was backcrossed with the susceptible population, resistance was totally lost in four generations, suggesting that this may be an important mechanism to "buffer" field development of resistance in AgMNPV treated areas. Studies on genetics of AgMNPV resistance inheritance indicated that resistance to the virus is driven by a partially recessive gene, which may explain the rapid loss of high levels of resistance when selected insects were backcrossed with susceptible ones (Pietrovski 2000). When these populations that regained susceptibility through release from pressure or from backcrosses with susceptible insects were again submitted to

selection pressure by the AgMNPV, they developed resistance more rapidly and at much higher RR values than the original selected population. All the results obtained in the laboratory indicate that the potential for resistance to the AgMNPV is very high, although some important mechanisms, as discussed above, are contributing for impeding the selection of true resistant populations of *A. gemmatalis* to the virus under field conditions. However, based on the available data, proper management tactics of the resistance to the AgMNPV should be devised in advance, in case true resistance is manifested in regions of increased use of the biological agent.

The use of some fluorescent brighteners available in the Brazilian market (Tinopal UNPA-GX, Tinopal DMS, BRY 10 D2 100, and Leukophor DUB – at 0.5% wt:vol), combined with the AgMNPV resulted in reversal of resistance to the virus in the highly resistant *A. gemmatalis* population. The addition of Tinopal UNPA-GX to the AgMNPV decreased the LC₅₀ values from 3.7×10^7 (virus alone) to 6×10^2 occlusion bodies (OBs)/ml (i.e., a reduction of 62,166-fold). Similar results were observed with Tinopal DMS (37,300-fold), BRY 10 D2 100 (61,147-fold), and Leukophor DUB (10,081-fold) (Morales et al. 2001). According to the literature, fluorescent brighteners may enhance baculovirus activity on host insects by causing disruptions in the peritrophic matrix (allowing greater amount of virus into the host midgut epithelial cells) or/and by preventing sloughing of infected midgut epithelial cells. These mechanisms with resistant *A. gemmatalis* larvae are still under study in Brazil.

The evaluation of AgMNPV *A. gemmatalis* resistant population regarding the possibility of cross resistance to chemical insecticides of different groups revealed that the insecticides tested were equally efficient against the susceptible and resistant population. Therefore, no cross-resistance could be claimed in this case.

Literature Cited

- Abot, A.R.; Moscardi, F.; Fuxa, J.R.; Sosa-Gómez, D.R.; Richter, A.R. 1995. Susceptibility of populations of *Anticarsia gemmatalis* from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus. J. Entomol. Sci. 30:62-69.
- Abot, A.R.; Moscardi, F.; Fuxa, J.R.; Sosa-Gómez, D.R.; Richter, A.R. 1996. Development of resistance by *Anticarsia gemmatalis* from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus under laboratory selection pressure. Biol. Control 7:126-130.
- Morales, L. & Moscardi, F. 1993. Comparação entre duas metodologias de bioensaios para vírus entomopatogênicos. An. Soc. Entomol. Brasil. 22:535-540.
- Morales, L.; Moscardi, F.; Sosa-Gómez, D.R.; Paro, F.E.; Soldorio, I.L. 2001. Fluorescent brighteners improve *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) activity on AgMNPV-susceptible and resistant strains of the insect. Biol. Control 20: 247-253.
- Moscardi, F. 1993. Soybean integrated pest management in Brazil. FAO Plant Protection Bull. Roma, 41:91-100.
- Moscardi, F. 1999. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. Annu. Rev. Entomol. 44: 257-289.

- Moscardi, F.; Morales, L. & Santos, B. 2002. The successful use of AgMNPV for the control of velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, in soybean in Brazil. pp. 86-91, In: Proceedings of the VIII Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control, Foz do Iguassu, PR, Brazil, Embrapa Soja, Documentos 184.
- Sosa-Gómez, D.R. & Moscardi, F. 2001. Resistencia de lepidópteros a los nucleopoliedrovirus: el caso de *Anticarsia gemmatalis*-AgMNPV, pp. 451-478. In: P Caballero, T. Williams & M. López-Ferber (Eds.), Los Baculovirus y sus Aplicaciones como Bioinsecticidas en el Control Biológico de Plagas. Valência, Espanha: Univ. Navarra/Phytoma. 518 p.

EFFECTOS DE LA INFECCIÓN DEL VIRUS IRIDISCENTE DE INVERTEBRADOS TIPO 6 EN EL MOSQUITO *Aedes aegypti*.

Carlos F. Marina^{1,2}, Jorge E. Ibarra³, Juan I. Arredondo-Jimenez², Ildefonso Fernández-Salas⁴ y Trevor Williams^{1,5}

¹ECOSUR, Apdo. Postal 36, Tapachula 30700, Chiapas, México. cmarina@tap-ecosur.edu.mx. ²CIP-INSP, Tapachula, Chiapas, México. ³CINVESTAV-IPN, Irapuato, Guanajuato, México. ⁴Universidad Autón. Nuevo León, Monterrey, México. ⁵Depto. Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra, Pamplona 31006, España.

Palabras Claves: Efectos subletales, *Virus iridiscente de invertebrados 6*, *Aedes aegypti*.

Introducción

Los patógenos altamente virulentos que provocan altos niveles de mortalidad en insectos, tales como los baculovirus, algunos hongos y la bacteria *Bacillus thuringiensis* con su δ -endotoxina, son los más atractivos para el control biológico de plagas.

Los virus iridiscuentes de invertebrados son partículas icosaedrales, no ocluidas, con un genoma de dsDNA que infectan a insectos principalmente de hábitats húmedos o acuáticos (Williams 1998). Estos virus provocan dos tipos de infecciones; una denominada patente en la cual el hospedero infectado cambia a un color iridiscente y muere en etapa larvaria, y la otra es una infección enmascarada en la que el insecto tiene una apariencia sana y vive hasta su estado adulto (Marina *et al.* 1999).

Los insectos con infección enmascarada por *Virus iridiscente de invertebrados 6* (VII-6) son detectados utilizando técnicas de PCR o un bioensayo altamente sensible en el cual el sobrenadante del homogeneizado de un insecto es inyectando a larvas de un lepidóptero (*Galleria mellonella*), que posteriormente desarrolla una infección patente (Constantino *et al.* 2001).

Los virus iridiscuentes han sido poco investigados como posibles agentes de control biológico debido a que la atención se ha centrado en la infección patente, en la cual los niveles normales de infección y mortalidad son bajos. Sin embargo, se ha observado que las infecciones enmascaradas (subletales) causan efectos debilitantes en la reproducción de los insectos (Rothman & Myers 1996) con consecuencias muy importantes en la dinámica poblacional (Boots & Norman 2000).

Lo interesante de las infecciones enmascaradas en insectos vectores de importancia médica es la reducción en la tasa reproductiva y otros parámetros demográficos que pueden repercutir en la disminución del riesgo de transmisión de enfermedades humanas.

El propósito de este trabajo es dar a conocer los resultados sobre estudios recientes de los efectos de infecciones patentes y enmascaradas del VII-6 en el mosquito *Aedes aegypti*, vector del dengue, con un enfoque hacia su posible uso en el control biológico.

Materiales y Método

Ruta de infección

La ruta de infección de los virus iridiscentes no se conoce con seguridad. Se determinó el efecto de dos compuestos, un abrillantador óptico y una sustancia abrasiva, sobre la probabilidad de infección de mosquitos expuestos a una suspensión de VII-6. El abrillantador óptico pertenece a un grupo de sustancias que inhiben la síntesis de la quitina, una proteína muy importante en la estructura de la membrana peritrófica del intestino medio del mosquito. La membrana peritrófica actúa como una barrera física que protege las células del intestino de los patógenos y de la abrasión por partículas cortantes que entran al intestino con los alimentos.

Efectos demográficos

Larvas de mosquitos de tercer instar fueron expuestas a una suspensión de VII-6. Los mosquitos fueron criados hasta adultos y una muestra de ellos fue apareada para determinar fecundidad, fertilidad y longevidad. Después de muertos, los mosquitos fueron bioensayados para determinar la presencia de una infección enmascarada. Luego los mosquitos fueron clasificados como infectados (infección enmascarada) y mosquitos expuestos al virus pero que no desarrollaron la infección. Se cuantificaron los parámetros demográficos de cada caso de infección.

Tasa de Infección

Grupos de 50 o 500 larvas de cuarto instar de *Ae. aegypti* fueron inoculadas con 2.4×10^9 partículas/ml de VII-6 por periodos de 1, 6, 12 y 24 h, con cuatro repeticiones. Después de inoculadas, las larvas fueron criadas de manera individual para determinar la frecuencia de infección letal (patente). Los sobrevivientes que llegaron a adulto fueron bioensayados para detectar la frecuencia de las infecciones enmascaradas. Los insectos controles fueron tratados con agua sin virus.

Resultados

Ruta de infección

Se observó que el abrillantador y el compuesto abrasivo (carburo de sílice) no incrementaron la infección patente o enmascarada comparada con mosquitos expuestos a una suspensión de VII-6 sólo. Se concluyó que el intestino no fue la principal ruta de infección de estos virus en larvas de mosquitos (Marina *et al.* 2003a).

Efectos demográficos.

Las hembras con una infección enmascarada tuvieron menor esperanza de vida al emerger (28.5 días) que las hembras control (35.6 días) y las hembras expuestas al inóculo que no se infectaron (33.9 días). La longevidad de las infectadas fue significativamente menor (27.9 días) comparadas con las del control (35.1 días) ($P=0.028$), pero no hubo diferencia con las hembras expuestas no infectadas (33.4 días). Asimismo, las infectadas pusieron una menor cantidad de huevos durante sus vidas (143.3 h/hembra) comparadas con el control (234.4 huevos) y las expuestas no infectadas (234.3 huevos) ($P=0.0001$). También se observó menor producción de huevos por hembra por día en las infectadas comparadas con el control y las expuestas ($P=0.003$). En total, se detectó una reducción del 50% en el índice reproductivo neto (R_0) en las hembras infectadas y 15.6% en las expuestas no infectadas, con respecto a mosquitos testigos (Marina *et al.* 2003b).

En otro experimento, desactivando VII-6 por calor (genoma intacto; proteínas desnaturalizadas) o por luz UV (proteínas intactas, genoma desactivado) se demostró que los efectos subletales fueron debido a la replicación del virus y no por efectos tóxicos de componentes proteicos del virus (Marina *et al.* 2003c).

Tasa de Infección

La densidad poblacional de las larvas afectó significativamente la frecuencia total de infección (patente + enmascarada) ($P<0.001$). En la densidad de 50 larvas, la infección se incrementó de 2.9 a 9.3% entre el tiempo de 1 a 24 h de exposición. En la densidad de 500 larvas, la infección total fue de 10.1 a 28.2% durante el mismo periodo. El coeficiente de infección (ν), parámetro que indica la probabilidad de infección cuando una partícula de virus interactúa con una larva susceptible, varió de 1.3×10^{-11} a 3.9×10^{-12} en la densidad baja y de 1.1×10^{-11} a 5.6×10^{-12} en la densidad alta. Se observó una clara tendencia de disminuir el valor de ν a través del tiempo de exposición. Esto indica que la probabilidad de infección cambia durante el período de exposición al virus. Las interacciones entre larvas en el tratamiento de alta densidad tienden a incrementar la probabilidad de infección, posiblemente debido a una mayor frecuencia de agresión y daños o heridas en las larvas de alta densidad.

Discusión

Estos resultados demuestran que los efectos subletales de la infección enmascarada tienen una repercusión mayor a lo observado anteriormente. La infección enmascarada afecta la demografía del insecto y, en consecuencia, la tasa reproductiva. Más importante aun, el número de ciclos gonotróficos fue marcadamente reducido en los mosquitos con una infección enmascarada y esto es directamente relacionado con la probabilidad de poder transmitir una enfermedad como el dengue o la fiebre amarilla. El efecto de la densidad de mosquitos en el incremento de la tasa de transmisión del VII-6

es importante debido a que las larvas de mosquitos presentan comportamiento gregario, competencia por espacio, agresiones y canibalismo. Estas estimaciones nos pueden dar una base para estudios futuros de transmisión de estos virus en poblaciones naturales de *Ae. aegypti*.

Literatura Citada

- Boots, M. J. & Norman, R. 2000 Sublethal infection and the population dynamics of host-microparasite interactions. *Journal of Animal Ecology*, 69, 1-9
- Constantino, M., Christian, P., Marina, C.F. & Williams, T. (2001) A comparison of techniques for detecting *Invertebrate iridescent virus 6*. *Journal of Virological Methods*, 98, 109-118.
- Marina, C.F., Arredondo-Jiménez, J., Castillo, A. & Williams, T. (1999) Sublethal effects of iridovirus disease in a mosquito. *Oecologia*, 119, 383-388.
- Marina C.F., Arredondo-Jiménez, J.I., Ibarra, J.E., Fernández-Salas, I. & Williams, T. (2003a) Effects of an optical brightener and an abrasive on iridescent virus infection and development of *Aedes aegypti*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* (en prensa).
- Marina, C.F., Ibarra, J.E., Arredondo-Jiménez, J.I., Fernández-Salas, I., Liedo, P. & Williams, T. (2003b) Adverse effects of covert iridovirus infection on life history and demographic parameters of *Aedes aegypti*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 106, 53-61.
- Marina, C.F., Ibarra, J.E., Arredondo-Jiménez, J.I., Fernández-Salas, I., Valle, J. & Williams, T. (2003c) Sublethal iridovirus disease of the mosquito *Aedes aegypti* is due to viral replication not cytotoxicity. *Medical & Veterinary Entomology* 17, 187-194.
- Rothman, L.D. & Myers, J.H. (1996) Debilitating effects of viral diseases on host Lepidoptera. *Journal of Invertebrate Pathology*, 67, 1-10.
- Williams, T. (1998) Invertebrate iridescent viruses. En: *The Insect Viruses* (ed. L.K. Miller & A. Ball), pp. 31-68. Plenum, New York.

USO DEL NUCLEOPOLIEDROVIRUS DE *Anticarsia gemmatalis* COMO PRINCIPAL ESTRATEGIA DEL MIP EN SOYA DE LA REGION SUR DE TAMAULIPAS

Joel Avila Valdez¹ y Luis a. Rodríguez del Bosque²

¹INIFAP. Campo Experimental Sur de Tamaulipas. Apdo. Postal No. 31 Altamira, Tam. C.P. 89601. E-mail: cestam@prodigy.net.mx; cestam@infosel.net.mx ²INIFAP. Campo Experimental Río Bravo. rodrigul@cirne.inifap.conacyt.mx

Palabras Clave: Soya, Nucleopoliedrovirus, *Anticarsia*

Anticarsia gemmatalis Hüb., es la especie más importante del complejo de defoliadores del cultivo de la soya en el trópico húmedo de México, ya que constituye el 80% del total de la población larvaria, que incluye además a *Pseudoplusia includens*, *Trichoplusia ni* y *Spodoptera exigua*, cuyo control es a base de insecticidas (Maldonado *et al*, 1991). Esto, además de elevar el costo del cultivo, incide en el crecimiento estacional de las poblaciones de *Pseudoplusia includens* y del complejo de chinches de la vaina *Nezara viridula* y *Euchistus servus*, entre otros inconvenientes que presenta el control químico de la plaga.

Existen evidencias de la susceptibilidad de *Anticarsia gemmatalis* al *Baculovirus anticarsia* (AgNPV), el cual ha sido utilizado desde la década de los setenta en programas de control biológico en Brasil (Allen y Knell, 1977; Moscardi y Corso, 1981). Esto ha resultado en una reducción del 65% del uso de agroquímicos en soya, uno de los cultivos más demandantes de insecticidas en ese país (Moscardi, 1993; Souza, 1994). En México el uso del AgNPV en siembras comerciales de soya ha resultado en un control total de *A. gemmatalis* y el mantenimiento de las poblaciones de *T. ni*, *P. includens* y *S. exigua* por debajo del umbral económico (Avila, 2002a). El control biológico con este virus en el sur de Tamaulipas se ha complementado con liberaciones de tricograma *Tricogramma* spp. y de crisopa *Chrysoperla carnea*, para integrarse en un manejo de plagas, que refuerce el control natural presente en el cultivo de soya (Avila, 1999a; Avila 1999b; Avila 2002b).

Evolución del Uso del AgNPV como Insecticida Microbial para *A. gemmatalis* en el Sur de Tamaulipas

En 1999 se iniciaron las pruebas de efectividad biológica del AgNPV en la región sur de Tamaulipas por parte del INIFAP con una cepa proveniente de Brasil (Moscardi, *et al*, 1981). Los resultados de campo del primer año indicaron una efectividad del 100% en la población de *A. gemmatalis* en lotes experimentales de soya (Avila, 1999c); posteriormente, estos resultados se validaron durante los años 2000 a 2002 en lotes comerciales con productores cooperantes, obteniéndose un control total de la población del complejo de larvas defoliadoras, en una superficie superior a mil hectáreas en el último ciclo (Avila, 2002a). Se espera que en el presente año, la superficie tratada con AgNPV, ascienda a 3 mil hectáreas, sólo en el sur de Tamaulipas y oriente de San Luis Potosí por el interés mostrado por los productores.

Liberaciones Masivas de Parasitoides Depredadores

La efectividad de tricograma *Trichogramma* spp, como agente de control biológico de plagas en distintos agroecosistemas está bien documentada (Lara, 1985; Mena, 2001a), asimismo, se ha comprobado también la utilidad de las liberaciones de crisopa *Chrysoperla carnea* en programas de control biológico de larvas de lepidóptera (Mena, 2001b). En soya en condiciones normales (sin disturbio) en la región de estudio, se tiene un parasitismo natural con tricograma en huevecillos de *A. gemmatalis* hasta de 28%, porcentaje que puede incrementarse a 85% si se refuerza con cuatro liberaciones de 10 mil avispitas del parasitoide (Avila, 1996). Los huevecillos de otras especies así como las larvas pequeñas del complejo de defoliadores que sobrevivieron al parasitismo de tricograma, son presa de las larvas de crisopa, cuyas poblaciones naturales son abundantes (Avila, 2002b), pero que también pueden incrementar el índice de control con liberaciones de 4 mil o más huevecillos de crisopa por unidad de superficie (Avila, 1999b).

Otros Agentes de Control Biológico Natural que Pueden Ser Considerados en el MIP

Existen cerca de 20 organismos benéficos naturales asociados al cultivo de soya en el sur de Tamaulipas, que son los primeros en ser eliminados con las aplicaciones tempranas de insecticidas (Avila, 2002b), de tal manera que es muy común tener problemas con *Pseudoplusia includens* y el complejo de chinches de la vaina *Nezara viridula* y *Euchistus servus*, especies que necesitan de aplicaciones complementarias y de productos como el Metomil que son de amplio espectro y que elevan los costos del cultivo (Maldonado *et al*, 1991). Esta población natural de benéficos necesita de un manejo para su conservación e incremento que incluya la eliminación de insecticidas convencionales en las primeras etapas de desarrollo y el uso del AgNPV que es muy selectivo.

Además, debe considerarse también la no aplicación de fungicidas como el Benomyl, ya que interfieren con la acción del hongo *Nomuraea rileyi* (Jonson *et al*, 1976; Horton *et al*, 1980), organismo muy importante en el control de la última generación de larvas de *A. gemmatalis* en el año (finales de octubre), en el sur de Tamaulipas y otras regiones del trópico húmedo de México (Maldonado *et al*, 1991).

Aplicación de Insecticidas de Bajo Impacto Dentro del MIP de Soya

Dentro del complejo de plagas de soya se tiene que considerar a la langosta centroamericana *Schistocerca piceifrons piceifrons* cuyos daños son totales cuando atacan en bandos y en mangas (Barrientos, 2001), lo que ha obligado a la utilización del control químico para disminuir sus poblaciones, situación que en ocasiones, interfiere con el control biológico. La utilización del insecticida Fipronil en dosis de 3 g/ha, mezclado con AgNPV, ha resultado en el control total de las poblaciones de langosta y chinches de la vaina y de la población larvaria del complejo de defoliadores, sin decremento de la población de organismos benéficos (Avila, no publicado).

Implementación del MIP de Soya a Nivel Comercial

La propuesta de INIFAP para las regiones soyeras del trópico húmedo de México cuyas condiciones son muy similares a la región del sur de Tamaulipas, es la implementación de un MIP donde se privilegie el uso del AgNPV y los demás agentes de control biológico natural e inducido, y donde se disminuya al mínimo la aplicación de insecticidas. El MIP propuesto incluye las siguientes estrategias: 1) Muestreo constante de los insectos plaga y benéficos presentes en el cultivo; 2) Toma de decisiones de control en base a umbrales económicos; 3) Uso del AgNPV como estrategia más importante, por encima de los insecticidas convencionales; 4) Complementación del control biológico con liberaciones masivas de tricograma y crisopa; 5) Uso racional de insecticidas privilegiando a los productos de bajo impacto ecológico, así como evitar el uso de fungicidas, con el propósito de conservar y aumentar la población de organismos benéficos naturales asociados al cultivo.

Las experiencias a nivel parcelario en las mil hectáreas donde se ha implementado el MIP propuesto, indican que es posible prescindir del control químico en el combate de plagas y obtener buenos resultados con el uso del control biológico. Estos buenos resultados incluyen una disminución por debajo del nivel económico de daño de todo el complejo de plagas y una reducción superior al 50% del costo de control de plagas, comparando el costo del MIP con el control químico tradicional aplicado por el productor (Avila, 2002a).

Conclusiones

Para incrementar la producción de soya en México se necesita no sólo de aumento en el rendimiento unitario, sino de reducción de riesgos y de costos de producción y la implementación del MIP propuesto por el INIFAP cumple con estas características, ya que reduce los riesgos de producción por daño de plagas y es más barato que el control químico tradicional, con los beneficios en términos de impacto ecológico, económico y social.

Literatura Citada

- Allen, G.E. and Knell, S.D. 1977. A nuclear polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatalis*: 1. Ultraestructure, replication and pathogenicity. Florida Entomology 60: 233-240.
- Avila, V.J. 1996. Uso de tricograma para el control de plagas en soya y algodón. Folleto Técnico No. 12. SAGAR-INIFAP-CIRNE-CESTAM. 57 pp.
- Avila, V.J. 1999. Uso de tricograma para el control de plagas en soya y algodón. Folleto Técnico No. 12. INIFAP-CIRNE-CESTAM. 20 pp.
- Avila, V.J. 1999. Control de plagas de soya mediante liberaciones de crisopa. Desplegable para Productores No. 7. INIFAP-CIRNE-CESTAM.

- Avila, V.J. 1999. Evaluación de *Baculovirus anticarsia* en el control de larvas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidóptera: Noctuidae), bajo tres condiciones de prueba. Memorias del XXII Congreso Nacional de Control Biológico. Soc. Mex. de Control Biológico. p. 190-193.
- Avila, V.J. 2002. Comparación de tres manejos comerciales en el control de defoliadores de soya en el sur de Tamaulipas. México. Entomología Mexicana. Soc. Mex. de Entomol. Vol. I: 254-255.
- Avila, V.J. 2002. Interacción de *Baculovirus anticarsia* con otros agentes de control biológico natural en el cultivo de soya en el sur de Tamaulipas. Memorias del XXV Congreso Nacional de Control Biológico. p. 37-41.
- Barrientos, L.L. 2001. Ecología, manejo y control de la langosta voladora (*Schistocerca piceifrons piceifrons*, Walker). Memorias, Curso Internacional. Instituto Tecnológico de Cd. Victoria. Comité Regional de Sanidad Vegetal del Sur de Tamaulipas. 232 p.
- Horton, D.L., G.R. Carner and S.G. Turnipsced. 1980. Pesticide inhibition of the entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* in soybeans. Environ. Entomol. 9: 304-308.
- Johnson, D.W., L.P. Kish and G.E. Allem. 1976. Field evaluation of selected pesticides on the natural development of the entomopathogen *Nomuraea rileyi*, on the velvetbean caterpillar in soybean. Environ. Entomol. 5: 964-966.
- Lara, V.M. 1985. Estudio preliminar de los agentes de control biológico en el cultivo de la soya (*Glycine max* L. Merrill), en el sur de Tamaulipas. Tesis de Licenciatura. Escuela de Ciencias Biológicas. Universidad del Noreste 70 p.
- Maldonado, M.N.; J.G. Garza y A. P. Terán. 1991. Guía para cultivar soya en Las Huastecas. Folleto para Productores No. 1. INIFAP-CIFAP PANUCO-CESTAM. 52 p.
- Mena, C.J. 2001. Manual para hacer liberaciones de crysopa contra insectos plaga. Publicación Especial No. 12. SAGARPA-INIFAP-CEZ. 28 pp.
- Mena, C.J. 2001. Manual para el control de plagas mediante la avispa parasitoide *Trichogramma*. Publicación Especial No. 13. SAGARPA-INIFAP-CEZ. 38 pp.
- Moscardi, F. , e I.C. Corso. 1981. Acao de *Baculovirus anticarsia* sobre lagarta de soja (*Anticarsia gemmatalis*, Hübner) e outros lepidopteros. In: Anais do Seminario Nacional de Pesquisa de Soja. 2. EMBRAPA-CNPSO. Londrina, Brazil. pp. 52-61.
- Moscardi, F. G.E. Allen and G.L. Green. 1981. Control of velvetbean caterpillar by nuclear polyhedrosis virus and insecticides and impact of treatments of natural incidence of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. Jour. Econ. Entomol. 74: 480-485.
- Moscardi, F. 1993. Soybean integrated pest management in Brazil. FAO Plant Protection Bulletin. 41:91-100.
- Sousa, M.L. 1994. Programas de Controle Biológico con *Baculovirus* no Brasil. II Curso de Controle Microbiano de Insectos. EMBRAPA / CENARGEN. Brasilia, D.F., Brazil. p. 4-22.

EVALUACIÓN DE DOS NUCLEOPOLIEDROVIRUS SOBRE DOS ESPECIES DE NOCTUIDOS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN EL NORTE DE SINALOA

Edgardo Cortez Mondaca¹, Ezequiel Cabanillas Durán¹ y José L. Martínez Carrillo².

¹Campo Experimental Valle del Fuerte-INIFAP. Km 1609, carret. México-Nogales, Juan José Ríos, Sinaloa.81110. ²C. E. V. del Yaqui-INIFAP, Km. 12 C. Norman Borlaug, Cd. Obregón, Son. come601021@yahoo.com.

Palabras Clave: baculovirus, gusano de la cápsula, gusano terciopelo.

Introducción

El gusano de la cápsula *Heliothis virescens* (F.) es el responsable de que se hagan hasta tres o más aplicaciones de insecticidas por temporada en garbanzo y el gusano terciopelo *Anticarsia gemmatalis* Hübner, es el más importante defoliador de la soya, ya que en pocos días puede devorar el follaje, tallos, y vainas tiernas. Los baculovirus son una herramienta disponible para el control de diversas plagas agrícolas, ya que poseen diversas ventajas: son específicos, no contaminan el ambiente, no son dañinos para vertebrados, etc. Sin embargo, su empleo en México es muy reducido (Del Rincón, 2003). El objetivo de los estudios realizados fue determinar la efectividad de dos nucleopoliedrovirus (NPV) en el control de dos especies de noctuidos de importancia económica en el norte de Sinaloa.

Materiales y Métodos

Evaluación de Baculovirus anticarsia

En el verano de 2002, se realizó una evaluación en un parcela de soya de 20 ha, ubicado a 25 Km del Campo Experimental Valle del Fuerte (CEVAF), con el cultivo en formación de grano, una población de 30 larvas de g terciopelo/m lineal y una defoliación del 20%. Se probó el *B. anticarsia* reciclado (64 larvas muertas infectadas/ha) y el insecticida Lambda cyflutrina 35 g de ingrediente activo en dosis de 500 cc/ha (testigo comercial). Los tratamientos se aplicaron con avión en 10 ha cada uno, la tarde del 24 de agosto. Los resultados se registraron a las 24, 72 y 96 hr después de la aplicación de los tratamientos (DAT). Los muestreos se realizaron en cinco sitios de la superficie de cada tratamiento, con una lona de color amarillo, de 1.0 m de largo colocada en el fondo del surco en donde se sacudían las plantas de ambos lados para contar las larvas presentes.

Evaluación de NPV zea.

En el CEVAF, se realizó un bioensayo de laboratorio evaluando: 1. NPV zea (comercial) a dosis de 750 cc/ha, 2. *Bacillus thuringiensis* (Javelin) 1.0 Kg/ha y 3. Testigo sin insecticida. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones de seis cajas petri con cinco larvas (30/repeticón. Las larvas confinadas se

expusieron a vainas y grano tierno de garbanzo contaminado con los tratamientos, el 19 de marzo. El alimento se renovó cada tercer día, pero ya sin contaminar. Se hicieron lecturas de mortalidad a las 48, 120 y 216 hr DAT, el criterio de muerte fue que al mover las larvas con un lápiz no caminaran. La mortalidad se corrigió por Abbot (1925), se hizo el análisis de varianza, y la separación de medias por Tukey.

La evaluación de campo se efectuó en un lote de garbanzo, ubicado a 12 Km del CEVAF, en franjas de 10 surcos de 50 m de largo por tratamiento: 1. NPV zea comercial a 750 cc/ha + 1.0 cc/L de agua de protector para rayos UV (nu-film), 2. NPV zea reciclado, 64 larvas maceradas/ha + 1.0 cc/L de agua de protector UV, 3. Testigo comercial clorfenapir + cipermetrina a dosis de 400 + 500 cc/ha y 4. Testigo sin insecticida. Los tratamientos se asperjaron el 3 de abril, por la tarde, con mochila manual usando 400 L de agua/ha, El efecto se revisó 6, 9 y 13 días DAT, registrando larvas sanas de instar uno y dos (L1-L2) y aparte las de instar tres y cuatro (L3-L4), en 1.0 m de surco, en tres sitios de cada tratamiento, igual que en soya.

Resultados y Discusión

24 hr DAT en la parcela del *B. anticarsia* se detectó un ligero incremento de larvas, mientras que con el insecticida sintético el control fue cercano al 100% en todos los muestreos. En la inspección de las 72 hr DAT, en el baculovirus se observó una cantidad similar de larvas por m/lineal de surco que en el primer muestreo, pero el 40% mostraban signos de la infección por el NPV: decoloración de la cutícula y movimientos torpes. A las 96 hr DAT, se detectó alrededor de 30% de larvas muertas y otra cantidad similar infectadas. Sin embargo, el productor cooperante aplicó el insecticida sintético en la parcela del NPV al día siguiente, ya que la defoliación del cultivo rebaso el umbral de daño económico de 30% (CEVAF, 2000).

Cuadro 1. Número promedio de larvas de gusano terciopelo en tres sitios de muestreo de un metro de surco de soya. CEVAF, 2002.

Tratamiento	24 hr DDAT	72 hr DDAT	96 hr DDAT	-
1. <i>B. anticarsia</i> reciclado 64 larvas/ha	38.6	34.1	21.0	
2. <i>L. Cyalotrina</i> 500 cc/ha (karate).	2.0	0.4	1.3	

En la evaluación de laboratorio contra *H. virescens*, a las 48 y 120 hr DAT, el Bt fue estadísticamente diferente a los dos tratamientos restantes, reportó la mayor mortalidad de larvas y el NPV fue estadísticamente diferente al testigo en la segunda lectura. 216 hr DAT el NPV zea fue estadísticamente similar al Bt y ambos diferentes al testigo. El NPV zea requirió más de 48 hr para causar mortalidad, pero las larvas vivas infectadas ya no se alimentaron.

En campo, el testigo comercial reportó el mejor efecto a los 6 días DAT (Cuadro 3). 9 días DAT los baculovirus registraron el menor número de L3-L4, después del testigo agua que no presentó larvas de ese tamaño y el NPV comercial tuvo un resultado

similar al de los insecticidas sintéticos en L1-L2. 13 días DAT, el NPV comercial no reportó L3-L4 y el NPV reciclado mostró una cantidad de larvas similar al de testigo comercial, y el testigo agua registró una cantidad mayor de L3-L4 que el resto de los tratamientos. El día 10 de abril, 7 días DAT, llovizno intermitente la mayor parte del día y estuvo nublado parcialmente los dos días siguientes, originando una alta humedad relativa ambiental que probablemente benefició la infección viral. A partir del segundo muestreo el NPV comercial presentó un mayor efecto sobre la plaga y por más tiempo.

Cuadro 2. Promedio de larvas de gusano de la cápsulas muertas* en la evaluación de entomopatógenos en laboratorio. CEVAF, 2003.

# Tratamiento	48 hr DDAT		120 hr DDAT		216 hr DDAT	
	#	%	#	%	#	%
1. NPV zea	0 _a	0	35.8 _b	39.7	88.9 _b	98.7
2. Bt (javelin)	84.0 _b	93.0	88.9 _c	98.7	100.0 _b	100.0
3. Testigo	0 _a	0	2.0 _a	2.2	7.0 _a	7.7

*: mortalidad corregida. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente Tukey (0.05).

Cuadro 3. Número promedio de larvas sanas del gusano de la cápsula en tres sitios de muestreo de un metro de surco de garbanzo. CEVAF, 2003.

Tratamiento	6 DDAT		9DDAT		13 DDAT	
	L1-L2	L3-L4	L1-L2	L3-L4	L1-L2	L3-L4
1. VPN zea 750 cc/ha	12	30	2	2	13	0
2. VPN zea reciclado 64 lar./ha	32	13	11	8	25	2
3. Clorfen. + ciper. m.	3	10	0	12	23	5
4. Testigo agua	30	60	51	0	19	22

En las pruebas efectuadas se corroboró la eficacia de los baculovirus, sin embargo, se requiere definir el momento más oportuno para utilizarlos, considerando la cantidad de larvas y el estadio, y el daño al cultivo, pues su efecto es relativamente lento y después de aplicados los insectos continúan alimentándose por cierto tiempo (Ibarra y Del Rincón, 2000; Bárcenas, 2000).

En estos ensayos las larvas de gusano de la cápsula contaminadas, en laboratorio, se alimentaron al menos hasta las 48 hr DAT. Es interesante resaltar que a pesar de la especificidad de estos entomopatógenos el NPV zea tuvo un efecto eficaz sobre *H. virescens*, aunque igual que *Helicoverpa zea* (Boddie) pertenece al complejo heliothine. Se observó que el empleo de "baculovirus reciclado" es viable, pero es necesario definir el número de larvas que se ocupan para obtener el mejor efecto.

Además, es importante determinar el efecto que tiene la forma y el momento de la aplicación, así como la consecuencia que tienen algunas sustancias coadyuvantes.

Literatura Citada

- Abbot, W. S. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *J. Econ. Entomology*. 18: 265-267.
- Del Rincón C., M. 2003. Biología y aplicación de bioinsecticidas virales. Fundación Produce Sinaloa, A. C.-SAGARPA-INIFAP-CINVESTAV. Ciclo de Conferencias 2003, AARFS. Los Mochis, Sin. Pp 2-11.
- Ibarra J. E. y M. Cristina Del Rincón, C. 2000. Virus Entomopatógenos. In: Badii, M. H., A. E. Flores y L. J. Galán, W. (eds. *Fundamentos y Perspectivas de Control Biológico*. UANL. San. Nicolas de los Garza, N. L. pp 339-354

CARTELES

1. BIOLOGÍA DE *Alienoclypeus insolitus* SHENEFELT (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) PARASITOIDE DEL PICUDO DEL MAGUEY

Laura Martínez-Martínez¹, Ernesto Bravo-Mosqueda², Fernando Arce-González¹ y José Antonio Sánchez García¹

¹CIIDIR-Oaxaca, Instituto Politécnico Nacional-COFAA. Hornos 1003, Sta. Cruz Xoxocotlan, 71230 Oaxaca, México. Tel. (951)5171199. lamtzmtz@hotmail.com;
²Campo experimental Valles Centrales de Oaxaca, INIFAP. Barrio Bajo, Etlá, Oax., Méx. Tel. (951)15502.

Palabras clave: Proporción sexual, *Scyphophorus acupunctatus*, sobrevivencia.

Introducción

En el estado de Oaxaca la superficie promedio anual ocupada por maguey mezcalero, *Agave angustifolia*, es de alrededor de 8,000 hectáreas, distribuidas en las regiones de los Valles Centrales, Sierra Sur y Sierra Norte. La producción del mezcal genera 35,000 empleos. Para 1998 se registró una producción de 7.5 millones de litros, de los cuales 45.5% se destinaron a la exportación con ventas del orden de los 14 millones de dólares (Bravo, 2002).

El picudo barrenador del maguey, torito o max del henequén, *Scyphophorus acupunctatus* (= *interstitialis*) Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), es una de las principales plagas del maguey en varios estados de México. Las larvas barrenan las partes periféricas del maguey y las pencas. *S. acupunctatus* se comporta como una especie multivoltina (Solís, *et al.*, 2001b). Además, el picudo es un vector que introduce la bacteria *Erwinia carotovora* (Jones), que causa una pudrición en el cogollo y la muerte de la planta (Solís, *et al.*, 2001b). En Jalisco, Méx., el picudo puede causar hasta un 24.5% de daño en las piñas de agave (Solís, *et al.*, 2001b). En Oaxaca, Méx., el barrenador puede afectar en mayor o menor grado hasta el 95% de la superficie ocupada por este cultivo (Bravo, 2002).

Se ha encontrado a *Scyphophorus acupunctatus* parasitado por *Alienoclypeus insolitus* Shenefelt (Hymenoptera: Braconidae: Braconinae) en plantaciones comerciales de Tequila, Jalisco (Solís, *et al.*, 2001a). También se ha encontrado a este parasitoide en plantaciones del estado de Oaxaca (Bravo-Mosqueda, en preparación). Además, Mason (1978) menciona ejemplares de *A. insolitus* colectados en Nuevo León y Yucatán, México y en Arizona, California y Texas, en E. U.

El parasitoide *Alienoclypeus insolitus* aun no ha sido estudiado. Quicke (1998) menciona, a partir de otras especies de la misma subfamilia, que los braconinos son ectoparasitoides idiobiontes de larvas de insectos holometábolos que permanecen ocultos; son sinovigénicos. Algunos géneros de braconinos son especialistas aunque la mayoría de las especies son oligófagas.

Hemos iniciado algunas estudios sobre la biología del parasitoide *Alienoclypeus insolitus*. En este trabajo se describe inicialmente el tiempo de desarrollo de pupación hasta emergencia del adulto; la proporción de sexos al momento de la emergencia y en campo; y sobrevivencia de hembras y machos adultos. Consideramos que aunque el estudio esta en sus etapas iniciales, los datos que aporte serán muy valiosos para conocer al parasitoide *A. insolitus* y serán una herramienta valiosa en el manejo biológico del picudo del maguey.

Materiales y Métodos

Tiempo de Desarrollo

En la zona de Tlacolula, Oaxaca, Méx., se realizó la colecta de magueyes, *Agave angustifolia*, que presentaran daño. De los magueyes se obtuvieron pupas de *Scyphophorus acupunctatus*, que se mantuvieron en contenedores de plástico, a temperatura ambiente, hasta la emergencia de los insectos adultos. Se cuantificó el tiempo de desarrollo de pupación hasta emergencia del adulto de cinco ejemplares del parasitoide *Alienoclypeus insolitus*.

Proporción De Sexos

A partir de los parasitoides que emergieron se cuantificaron por sexo para evaluar la proporción de sexos al momento de la emergencia, con 13 ejemplares. También se hizo una colecta de 87 ejemplares en el campo, en la misma zona de Tlacolula, Oax., para estimar la proporción de sexos de *Alienoclypeus insolitus* en el campo.

Sobrevivencia de Adultos

Los parasitoides, *Alienoclypeus insolitus*, tres hembras y 10 machos que emergieron, se mantuvieron en contenedores de plástico cerrados con una malla, a temperatura ambiente y alimentados con miel de abeja y agua. Diariamente se revisaba y cuantificaba la sobrevivencia de los organismos.

Resultados y Discusión

Tiempo de Desarrollo

Las hembras del parasitoide *Alienoclypeus insolitus* tardaron en desarrollarse de pupa hasta la emergencia del adulto, 23.7 días mientras que los machos tardaron 24.0 días, a temperatura ambiente.

Proporción de Sexos

Al momento de la emergencia, la proporción de sexos de *Alienoclypeus insolitus* fue de 0.30 hembras por cada macho. La proporción de sexos en el campo fue de 0.24

hembras por cada macho. Estos resultados sugieren que la población de hembras es reducida y que en el campo hay una mayor mortalidad de las hembras.

Sobrevivencia de Adultos

Los parasitoides, *Alienoclypeus insolitus*, mostraron una muy larga longevidad, como puede verse en la Figura 1. Las hembras sobrevivieron hasta los 126 días de edad y los machos, 90 días, a temperatura ambiente. El hecho de que los parasitoides *A. insolitus* adultos sean longevos, les permite interactuar por mayor tiempo con su hospedero, ya que el tiempo de desarrollo de su hospedero *S. acupunctatus*, desde huevecillo a adulto dura de 133 a 137 días, a 27°C (Solís, *et al.*, 2001a). Además, si los parasitoides sobreviven durante un gran lapso de tiempo, es probable que esto les permita afrontar las condiciones climáticas adversas.

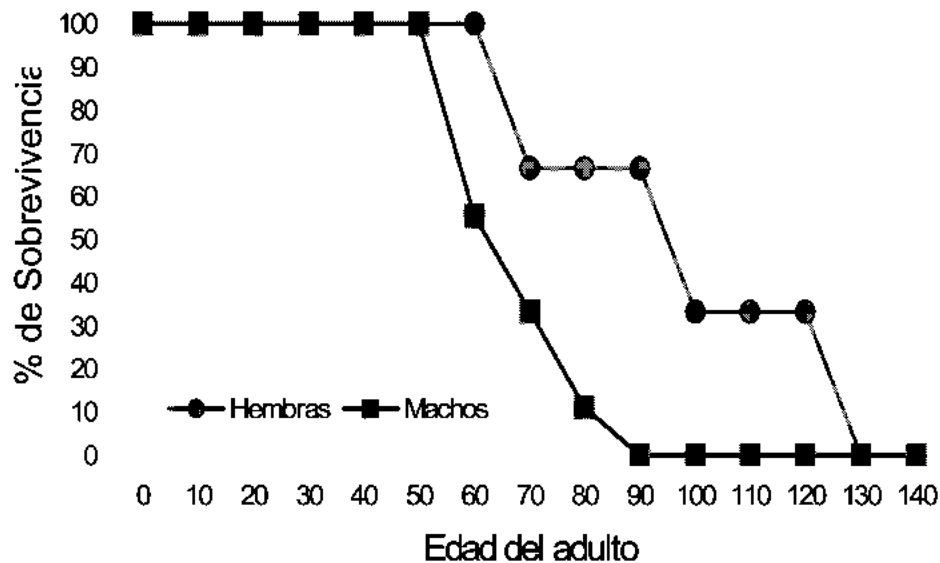


Figura 1. Supervivencia de adultos hembras y machos del parasitoide *Alienoclypeus insolitus*.

Literatura Citada

- Bravo-Mosqueda, E. 2002. Manejo integrado del picudo del maguey mezcalero (*Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal). *Agroproduce* número 5: 4-5.
- Mason, W. R. M. 1978. A synopsis of the Nearctic Braconini, with revisions of Nearctic species of *Coeloides* and *Mysoma* (Hymenoptera: Braconidae). *Can. Entomol.* 110: 721-768.
- Quicke, D. L. J. 1998. Subfamilia Braconinae. In: Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del nuevo mundo. Wharton, R. A., P. M. Marsh y M. J. Sharkey (Eds.). I. Mercado (Ed. en español). Special publication of the International Society of Hymenopterists, number 1. pp153-179.

- Solís-Aguilar, J. F., H. González-Hernández and F. J. Flores-Mendoza. 2001a. Main pests on the agave tequilas in the Mexican State of Jalisco and some measures to control them. In: Memorias del primer simposio internacional del *Agave tequilana* Weber var. Azul. M. G. López (Ed.). CINVESTAV, Irapuato, Méx. 15 pp.
- Solís-Aguilar, J. F., H. González-Hernández, J. L. Leyva-Vázquez, A. E. Quihua-Martínez, F. J. Flores-Mendoza y Á. Martínez-Garza. 2001b. *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, plaga del agave tequilero en Jalisco, México. *Agrociencia* 35: 663-670.

2. EFECTO DE *Dinarmus laticeps* Ashmead (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) SOBRE *Zabrotes subfasciatus* Boh., (COLEOPTERA: BRUCHIDAE).

Manuel Morales Soto y Zita Pérez Cortés.

Campus Oriente. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Nicolás Brvo s/n. Parque Industrial Cuautla, C.P. 62700, Xalostoc, Ayala, Morelos.

Palabras Clave: Densidad, parasitoide, gorgojo.

Introducción

En México *Z. subfasciatus*, es el gorgojo plaga más importante del frijol. Completa su desarrollo en 34 días a 27° C. y 70 % H. R., con una fecundidad de 55 huevos. A mayor temperatura y humedad, su fertilidad aumenta, hasta 69 huevos; lo que implica un desarrollo poblacional elevado (Solorzano, 1994). Por otro lado *D. laticeps*, es uno de los ocho parasitoides de bruquidos colectados en México con potencial para su uso como control biológico. Prefiere los últimos periodos larvales del huésped y su ciclo biológico, desde la ovoposición hasta la emergencia de adultos, es de 19 días para los machos y 20 días para las hembras (a $25 \pm 2^\circ$ C). Tienen una longevidad promedio de 70 días y una fecundidad aparente total promedio de 27 huevos (Bonet y col., 2000).

Si tienen huéspedes disponibles, su esfuerzo reproductivo va del segundo al undécimo día y en adelante disminuye hasta cero, para después mantenerse con pocos huevos hasta la muerte de la hembra. Bajo condiciones naturales en laboratorio, mantiene una tasa de incremento en los meses de enero a marzo y disminuye entre marzo y mayo, lo que coincide con un incremento de natalidad de control de coleópteros (Bonet y col., 2002). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto regulador de *D. laticeps* sobre el gorgojo del frijol *Z. subfasciatus*, utilizando una prueba de exclusión.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó del 3 de enero al 2 de mayo del 2000, en el Laboratorio de Entomología en el Campus Oriente, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Xalostoc, Ayala Morelos. El material biológico se obtuvo de gorgojos y parasitoides procedentes del mercado local de Cuautla, Morelos. Ambas especies se mantuvieron previamente bajo condiciones de laboratorio por un año, sin cuidados especiales.

Para el estudio se utilizaron 30 frascos de vidrio de 250 ml cubiertos con tela monil. En cada uno se depositaron 100 semillas de frijol de la variedad flor de mayo M38 y se les infestó con 10 gorgojos adultos. Se almacenaron dentro de una caja cúbica de madera de 40 cm por lado y una puerta con ventana de vidrio durante tres semanas. Se registró la temperatura ambiente a lo largo del estudio. El 28 de enero del 2000, se escogieron al azar 20 frascos (lotes), a los que se les introdujeron seis parasitoides, que se consideró el tiempo cero. Los frascos restantes quedaron como lotes testigos.

Se realizaron conteos cada semana a partir de la fecha, separando a los gorgojos y parasitoides vivos y muertos; al mismo tiempo se les introducía miel a los adultos de los parasitoides.

Resultados

Los resultados obtenidos demuestran que los parasitoides se pudieron establecer sobre la población de brúquidos en cuatro (20%) de los veinte lotes expuestos y en tres (15%) de ellos, hubo progenie nueva que emergió meses más tarde. En promedio, la suma total de gorgojos vivos por lote testigo alcanzó los 869 ± 209 brúquidos. En el caso de los lotes con parasitoides fue de 731 ± 170 ejemplares. No se encontraron diferencias estadísticas bajo la prueba de T-Student ($P < 0.05$). En cuanto a la dinámica poblacional del brúquido, mostró un incremento en la densidad a mediados de febrero, cuando llegó a los 364 ± 104 ejemplares por lote. Posteriormente, los valores oscilaron alrededor de los 20 ejemplares vivos por lectura y cada mes se observó un ligero incremento, que corresponde a la emergencia de una nueva generación. En el caso de los lotes con parasitoides, se observó el mismo patrón y correspondió al 10 de febrero la densidad más elevada, pero ésta fue estadísticamente diferente con respecto a los testigos (Chi-Cuadrada, $P > 0.05$).

Cuadro I. Número promedio de *Zabrotes subfasciatus* vivos por tratamiento, separando los lotes con presencia o ausencia de parasitoides vivos.

Fecha de lectura	Testigo (10 lotes)	Sin parasitoides, vivos (17 lotes)	Con parasitoides vivos y progenie (3 lotes)	Sin rastro de parasitoides (16 lotes)	Con rastros de parasitoides (4 lotes)
4 /II/ 2000	214 ± 66	205 ± 65	19 ± 6	218	205
10 /II/ 2000	364 ± 104	264 ± 105	246 ± 51	272	152
17 /II/ 2000	102 ± 29	51 ± 49	159 ± 138	117	29
24 /II/ 2000	11 ± 4	17 ± 25	56 ± 3	19	6
2/ III/ 2000	4 ± 5	6 ± 7	26 ± 1	5	9
9/ III/ 2000	16 ± 12	18 ± 9	5 ± 1	15	26
16 /III/ 2000	21 ± 25	19 ± 10	21 ± 5	17	28
23/ III/ 2000	39 ± 23	29 ± 15	13 ± 2	25	35
30/ III/ 2000	29 ± 17	32 ± 27	26 ± 8	23	53
6/IV/ 2000	12 ± 9	21 ± 15	11 ± 3	19	37
18/IV/ 2000	23 ± 16	27 ± 19	6 ± 8	24	40
23/IV/ 2000	28 ± 15	28 ± 12	4 ± 7	26	17
1/V/ 2000	21 ± 7	16 ± 11	16 ± 20	15	14

Discusión

Pinto y col., 1990. *et al.* estudiar a *Z. subfasciatus* a través de varias generaciones, con un diseño experimental semejante, nunca contaron más de cien ejemplares vivos por lectura, alcanzando su máximo a los 40 días. Mientras que en este estudio los lotes

testigo y aún de la mayoría de los lotes experimentales, alcanzaron densidades mayores a los 200 ejemplares vivos en una sola lectura, que correspondió al pico poblacional de la primera generación de brúquidos. Considerando la tasa reproductiva de 55 huevecillos/hembra, los valores obtenidos en el presente estudio están dentro de los esperados.

En este sentido, la explicación para cuando la densidad disminuye de manera significativa en los lotes con parasitoides, tiene dos posibles razones. Esto puede deberse a que en los brúquidos, la densidad tiene un efecto nocivo en términos de competencia. Utida (1941), estudiando a *Callobruchus chinensis* que ataca al frijol azuki (*Vigna angularis*), encontró que a mayor densidad, la tasa de reproducción de las hembras disminuye como consecuencia de una competencia intraespecífica por falta de espacio para ovipostura o algún mecanismo densodependiente interno (Royama, 1996). Para este trabajo, se propone que la presencia del parasitoide elimina a una parte de la población del huésped, la que no emerge como consecuencia del ataque. Datos publicados por Bonet y col., (2002), señalan que las hembras de *Dinarmus* sp. pueden tener una progenie promedio de 27 descendientes. Esto significa que las hembras parasitoides sólo pueden llegar a atacar el 50 % de la descendencia de una hembra del brúquido. Pero al agotarse el esfuerzo reproductivo del parasitoide, entonces las últimas oviposturas del gorgojo pueden sobrevivir y dan como consecuencia la fluctuación poblacional más atenuada que en el caso donde no hay parasitoides. Como una posible consecuencia de la eficiencia relativa del parasitoide sobre la población de brúquidos, sería el aparente retraso en cuanto al incremento esperado para mediados del mes de febrero, como ocurrió en los lotes testigos. De alguna forma, estas variaciones poblacionales, cuando está presente el parasitoide, significan que existe una tendencia a regular la población más no a eliminarla de manera total. Se concluye que los parasitoides requieren de una mayor cantidad de factores para poderse establecer, pues dependen de la combinación del ambiente y de las condiciones del huésped, lo que explica el bajo porcentaje de establecimiento y mantenimiento sobre los brúquidos. Para poder incrementar el efecto regulador del parasitoide, es necesaria su continua inoculación, siguiendo la recomendación del control biológico sobre la inundación del agente regulador en el ambiente del huésped.

Literatura Citada

- Bonet A., Cruz M. y D. García. 2000. Biología reproductiva de un himenóptero parasitoide pro-ovigénico. Mem. XIII Congreso Nacional de Control Biológico. Guanajuato.Gto. México. 104- 107.
- Bonet A., Cruz M., García D., Ricardez J.R., y C. V. Rojas. 2002. Comportamiento de insectos asociados al frijol. Instituto de Ecología A.C. Jalapa, Ver. (<http://www.Ecología.edu.mx>).
- Pinto, V.M., Vera G., Sotres R.D. y González C.F. 1990. Predicción de la fluctuación poblacional de *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleop: Bruchidae) a través de modelos de series de tiempo. Agrociencia, serie Matemáticas Aplicadas, Estadística y Computación 1(1): 135-157.

Royama, T. 1996. Analytical population. Dynamics population and community Biology series. Chapman and Hall. United Kingdom. 371pp.

Solorzano, E. 1994. Cultivo de frijol *Phaseolus vulgaris*. Departamento de fitotecnia. Colegio de Postgraduados. Montecillos. Edo. de México. México.

3. CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE LAS ENZIMAS DEGRADADORAS DE *Verticillium lecanii* (ZIMMERMANN) VIEGAS EN UN SISTEMA DE FERMENTACIÓN SÓLIDA

Esteban Barranco Florido¹, Raquel Alatorre Rosas², Gerardo Saucedo Castañeda³

¹Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, A.P. 23-181, México D.F. 1600 barranco@cueyatl.uam.mx; ²Instituto De Fitosanidad. Colegio De Postgraduados, Montecillo C.P. 56230, Edo. De México; ³ Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, A.P. 55-535. C.P. 09340 México, D.F.

Palabras Clave: *Verticillium lecanii*, cultivo sólido, biopesticidas

Introducción

Una de las estrategias utilizadas en la agricultura sustentable es el manejo de plagas por control biológico, empleando entre otros, a los microorganismos. Por ser actualmente los bioinsecticidas un área de rápida expansión que pueden sustituir o complementar los insecticidas químicos, la producción de micoinsecticidas se ha tornado un promisorio campo de desarrollo (1). *Verticillium lecanii* (Zimmermann) Viégas, patógeno de especies que incluye homópteros y otros grupos de artrópodos, se ha utilizado para el biocontrol de la mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) (2).

Recientemente se ha empleado la fermentación sólida para la producción de bioinsecticidas en donde se ha abierto un campo de investigación para el entendimiento de los aspectos moleculares de las interacciones hongo-insecto, el papel de las enzimas hidrolíticas, especialmente de las quitinasas y las condiciones nutricionales y ambientales que afectan el proceso infectivo (3).

En este trabajo se caracteriza parcialmente las actividades enzimáticas de los hongos entomopatógenos relacionándolas con el crecimiento del hongo entomopatógeno, medido indirectamente por el CO₂ producido al consumir la cutícula como fuente de C y N, utilizando para ello un sistema de fermentación sólida considerado para el desarrollo de bioinsecticidas.

Materiales y Métodos

V. lecanii ATCC 26584 se cultivó en sólido empleando columnas de vidrio (19 X 5 cm) teniendo como soporte bagazo de caña impregnado con el medio mineral y cutícula de *Sphenarium purpurancens* al 6%; que se utilizó como inductor de proteasas y quitinasas (4).

Se caracterizaron parcialmente las actividades enzimáticas en base al efecto de la temperatura y el pH. El estado fisiológico del cultivo fue monitoreado por la evolución de

CO₂ (5). Las actividades se determinaron por el método del azocoll para proteasas y la liberación de *p*-nitrofenol para quitinasas.

Resultados y Discusión

En la Figura 1 se muestran los perfiles de la actividad proteolítica y quitinolítica, así como la tasa de producción de CO₂ del cultivo sólido. El CO₂ producido alcanzó una tasa de 1.8 mg de CO₂ h⁻¹ (gMSI)⁻¹ a las 37 horas de cultivo como resultado del consumo de la cutícula del insecto, obteniendo su máxima actividad proteolítica (35 U.E.) a las 55 horas y la máxima actividad quitinolítica (169 U.E.) a las 43 horas. Los perfiles de las actividades enzimáticas van relacionados con la tasa de producción de CO₂. La fermentación fue de 6 días, alcanzando un pH de 8 debido a la liberación de grupos NH₄⁺ como resultado de la actividad proteolítica, con una esporulación de 8 X 10⁹ esporas por g de M.H. y una actividad de agua (a_w) con un intervalo de 0.986 a 0.998.

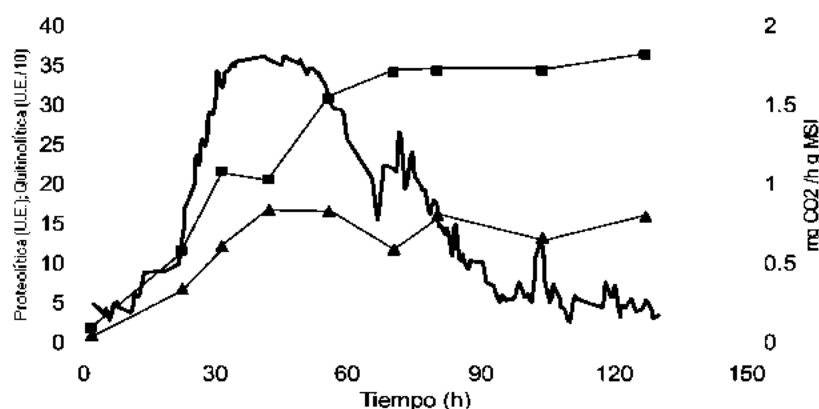


Figura 1. Evolución del CO₂ y las actividades enzimáticas: Tasa de producción de CO₂ (_____); proteolítica (■); quitinolítica/10 (▲)

En la tabla 1 se muestra que la máxima actividad proteolítica fue a pH 8.0. Respecto a la máxima actividad quitinolítica esta correspondió a un pH 6.0. El intervalo de termoestabilidad de las proteasas es mayor que las quitinasas. En relación a la tasa máxima de actividad enzimática es mayor en la actividad proteolítica y ambas energías de activación corresponden a valores típicos de sistemas biológicos.

Tabla 1. Parámetros de la caracterización parcial de las actividades enzimáticas.

	Actividades enzimáticas	
	Proteolítica	Quitinolítica
pH	8.0	6.0
Temperatura	35-60 °C	35-45 °C
Tasa Máx. (µmol/min)	3.10 (55 °C)	0.095 (45 °C)
E _A (cal/mol)	16461	16101

El modelo de fermentación sólida permitió obtener la expresión y síntesis de las enzimas degradadoras de la cutícula. Así como el seguimiento de las condiciones fisiológicas del hongo dentro del reactor evaluando el CO₂ producido durante la fermentación. Respecto a las actividades enzimáticas de *V. lecanii*, la actividad quitinolítica es semejante a la obtenida en *M. anisopliae* que fue a un pH de 5.0 (6). Mientras que en la actividad proteolítica St-Leger y col (7) con *M. anisopliae* determinaron un pH de 9.0 y para la enzima Pr1 de 8.0 semejante a nuestros resultados. A partir de los resultados obtenidos en el cultivo sólido podríamos suponer que durante la penetración del hongo es importante la expresión de la actividad quitinolítica para degradar y consumir la cutícula como fuente de C. Respecto a las proteasas, estas degradan la matriz proteica de la cutícula, manteniendo su actividad hasta la muerte del insecto. El pH y la temperatura afecta mas actividad quitinolítica que la proteolítica, siendo la expresión de las quitinasas una de las características fenotípicas mas importante de la virulencia de los hongos entomopatógenos, por lo que se debe valorar la importancia del pH ambiental y la temperatura en su expresión como lo demostró St-Leger y col. (8) en la infección con *M.anisopliae* sobre *Manduca sexta*.

Conclusiones

El modelo de fermentación sólida propuesto mantiene la virulencia del hongo entomopatógeno. El sistema al ser semejante a las condiciones naturales del crecimiento del hongo, permite estudiar las condiciones microambientales durante la interacción hongo-insecto y por ser un sistema controlado por la humedad, la actividad de agua (a_w) y el tipo de sustrato evita la posibilidad de contaminación, con la consecuente disminución de los tiempos de fermentación esencial para el desarrollo de biopesticidas por cultivo sólido controlado.

Literatura Citada

- Deshpande M.V. (1999) Crit. Rev. Microbiol. 25:229-243 Steenberg T. y Humber R.A. (1999) J. Invertebr. Pathol. 73:309-314
- Pandey A., Soccol C.R. y Mitchell D. (2000) Proc. Biochem. 35:1153-1169
- Barranco-Florido J.E., Alatorre-Rosas R., Gutiérrez-Rojas, M., Viniestra-González G. y Saucedo-Castañeda G. (2002) Enzyme Microb. Technol. 30:910-915
- (5) Saucedo-Castañeda, G., Lonsane, B.K., Navarro, J.M., Roussos, S. y Raimbault, M. (1992) App. Microb. Biotech. 37:580-582.
- Siquiera Pinto A., Chaves Barreto C., Schrank A., José Ulhoa C. y Henning Vainstein M. (1997) Canadian J. of Microbiol. 43 322-327, St-Leger R.J., Bidochka M.J. y Roberts D.W. (1994) Archives Biochem. Biophys. 313:1-7
- St-Leger R.J., Joshi L. y Roberts D. (1998) Appl. and Environ. Microbiol. 64:709-713

4. SUSCEPTIBILIDAD DE HUEVO DE *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) A LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS (Hyphomycetes)

Angel-Sahagún C. A.¹, Galindo-Velasco E.¹, Lezama-Gutiérrez R.², López-Edwards M.², Molina-Ochoa J.², García-Torres Z. R.², Rebolledo-Domínguez O.², Cruz-Vázquez, C.³ y Reyes-Velázquez, W. P.⁴.

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia ² Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Km 40 Autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima, CP. 28100. . evelasco@ucol.mx, rlezama@ucol.mx. ³ Instituto Tecnológico Agropecuario de Aguascalientes. A.P. 74-2, Admón. Postal No. 2, C.P. 20041, Aguascalientes, Aguascalientes, México. ⁴FMVZ-Universidad de Guadalajara. waldinar@cucba.udg.mx.

Introducción

Históricamente la mosca del cuerno, *Haematobia irritans* L. (Diptera: Muscidae), es considerada una de las plagas hematófagas más importantes del ganado de pastoreo (Kunz *et al.*, 1991). El control primario de esta plaga está basado en el uso de insecticidas (Butler y Okine, 1999); sin embargo, el uso continuo e inadecuado ha generado problemas de resistencia en varios países del mundo, incluido México (Torres *et al.*, 1996). Lo anterior hace que el control de la mosca sea cada vez más difícil, por lo que una alternativa a este método se hace necesario (Watson *et al.*, 2002). Este campo hasta el momento ha sido poco explorado. Una estrategia de control alternativa podría ser el uso de los enemigos naturales (Steemberg *et al.*, 2001).

Se tiene reportes de que los Hyphomycetes *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith son patógenos de huevo en especies de insectos (Lezama-Gutiérrez *et al.*, 1996), Sin embargo, no se tienen reportes sobre la susceptibilidad del estado biológico de huevo de *H. irritans* a hongos Hyphomycetes. La hipótesis de la presente investigación es de que el estado biológico (huevo) de la mosca del cuerno presenta susceptibilidad a los hongos Hyphomycetes y Entomophthrales antes mencionados. El propósito de la presente investigación fue evaluar la susceptibilidad del estado biológico de huevo de *H. irritans* a los hongos entomopatógenos *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. fumosoroseus*, en laboratorio.

Materiales y Métodos

La cepa de mosca se obtuvo del Centro Nacional de Parasitología Animal (CENAPA-SAGARPA) de Jiutepec, Morelos y establecieron en insectario bajo condiciones de laboratorio siguiendo las técnicas de (Schmidt *et al.*, 1967).

Los hongos que se utilizaron en la investigación son 6 aislados de *M. anisopliae*, 7 de *P. fumosoroseus* y 2 de *B. bassiana*. Todos forman parte de la Colección de Hongos Entomopatógenos de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, de la Universidad de Colima. Los aislados de *P. fumosoroseus* fueron proporcionados por el

CNRCB- SAGARPA, ubicado en Tecomán, Colima. Los hongos fueron multiplicados en Sabouraud dextrosa Agar con 1% de extracto de levadura y 500 ppm de cloramfenicol (Moorehouse et al., 1993) incubados a $25\pm 1^\circ\text{C}$ y 70% de Humedad relativa durante tres semanas. Las conidias de 21 días se recuperaron en agua destilada estéril con 0.1% de Tween 80 (vol:vol) y la concentración fue determinada utilizando una cámara de Neubauer y ajustada a la concentración de 1×10^6 conidias/ml, misma que fue utilizada en la evaluación de la susceptibilidad de huevo de *H. irritans* a los aislados de *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*.

Se prepararon 4 recipientes de plástico transparente de 6 X 6 cm de diámetro y altura; A cada uno se les colocaron 50 g de estiércol fresco de bovino y sobre él, 20 huevos de *H. irritans* de menos de 4 horas de edad; posteriormente se asperjaron con conidias de los hongos entomopatógenos a la concentración arriba mencionada. Otros cuatro grupos de frascos con excreta y huevo fueron asperjados con agua destilada estéril, con 0.1% de Tween 80 y fueron considerados como testigo.

En total se evaluaron 16 tratamientos, con cuatro repeticiones y distribución completamente al azar. El experimento se incubó a 30°C y 58% de HR. Se registró el número de adultos emergidos, cada 48 horas. Los adultos se colocaron en cámaras húmedas, para observar si los adultos presentaban infección por el hongo. Los datos se les realizó una transformación angular, antes de ser sometidos a un análisis de varianza y prueba de medias por Tukey, utilizando el programa estadístico del SAS (1997).

Resultados y Discusion

Se encontró que los huevos de *H. irritans* son susceptibles a los hongos entomopatógenos *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus*, y *B. bassiana*, evitando la emergencia de adultos (Figura 1). Los aislados Ma3, Ma15, y Ma25, redujeron la emergencia de adultos hasta un 3.75, 5 y 6.25%; los aislados Ma2 y Ma13 permitieron una emergencia del 15 y 26.25% y Ma1 el 63.75%.

Con los aislados de *P. fumosoroseus*, Pfr1 y Pfr8 se presentó 3.75% de emergencia; con los aislados Pfr 7 y Pfr3 el 20 y 27.5% y con Pfr 11, Pfr9 y Pfr10 se alcanzó una emergencia de 55, 63.75 y 68.75%, respectivamente. Del hongo *B. bassiana* el aislado Bb17 y Bb21, se encontró un 11.25% y 43.75% de emergencia, respectivamente.

El análisis de varianza indicó diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($F \text{ calc.} = 10.5$, $Pr > F = 0.0001$) y la prueba de Tukey separó a los tratamientos Pfr10, Ma1, Pfr11, Bb21, Pfr3, Ma13 y Pfr9, como los aislados él los que se presentaron los valores mas altos de emergencia de adultos con porcentajes de 29 al 56.86% y sin diferencia con el testigo, en donde se presentó un 57.88%; el resto de los aislados que se mostraron como los menos sobresalientes con valores de 5.69 hasta 26.25% de emergencia y sin diferencias entre ellos.

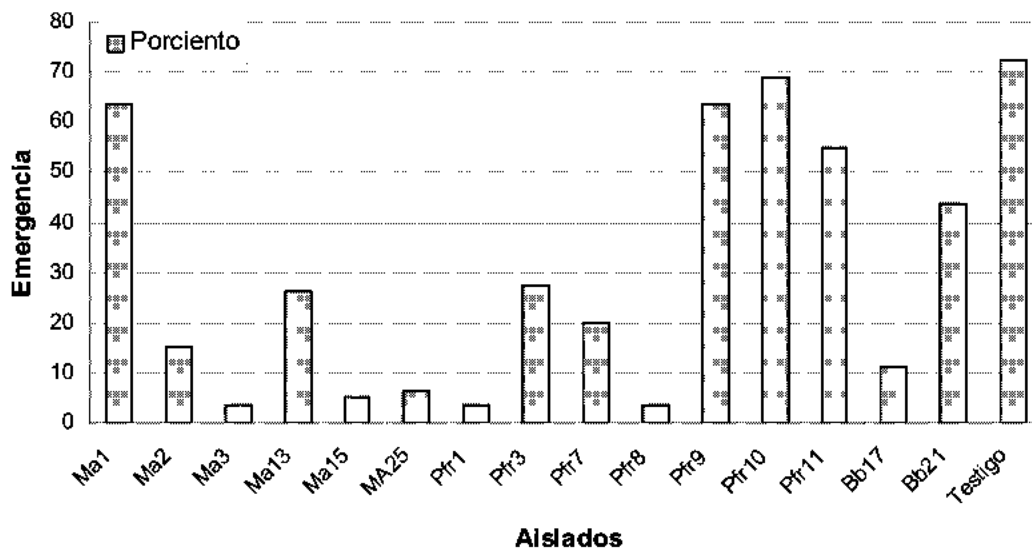


Fig. 1. Porcentaje de emergencia de adultos de *Haematobia irritans* L., bajo el efecto de aislados de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* (Ma), *Paecilomyces fumosoroseus* (Pfr) y *Beauveria bassiana* (Bb), aplicado en huevo a la concentración de 1×10^6 conidias por ml.

Los aislados Ma 15, Pfr1, Pfr8, Ma25 y Ma3 fueron los que mas redujeron la emergencia de adultos con valores inferiores comprendidos entre 5.69 y 11.07% y no comparten significancia con los tratamientos del segundo nivel.

La hipótesis de la presente investigación es de que el estado biológico de huevo de la mosca del cuerno presentaba susceptibilidad a los hongos entomopatógenos *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus*, y *B. bassiana*, disminuyendo el porcentaje de emergencia de adultos.

Los resultados mostraron que efectivamente que este estado biológico resultó susceptible a diferentes aislados de las tres especies de hongos evaluados, sin embargo se detectaron diferencias en susceptibilidad entre aislados; de los hongos *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*, cinco aislados redujeron la emergencia de adultos a menos del 7% contra el 72.5% de emergencia en el testigo.

Los resultados anteriores son importantes debido a que muestran la necesidad que existe de evaluar diferentes aislados de diferentes especies de hongos, a fin de seleccionar los más efectivos para el control de esta plaga.

De este estudio se pueden seleccionar a los aislados Ma 15, Pfr1, Pfr8, Ma25 y Ma3 para continuar con las investigaciones tendientes a utilizarlos como agentes de control biológico de *H. irritans*.

Estos hallazgos complementan lo reportado por Lezama-Gutierrez *et al.*, (1996) quienes reportan que los insectos en estado de huevo son susceptibles a hongos entomopatógenos y es un estado biológico en el que la plaga aún no causa daño.

Literatura Citada

- Butler. J. F., R. L. Escher, y J. A. Hogsette 1981. Natural parasite levels in house flies, stable flies, and horn flies in Florida, p.61-79 in R. S. Patterson [ed]: Status of Biological control of filth flies, Proceeding of a Workshop. U.S.D.A. Sci. Educ. Adm. inst. Gainesville, Florida.
- Kunz S .E , K. D. Lambert , L. F., James y C. E. Terril. 1991. Estimated losses of livestock to pest. In D. Pimentel, C.R.E Handbook of pest management in agriculture. Vol. I, C.R.C., Boca Ratón, PP. 69-68
- Lezama-Gutierrez, R., Alatorre-Rosas, R., Bojalil-Jaber, L. F., Molina-Ochoa., J., Arenas-Vargas., M., Gonzalez-Ramirez, M., y Rebolledo-Domínguez, O.1996. Virulence of five entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) against, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and neonate larvae. *Vedalia* 3: 35-39.
- Moorhouse, E. R., Gillespie, A. T. y Charnley. A. K. 1993. Selection of virulent and persistent *Metarhizium anisopliae* isolates to control black vine weevil (*Otiorhynchussulcatus*) larvae on glasshouse begonia. *J. Invertebr. Pathol.* 62: 67-52.
- Schmidt C. D.; R. L. Harris y R. A. Hoffman, 1967. Mass rearing of the horn fly, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), in the laboratory. *Ann. Ent. Soc. Am.* 60: 508-510
- Stemberger, T., J. B. Jespersen., K. M. V. Jensen., B. O. Nielsen y R. A. Humbert. 2001. Entomopathogenic fungi in flies associated with pasture cattle in Denmark. *J. invertebr. Pathol.* 77: 186-197.
- SAS Institute. 1997. SAS user's guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.
- Torres, P., A., Baibi., D. Sheppard. 1996. Resistencia de la mosca de los cuernos *Haematobia irritans irritans* (L. 1758) al Fenvalerato en la provincia de corrientes, Argentina. *Rev. Med. Vet.* 77:136-140.
- Watson D. W.; S. S. Stringham.; S. P. Washburn.; M. H. Poore.; A. Meier. 2002. Managing the horn fly (Diptera: Muscidae) using an electric walk-through fly trap. *J. Econ. Entomol.* 95: 1113-1118.

5. SUSCEPTIBILIDAD DE PUPAS DE *Haematobia irritans* L. (Diptera: Muscidae) A LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS (Hyphomycetes) EN LABORATORIO.

Angel-Sahagún C. A.¹, Galindo-Velasco E.¹, Lezama-Gutiérrez R.², López-Edwards M.², Molina-Ochoa J.², Rodríguez-Acevedo J. I.², Rebolledo-Domínguez O.², Cruz-Vázquez, C³ y Reyes-Velázquez, W. P.⁴.

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia ² Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Km 40 Autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima, CP. 28100. . evelasco@ucol.mx, rlezama@ucol.mx³ Instituto Tecnológico Agropecuario de Aguascalientes. A.P. 74-2, Admón. Postal No. 2, C.P. 20041, Aguascalientes, Aguascalientes, México.⁴FMVZ-UdeG., Km. 15.5 Carr. Guadalajara-Nogales "Las agujas", Zapopan, Jal. México. waldinar@cucba.udg.mx.

Introducción

La mosca del cuerno, *Haematobia irritans* L. (Díptera: Muscidae), es el ectoparásito que mas daños causa a bovinos (Torres *et al.*, 1993). Se encuentra desde Canadá hasta los países del cono sur de América (Luzuriaga *et al.*, 1991), es hematófaga y causa irritación e intranquilidad al ganado y le ocasiona disminución de la producción de leche y carne (Kinzer *et al.*, 1984). Con densidades de 50 a 60 moscas por animal se reduce las ganancias de peso entre un 17 y 22% y hasta un 45% con 200 (Drummond *et al.*, 1988).

Los insecticidas son el método de control más común y actualmente se tienen reportes de resistencia a ellos en varios países (Guglielmone *et al.*, 1998). Por lo que se buscan otras alternativas como el uso de hongos entomopatógenos (Steenberg *et al.*, 2001). Las especies *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Verticillium lecanii* (Zimmermann) Viegas, y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith, entre otros se han aislado de *H. irritans* (Steenberg *et al.*, 2001a). La especie *B. bassiana* mata hasta el 100% de adultos a la concentración de 1.7×10^9 conidias (Steenberg *et al.*, 2001b), pero no se conoce si estos hongos parasiten las pupas de *H. irritans*. El objetivo de esta investigación fue evaluar la susceptibilidad de las pupas con los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* y *M. anisopliae*.

Materiales y Métodos

La cepa de *H. irritans* se obtuvo del Centro Nacional de Parasitología Animal (CENAPA-SAGARPA) de Jiutepec, Morelos y se estableció la colonia en condiciones de laboratorio siguiendo las técnicas de Schmidt *et al.*, (1967). Los hongos que se utilizaron en la investigación forman parte de la Colección de Hongos Entomopatógenos de Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Los aislados de *P. fumosoroseus* fueron proporcionados por el CNRCB-SAGARPA, ubicado en Tecomán, Colima.

Los hongos fueron multiplicados en Agar Dextrosa Sabouraud con 1% de extracto de levadura y 500 ppm de cloranfenicol (Moorehouse *et al.*, 1993), incubados a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y

70% de humedad relativa durante 21 días. Las conidias se recuperaron en agua destilada estéril con 0.1% de Tween 80® (vol:vol). La concentración de 1×10^8 conidias/ml, se determinó con una cámara de Neubauer, esta concentración fue utilizada en la evaluación de la susceptibilidad de pupas de *H. irritans* a los aislados de *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Grupos de 20 pupas de menos de 48 horas se colocaron en una caja Petri (60 x15 mm) sobre una capa doble de papel filtro húmedo (Whatman no. 1) y se inocularon, por aspersion manual; a otros 4 grupos de 20 pupas se les aplicó agua destilada estéril al 0.1% de Tween 80 y se consideraron como testigo.

Para cada aislado se formaron 4 repeticiones y el diseño completamente al azar. El experimento se incubó a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y 70% de humedad relativa. Cada 24 horas se registró el número de pupas micosadas. El porcentaje de pupas micosadas fueron sometidos a un análisis de varianza, previa transformación angular,; además se realizó una prueba de separación de medias por Tukey al 0.05, utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 1997).

Resultados

Se encontró que las pupas de *H. irritans* son susceptibles a los hongos *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* con porcentajes de infección de hasta el 71 %. Con los aislados Ma2 y Ma25, las pupas presentaron una micosis de 71 y 69 %, respectivamente, mientras que con los de más aislados de esta especie no pasaron el 23%. Con los aislados Pfr9 y Pfr11 presentaron 41 y 50 %, respectivamente, el resto no superó el 24%. Con la especie *B. bassiana*, los aislados Bb21 y Bb17 causaron 48.75 y 0%. El análisis de varianza indicó diferencias estadísticas entre la susceptibilidad de las pupas a los aislados de las tres especies de hongos ($F_{\text{calc}} = 10.85$, $Pr < F = 0.0001$) y la prueba de medias separó al tratamiento testigo, junto con el aislado Bb17, como los tratamientos menos sobresalientes y sin diferencias estadísticas entre ellos y el resto de los aislados resultaron ser los más sobresalientes y sin diferencias entre ellos.

Discusión

La hipótesis planteada en esta investigación fue de que las pupas de *H. irritans* eran susceptibles a aislados de los hongos entomopatógenos *M. anisopliae*, *P. fumosoroseu* y *B. bassiana*. Los resultados mostraron que tanto *M. anisopliae* es capaz de micosis hasta 71% el de pupas de *H. irritans*, a la concentración de 1×10^8 conidias por mililitro. Sin embargo, se detectaron diferencias en susceptibilidad entre los aislados; los aislados Ma2 y Ma25 fueron los únicos que causaron alrededor del 70% de micosis en pupas; el resto micosó valores inferiores al 50%. Resultados similares son reportados por Ekesi *et al.*, (2002) con hongos entomopatógenos en pupas de *Ceratitis capitata* Wiedeman con valores de hasta el 94%. Los resultados anteriores son importantes debido a que muestran la necesidad de evaluar diferentes aislados de diferentes especies de hongos, a fin de seleccionar los más efectivos para el control de esta plaga. En este estudio se pueden seleccionar a los aislados Ma2 y Ma25, para

continuar con las investigaciones tendientes a utilizarlos como agentes de control biológico de *H. irritans*.

Literatura Citada

- Drummond, R. O., George, J. y Kunz, S. E. 1988. Effects of arthropod pests on livestock production. In: Control of arthropod pest on livestock: A review of technologies. Boca Ratón: CRC Press Inc, pp. 1-27.
- Ekesi, S., Maniania, N. K., y Lux, S. A. 2002. Mortality in three African tephritid fruit fly puparia and caused by the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Biol. Sci. Technol. 12: 7-17.
- Guglielmone, A. A., Kunz, S. E., Volpogni, M. M., Anziani, O. S., y Flores, S. G. 1998. Diagnostico de poblaciones de la *Haematobia irritans* (Díptera: Muscidae) resistentes a la cipermetrina en Santa Fe, Argentina. Rev. Med. Vet. 79: 353-356.
- Kinzer, H. C., Houghton W. E., Reeves J. M., Kunz S. E., Wallace J. D. y Urquhart S., 1994. Influence of horn flies on weigh loss in cattle, with notes on prevition of loss by insecticide treatment. Soutwest. Entomol. 9: 212-217.
- Luzuriaga, R., Eddl, C., Caracostantogolo, J., 1991. Diagnostico de parasitación com *Haematobia irritans* L. En bovinos de Misiones, Argentina. Rev. Med. Vet. 72: 262-263.
- Moorhouse, E. R., Gillespie, A. T. y Charnley. A. K. 1993. Selection of virulent and persistent *Metarhizium anisopliae* isolates to control blak vine weevil (*Otiorhynchussulcatus*) larvae on glasshouse begonia. J. Invertebr. Pathol. 62: 67-52.
- SAS Institute. 1997. SAS user s guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.
- Schmidt, C. D., Harris, R. L. y Hoffman, R. A. 1967. Mass rearing of the horn fly, *Haematobia irritans* (Díptera: Muscidae), in the laboratory. Annals of the Entomological Society of America, 60(3): 508-510.
- Steenberg, T., Jespersen, J. B., Jensen, K. M. V., Nielsen, B. O. y Humbert, R. A. 2001a. Entomopathogenic fungi in flies associated with pasture cattle in Denmark. J. Inertebr. Pathol. 77: 186-197.
- Steenberg, T. Jensen. K.-M. V. y Jespersen. J. B. 2001b. Microbial control of flies on pastured cattle. DJF-rapport nr. 49: 87-90.
- Torres, P. y Prieto, O. 1993. La mosca de los cuernos *Haematobia irritans*. En: Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos, bases epidemiológicas para su prevención y control. Nari, A. y Fiel, C. Ed. Montevideo. Editorial H. Sur. pp. 357-457.

6. DIFERENCIAS FISIOLÓGICAS Y EN LA SUSCEPTIBILIDAD A *Bacillus thuringiensis* DE CEPAS DE *Trichoplusia ni* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) DE LABORATORIO Y CAMPO

Gabriela Damas-Buenrostro, María M. Iracheta, Cristina Rodríguez-Padilla, Brenda Oppert, Patricia Tamez-Guerra.¹

¹Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, AP. postal. 46 "F". San Nicolás de los Garza, NL. México. 66451, fax: 83-52-42-12; e-mail: patamez@uanl.mx gabydamas@hotmail.com.

Introducción

Se ha encontrado que la actividad insecticida de los microorganismos ha conllevado al desarrollo de mecanismos de defensa por parte de los insectos, reflejada como resistencia al insecticida biológico.

En México, se ha reportado resistencia parcial a *B. thuringiensis* de *Plutella xylostella* en diferentes municipios de Guanajuato y Querétaro. Los niveles de resistencia oscilan entre 22 a 80 veces para Dipel, de 18 a 23 para Javelin y de 18 a 40 para Xen Tari, que son los bioplaguicidas a base de *B. thuringiensis* de mayor uso en esa región.

Además de las diferencias en actividad enzimática y durante la activación de las protoxinas en el intestino que se han correlacionado con el desarrollo de resistencia, se ha observado que en las diferentes etapas del desarrollo de resistencia, el ciclo de vida y fisiología de las cepas (ej., peso de las larvas en los diferentes estadios) se ve modificado (Tabashnik *et al.*, 2002).

La evaluación de actividad insecticida de los diferentes productos comerciales de Bt que se recomiendan para dicha plaga, además de las toxinas Cry específicas, es un factor importante en la determinación de resistencia, ya que al mostrar una diferencia de 10 veces la cantidad requerida para matar al 50% de la población expuesta, se puede decir que hay una aparición de resistencia al bioinsecticida (Bujanos, 1999).

En el presente trabajo, nos propusimos evaluar los niveles de sensibilidad de cepas de *T. ni* a productos comerciales y toxinas Cry de *B. thuringiensis*, expuestos en laboratorio y campo, así como poder evaluar cualquier diferencia en el ciclo biológico relacionada con dicha susceptibilidad, entre cepas de diferentes localidades expuestas o no a *B. thuringiensis*.

Materiales y Métodos

El establecimiento y mantenimiento de la cría, colonia de campo y la de laboratorio (sin exponer a *B. thuringiensis*), se efectuó en el laboratorio (temperatura 28°C ± 5; H.R 55% ± 5; fotoperíodo: 14L/ 10D en dietas artificiales), según lo reportado por McGuire y

cols. (1997). Los insectos de campo se obtuvieron mediante continuas colectas de larvas de cultivos donde se aplican productos a base de *B. thuringiensis*, en forma continua y sistemática, para el control de lepidópteros (Bajío Guanajuatense). Ya que se tenían establecidas las colonias, se realizaron bioensayos de gota teñida para determinar la DL_{50} de productos comerciales (XenTari® y Lepinox LPW®) (Tamez-Guerra y cols., 2000) y de capa superficial para determinar la CL_{50} a toxinas y protoxinas purificada de Bt (Cry1Aa, Ab y Ac) (Iracheta y cols, 2001), a insectos de laboratorio y campo. La inducción de resistencia a Bt, se realizó mediante exposición directa de insectos a Xen Tari de *B. thuringiensis* por generaciones, para inducir resistencia en forma paulatina.

Se realizaron evaluaciones de la DL_{50} en cada generación al observar cambios en el porcentaje de mortalidad esperada. Para la determinación de cambios morfológicos y fisiológicos, se realizaron monitoreos continuos del desarrollo de *T. ni*, a través de las diferentes etapas y estadios naturales del insecto.

Después de 7 días de incubación, se contaron insectos vivos y muertos, y se compararon los pesos corporales de larvas expuestas a *B. thuringiensis* (bioplaguicidas) y de la cría susceptible; se monitoreó el desarrollo a través de los de los diferentes estadios larvarios hasta la formación de pupa, donde se colectaron y contaron; se determinó el porcentaje de eclosión de adultos, y se realizaron conteos de masas de huevecillos colocados por lote.

Resultados y Discusión

Mediante el muestreo y establecimiento de una cría en el laboratorio de *T. ni* de distintas zonas agrícolas del bajío, donde se aplica continuamente *B. thuringiensis*, así como el establecimiento de una cría de *T. ni* no expuesta (susceptible), obtuvimos los primeros resultados de determinación del grado de susceptibilidad, mediante evaluación de actividad insecticida del Xen Tari® y de sus toxinas.

Los resultados mostraron una mayor susceptibilidad al Xen Tari, en larvas de Romita (DL_{50} 195.5 UI/mL LC 107.8-320.2), que para larvas de Salvatierra (DL_{50} 1259.8 UI/mL; LC 737.2-1928.3), la cual fue similar a la colonia del laboratorio. Con base en lo anterior, las larvas de Salvatierra fueron expuestas generacionalmente a Xen Tari®, incrementando significativamente el grado de resistencia a *B. thuringiensis* (Tabla 1). Sin embargo, después de 5 generaciones de exposición continua, la cepa de *T. ni* expuesta, presentó un descenso en su fertilidad, lo que nos obligó a cruzarla con la colonia del laboratorio para fortalecerla, pero perdió la resistencia que se había observado (Tabla 1).

Estos resultados nos permiten suponer que la resistencia a *B. thuringiensis* podría relacionarse con modificaciones en el ciclo de vida, tal como se ha reportado, que en las diferentes etapas del desarrollo de resistencia, el ciclo de vida y fisiología de las cepas se ve modificado (Tabashnik y cols, 2002). Al evaluar el grado de actividad

insecticida de Xen Tari® y las toxinas, sobre *T. ni* expuestas continuamente contra *T. ni* susceptibles, se observó que tanto para la toxina, como para la protoxina cry 1Ab, la cepa de *T. ni* de campo expuesta, presentó menor susceptibilidad que *T. ni* no expuesta, al contrario de lo observado para Cry1Aa (Fig 1).

Tabla 1. Mortalidad de larvas neonatas de *Trichoplusia ni* de campo expuestas a productos de *Bacillus thuringiensis* (DL₅₀ UI de ingrediente activo/ml) en bioensayos con gota teñida.¹

	Tercera generación		Quinta generación		Cruza de campo y laboratorio	
	DL ₅₀	LC ₉₅	DL ₅₀	LC ₉₅	DL ₅₀	LC ₉₅
Xentari	1259.	737.2-	3190.9	2192.4-	1028.2	897.3-1171.1
	8	1928.3	8	5253.9		
Lepinox	1510.	781.6-	3196.0	2639.8-	ND	ND
	7	2349.7	3	4072.1		

¹POLO-PC (LeOra, 1987), LC₉₅ representan los límites de confianza al 95%.

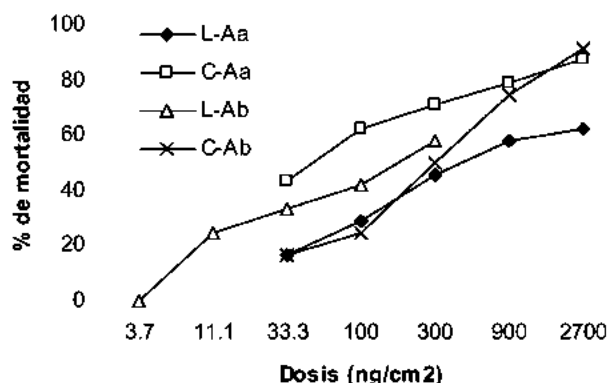


Fig. 1. Porcentaje de mortalidad de larvas neonatas de *Trichoplusia ni* expuestas a toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis*, en un bioensayo de aplicación en la capa superficial. L-Aa, colonia de laboratorio expuesta a Cry1Aa (LC₅₀ 692.0, LC₉₅ 261.7-3233.0); C-Aa, de campo expuesta a Cry1Aa (LC₅₀ 54.5, LC₉₅ 15.3-128.8); L-Ab, de laboratorio expuesta a Cry1Ab (LC₅₀ 163.9, LC₉₅ 63.2-2211.6); C-Ab, de campo expuesta a Cry1Ab (LC₅₀ 597.0, LC₉₅ ND).

Literatura Citada

Bujanos-M., R. 1999. Susceptibilidad a insecticidas de la palomilla dorso de diamante *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) de la región del Bajío, México. Doctoral Thesis, Colegio de Postgraduados. Montecillo.

- Iracheta, M. M., Pereyra-A. B., y J. Ferré. 2000. Screening for *Bacillus thuringiensis* crystal proteins active against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J Invertebr Pathol.* 76: 70-75.
- McGuire, M. R., L. J. Galán-Wong, and P. Tamez-Guerra 1997. Bacteria: Bioassay of *Bacillus thuringiensis* against lepidopteran larvae. *In: Manual of Techniques in Insect Pathology.* L. Lacey (Ed.). Academic Press. New York. N.Y. pp: 91-99.
- Tabashnik, B. E., Yong-Biao, T. J. Dennehy, M Sims, et al. 2002. Inheritance of resistance of Bt toxin Cry1Ac in a field-delivered strain of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Econ. Entomol.* 95: 1018-1026,
- Tamez-Guerra, P., M. R. McGuire, R. W. Behle, B. S. Shasha, and L. J. Galan-Wong. 2000. Assessment of microencapsulated formulations, for improved residual activity of *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 93: 219-225.

7. CARACTERIZACIÓN PARCIAL DEL SISTEMA QUITINOLÍTICO DE *Serratia marcescens* NIMA.

Alejandro Ruíz-Sánchez¹, Ramón Cruz-Camarillo¹, Rubén Salcedo-Hernández²
y J. Eleazar. Barboza-Corona².

¹Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México, D. F.

²Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad de Guanajuato. Carretera Irapuato-Silao, Km 9. Apartado Postal 311, 36500, Irapuato, Gto. México. e-mail: josebar@dulcinea.ugto.mx.

Palabras Clave: quitinasas, *Serratia marcescens*.

Introducción

La quitina es el segundo recurso renovable más abundante en la naturaleza, se le encuentra principalmente en el exoesqueleto de artrópodos y en la pared celular de los hongos. Uno de los componentes de la membrana peritrófica del intestino de insectos es precisamente la quitina, este biopolímero tiene como función principal la protección mecánica y bioquímica del epitelio intestinal de los insectos. Se sospecha que la quitina contenida en la membrana peritrófica dificulta la entrada de las proteínas insecticidas Cry a sus sitios de acción en el epitelio intestinal. Por esta razón se ha planteado el uso de quitinasas para facilitar la interacción de proteínas Cry con sus receptores y con esto incrementar la potencia de estos bioinsecticidas. Se ha mostrado que cepas de *Serratia marcescens* son excelentes productoras de quitinasas, por lo que se han utilizado extractos crudos para ver el efecto de las quitinasas sobre la potencia insecticida de Cry. Los bioensayos mostraron un incremento significativo en la potencia de Cry cuando se probó en presencia de quitinasas de *S. marcescens*. Sin embargo es difícil atribuir el aumento en la potencia de Cry exclusivamente a las quitinasas dado que se usaron extractos crudos del medio de cultivo de *S. marcescens*, y esta bacteria secreta toda una batería de enzimas digestivas. Debido a la desventaja anterior, consideramos importante el uso de quitinasas puras en lugar de extractos crudos.

La bacteria que se seleccionó fue *S. marcescens* NIMA, ya que presenta mayor actividad quitinolítica que otras cepas de *S. marcescens* (Ruíz-Romero, 1977). En este trabajo mostramos el perfil de quitinasas de *S. marcescens* NIMA, las cuales podrían ser clonadas y evaluadas contra insectos plaga de importancia agronómica en combinación con las proteínas Cry.

Materiales y Métodos

Determinación de la actividad quitinolítica usando quitina coloidal, quitina comercial y quitina coloidal teñida.

La cepa que se utilizó fue *Serratia marcescens* NIMA. Esta cepa se cultivo a 28 °C y 180 rpm en quitina coloidal, quitina comercial y quitina coloidal teñida al 3% peso

húmedo (Gómez-Ramírez y col. 2002), y se tomaron muestras del sobrenadante a diferentes tiempos. Algunas alícuotas fueron evaluadas y otras fueron congeladas para su uso posterior. La determinación de la actividad de quitinasa fue determinada a 535 nm por el método de Monreal y Reese (1969), el cual se basa en la reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) por la acción de la N-acetil-D-glucosamina. Una unidad fue definida como la cantidad de enzima que produce un μmol de NAG en una 1 hora bajo las condiciones experimentales utilizadas.

Determinación de la actividad quitinolítica con sustratos fluorescentes

Muestras obtenidas como se describió previamente fueron puestas a reaccionar a 37 °C (por lo menos 10 min), con diferentes derivados de la metilumbeliferona para detectar la actividad de endoquitinasa o de exoquitinasa. Una unidad se definió como la cantidad de enzima que cataliza la liberación de 1 μmol de 4-metilumbeliferona (MU) en 1 hora (Barboza-Corona *et al.*, 2003).

Purificación parcial de las quitinasas con una columna hidrófoba.

Se evaluó la posibilidad de purificar las quitinasas de *S. marcescens* por interacción hidrófoba utilizando una columna HiTrap Phenyl FF (Amersham-Bioscience) con un volumen de resina de 1.0 mL. El extracto crudo precipitado con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ al 80 % de saturación y dializado fue descongelado y diluido 10 veces con 100 mM de fosfatos de sodio pH 6.0 y 1.0 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (amortiguador de unión). La columna de interacción hidrófoba fue equilibrada con el amortiguador de unión y una vez que pasó toda la muestra se lavó con 50 mL del mismo amortiguador, diferentes lavados para diluir las proteínas se hicieron con concentraciones menores de sales. La determinación de la actividad se realizó usando sustratos fluorescentes.

Resultados y Discusión

El máximo de crecimiento alcanzado para *S. marcescens* NIMA fue de 1×10^{10} UFC/mL en quitina comercial y de 1×10^9 UFC/mL en quitina coloidal. Cuando se evaluó la actividad quitinolítica con DNS, la actividad de *Serratia marcescens* NIMA fue de 50 UQ/mL en quitina comercial y de 37 UQ/mL en quitina coloidal. Cuando se determinó la actividad específica (UQ/ μg de proteína) usando los derivados de la 4-metilumbeliferona se obtuvieron los siguientes resultados: con el dímero se obtuvo una actividad específica de 3.26, con el trímero de 14.92 y con el tetrámero de 401.23. Para la separación de los diferentes tipos de quitinasas de *S. marcescens* NIMA se usó una columna hidrófoba y la detección se hizo con diferentes derivados de la 4-metilumbeliferona.

Se lograron separar tres picos con actividades de endoquitinasa (fracción 25), exoquitinasa (fracción 26) y (fracción 16) quitobiasa. Esto indica que *S. marcescens* NIMA presenta una maquinaria quitinolítica completa. Dada la alta actividad quitinolítica de *S. marcescens* NIMA (más que otras cepas de *S. marcescens*), los genes que

codifican las quitinasas podrían ser clonados y las proteínas codificadas evaluadas junto con las proteínas Cry de *B. thuringiensis*.

Literatura Citada

- Barboza-Corona, J. E., E. Nieto-Mazzocco, R. Velázquez-Robledo, R. Salcedo-Hernández, M. Bautista-Justo, B. Jiménez and J. E. Ibarra. 2003. Cloning, sequencing, and expresión of the chitinase gene *chiA74* from *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(2):1023-1029.
- Gómez-Ramírez, M., L. I. Rojas Avelizapa and R. Cruz Camarillo. 2002. A sensitive technique to select chitinolytic microorganisms and to evaluate chitinase. *Advances in Chitin science. Vol V. Proceedings of the 5th Asia Pacific Chitin and Chitosan symposium and Exhibition, Bangkok, Thailand. March 13-15.* Edited by K. Suchiva, S. Chandkrachang, P. Methacanon and M. G. Peter. 740 pp.
- Monreal, J. and Reese, E. T. 1969. The chitinase of *Serratia marcescens*. *Can. J. Microbiol.* (15): 689-696.
- Ruíz-Romero A. Ma. G. 1977. Purificación y caracterización parcial de la quitinasa de *Serratia marcescens*. Tesis. ENCB, IPN. 26 pp.

8. BÚSQUEDA DE PARASITOIDES DE *Epilachna varivestis* (COLEOPTERA: COCCINELIDAE) EN XALOSTOC, MORELOS, MÉXICO.

Manuel Morales-Soto¹, Viviana Galicia-Gutiérrez, Miriam Gonzaga Muñoz y Juan Manuel García Romero.

¹Campus Oriente. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Nicolás Bravo s/n Parque Industrial Cuautla. Xalostoc, Ayala, Morelos. C.P. 62700.

Palabras clave: Dípteros, muestreo, pupas.

Introducción

El cultivo del frijol grano se ha hecho relativamente importante entre los productores de la región oriente del Estado de Morelos, debido a que cerca del 20% del consumo nacional debe ser importado, lo que hace su cultivo más rentable que otros vegetales. Su siembra ocurre en tres momentos del año, de noviembre a enero y de febrero a mayo bajo riego, y de julio a octubre bajo condiciones de secano.

Por otra parte, *E. varivestis* Mulsant, llamada conchuela, es considerada como la plaga del frijol más importante en México. En Morelos, ésta especie se encuentra presente a lo largo del año, con tres generaciones: primavera, verano y otoño; aunque la generación de mayor impacto se presenta durante el verano, que es cuando ataca a los cultivos de temporal y su control se hace indispensable.

La utilización de variedades resistentes a la conchuela está limitada, debido a las preferencias de consumo de frijol "peruano" sobre los de color negro, que tienen esta característica de resistencia.

En cuanto al control natural, con potencial para el control biológico, hasta ahora se identificado en la región una especie. Si bien se ha citado la presencia de los dípteros sarcófagidos *Sarcophaga rheinhardi* y a los taquínidos *Hyalomyodes triangulifera* para Cuernavaca, Morelos (Ayala, 1982), en el oriente del Morelos sólo se ha confirmado la presencia de esta última especie.

Por lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo determinar la presencia de dípteros parasitoides de *E. varivestis* en Xalostoc, Ayala, Morelos.

Material y Métodos

El presente estudio es el segundo año del programa de monitoreo de enemigos naturales de la conchuela del frijol y se realizó dentro del campo experimental del Campus Oriente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, ubicado en Xalostoc, municipio de Ayala, cuya área se localiza geográficamente a los 18° 57' Latitud Norte y 90° 41' Longitud Oeste, a una altitud de 1291 m.s.n.m. Con un clima

Aw0, con periodo de lluvia entre junio y septiembre, con prolongada sequía intraestival en el mes de agosto. (Taboada y col., 1993).

Se sembraron mil metros cuadrados con frijol coconita, que es un criollo local, tolerante al ataque de la conchuela a finales del mes de abril del 2003, bajo sistema de irrigación. La distancia entre plantas fue de 25 cm y entre surcos de 90 cm. No se aplicó ni fertilización, ni control químico para controlar plagas. Se hizo deshierbe manual durante los primeros 35 días.

A partir del mes de junio, se presentaron las primeras conchuelas sobre el frijol. Se realizaron cinco muestreos sin reemplazo de pupas de la conchuela de frijol durante el mes de Julio. Estas se mantuvieron en frascos con una cubierta de malla, para permitir su aireación. Se revisaron diariamente para identificar la presencia de enemigos naturales o la condición de su desarrollo, contando y separando el número de adultos emergidos o en su caso de enemigos naturales.

Resultados y Discusión

En el año 2002 se colectó un total de 1508 pupas, donde en promedio el 85.7% de cada fecha de colecta logró alcanzar el estado adulto. Sólo el 0.13% de las pupas fue atacado por dípteros parasitoides, identificados como *Hyalomyodes triangulifera* (DIPTERA: TACHINIDAE).

En el año 2003, se colectaron 1495 pupas. En promedio mudaron el 77.9% para cada fecha de muestreo. En ningún caso emergió algún parasitoide.

Cuadro I. Número de pupas colectadas, por ciento de pupas muertas y que alcanzaron el estado adulto de *Epilachna varivestis*, así como de pupas con parasitoides, durante los muestreos en el mes de Julio de los años 2002 y 2003, en Xalostoc, Ayala, Morelos.

Fecha de colecta	Pupas	Muertas	Adultos	Parasitoides
12-07-02	309	3.5	96.4	0
18-07-02	82	8.5	91.4	0
22-07-02	56	8.9	91	0
26-07-02	968	15.3	84.4	2
31-07-02	93	34.4	65.6	0
15-07-03	789	4.5	95.4	0
23-07-03	161	1.2	98.7	0
25-07-03	470	1	98.9	0
30-07-03	75	69.3	18.9	0

El muestreo realizado durante dos años consecutivos, confirman la estacionalidad de la presencia de la conchuela en el oriente de Morelos, así como la magnitud de su tamaño poblacional, pues su densidad es de cerca de 1.5 conchuelas por metro cuadrado durante el mes de julio.

Por otra parte, la baja incidencia de parasitoides que se sabe existen en el estado desde hace años, no es explicable a fallas en el método de muestreo. Sin embargo, dentro de la región, es común el abuso de plaguicidas sintéticos para el control de las plagas del frijol y ejote, por lo que existe una gran probabilidad de que esto haya tenido como consecuencia la eliminación de los enemigos naturales.

Se concluye que los parasitoides *Hyalomyodes triangulifera* tienen una prevalencia del 0.066 por ciento sobre la conchuela de frijol en Xalostoc, Morelos, lo que significa que no existe ningún enemigo natural que esté regulando esta plaga. Asimismo, los frijoles coconita, a pesar de ser muy atacados por la conchuela y estar considerados como tolerantes, no tienen efecto sobre la mortalidad de las pupas.

Literatura Citada

- Ayala, R.J.M. 1982. El control Biológico como recompensador de nuestra ecología. Universidad de Guadalajara. México.
- Morales, M y V. Galicia. 2002. Presencia de dípteros parasitoides de la conchuela del frijol, en Xalostoc, Morelos, México. Mem. XXV Congreso Nacional de Control Biológico. Hermosillo, Son. Pág. 173 –174.
- Taboada, S.M., Reyna, T.T., Oliver, G.R y Beltrán, M. Evaluación de la sequía intraestival en el Estado de Morelos. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.

9. AFIDOFAGOS ASOCIADOS A *Ovatus mentharius* (van der Goot) (HOMOPTERA: APHIDIDAE) SOBRE MENTA, *Mentha* spp., EN “LAS ÁNIMAS”, TULYEHUALCO, DISTRITO FEDERAL

L. Peña Olmos¹, R. Peña-Martínez², R. Terrón Sierra¹, S. Rodríguez Navarro¹, G. Montoya Díaz¹, A. Fierro-Álvarez¹

¹Depto. de Producción Agrícola y Animal, CBS, UAM-X. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, México D.F. 04960. E-mail elenapoe@hotmail.com ²ENCB-IPN. Prol. Carpio y Plan de Ayala. Col. Santo Tomás, México D.F. 11340. E-mail mrpena@encb.ipn.mx

Palabras claves: Pulgón, Coccinellidae, Hiperparasitoides

Introducción

Los afidófagos son un grupo de insectos benéficos también conocidos como enemigos naturales de áfidos o pulgones, constituyen un medio de lucha para el control biológico, incluyen depredadores, parasitoides y patógenos que mantienen el equilibrio ecológico de las poblaciones y disminuyen posibles pérdidas económicas.

En México se han encontrado diversas especies de Coleópteros, Dípteros y Neurópteros asociados a especies de pulgones como el del rosa laurel, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe en su hospedera silvestre, *Asclepias glaucescens* (Trejo *et al.* 1998), a pulgones en cítricos (Gaona *et al.*, 2000), asimismo a pulgones en trigo y cebada (Lomelí *et al.*, 2001), entre otros.

En el predio agrícola "Las Ánimas", Tulyehualco, a partir del año 2001 se ha presentado el pulgón de la menta, *Ovatus mentharius* (van der Goot) en *Mentha* spp., tanto la planta como el pulgón son especies exóticas de las cuáles existe muy poca información en México y en el mundo; *O. mentharius* sólo se había registrado con anterioridad en Noviembre de 1998 en Cuernavaca, Morelos (Trejo, 2001). En México la *Mentha spicata* L. var. Tashkent, conocida como menta verde o Hierbabuena es la más frecuente de las mentas. El género *Mentha*, comprende unas 20 especies y un número mucho mayor de variedades, las cuales están intensa y agradablemente perfumadas, su introducción en Xochimilco, data de los años ochenta.

La menta tiene valor industrial, ya que de ella se extrae el mentol, producto básico en dulcería, licores, perfumería y también muy utilizado en medicina y farmacia, no sólo como aromatizante, sino a causa de sus propiedades terapéuticas (Guisepppe *et. al.* 1985).

Debido a la importancia agronómica que tienen los áfidos, al valor industrial de la menta y al papel que puedan jugar los afidófagos en su control biológico, el presente trabajo pretende conocer a estos últimos y sus interacciones con *Ovatus mentharius* en *Mentha* spp.

Materiales y Métodos

Las ánimas, Tulyehualco, Xochimilco, D.F., es un predio que pertenece a la UAM Xochimilco, ubicado en la parte baja del lado norte del volcán Tehutli, se encuentra a 19°15' 3" L.N. y 99° 02' 5" L.W., 2300 msnm. La precipitación anual es de 800 a 1500 mm. El clima es C(w), templado subhúmedo con lluvias en verano. La localidad cuenta con estación meteorológica; en el predio se han reconocido 103 especies de plantas arvenses, medicinales y alimenticias (Fierro *et. al.*, 2001). Se han introducido además plantas medicinales, de uso mágico o esotérico y aromáticas, entre estas *Mentha* spp. (*M. piperita* L. var. citrata, *M. pulegium*, *M. spicata* L. var. tashkent y var. crispa) que recientemente han presentado fuertes infestaciones de *O. mentharius*.

Con objeto de conocer la fluctuación poblacional de *O. mentharius* y sus afidófagos, durante el periodo Marzo-Mayo del 2003 (periodo seco), se hicieron muestreos directos de áfidos sobre *Mentha* spp., por duplicado, de manera semanal (Hughes, 1972). Los muestreos consistieron en "sacudir" las plantas sobre un plato de unicel de 20 cm de diámetro, de dónde se colectaron en viales con alcohol del 70%, posteriormente fueron cuantificados.

La muestra duplicado consistió en cortar 10cm de cada tipo de menta que contenían tanto áfidos como larvas y adultos de los diversos grupos de enemigos naturales y se colocaron en botes de plástico tapados con malla ó tul de nylon, para cría con objeto de obtener adultos que fueron identificados por R. Peña-Martínez. Se elaboraron dos colecciones de referencia de los afidófagos que se depositan en la ENCB-IPN y en el Insectario de la UAM-Xochimilco.

Se elaboró una base de datos en "Excell" con los registros de presencia ausencia y cuantificación de ejemplares por fechas. Para el análisis de datos se asignó a cada grupo de enemigos naturales un índice (10) por cada uno de los ejemplares de los grupos presentes en cada muestreo.

Resultados y Discusión

459

Se observó que los depredadores fueron el grupo más variado, con cinco especies de Coleópteros de la familia Coccinellidae: *Coccinellina emarginata* Mulsant, *Hippodamia convergens* Guérin-Meneville, *Psyllobora* sp., *Scymnus huachuca* Gordon, *Scymnus loewi* Mulsant; Dípteros: Chamaemyiidae: *Leucopis* sp.; Syrphidae: *Allograpta* sp.. Hemípteros: Anthocoridae: *Orius* sp. Neuroptera : *Chrysopa* sp. y una especie no determinada de Hemerobidae. Durante las colectas no se encontraron parasitoides primarios, usualmente Hymenoptera: Aphidiidae, que son devorados por los hiperparásitos Pteromalidae: *Asaphes californicus* Girault y *A. suspensus* (Nees). Las familias de afidófagos identificadas complementan a las ya reportadas para pulgones sobre *Asclepias*, (Trejo *et al.* 1998), cítricos (Gaona *et al.*, 2000) y sobre cereales (Lomelí *et al.*, 2001). La identidad específica de los hiperparásitos constituye parte de los nuevos registros de este grupo para México.

En la figura 1. Observamos que al principio las dos poblaciones crecen y disminuyen de manera simultánea hasta el 24 de abril, probablemente también relacionado con ascenso de temperaturas (≥ 30 °C), posteriormente la relación es inversamente proporcional.

Figura 1. Fluctuación poblacional de *O. mentharius* y sus afidófagos

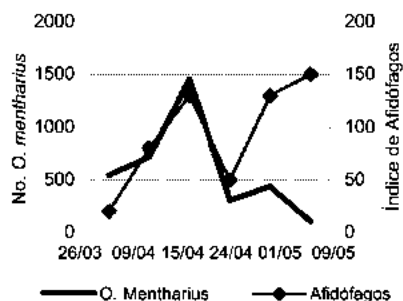
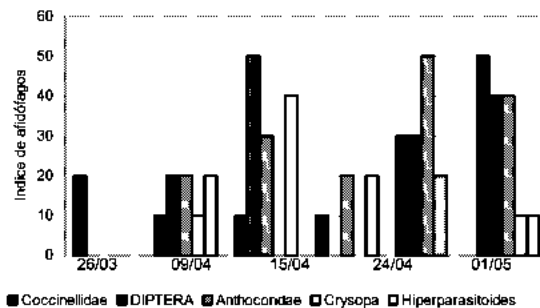


Figura 2. Afidófagos de *O. mentharius* en *Mentha* spp.



En la figura 2, observamos que los Coccinellidae fueron el único grupo que estuvo presente constantemente sobre *Mentha* spp. con índices altos; enseguida Anthocoridae y Diptera que tuvieron índices altos y solo estuvieron ausentes en una fecha. *Chrysopa* sp. , por el contrario estuvo presente de forma inconstante y con bajo índice. Con respecto a los hiperparasitoides , como lo menciona Sullivan 1988, estos devoran a sus presas; por lo que no fue posible determinar en el presente estudio a los parasitoides primarios (Aphididae), sus índices fueron altos aunque su frecuencia no fue constante.

Se constata que las especies registradas en este estudio, a excepción de *Asaphes* spp., son un factor potencial para el manejo de *Ovatus mentharius*.

Literatura Citada

- Fierro, A. A.; M. M. L. González, A. Soberanes S. y A. F. Rodríguez. 2001. Arvenses alimentarias en "Las Animas", Tulyehualco, DF. XXII Cong. Nal. Ciencia de la Maleza. ASOMECEMA. 96-102 pp.
- Gaona, G. G., E. Ruíz Cancino y R. Peña-Martínez. 2000. Los pulgones y sus enemigos naturales en naranja, Tamaulipas. *Acta Zool. Mex.* (n. s.) 81:1-12 .
- Guiseppe, G., G. Negri, y C. Cappelletti. 1985. Tratado de Botánica. Ed.Labor, 988-990 pp.
- Hughes, R.D. 1972. Population Dynamics p.p.275-293. En: van Emden H.F. Aphid Technology. Academic Press London and New York. 344 pp.
- Lomelí, Flores, J. R., R. Peña-Martínez, A. D. Camacho Vera. 2001. Identificación de áfidos y sus enemigos naturales en trigo y cebada . *Vedalia*, 8(1):17-26.
- Sullivan, D.J. 1988. Hyperparasites. Pp 189-201. En: Minks, A. K. Y P. Harrewijn (Eds.) Aphids Their Biology, Natural Enemies and Control. ELSEVIER Amsterdam .364 pp.
- Trejo, Loyo A., R. Peña-Martínez y L. N. Quiroz, R. 1998. Interacciones entre *Asclepias glauscesens* , *Aphis nerii* y sus enemigos naturales en Chamilpa, Morelos. ENCB-IPN. *Zoología Informa.* (40): 17-32.
- Trejo, Loyo A. 2001. Afidos y sus afidófagos en Cuernavaca, Morelos. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. Tesis de Maestría. 190 pp.

**10. *Bambusaspis miliaris robusta* (HOMOPTERA: ASTEROLECANIIDAE)
Y SUS ENEMIGOS NATURALES EN CD. VICTORIA, TAMAULIPAS, MÉXICO**

Griselda Gaona García^{1 y 2}, Enrique Ruíz Cancino¹, Juana Ma. Coronado Blanco¹ y Vladimir A. Trjapitzin¹.

¹División de Estudios de Postgrado e Investigación. UAM Agronomía y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Cd. Victoria, Tam. 87149, México. ²Instituto de Ecología y Alimentos, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Cd. Victoria, Tam. 87040, México. ggaona@uat.edu.mx

Palabras Clave: Asterolecaniidae, Coccinellidae, Encyrtidae.

Introducción

La distribución y diversidad de las escamas (Homoptera: Coccoidea) son relativamente poco conocidas en la República Mexicana. Se han estudiado algunas especies de escamas y piojos harinosos al ser catalogadas como plagas en algunos cultivos agrícolas de importancia económica. Miller (1996) reportó la familia Asterolecaniidae en México con 3 géneros: *Asterolecanium* (8 especies), *Sclerosococcus* (2 especies) y *Mycetococcus* (1 especie). Hernández (1999) incluyó a las escamas *Asterolecanium bambusae* Boisduval y *A. pustulans* (Cockerell) para el Estado de Tamaulipas. Gaona *et al.* (2002) reportaron la presencia de *Bambusaspis miliaris robusta* (Green) sobre bambú *Bambusa multiplex* en Tamaulipas. Cruz y Segarra (1996) incluyen a *Chilocorus cacti* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae) como depredador de *Asterolecanium bambusae* Boisduval y de *A. pustulans* (Cockerell).

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en Cd. Victoria Tamaulipas, México. Se colectaron hojas de bambú, *Bambusa multiplex* (Lour) infestadas de escamas en varias fechas (19-VIII-1998, 28-VII-1999, 19-VIII-1999, 9-IX-1999, 17-IX-1999, 21-X-1999, 21-III-2000 y 19-IV-2003). El material fue colocado en cajas Petri para esperar la emergencia de los parasitoides. Los depredadores adultos fueron colectados directamente en frascos provistos de alcohol al 70%, las larvas y pupas se colocaron en cajas Petri hasta obtener los adultos, los cuales fueron montados en 'puntos', siendo determinados con las claves de Gordon (1985) y comparados con material identificado de la Colección de Coccinellidae del Museo de Insectos de la UAM Agronomía y Ciencias-UAT. Los parasitoides fueron montados en 'puntos' y clasificados con las claves de Noyes *et al.* (1997). El material quedó depositado en dicho Museo.

Resultados y Discusión

Se obtuvieron especímenes de la escama *Bambusaspis miliaris robusta* (Green) sobre bambú, planta ornamental comúnmente utilizada como cerco o de sombra en Cd. Victoria,

Tam. Esta especie de escama ocurre casi todo el año, sin embargo, cabe señalar que las mayores infestaciones se observaron en los meses de septiembre y octubre de 1999. Las altas infestaciones de este insecto se encuentran principalmente en el haz, estando presentes también en el envés de las hojas. El daño que ocasionan es una clorosis gradual que va aumentando conforme crece la infestación. Como resultado de las observaciones, las características morfológicas más aparentes son su cuerpo de forma elongada, ensanchándose ligeramente desde el tórax hacia la parte posterior del cuerpo, su color amarillo claro transparente y el cuerpo rodeado por un fleco marginal.

Los enemigos naturales que se obtuvieron para *B. miliaris robusta* en este estudio fueron principalmente depredadores. En las colectas realizadas, se observó la presencia de adultos y larvas de coccinélidos que se encontraban alimentándose de las escamas, siendo identificados taxonómicamente como *Chilocorus cacti* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae), especie de catarinita catalogada como muy voraz. En este estudio se observó que *B. miliaris robusta* se encuentra controlada por *C. cacti* en forma natural ya que no se han efectuado liberaciones del depredador en Cd. Victoria. Es una catarinita de 4 a 6 mm de longitud, su cuerpo es oval y convexo, el color del cuerpo es negro excepto dos manchas rojas grandes en los élitros, y el metasterno, metasterno y abdomen amarillo o rojo; la superficie dorsal es lisa, pulida y con puntos finos. Gordon (1985) indica que se distribuye en el norte de Sudamérica, Centroamérica, México y las islas del Caribe, siendo su límite norte el sur de Estados Unidos. Ruíz y Coronado (2002) indican la presencia de *C. cacti* en los estados de Tamaulipas, Nuevo León, Sonora y Baja California Norte en México. Dicha especie se encuentra reportada atacando plagas agrícolas del Caribe como *Asterolecanium bambusae* y *A. pustulans* (Cruz y Segarra, 1996), las cuales se encuentra distribuidas en nuestra área de estudio.

El control natural con parasitoides fue muy escaso ya que sólo se obtuvo la emergencia de dos avispas parasíticas del material colectado y depositado en cajas Petri. Los parasitoides obtenidos fueron identificados como *Metaphycus* sp. (Hymenoptera: Chalcidoidea: Encyrtidae), en las colectas del 9-IX-1999 y del 17-IX-1999.

Guerrieri & Noyes (2000) indican que *Metaphycus* ataca coccoideos de las familias Asterolecaniidae, Cerococcidae, Coccidae, Diaspididae, Eriococcidae, Kermesidae, Kerriidae y Pseudococcidae, además de un coleóptero de la familia Scolytidae en Europa; en dicha área, algunas de sus especies parasitan a los siguientes asterolecaniidos: *Asterodiaspis ilicicola* Targioni-Tozzetti, *A. minus* Lindinger, *A. variolosum* (Ratzeburg), *Asterolecanium coffeae* Newstead y *Planchonia arabidis* Signoret. Trjapitzin y Ruíz (1995) indican la presencia de siete especies identificadas de *Metaphycus* en México, algunas de ellas atacan especies de otras escamas de las familias Coccidae y Kerriidae, colectadas en el Tamaulipas, Nuevo León, Distrito Federal y Oaxaca.

Conclusión

En este estudio se encontró el depredador *Chilocorus cacti*, el cual ejerce un control natural de *Bambusaspis miliaris robusta* en Cd. Victoria, Tam. ya que las poblaciones de la

escama no se consideran como plaga. La especie de *Metaphycus* obtenida se encontró muy poco representada.

Literatura Citada

- Cruz, C. y Segarra A. 1996. Potential for biological control of crop pests in the caribbean. Crop Protection Department. University of Puerto Rico. Mayagüez, Puerto Rico. 10 pp.
- Gaona, G.G., S. Myartseva, E. Ruíz C. y J.M. Coronado B. 2002. Nuevos registros de Coccoidea (Homoptera) de Tamaulipas y México. Actas XXV Congreso Nacional de Control Biológico, pp. 256-259.
- Gordon, R.D. 1985. The Coccinellidae (Coleoptera) of America north of Mexico. J. New York Entomol. Soc. 93(1):1-912.
- Guerrieri, E. & J.S. Noyes. 2000. Revisión of European species of genus *Metaphycus* Mercet (Hymenoptera: Chalcidoidea: Encyrtidae), parasitoids of scale insects (Homoptera: Coccoidea). Systematic Entomol. 25: 147-222.
- Hernández V., C. L. 1999. Escamas y piojos harinosos (Homoptera: Coccoidea) y sus parasitoides (Hymenoptera: Chalcidoidea). Tesis de Maestría. UAMAC. UAT. 71 pp.
- Miller, D. R. 1996. Checklist of the scale insects (Coccoidea: Homoptera) of Mexico. Proc. Entomol. Soc. Wash. 98 (1): 68-86.
- Noyes, J.S., J.B. Woolley & G. Zolnerowich. 1997. Encyrtidae, pp. 170-320. En: G.A. Gibson, J.T. Huber & J.B. Woolley (Eds.), Annotated keys to the genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). NRC Research Press. Ottawa. 794 pp.
- Ruíz, C.E. y J.M. Coronado B. 2002. Artrópodos terrestres de los estados de Tamaulipas y Nuevo León, México. Serie Publicaciones Científicas CIDAFF-UAT No. 4. Cd. Victoria, Tam., México. 377 pp.
- Trjapitzin, V.A. & E. Ruíz C. 1995. Annotated checklist of encyrtids (Hymenoptera: Chalcidoidea: Encyrtidae) of México. Folia Entomol Mex. 94:7-32.

11. UNA TECNICA PARA MONTAR ESPECIMENES DE *Trichogramma* spp (HYMENOPTERA:TRICHOGRAMMATIDAE)

Manuel Ramírez Gómez¹

¹Universidad Autonoma Chapingo-Unidad Regional Universitaria de Zonas aridas
Bermejillo, Dgo mramirez@chapingo.uruza.edu.mx

Palabras Clave: *Trichogramma*, montaje identificación

Introducción

En el trabajo taxonómico siempre es importante la preservación y el montaje para dar paso a la identificación de especímenes. En el caso especímenes de *Trichogramma* spp muy escasas las técnicas de montaje que permitan identificar las especies y las disponibles requieren de sofisticados procedimientos y/o materiales que las hacen muy consumidoras de tiempo y muy difícil de llevarlas a la práctica por el tamaño diminuto (1-1.5 mm), de estas avispas parasíticas, dando como resultado que menos investigadores se lleguen a interesar en su estudio.

De acuerdo a Platner, *et al.* (1998), los pasos para montar un espécimen son: preparación del espécimen, clarearlo, posicionarlo, deshidratarlo, transferirlo a aceite de clavo y montarlo. La técnica que describiremos a continuación ha sido utilizada por el autor en su trabajo de tesis de maestría y actualmente, una vez difundida verbalmente, ha empezado a ser utilizada por otros investigadores interesados en la materia, de allí la importancia de la difusión escrita de la misma. Por tal razón, el objetivo del presente trabajo es describir cada uno de los pasos necesarios para lograr un montaje exitoso.

Materiales y Métodos

La metodología se irá describiendo conforme se describa cada paso. Los materiales utilizados son:

1) Microscopio estereoscopio	12)Cajas Petri
2) Lámpara óptica	13)Vidrios portaobjeto
3) Aspirador	14)Vidrio cubreobjetos
4) Alcohol 200 Proof (siempre que se pueda)	15)Agujas de disección o palillos de bamboo con alfileres 00 en las puntas
5) Dos goteros	16)Pinzas para montaje
6) Soluciones de alcohol al 10 % (mezclado con Triton X); 20%, 40%, 60%, 80%, 90%, 95% y 100%	17)Matraz de 100ml
7) Triton X	18)Papel Kleenex®
8) Aceite de clavo	19)Cotonetes
9) Bálsamo de Canadá	20)Porcelanas de 12 recipientes circulares, y
10)Hidroxido de Potasio (KOH)	21)"Paciencia"(indispensable)
11)Viales	

--	--

Resultados

La metodología es como se indica a continuación

Preparación del Espécimen

Este paso puede incluir el tomar la muestra de especímenes vivos y matarlos. Usualmente lo hacemos con un pequeño aspirador y soplando suavemente se transfieren a alcohol al 75%

Clareo del Espécimen

Una vez en el alcohol al 75%, los especímenes se transfieren a una solución de Hidróxido de Potasio (KOH) que puede ser al 5, 10, o 15 % para clarificarlo. El KOH desintegra los órganos internos del espécimen y da transparencia al mismo, garantizando de esta manera una buena visión de las estructuras consideradas para la identificación correspondiente. El tiempo que puede durar un espécimen en la solución de KOH depende de la consistencia del espécimen. Usualmente 40-60 minutos es suficiente, pero algunos pueden requerir 24 horas. Se debe tener cuidado de revisar el espécimen cuando este en el KOH, pues un sobre-clareo dejara el espécimen simple y completamente transparente quedando obsoleta para su identificación. Una vez clareado el espécimen debe pasarse a una mezcla de alcohol al 10% y Triton X por una noche. Se debe agregar solamente el 1.5 % de Triton X ala cantidad de alcohol al 10%. Por ejemplo: 1.5 ml Triton X se debe mezclar con 100 ml de alcohol al 10%. Esta es la única concentración de alcohol que se mezcla con el Triton X.

Posicionamiento

De acuerdo a varios autores (Platner et al, 1998; Ramirez, 2000), este es el paso más importante y determinante para obtener un montaje exitoso. No abundaremos demasiado en el porque ya lo hemos hecho anteriormente en otro congreso (Ramirez, 2000), pero si tenemos que decir que la modificación del sustrato y la manera en que lo hacemos, son dos aspectos nuevos y relevantes. Entonces primeramente se coloca el vidrio portaobjeto bajo el microscopio, se coloca sobre el una pieza de papel Kleenex®

de 1 cm² aprox. Dicha pieza de papel se satura con la mezcla de Triton X y alcohol al 10% utilizando un gotero, entonces sobre el se coloca el espécimen. Se debe lograr acomodarlo en posición de reposo al menos, pero si es posible se pueden expandir las alas y antenas.

El uso del Triton X permitirá reposicionar el espécimen en el mismo momento del montaje. Lo que sí es fundamental es que la región ventral del espécimen quede paralela al sustrato, de esta manera aseguramos una buena posición de la placa genital y sus estructuras. Posteriormente, tomando un vidrio cubreobjetos (8mm circular o 8mm cuadrangular) y lo dejamos caer "gentilmente" a una altura de 1cm aprox. sobre el espécimen. Si es necesario se puede eliminar el exceso de alcohol-Triton X utilizando un cotonete y posándolo en varios puntos alrededor del espécimen que ha sido cubierto con el cubreobjetos. Entonces se inicia el proceso de deshidratación.

Deshidratación

Una vez posicionado, el vidrio portaobjetos con el espécimen cubierto por el cubreobjetos se coloca a un lado del sitio de trabajo. Una vez allí, se elimina por completo el exceso de la mezcla alcohol 10%-Triton X con un cotonete y utilizando un gotero tomamos ahora alcohol al 20% e impregnamos el papel Kleenex® con él. El Kleenex® debe estar saturado por al menos 30 minutos a temperatura ambiente de laboratorio. Posteriormente se elimina el exceso del alcohol al 20% utilizando cotonete y se procede a saturarlo con alcohol al 40%. De esta manera sucesiva se va corriendo el espécimen por el resto de las concentraciones y/o soluciones de alcohol (60%, 80%, 90%, 95% y 100%).

Transferencia del Especimen al Aceite de Clavo

El aceite de clavo debe colocarse en las hendiduras circulares de las porcelanas. Una vez que el espécimen ha estado al menos los 30 minutos en la solución de alcohol al 100% entonces se lleva de nuevo bajo el microscopio y utilizando un palito de bambú con punta de alfiler 00 se desliza suave y lateralmente el cubre objetos hasta dejar libre el espécimen. Entonces, y utilizando el mismo instrumento agudo, se toma el espécimen y se transfiere gentilmente al aceite de clavo. Allí debe permanecer una noche antes de ser definitivamente montado.

Montaje

Un espécimen bajo este proceso, se recomienda montarlo en una solución de aceite de clavo y Bálsamo de Canadá la cual constituye el medio de montaje. Las mezclas aceite: Bálsamo pueden ser 4:1 o 5:1. Ello depende de que tan suave, flexible y/o viscoso, preferamos el medio de montaje. Cualquiera de las dos proporciones antes mencionadas proveen un medio bastante flexible y viscoso. Entonces se procede a colocar el portaobjetos bajo el microscopio; se deposita una pequeña gota del medio de montaje preparado (2mm de diámetro) sobre y en el centro del portaobjetos; se procede a tomar el espécimen con uno de los instrumentos de punta aguda y se transfiere gentilmente sobre la gota del medio de montaje. Hecho esto se reposiciona el

especímen cuidando expandir las alas y antenas, así como las patas posteriores. La consistencia de este medio permite llevar a cabo el reposicionamiento del especímen.

Una vez hecho esto, utilizando las pinzas para montaje, se coloca directamente el cubreobjetos y/o se puede agregar en el centro del cubreobjetos otra pequeña gota de medio y entonces ahora sí colocarse sobre el especímen reposicionado. Finalmente el especímen ha sido montado y de inmediato se puede observar bajo el microscopio compuesto en un aumento de 10, si la posición de la placa genital muestra sus estructuras plenamente para la identificación correspondiente. Entonces, si ello es afirmativo, se dejará descansar el montaje por 3-5 días para que seque el medio y este listo para observarse e identificarse en el microscopio compuesto a aumento de 40X y 100X.

Discusión

Todas estas técnicas para himenópteros parasíticos de tamaño pequeño requieren paciencia y tiempo para dominarlas. La experiencia muestra que un individuo interesado en el montaje de trichogramas puede lograr los primeros montajes exitosos en un día trabajando intensivamente. Pues esta técnica resulta por demás más asimilable que otras propuestas por otros autores. Pero sobre todo la consistencia en los montajes y la calidad de los mismos obtenidos a través de esta técnica, son comparables a los que se realizan en la Universidad de California por citar un ejemplo.

De esta manera pues, esperamos que el “facilitamiento” de montajes de especímenes de *Trichogramma* sp a través de esta técnica, resulte en un mayor número de personas con interés de investigar a este parasitoide, el cual se reproduce muy fácil, pero no se hace un uso eficiente del mismo por la carencia de conocimiento taxonómico a nivel de especie, de lo cual otros aspectos como capacidad de búsqueda y preferencia de hospederos (planta y herbívoro), se derivan.

Literatura Citada

- Platner G.R., Velten R.K., Planoutene M., Pinto J.D. 1998. Slide-mounting techniques for *Trichogramma* (Hymenoptera:Trichogrammatidae) and other minute parasitic Hymenoptera. *Entomological News*. 110(1): p. 56-64
- Ramirez, G.M., 2000. Positioning *Trichogramma* spp (HYMENOPTERA:TRICHOGRAMMATIDAE) SPECIMENS ON MICROSCOPE SLIDES. Memorias del Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana Control Biológico 2000

12. DETERMINACIÓN DE GENES *CRY1* EN CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS CONTRA *DIATRAEA SACCHARALIS* (F.) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE).

Ninfa María Rosas García¹, Benito Pereyra Alférez², Luis Galán Wong²
y Lilia H. Morales Ramos².

¹Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa, Tamp.

²Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L., San Nicolás de los Garza, N.L. nrosas@ipn.mx

Introducción

El barrenador de la caña de azúcar, *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae), está ampliamente distribuido en los cultivos de caña de azúcar en el continente americano (Davidson, 1992). En México, es la plaga más importante de este cultivo (Johnson, 1984; Legaspi *et al.*, 1999). Las larvas barrenan verticalmente los tallos de la caña formando galerías, esto propicia la invasión del muermo rojo, finalmente la planta se debilita y muere. (Legaspi *et al.*, 1997). El barrenador de la caña de azúcar ataca aproximadamente el 30% de los cultivos. Esto es un hecho notable ya que la industria de la caña de azúcar en México reportó que la superficie sembrada durante 1998-99 fue de 632,506 hectáreas y la producción de azúcar fue de 5.1 millones de toneladas al año (Quintero-Ramírez, 2001). Estos datos colocan al cultivo de caña de azúcar en la cuarta posición entre los cultivos de importancia económica de nuestro país. Por lo que los daños causados por esta plaga se ven reflejados en el valor económico de este cultivo.

Para solucionar este problema, algunas alternativas se han aplicado para controlar a la larva de este insecto. El control químico ha sido aplicado con poco éxito ya que es inconsistente al matar a las larvas y no ha mostrado una significancia estadística en los rendimientos de azúcar, adicionalmente el uso de parasitoides no ha logrado un control exitoso debido a las condiciones desfavorables del ambiente (Grupo Azucarero México, 1998). El uso de *Bacillus thuringiensis* ha mostrado ser más prometedor. La cepa HD-1 ha mostrado actividad tóxica contra *Diatraea* sp. como lo reportaron Charpentier *et al.*, 1973, y es bien sabido que esta cepa contiene genes del tipo *cry1A* (Höfte y Whiteley, 1989). Sin embargo, más recientemente, Bohorova *et al.*, (1997) reportaron, que tanto *D. saccharalis* como *D. grandiosella* son altamente susceptibles a la toxina Cry1B, y Aranda *et al.*, (1998) reportaron que *D. grandiosella* es altamente susceptible a la toxina Cry1C. Basados en estos estudios, el objetivo de este trabajo fue probar varias cepas de *B. thuringiensis* contra *D. saccharalis* y detectar la presencia de los genes *cry1A*, *cry1B* and *cry1C* en las cepas tóxicas.

Materiales y Métodos

Insectos

Las pupas *D. saccharalis* fueron proporcionadas por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, Weslaco, Texas. La colonia se mantuvo en dieta artificial Shorey

modificada por Rosas-García, 2002, a una temperatura de 28°C, 65% HR y un fotoperíodo de 14:10 h (luz:oscuridad).

Cepas de *B. thuringiensis*

Se probaron doce cepas, nueve de la Colección de Howard Dulmage y tres cepas mexicanas codificadas como GM. Cuatro fueron seleccionadas en base a su contenido genético *cry1B* y *cry1C*: HD-2 var. *thuringiensis*, (*cry1B*), HD-29 var. *galleriae*, (*cry1C*), HD-133 var. *aizawai*, (*cry1C*), HD-137 var. *aizawai*, (*cry1B* and *cry1C*), las cepas HD-37 var. *dendrolimus*, HD-59 var. *thuringiensis*, HD-73 var. *kurstaki*, HD-9 var. *entomocidus*, HD-551 var. *kenya*, GM-7 var. *aizawai*, GM-10 var. *aizawai*, and GM-34 var. *kurstaki* fueron seleccionadas en base a la toxicidad mostrada contra varios lepidópteros en pruebas preliminares en nuestro laboratorio.

Bioensayos de Toxicidad

Se llevaron a cabo con larvas de dos días de edad utilizando dos concentraciones del complejo espora-cristal (50 y 500 μ g/ml de dieta), obtenido de cada cepa, previamente. Los bioensayos se realizaron por triplicado y la mortalidad se registró a los 7 días. Se seleccionaron aquellas cepas que mostraron una mortalidad mayor al 50% con la dosis de 50 μ g/ml. El complejo espora-cristal se incorporó en la dieta a ocho concentraciones diferentes para determinar la concentración letal media mediante el análisis Probit.

Análisis de PCR

Se llevaron a cabo utilizando los primers y condiciones reportados por Cerón, et al. 1994, tanto generales como específicos para *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1B* y *cry1C*. Las cepas control utilizadas fueron: HD-1 para *cry1Aa*, *cry1Ab* y *cry1Ac*, HD-73 para *cry1Ac*, HD-137 para *cry1C* y HD-551 para *cry1B*.

Inmunodetección

Este procedimiento se realizó de acuerdo a lo reportado por Iracheta-Cárdenas (1999), en geles de poliacrilamida (SDS)(PAGE). Se utilizaron antisueros contra *Cry1B* and *Cry1Ac*. *Cry1Ac* también reacciona con *Cry1Aa* and *Cry1Ab* (datos no mostrados).

Resultados

Bioensayos de Toxicidad.

Las doce cepas resultaron tóxicas a *D. saccharalis* a la concentración de 500 μ g/ml. Sin embargo, solo las cepas que causaron el 50% de mortalidad con la dosis de 50 μ g/ml fueron seleccionadas como tóxicas: HD-133 (62.71%), HD-551 (64.91%), GM-7 (50.79%), GM-10 (66.67%), and GM-34 (78.79%). La cepa GM-34 mostró la LC_{50} más baja de 33.21 μ g/ml. Esta cepa resultó tres veces más tóxica que la GM-10, casi tres

veces más tóxica que la GM-7, 2.6 veces más tóxica que la HD-133 y dos veces más tóxica que la HD-551.

Análisis de PCR e Inmunodetección

El análisis reveló que las cepas HD-551 y GM-7 contienen el gen *cry1B*, HD-133 y GM-10 contienen el gen *cry1C* y la GM-34 no contiene ninguno de estos genes. La cepa HD-551 posee el gen *cry1Aa*, las cepas HD-133 y GM-7 contienen los genes *cry1Aa* y *cry1Ab* y las cepas GM-10 y GM-34 poseen los genes *cry1Aa*, *cry1Ab* y *cry1Ac*. La inmunodetección mostró que las cinco cepas tóxicas producen alguna de las proteínas Cry1A y solamente la HD-551 produce la toxina Cry1B. Aunque la cepa GM-7 contiene el gen *cry1B* no sintetiza la proteína correspondiente. La cepa GM-34 parece tener una respuesta reducida en la producción de las toxinas Cry1A.

Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la toxicidad de las cinco cepas puede estar relacionada a la presencia de los genes *cry1B* o *cry1C* o puede ser el resultado de la expresión de los genes *cry1A* ya que por lo menos una clase de estos genes está presente en las cepas. Sin embargo la síntesis de las proteínas Cry1A parece estar reducida en la cepa GM-34, lo que nos conduce a pensar en la posibilidad de la presencia de nuevos genes con actividad tóxica. Consideramos, sin embargo, que los genes *cry1A* juegan un papel importante en la toxicidad contra esta plaga, especialmente *cry1Aa* que está presente en las cinco cepas.

Literatura Citada

- Aranda, E., Sánchez, J., Lina, L., Peferoen, M., y Bravo, A. 1998. Análisis de la unión *in vitro* e *in vivo* de las δ -endotoxinas de *Bacillus thuringiensis* al epitelio intestinal medio de *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera:Pyralidae). *BioTecnología*. 3: 95-105.
- Bohorova, N., Cabrera, M., Abarca, C., Quintero, R., Maciel, A. M., Brito, R. M., Hoisington, D., y Bravo, A. 1997. Susceptibility of four tropical lepidopteran maize pests to *Bacillus thuringiensis* CryI-type insecticidal toxins. *J. Econ. Entomol.* 90: 412-415.
- Cerón J., L. Covarrubias, R. Quintero, A. Ortiz, M. Ortiz, E. Aranda, L. Lina, y A. Bravo. 1994. PCR analysis of the *cryI* insecticidal crystal family genes from *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Entomol.* 60: 353-356.
- Charpentier, L. J., Jackson, R. D., y McCormick, W. J. 1973. Sugarcane borer: Control by Delta-Endotoxin of *Bacillus thuringiensis* HD-1, in field tests. *J. Econom. Entomol.* 66, 249-251.
- Grupo Azucarero México. 1998. Anteproyecto de programa para el control del gusano barrenador del tallo en el estado de Sinaloa. Documento de trabajo. Grupo Azucarero México, S. A. de C. V. Gerencia corporativa de campo. Pp. 30

- Davison, R. H. 1992. Plagas de pastos y cereales, pp 189-207. *En Plagas de Insectos Agrícolas y del Jardín*. Noriega [ed.]. Limusa. México.
- Höfte, H. y H. R. Whiteley. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol Rev.* 53: 242-255.
- Iracheta-Cárdenas, M. M. 1999. Toxicidad de la clase Cry1 de *Bacillus thuringiensis* y su unión a receptores en *Trichoplusia ni*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L. Monterrey, N.L. México.
- Johnson, K. J. R. 1984. Identification of *Eoreuma loftini* (Dyar) (Lepidoptera: Pyralidae) in Texas, 1980: Forerunner for other sugarcane boring pest immigrants from Mexico?. *Bulletin of the ESA.* 47-52.
- Legaspi, J. C., B. C. Legaspi Jr., J. E. Irving, J. Johnson, R. L. Meagher Jr., y N. Rozeff. 1999. Stalkborer damage on yield and quality of sugarcane in lower Rio Grande Valley of Texas. *J. Econ. Entomol.* 92: 228-234.
- Legaspi, J. C., R. R. Saldaña, y N. Rozeff. 1997. Identifying and managing stalkborers on Texas sugarcane. Texas Agricultural Experiment Station. The Texas A & M University System.
- Quintero-Ramírez, R. 2001. Temas relacionados con transferencia de tecnología: Prospectiva tecnológica y áreas de oportunidad en México (II). Universidad Autónoma de Nuevo León y Centro de Transferencia de Tecnología.
- Rosas-García, N. M. 2002. Elaboración de formulados de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* y determinación de la actividad tóxica contra larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera:Pyralidae) en laboratorio y campo. Tesis de Doctorado en Ciencias. Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. Monterrey, N.L. México.

13. EFECTO DE CASAMINO ÁCIDOS EN LA PRODUCCIÓN DE BLASTOESPORAS DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Metarhizium anisopliae* (Metschnikof) Sorokin EN CULTIVO SUMERGIDO

Claudia Nohemí Garza-Pérez, Luis J. Galán-Wong y Carlos Francisco Sandoval-Coronado¹

¹Laboratorio de Microbiología Industrial y del Suelo, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, AP 414, San Nicolás de los Garza, N.L. 66450. México. Email: csandova@ccr.dsi.uanl.mx

Palabras Clave: Blastoesporas, cultivo sumergido, *Metarhizium*

Introducción

Los hongos entomopatógenos son una alternativa muy prometedora en el control de insectos dañinos a la agricultura desde que se conocieron los inconvenientes de métodos químicos para su control. Diferentes especies de hongos entomopatógenos son utilizados en el denominado Manejo Integrado de Plagas, entre los que se encuentran *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Metarhizium flavoviride* y *Metarhizium anisopliae* (1). Éste último entomopatógeno cuando crece en cultivo sumergido, usualmente forma pellets o blastoesporas (2). Un medio a base de glucosa (80 g/L) y Casaminoácidos (13,2 g/L) para la producción masiva de blastoesporas tolerantes a la desecación de *Paecilomyces fumosoroseus* fue propuesto por Jackson y col. (3). El medio Jackson también fue utilizado para la producción de esporas sumergidas de *Metarhizium flavoviride* y la producción de esporas obtenidas para la cepas *Mf 189* y *Mf 324* fueron 1.4×10^8 y 1.4×10^7 respectivamente, bajo condiciones de cultivo sumergido durante 72 horas de crecimiento (2). El objetivo del trabajo fue evaluar la producción de esporas en el medio Jackson, modificando la concentración de dos tipos diferentes de casaminoácidos bajo condiciones de crecimiento sumergida de una cepa de *Metarhizium anisopliae*.

Materiales y Métodos

Cepa

Metarhizium anisopliae (*Ma 759*) crioconservada en tabletas de PDA de 5 x 5 mm en 1 ml de glicerol al 10% a - 80 °C hasta el tiempo de su utilización.

Obtención de conidias

La cepa fue activada en placas de PDA incubadas a 24 °C durante 14-21 días. Se utilizó una suspensión de 10^6 esp/ml para inocular los medios líquidos a ensayar y el número de esporas de la suspensión fue determinada mediante un hematocitómetro.

Medios líquidos

Se utilizó el medio original Jackson (1,2) al cual se le realizaron diferentes modificaciones para la producción de *M. anisopliae* en cultivo sumergido: Se utilizó una concentración de 30g/L de glucosa (Difco) y dos marcas comerciales de casaminoácidos, Difco® y US Biological® (ambas hidrolizados ácido de caseína) a tres diferentes concentraciones 75g/L, 37.4 g/L y 18.6 g/L y un medio basal con la siguiente concentración en g/L: 2 de KH_2PO_4 ; 0.3 de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05 de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.016 de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0.014 de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.037 de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.4 de CaCl_2 . Se utilizaron matraces bafleados de 250 ml conteniendo 50 ml de los medios y se incubaron a 300 rpm a 26-28 °C. Al transcurso de 72 horas se determinó la pureza del cultivo y el número de blastoesporas producidas se determino mediante un hematocitómetro, tomando alícuotas del cultivo líquido.

Resultados y Discusión

Se estudiaron tres concentraciones preliminares de casaminoácidos (25, 12.5 y 6.5 g/L) y dos concentraciones de glucosa (6 y 30 g/L) para observar el comportamiento en la producción de esporas de *M. anisopliae*. Los resultados en todos los medios probados con las concentraciones indicadas arriba, mostraban que la cepa formó pellets en el cultivo líquido, lo cual lo hace desfavorable para estudios posteriores.

Al aumentar la concentración de casaminoácidos a 75, 35.4 y 18.6 g/L y las misma concentración de glucosa (3%), encontramos que la formación de pellets disminuyo conforme se incrementa la concentración de los casaminoácidos. En la concentración mas baja (18.6) presento pequeñas esferas pero con formación de esporas en el medio, mientras que en la concentración intermedia y alta presentaron una gran cantidad de esporas sin la formación de pellets visibles en el líquido. La gran mayoría de esporas producidas fueron conidias sumergidas las cuales tenían similitud a las conidias aéreas utilizadas como inoculo (Fig 1), a diferencia de Farges y col. que encuentran blastoesporas, al cultivar dos cepas de *M. flavoviride* en el medio Jackson, (1).

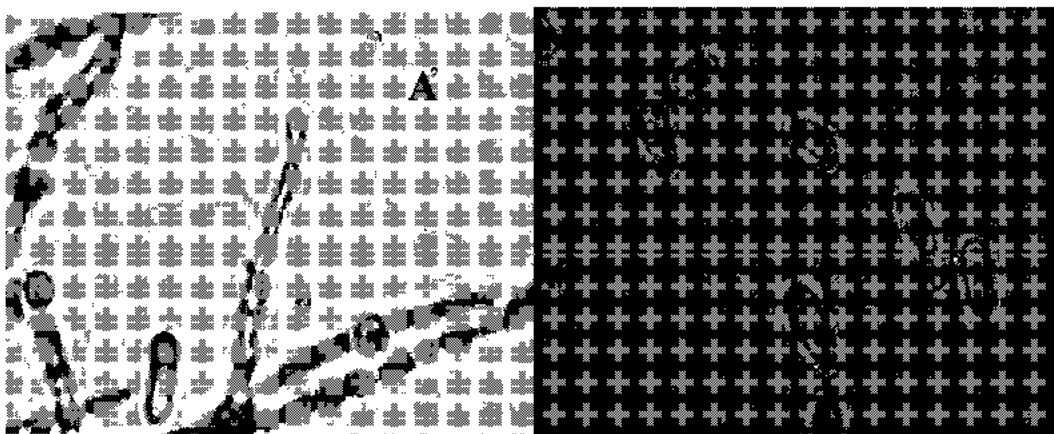


Fig 1. Forma de esporas producidas en cultivo líquido con una concentración alta de casaminoácidos. A) Formación de conidias sumergidas. B) Producción en cultivo líquido.

La concentración de esporas obtenidas en los cultivos líquidos con casaminoácidos de la marca Difco® fueron 1.4×10^8 , 1.4×10^7 y 1.3×10^6 esp/ml con las concentraciones de mayor a menor, respectivamente Fig 2. Al utilizar la fuente de nitrógeno de la marca US Biological en las mismas cantidades encontramos que el número de esporas disminuyó en la concentración más alta e intermedia de casaminoácidos a 10^7 y 10^6 esp/ml respectivamente, mientras que en la concentración más baja se presentó solamente crecimiento de micelio. La producción que obtuvimos es muy parecida a las reportadas por Farges y col. con *M. flavoviride* cepa Mf 189 en el medio Jackson (1.4×10^8 esp/ml), al utilizar esta misma composición de medio observamos que el crecimiento del hongo se dirigió hacia la formación de pellets y no a la producción de blastoesporas.

Tabla 1. Producción de esporas en cultivo sumergido utilizando casaminoácidos como fuente de nitrógeno

Casaminoácidos	Concentración (esp/ml)		
	75 g/L	35 g/L	18.7 g/L
Difco	1.4×10^8	1.4×10^7	1.3×10^6
US Biological	4.29×10^7	3.6×10^6	Pellet

*Valores son el resultado de 5 experimentos por duplicado

Conclusiones

El medio de cultivo de Jackson original no favorece a la producción de blastoesporas de *M. anisopliae*, mientras que las modificaciones realizadas a la composición del medio de cultivo favorecieron la formación de esporas.

Todavía no sabemos la repercusión de las modificaciones del medio, como el costo de producción y la vida de anaquel al formularlo, por lo que estudios posteriores se deben realizar para valorar los parámetros mencionados.

La producción en cultivo líquido es una opción para obtener ingrediente activo de hongos entomopatógenos en una forma rápida y económica para el control de plagas agrícolas.

Literatura Citada

- Fargues J., N Smits, C. Vidal, A. Vey, F. Vega, G. Mercadier and P. Quimby 2002. Effect of liquid culture media on morphology, growth, propagule production, and pathogenic activity of the Hyphomycete, *Metarhizium flavoviride*. Mycopathologia 154: 127- 138.

- Jackson, M.A., M.R. McGuire, L.A. Lacey, and S.P. Wraight. 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycol. Res.* 101: 35-41.
- Stephan, D., and G. Zimmermann. 1998. Development of a spray-drying technique for submerged spores of entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology.* 8: 3-11.

14. PRODUCCIÓN DE BLASTOSPORAS DE *Paecilomyces fumosoroseus* Y *Beauveria bassiana* EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO

Galán Franco Lucila A.¹, Carreon Treviño Gerardo, Morales Ramos Lilia. H., Galán Wong Luis. J. y Quintero Zapata Isela

¹Departamento de Microbiología e Inmunología. F.C.B. UANL. Ave. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán. Apdo. Postal 2790 y 414. Cd. Universitaria. C.P. 66450. Tel y fax (81) 8352 2422 y 8376 4537. E-mail: iquinter@ccr.dsi.uanl.mx, qisela@hotmail.com

Palabras Clave: blastosporas, *P. fumosoroseus*, *B. bassiana*

Introducción

Los plaguicidas de síntesis química se han tornado ecológicamente inaceptables por el efecto sobre organismos benéficos y desarrollo de resistencia. La búsqueda de alternativas viables y seguras ha contribuido al interés por la producción y empleo de medios biológicos a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas, bacterias, nemátodos entomógenos, entomófagos y extractos naturales de plantas. ([http://www.Losbioplaguicidasenlaagricultura_sustentable_archivos \Los bioplaguicidas en la agricultura sustentable.htm](http://www.Losbioplaguicidasenlaagricultura_sustentable_archivos\Los_bioplaguicidas_en_la_agricultura_sustentable.htm)) Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plaga, dentro de los más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoopthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium*. (Monzón, 2001) La producción de hongos entomopatógenos se basa en la multiplicación masiva del hongo y sus estructuras reproductivas en un sustrato natural, hasta la fecha se han evaluado diferentes tipos de sustratos naturales, principalmente arroz, trigo, maíz, frijol y soya, pero lo mas utilizados son arroz y trigo. (Monzón, 2001) En el presente estudio se evaluaron diferentes medios de cultivo a partir de líquido de remojo de maíz y dextrosa, para incrementar la producción y sobrevivencia de blastosporas de *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana*.

Materiales y Métodos.

Se utilizaron los hongos entomopatógenos *P. fumosoroseus* y *B. bassiana*. Para la producción y estabilidad de almacenaje se diseñaron diferentes medios de cultivo líquidos con sacarosa como fuente de carbono y líquido de remojo de maíz como fuente de nitrógeno (M-1, M-2 y M-3) y como control el medio Jackson, *et al.*, 1997. A cada medio se les inoculó 1×10^6 blastosporas/mL de ambos microorganismos. Se incubaron a 300 r.p.m., 28°C por 72 horas. Al concluir la fermentación se determinaron blastosporas/mL (método hemocitometro) y viabilidad (Jackson *et al.*, 1997) de esporas antes del proceso de secado. Mediante secado por aire se realizó la recuperación de blastosporas; a los medios de fermentación se les eliminó el micelio, después al sobrenadante se le adicionó 5% de tierra de diatomeas (HYFLO, Celite, Corp. Lompoc, CA U.S.A.) y se filtró al vacío con papel filtro Whatman No.1. El filtrado se dejó secar a temperatura ambiente para recuperar el extracto y empacarlo al vacío (Empacadora de

vacío, Marca Webomatic). Los formulados se almacenaron a 4°C y se les determinó la viabilidad a diferentes intervalos de tiempo.

Resultados

En la Tabla No. 1, observamos que la producción fue mayor en el medio de cultivo M-3 (7.9×10^8 blastosporas/mL) para *P. fumosoroseus* mientras que para *B. bassiana* resultó el medio M-2 (13.0×10^8 blastosporas/mL). Al concluir el proceso de fermentación la sobrevivencia fue de 90 a 100% en los medios de cultivo estudiados (M-1, M-2 y M-3) y el control.

Tabla No. 1 Producción y viabilidad de blastosporas de *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* en diferentes medios de cultivo.

Hongo	Medios de cultivo	Blastosporas/mL (10^8) Media \pm DS	Germinación (%) Media \pm DS
<i>P. fumosoroseus</i>	M-1	7.8 ± 2.20^a	95.7 ± 1.1^a
	M-2	6.5 ± 1.61^a	$97.7 \pm 2.3^{a,b}$
	M-3	7.9 ± 1.56^a	100 ± 0.0^b
	Control	10.2 ± 1.64^a	99.7 ± 0.6^b
<i>B. bassiana</i>	M-1	$11.5 \pm 1.5^{b,c}$	94.5 ± 1.5^a
	M-2	13.0 ± 2.3^b	96.7 ± 2.1^b
	M-3	4.2 ± 0.8^a	91.3 ± 1.2^a
	Control	8.5 ± 0.8^c	100 ± 0.0^b

DS: Desviación estándar. Productos obtenidos a las 72 h de fermentación n=3. Valor seguido por una letra igual no son diferentes significativamente, Tukey $p < 0.05$

Germinación: viabilidad de esporas frescas

En la Figura No. 1 se compara la sobrevivencia de blastosporas de *P. fumosoroseus* secadas con 5% de tierra de diatomeas a diferentes periodos de tiempo (0, 1, 7 y 14 días). En el días 1, se observa que la viabilidad disminuye ligeramente (90 a 95%), sin embargo al día 7 y 14 de almacenamiento, disminuyen hasta el 50%. Mientras que en la Figura No. 2, se observa una disminución en la viabilidad (90%) en el día 1, (similar al de *P. fumosoroseus* de la Figura No. 1). En el día 7 y 14 de almacenamiento disminuyen hasta 50 y 30 % de germinación, respectivamente.

Discusión

En un estudio similar obtuvieron 3×10^8 blastosporas/mL de *P. fumosoroseus* con un medio de cultivo a base de glucosa 20 g/L, peptona de caseína 10 g/L y extracto de levadura 2 g/L. (López, *et al.*, 2000). En base a este principio realizaron fermentaciones de 3 días a partir de 5×10^4 conidias/mL en medios de cultivo de la siguiente

composición: 80 g/L glucosa y 13.2 g/L de casaminoácidos, además 9 vitaminas y obtuvieron 5.8×10^8 blastosporas/mL. (Jackson, 1999; Jackson, *et al.*, 1997) Otros investigadores formularon medios de cultivo con fuentes complejas de nitrógeno y de carbono (sacarosa y dextrosa); y observaron que las fuentes complejas de carbono favorecen la producción de micelio y las fuentes de carbono tienden a la formación de blastosporas. (Eyal *et al.*, 1994) Un estudio relacionado con blastosporas secadas por aire durante una noche, mostró una viabilidad inicial buena, pero una baja estabilidad (30 % de sobrevivencia a 4° C a los 30 días); mientras que los viales secados por congelación mostraron una sobrevivencia de 95 % a los 30 días y 68% a los 150 días cuando fueron almacenadas a 4 °C. Desafortunadamente, la sobrevivencia de las blastosporas cayó a 1 % después de 30 días cuando se almacenaron a 22° C. (Jackson, *et al.*, 1997). Esto concuerda con Samson, *et al.*, 1988, a temperatura ambiente la mayoría de los hongos pierden su viabilidad rápidamente en menos de un mes. Asimismo, Thomas, *et al.*, 1987, determinaron que las blastosporas tienen un corto tiempo de vida y no sobreviven a condiciones ambientales adversas.

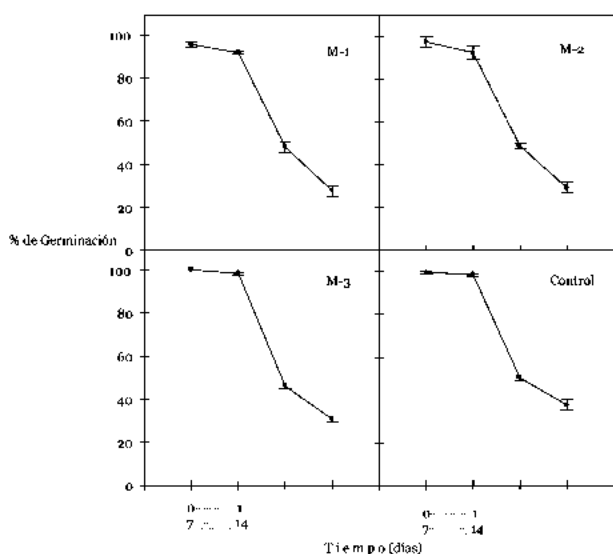


Figura No. 1_ Sobrevivencia de blastosporas de *P. fumosoroseus* secadas por aire y obtenidas en diferentes medios de cultivo.

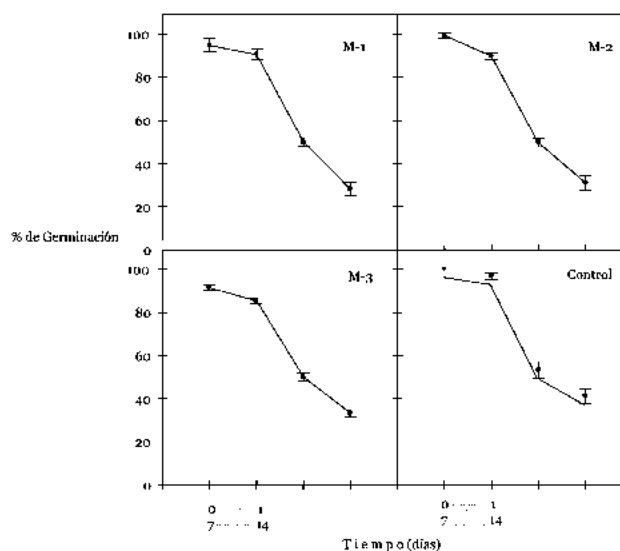


Figura No. 2_ Sobrevivencia de blastosporas de *B. bassiana* secadas por aire y obtenidas en diferentes medios de cultivo.

Literatura Citada

- Eyal, J. Mabud, M.D.A., Fischbein, K.L. Walter, J.F., Osborne, L.S. and Landa, Z. 1994. Assessment of *Beauveria bassiana* Nov. EO-1 strain, which produces a red pigment for microbial control. Appl. Biochem Biotechnol. 44, 65-80.
- Jackson M.A., McGuire M., Lacey L.A. and S.P. Wraight . 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. Mycol Res 101: 35-41

- Jackson, M. A. 1999. Method for producing dessication tolerant *Paecilomyces fumosoroseus* spores. U.S. Patent 5,968,808
- López-y-López, E. V., Chavarría- Hernández, N., Fernández Sumano, P. y M. de la Torre. 2000. Fermentation process for bioinsecticide production. An overview. Recent Res. Devel. Biotech. & Bioeng. 3:20.
- Monzón A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integral de Plagas (Costa Rica) No. 63 pp. 95-103.
- Samson, R.A., Evans, H.C. and J. P. Largé. 1988. Atlas of enthomopatogenic fungi. De Spriger-Verlag. 1-72.
- Thomas, K. C., Khachatourians, G. G. and W. M. Ingledew. 1987. Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia in submerged culture. Canadian Journal of Microbiology. 33: 12-20

15. FORMULACIÓN DE BLASTOSPORAS DE *Paecilomyces fumosoroseus* EN DIFERENTES POLÍMEROS NATURALES

Montemayor Garza Sandra L¹, Quintero Zapata Isela, Morales Ramos Lilia H., Elías Santos Myriam y Luis J. Galán Wong

¹Departamento de Microbiología e Inmunología. F.C.B. UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán. Apdo. Postal 2790 y 414. Cd. Universitaria. C.P. 66450. Tel/fax (81) 8352 2422 y 8376 4537. E-mail:iquinter@ccr.dsi.uanl.mx

Palabras Clave: entomopatógenos, *Paecilomyces*, blastosporas

Introducción

Los hongos entomopatógenos pueden ser obtenidos de diferentes formas (micelios, conidias o blastosporas) dependiendo del proceso de producción. Cada una tiene sus ventajas y desventajas para el control biológico y para el procesamiento. La morfología juega un papel importante en la producción del micoinsecticida, debido a que la alta virulencia y estabilidad son características para un insecticida microbiano efectivo, así como los bajos costos de producción son determinantes para su éxito comercial. (López, *et al.*, 2000) Los productos fúngicos de control biológico más ampliamente desarrollados son basados en los hongos *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus*. (Soper y Ward, 1981; Rombach, 1989) Los procesos de recuperación dependen del sistema de producción empleado, por ejemplo las esporas o micelio obtenidas en medios líquidos se pueden separar del caldo de fermentación mediante centrifugación o filtración directa, esto se facilita mediante el mezclado con un acarreador inorgánico o por ultracentrifugación, también la biomasa recuperada generalmente es muy sensible al secado y se deberá mantener húmeda hasta su formulación. Las esporas producidas en medios sólidos se pueden recuperar puras, después secadas por aire al vacío o en una mezcla de esporas con sustrato y después el medio se pulveriza. Las esporas se pueden lavar con un agente formulado, pero se tiene que hacer una centrifugación adicional y secado. (Samson, *et al.*, 1988) Para el desarrollo de insecticidas microbianos se debe considerar el medio de cultivo para su producción y la formulación del producto de esporas, ya que esto repercute en la comercialización del bioinsecticida, y estos factores influyen en la sobrevivencia y eficacia de *P. fumosoroseus*. Los componentes de los medios de cultivo deben ser accesibles y económicos. Es por eso que utilizaremos peptona de colágena y sacarosa para la producción de este hongo y diferentes polímeros naturales (almidón de maíz, gelatina y pectina) y tierra de diatomeas para la formulación de las blastosporas. Para lo cual nos planteamos el siguiente objetivo: Desarrollar un formulado efectivo a base de *P. fumosoroseus* con alta concentración de blastosporas y larga vida de anaquel.

Materiales y Métodos

Para la producción de las blastosporas se utilizó un medio de cultivo líquido a base de Peptona de Colágena como fuente de nitrógeno y Sacarosa como fuente de carbono; y como control el medio reportado por Jackson *et al.*, 1997, el cual contiene casaminoácidos como fuente de nitrógeno y dextrosa como fuente de carbono. Se utilizó como inóculo 1×10^6 esporas/mL de *P. fumosoroseus*. Los experimentos se realizaron por triplicado en matraces Erlenmeyer bafleados de 1000 mL de capacidad con 400 mL del medio formulado, bajo las siguientes condiciones: 300 r.p.m., (New Brunswick Scientific) 28°C y 72 horas. Al finalizar el proceso de fermentación se determinaron blastosporas/mL "método hemocitómetro" y viabilidad de blastosporas frescas (día 0). La viabilidad se determinó mediante el porcentaje de germinación, el criterio para tomar en cuenta una espóra germinada es cuando se forma un tubo germinativo, tan largo como la mitad del diámetro de la espóra. La biomasa recuperada se sometió al proceso de secado por aire (Jackson *et al.*, 1997) con tierra de diatomeas y con los diferentes biopolímeros (almidón de maíz, gelatina y pectina) (Rosas, G. 2002), y a los formulados obtenidos se les realizaron pruebas de viabilidad para determinar la estabilidad de almacenaje.

Resultados y Discusión

La Tabla No. 1, muestra una producción de blastosporas superior en el medio que contiene peptona de colágena (6.0×10^9 esp/mL), comparada con el control (3.6×10^9 esp/mL). En general las blastosporas muestran una viabilidad del 80% en promedio después de concluir el proceso de fermentación (día 0), en ambos medios de cultivo con los diferentes soportes (Tabla No. 2). El comportamiento de las blastosporas secadas por aire a los dos días de almacenamiento a 4° C, no muestra diferencia significativa en ambos medios de cultivo, disminuyen hasta el 50% de viabilidad en promedio, mientras que el medio control procesado con tierra de diatomeas mostró una sobrevivencia del 65% en promedio. Los resultados nos señalan que los formulados de *P. fumosoroseus* mostraron una buena concentración de ingrediente activo (blastosporas/mL), sin embargo, una baja estabilidad de almacenaje.

Tabla No. 1 Producción de blastosporas de *P. fumosoroseus*

Medios de cultivo	Blastosporas/mL
Control*	3.9×10^9
Peptona de colágena + sacarosa	6.0×10^9

* medio Jackson *et al.*, 1997. Fermentación de 72 horas.

En estudios similares, las blastosporas producidas por algunos hongos entomopatógenos son más largas que las conidias aéreas e insensibles a técnicas de secado simple y tienden a perecer más rápidamente durante el almacenamiento

(Rombach, M. C. 1989 y Jackson *et al.*, 1997). La capacidad de sobrevivencia de una espora es directamente dependiente del contenido de humedad, una baja deshidratación de la espora favorece la conservación de las conidias de Deuteromycetes (Samson, *et al.*, 1988). Algunos investigadores utilizaron leche descremada en polvo y azúcar de remolacha como protectores de secado, y las blastosporas presentaron una viabilidad de 82.5 % a 88.7 %, pero no reportaron estabilidad al secado de blastosporas. La germinación de las esporas secadas por spray disminuyó en comparación con las esporas sumergidas recién cosechadas, esto podría reducir la ventaja de las blastosporas sobre las conidias aéreas (Stephan and Zimmermann, 1998). Más adelante, Wraight, S. P. *et al.*, 1998, observaron que el almacenamiento de conidias de *P. fumosoroseus* en polvo seco son altamente estables a 4° C, por ejemplo, la viabilidad de estas conidias producidas por Mycotech no fue significativamente diferente después de 22 meses de almacenamiento. AGROBIONSA almacena conidias mezcladas con tierra de diatomeas a 4° C por más de 6 meses antes de que salgan al mercado, por lo tanto no hay pérdidas.

Tabla No. 2 Estabilidad de almacenaje de blastosporas de *P. fumosoroseus* con diferentes polímeros naturales.

MEDIO DE CULTIVO	FORMULADOS	VIABILIDAD (% germinación)		
		DIA 0	DIA 1	DIA 2
CONTROL*	TIERRA DE DIATOMEAS	80	79	65
	ALMIDON DE MAÍZ	81	80	51
	GELATINA	81	77	51
	PECTINA	81	75	51
PEPTONA DE COLÁGENA + SACAROSA	TIERRA DE DIATOMEAS	85	76	49
	ALMIDON DE MAÍZ	85	73	54
	GELATINA	85	82	54
	PECTINA	81	68	47

* medio Jackson *et al.*, 1997. DIA 0: blastosporas frescas.

Literatura Citada

- Jackson, M. A., McGuire, M. R., Lacey, L. A. and S. P. Wraight. 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycological Research*. 95: 1 – 7
- López-y-López, E. V., Chavarría- Hernández, N., Fernández Sumano, P. y M. de la Torre. 2000. Fermentation process for bioinsecticide production. An overview. *Recent Res. Devel. Biotech. & Bioeng.* 3:20.
- Rombach, M. C. 1989. Production of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) sympodulconidia in submerged culture. *Entomophaga*, 34: 45-52.
- Rosas García, N. M. 2002. Elaboración de formulados de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* y determinación de la actividad tóxica contra larvas de *Diatrea*

- saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera:Pyralidae) en laboratorio y campo. Tesis de Doctorado con especialidad en Biotecnología, F.C.B., U.A.N.L., Monterrey, N. L.
- Samson, R.A., Evans, H.C. and J. P. Largé. 1988. Atlas of enthomopatogenic fungi. De Spriger-Verlag. 1-72.
- Soper, R.S. y M.G. Ward. 1981. Production, formulation and application of fungi for insect control. Pp. 161-180. *In*: G. C. Papavizas (ed.). Biological Control in Crop Production. Symposium No.5 Osmum Totowa.
- Stephan, D. and G. Zimmermann. 1998. Biocontrol Science and Technology. 8: 3-11

16. RESPUESTA DE 4 MEDIOS Y 2 FASES BIOLÓGICAS EN LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE *Metarhizium anisopliae*

Violeta Elizalde Blancas¹

¹Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A.C. Vicente Rodríguez s/n, Fracc. La Paz, Irapuato, Gto. Tel. (462) 6273909 y 6269686. vioelizalde@hotmail.com

Introducción

En el Laboratorio de Reproducción de Organismos Benéficos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato se han evaluado diferentes medios de inoculación con la finalidad de encontrar el más adecuado para obtener mayor rendimiento en las cosechas de hongos entomopatógenos, dichos medios se han preparado con variaciones en sales, proteínas y carbohidratos; utilizando tanto medios convencionales para el crecimiento de hongos (ADS, CDS), como medios enriquecidos y balanceados.

El CINVESTAV le proporciona al CESAVEG un medio enriquecido con los siguientes componentes: agua destilada, glucosa, hidrolizado de caseína, extracto de levadura, NH_4NO_3 , sales de potasio, magnesio y calcio al igual que una combinación de elementos traza que proporcionan un medio adecuado para el desarrollo del hongo. Por lo anterior el presente trabajo tiene como objetivos: obtener las respuestas de 4 medios y 2 fases biológicas en la reproducción masiva y determinar el medio que dé mejor rendimiento al momento de la cosecha, e implementar el uso de ese en la reproducción de *Metarhizium anisopliae*.

Materiales y Métodos

Antes de reconstituir el medio de inoculación se prepararon los medios básicos en los cuales se reproduce la cepa de interés. La técnica para preparar los medios fue la siguiente:

MI.- Caldo Dextrosa Saboraud "CDS". 5 g de peptona de carne, 5 g de peptona de caseína y 20 g de dextrosa en 1 Lt de agua destilada

MII.- Medio de harina de soya "HS". 50 g de harina de soya y 10 g de dextrosa en 1 Lt de agua destilada.

MIII.- Medio del CINVESTAV "MC". Balanceado con sales, elementos traza, azúcares y proteínas. Este medio ya contiene el hongo crecido, y está listo para preparar el medio de inoculación.

MIV.- Medio en tubo inclinado de Agar Dextrosa Saboroud con la cepa crecida "ADS". Se siembra por estría y se deja esporular en estufa a 27°C.

El medio básico se reconstituyó de la siguiente manera:

Los medios I, II y IV se esterilizaron durante 20 minutos a 15 lb/in², una vez fríos a los medios I y II se les adicionó el antibiótico en la campana de flujo laminar.

MI.- Caldo Dextrosa Saboraud "CDS y MII.- Medio de harina de soya "HS"

Se le adicionó el raspado de 2 tubos con hongo por cada 200 ml de medio, para ello se utilizó agua y adherente y la ayuda de una asa de platino, se dejaron en agitación y a temperatura de 27°C durante dos días. Ya que transcurrieron los 2 días, se tomaron 20 ml de I, II y se diluyeron en 1 Lt de agua destilada estéril por separado.

MIII.- Medio del CINVESTAV "MC". Se tomaron 20 ml y se diluyeron en 1Lt de agua destilada estéril.

MIV.- Medio en tubo inclinado de Agar Dextrosa Saboroud con la cepa crecida "ADS". Se raspan 6 tubos por litro de agua destilada estéril.

Inoculación.

A) Una vez preparados los medios para inocular, se inocularon 10 ml de medio en una bolsa de arroz de 200 g aproximadamente. Las bolsas se separaron de acuerdo al medio que se inoculó para posteriormente monitorearse.

B) Las bolsas se dejaron en las salas de crecimiento durante 20 días homogenizándose y monitoreándose cada 4 días para observar la concentración de conidios con los diferentes medios.

C) Se tomaron 3 bolsas de cada medio y se homogenizaron perfectamente, se tomó una pequeña muestra de cada bolsa y se revolvió perfectamente en otra bolsa; de ahí se tomó 1 g para realizar la prueba de concentración.

D) Se hicieron las diferentes lecturas y se anotaron para la obtención de resultados.

NOTA: Los medios I y II llevaban hongo en la fase miceliar, los medios III y IV hongo en fase de esporas.

Resultados y Discusión

En las figuras 1, 2, 3 y 4 se puede observar que el medio que proporcionó mayor rendimiento es el medio del CINVESTAV que está complementado con proteínas, azúcares, sales y elementos traza. La diferencia de rendimientos promedio entre MIII comparados con los demás va desde MI= 48.5, MII= 60.25 y MIV= 72.35 (conidios x 10⁷/ g de muestra) y si estos datos los llevamos a porcentajes podemos comparar en base al rendimiento de MIII= 100%, contra MI= 47.3265%, MII= 34.7855% y MIV= 25.958% demostrando así que el mejor medio es MIII seguido de MI, MII y MIV y

habiendo una diferencia de 52.67% comparado con el segundo mejor de los medios, suficiente para decidir llevar a cabo la reproducción masiva con MIII.

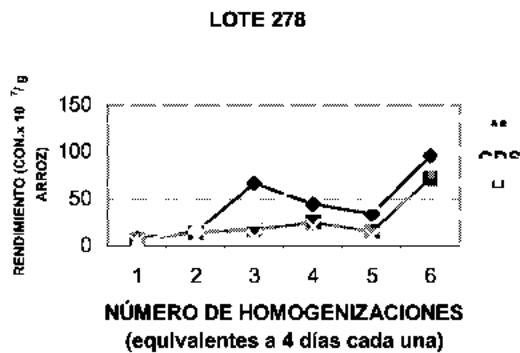


Figura 1

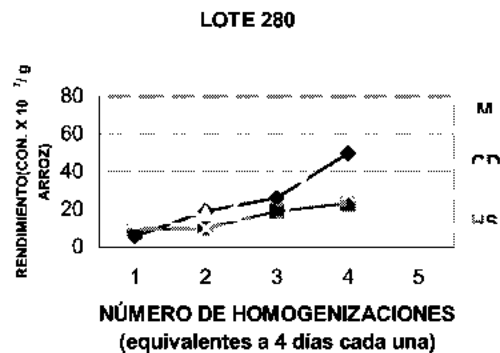


Figura 2

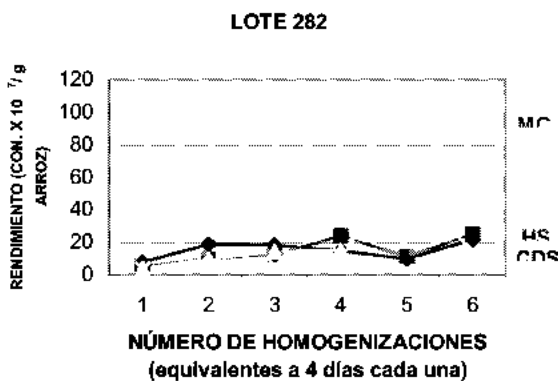


Figura 3

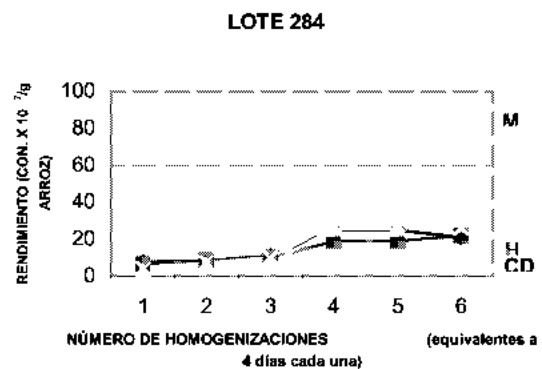


Figura 4

En este experimento se debe tener presente que son curvas irregulares debido a que se tomaron muestras al azar, diferentes cada vez y el comportamiento varia de una lectura a otra por no darle un seguimiento completo a las mismas bolsas, sin embargo el mismo error se sometió en todos los tratamientos encontrando predominante el comportamiento del medio MIII.

Estos resultados son los primeros que se obtienen y contribuirán para la reproducción de organismos entomopatógenos con rendimientos superiores.

Literatura Citada

- Goettel, M. S. and G. Douglas I. 1999. Fungi: Hyphomycetes. In: Lacey. 1999. Manual of Techniques in Insect Pathology.
- SAGARPA. 2002. Manual del Entrenamiento: Producción de Hongos Entomopatógenos. SENASICA-SAGARPA. Tecomán, Colima.

17. EFECTO DE DOS FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA PROPAGACIÓN DE *Bacillus thuringiensis* A NIVEL DE MATRAZ

¹Yadira Álvarez Cardiel y Aquiles Solís Soto

¹Instituto Tecnológico de Durango, Felipe Pescador 1830 Ote. Durango, Dgo. aquiles2810@yahoo.com.mx

Palabras Clave: formulación, bioensayos y *Bacillus thuringiensis*.

Introducción

El rápido desarrollo de resistencia a los insecticidas químicos por parte de los insectos, unidos a la preocupación del hombre por el medio ambiente, han generado la necesidad del uso de nuevos mecanismos de controles sustentables y seguros, resaltando específicamente en esta lucha el control biológico, (Howarth, 1991). El control biológico es el uso concertado de enemigos naturales contra diferentes plagas (insectos, hongos, nemátodos, virus, bacterias, vertebrados, etc.) y usualmente involucra su liberación y propagación dentro del hábitat de estas poblaciones. También se define como el uso de microorganismos vivos para el control de poblaciones de plagas que actúan como depredadores, parásitos y patógenos, (Lacey, 1995). Un nuevo método de control, se ha sugerido para obtener los mejores resultados posibles del control de plagas, el cual es conocido como el manejo integrado de plagas (MIP) y se refiere al uso juicioso de agentes químicos junto con métodos biológicos, bioquímicos y microbianos, además de otros conceptos, como físicos, técnicos, culturales y legales, (Lacey, 1995). Los microorganismos entomopatógenos se usan para el control de insectos plaga de importancia agrícola, forestal, ornamental y salud pública. La mayoría de estos microorganismos son poco conocidos, mientras que algunas variedades de *Bacillus thuringiensis*, y virus han sido estudiados con más detalle. El *Bacillus thuringiensis* es un producto comercial y de gran uso en el manejo integral de plagas, (Payne, 1989). Arroyo, (1982), reportó un buen crecimiento y producción de cristales de *Bacillus thuringiensis* en un medio de cultivo a base de almidón comercial y observó que al adicionar al medio líquido de remojo de maíz al 0.5%, se aumentó la producción de cristales y esporas. En la actualidad existe carencia de líquido de remojo de maíz, por tal motivo, se pretende substituirlo por lactosuero en polvo, en base a su amplio contenido de nutrientes a partir de la leche, (Jelen, 1989) o Nutriferm (subproducto de la industria de la tortilla). El objetivo de este trabajo consiste en probar dos subproductos de la industria de lácteos y del maíz como Lactosuero y Nutriferm respectivamente en la formulación del medio de cultivo para la propagación de dos cepas de *Bacillus thuringiensis* aisladas de la conchuela del frijol y evaluar su toxicidad a través de bioensayos a nivel de laboratorio.

Materiales Y Métodos

Se utilizaron dos cepas de *Bacillus thuringiensis*, (Vázquez y Alcázar, 1998), conservadas a 4°C, en tubos con agar nutritivo inclinado. A estas dos cepas se les

denominó cepa A y cepa B. El lactosuero dulce en polvo lo proporcionó la compañía industrial Lala ubicada en Gómez Palacio, Dgo; y el nutriferment en polvo fue proporcionado por Ancira S.A de C.V. ubicada en Monterrey, N.L. De un tubo de ensaye con *Bacillus thuringiensis* de 24 horas de edad, se preparó una suspensión para inocular al 0.5% (v/v), dos matraces de 500 mL con 100 mL de caldo de soya tripticaseína esterilizado a 121° C por 15 minutos, luego se incubaron a 30° C y 150 rpm en una incubadora LH FERMENTATION hasta que se obtuvo un crecimiento suficiente, de esta manera se preparó el inoculo.

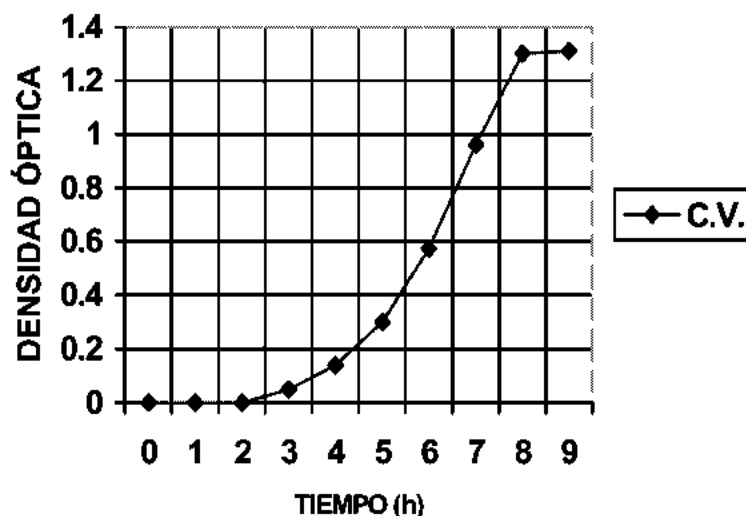
Cinética de crecimiento

Con el inoculo se sembró en matraces de 500 mL con 100 mL de caldo de soya tripticaseína 0.5% (v/v), se incubaron a 30°C y 150 rpm. Se tomaron muestras cada hora y se midieron en el espectrofotómetro Spectronic 20 a 550 nm. Con los datos obtenidos se elaboró la curva de crecimiento de las cepas de *Bacillus thuringiensis*.

Optimización del medio de cultivo.

El medio de cultivo base fue harina de soya 10 g/L, líquido de remojo de maíz 10 g/L, melaza 30 g/L y CaCO₃ 0.2 g/L, para su optimización, se llevo a cabo un diseño experimental factorial de 3², sustituyendo el líquido de remojo de maíz por lactosuero y/o nutriferment. Para la evaluación de los experimentos se cuantificaron azúcares reductores por el método de DNS, (Miller, 1959), cuenta viable por vaciado en placa, medición de pH y los bioensayos de acuerdo a la metodología de Mota y col. (1995).

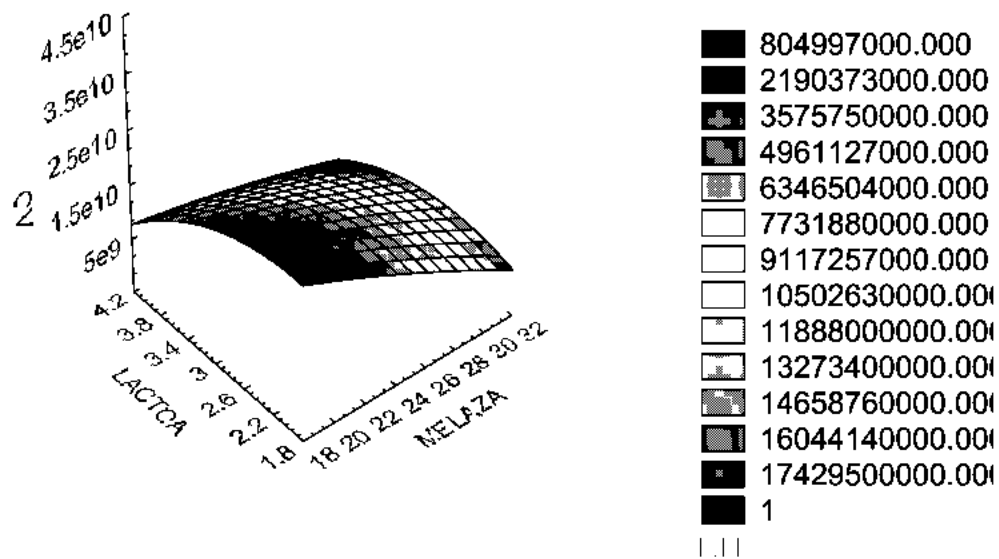
Resultados



Cinéticas de crecimiento de las cepas A y B de *Bacillus thuringiensis*, en caldo de soya tripticaseína.

3D Surface Plot (LACTOA.STA 10v*24c)

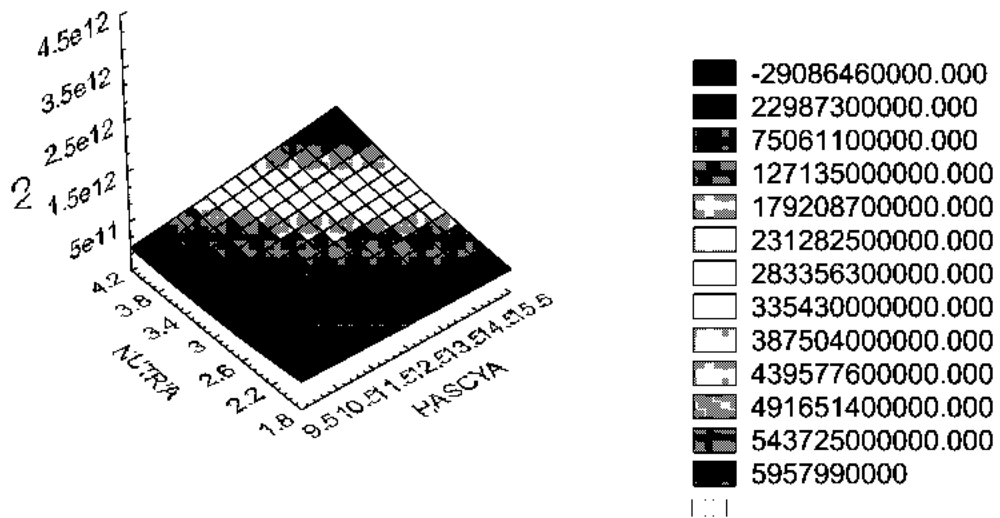
$$= 3.736e10 - 1.174e9 * x + 6.187e9 * y - 1.604e7 * x * x + 3.289e8 * x * y - 3.068e9 * y * y$$



Comportamiento de la cepa A de *Bacillus thuringiensis* en medios que contiene lactosuero.

3D Surface Plot (NUTRIA.STA 10v*40c)

$$996e12 - 1.648e11 * x - 9.947e11 * y + 1.463e9 * x * x + 6.383e10 * x * y + 5.86e10 * y * y$$



Comportamiento de la cepa A de *Bacillus thuringiensis* en medios que contiene y nutritiferm

Conclusiones

La velocidad específica de crecimiento de la cepa A fue de 0.86 H^{-1} con lactosuero. Para la formación del complejo cristal-espora el factor de crecimiento (lactosuero) fue mejor en combinación con la fuente de carbono (melaza) que con la fuente de nitrógeno (harina de soya). La combinación del medio de cultivo con los mejores resultados fue la siguiente: melaza 20 g/L, harina de soya 15 g/L, lactosuero 2 g/L y CaCO_3 0.2 g/L. En los bioensayos se obtuvo un porcentaje de mortalidad para *Epilachna varivestis* con variación entre 62.22% y 73.33%.

Literatura Citada

- Arroyo, M.R. 1982. Producción de bioinsecticida a partir de medios con almidón usando *Bacillus thuringiensis*. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L. Monterrey, N.L.México. (Tesis Inédita).
- Howarth, F.G. 1991. Environmental Impacts of classical biological control. *Annu Review Entomol* 36:485-509.
- Jelen, P. and Renz-Schauen, A. 1989 Quarg manufacturing innovations and their effect on quality, nutritive value and consumer acceptance, *Food Technol.* 43(3), 74 ().
- Lacey, L. A. and Goettel, M.S. 1995. Current developments in microbial control of insect pest and prospect for the early 21 Century. *Entomophoga.* 40(1):3-27.
- Miller, G.L. 1959. *Analytical Chemistry*. Cap.31.Pag.426.
- Mota, D., Rodríguez, Sánchez, H, y Tejada, A.1995. Estudios de Efectividad Biológica de Insecticidas Microbiológicos. En *Memorias de Aprobación en Estudios de Efectividad Biológica en Plaguicidas*. Edo. De Méxicp. México.
- Payne, C.C. 1989. *Microbial Control of Insect Pest:Chem.Ind.*(London).6:182-186.
- Vázquez, A. y Alcázar, A. 1998. Efecto de los Nutrientes en la Propagación del *Bacillus Thuringiensis* Aislado de la Conchuela de Frijol. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Durango.

18. INFLUENCIA DE LA DIETA EN LA SOBREVIVENCIA Y FERTILIDAD DE *Chrysoperla carnea* Stephens (NEUROPTERA:CHRYSOPIDAE).

Manuel Darío Salas-Araiza¹ y Erica Vela Coellar

¹Instituto de Ciencias Agrícolas. UGto. ExHda. El Copal. Km 5 carr. Ipto-Silao. A. Postal 311. C.P. 36500. Irapuato, Gto. salasm@dulcinea.ugto.mx

Introducción

Los entomófagos generalistas presentan mecanismos complejos para localizar a su presa, y decidir si es la más adecuada y consumirla. Pocos trabajos se han hecho para evaluar la preferencia del sitio de oviposición de los depredadores polífagos con respecto a la aptitud de sus crías para alimentarse adecuadamente en esos sitios (Kjobek y Huneter 2002).

Se ha observado que los insectos depredadores no siempre se alimentan de la presa más nutritiva; además, la disponibilidad de presas para la alimentación de depredadores polífagos varía ampliamente (Tauber y Tauber 1973).

Una nutrición deficiente durante la etapa larvaria de *C. carnea* afecta posteriormente la fecundidad, aún cuando la alimentación sea abundante y adecuada en la etapa adulta (Zheng *et al* 1993). El conocimiento de las preferencias alimentarias de las larvas de *Chrysoperla carnea* es de utilidad para el manejo de este insecto en las aplicaciones de ellas en campo, así como en la producción masiva en laboratorio. Por lo anterior, el presente trabajo se llevó a cabo con el fin de conocer como influyen diferentes tipos de dietas basadas en insectos en el desarrollo y fecundidad de *C. carnea* a través del análisis de tabla de vida y fertilidad.

Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Entomología del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato (ICA-UG) en Irapuato, Gto. El desarrollo del trabajo se llevó a cabo en condiciones ambientales controladas en una cámara de cría, con una temperatura de 27 +/- 2 °C y 75 +/- 2 % de H.R. y un fotoperiodo de 12:12 (L:O).

La tabla de vida se elaboró por medio de una revisión diaria de la cohorte de 25 huevecillos de *Chrysoperla carnea* (Cc) en el caso de la dieta con ninfas de *Brevicoryne brassicae* L. (Bb) (HOM.:APHIDIDAE); 19 con dieta a base de ninfas de *Rhopalosiphum padi* (L.) (Rp) (HOM.:APHIDIDAE); y 20 huevecillos con larvas de segundo estadio de *Plutella xylostella* (L.) (Px) (LEP.:PLUTELLIDAE), larvas de segundo estadio de *Trichoplusia ni* (Hubner) (Tn) (LEP.:NOCTUIDAE), huevo de *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Sc) (LEP.:GELECHIIDAE), huevo de *T. ni*, y huevo de *P. xylostella*. Cada uno de los huevecillos se colocó en una caja Petri de 90 x 15 mm; todos los huevecillos fueron de la misma fecha de oviposición. Una vez emergida la larva, se le colocó

directamente el alimento en la caja Petri. Cada una de las cohortes se alimentaron *ad libitum*. Se revisaron diariamente cada una de las cajas a las 10:00 h para registrar la mortalidad, de huevecillos, larvas, pupas y adultos conforme avanzaba su ciclo de vida, hasta que murió el último individuo adulto. Los huevecillos se contaron para elaborar la tabla de fertilidad, los adultos se mantuvieron en frascos de 500 ml y se alimentaron con dieta empleada en la cría masiva.

La determinación de las tasas de supervivencia y reproducción se hizo en base a la metodología general señalada por Krebs (1985). Las curvas de supervivencia se obtuvieron con el número de sobrevivientes (lx) y el tiempo (t).

Resultados y Discusión

Sobrevivencia de *Chrysoperla carnea*.

En la Figura 1 se observa que la supervivencia de *C. carnea* es mayor cuando sus larvas se alimentaron de huevecillos de *S. cerealella*, y de *P. xylostella*; la menor supervivencia se presentó cuando la dieta fue a base del pulgón *R. padi* y larvas de *P. xylostella*. Con la dieta a base de huevecillos de *T. ni* y *S. cerealella* y del pulgón *B. brassicae* se obtuvo un mayor número de adultos de la cohorte original (90, 85 y 76% respectivamente); cuando se alimentaron de huevecillos de *P. xylostella* los adultos sobrevivieron hasta los 76 días que fue el mayor periodo. Con dieta de *R. padi* se logró el menor número de adultos además de sobrevivir por menos tiempo (28 días).

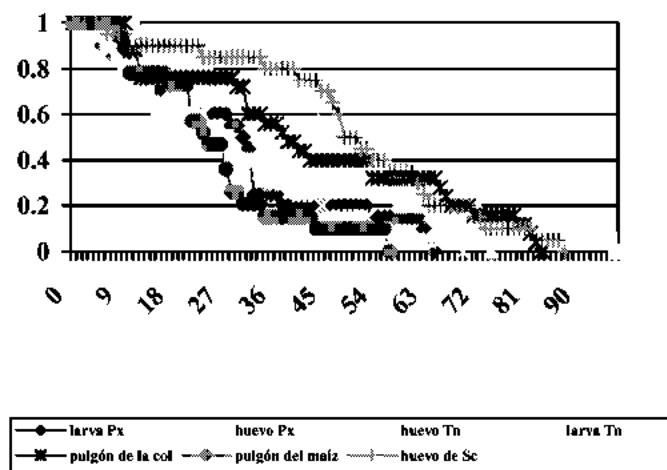


Fig. 1. Sobrevivencia de *C. carnea* alimentadas con diferentes dietas.

La Ro más alta fue de 3190.65 como se puede ver en el Cuadro 1, y se obtuvo cuando la dieta fue con huevecillos de Sc, la menor se presentó cuando las larvas de Cc se alimentaron con el pulgón Rp. El menor tiempo de generación G se obtuvo cuando la dieta fue a base de huevecillos de Px, cuando las larvas de crisopa se alimentaron con huevecillos de Tn el tiempo generacional se prolongó hasta 42.57 días. La tasa de

intrínseca de crecimiento más alta se obtuvo cuando la dieta fue con huevecillos de Px (0.235) y de Sc (0.210), la menor r_m fue con ninfas de Rp (0.10). Los resultados de este trabajo muestran que la alimentación con huevecillos de Px y Sc son los más adecuados para el desarrollo y la sobrevivencia de *Chrysoperla carnea*.

Cuadro 1. Parámetros demográficos de *Chrysoperla carnea* alimentada con diferentes dietas.

DIETA	Ro	G	r_m
B. b	1795.74	38.52	0.194
<i>R. p.</i>	39.5	34.06	0.1
Larva <i>P. x.</i>	307.37	39.57	0.144
Huevo <i>P. x.</i>	1447.6	30.86	0.235
Huevo <i>S. c.</i>	3190.65	37.16	0.21
Larva <i>T. n.</i>	178.9	38.7	0.13
Huevo <i>T. n.</i>	1092.35	42.57	0.164

Literatura Citada

- Krebs, C.J. 1978. *Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance*. Second Edition. Harper & Row Publ. Pp 166-167.
- Kjobek M. P., y M.S. Hunter. 2002. Ovipositional preference and larval-early adult performance of two generalist lacewing predators of aphids in pecans. *Biol. Control*. 25: 101-109.
- Tauber, M.J. y C.A. Tauber. 1973. Dietary requirements for mating in *Chrysopa oculata* (Neuroptera:Chrysopidae). *Can. Entomol.* 105: 79-82.
- Zheng Y., K.S. Hagen, K.M. Daane y T.E. Mittler. 1993. Influence of larval dietary supply on the food consumption, food utilization efficiency, growth and development of the lacewing *Chrysoperla carnea*. *Entomol. exp. appl.* 67: 1-7.

**19. IMPLEMENTACIÓN DE LA CRÍA MASIVA A NIVEL DE LABORATORIO DE
Hyphantria cunea Drury (LEPIDOPTERA: ARCTIIDAE)
“GUSANO DE LA BOLSA DEL NOGAL”**

Alejo Rodríguez David Alejandro, Morales Ramos Lilia H, Arévalo Niño Katiushka.

Dep. de Microbiología e Inmunología, F.C.B., U.A.N.L. A. P. 2790 San Nicolás de los Garza, N. L. México, C. P. 66450 Tel.- fax: (8)376-45-37 y 352-24-22
e-mail : lhmoralesr@yahoo.com

Palabras Clave: *Hyphantria cunea*, Arctiidae

Introducción

México ocupa el segundo lugar como país productor de nuez a nivel mundial, produciendo un promedio de 25,000 toneladas por año. A nivel nacional, Nuevo León ocupa el quinto lugar en producción de nuez, con 4,093 Ha de superficie y una producción promedio de 1,728 toneladas por año. Además, produce el 25% de árboles mejorados establecidos en huertos comerciales. Las nogaleras nativas se distribuyen en Bustamante, el Carmen, los Rayones, General Terán, Arramberri y Zaragoza (SAGAR, 2000). El cultivo del nogal es atacado por diversas plagas, *Hyphantria cunea* es una de ellas, esta plaga causa una defoliación total del nogal afectando su productividad. En Coahuila esta plaga se reporta como segundo lugar en importancia después del pulgón amarillo (INIFAP, 2002).

Hyphantria cunea ataca una gran variedad de árboles y frutales, se han identificado más de 250 especies de plantas hospederas. Cada hembra deposita entre 400 y 500 huevecillos sobre el envés de las hojas, las larvas empiezan a alimentarse de las hojas formando una telaraña alrededor de ellas de aspecto desagradable y de color blanco sucio, que encierra el follaje en los extremos de las ramas pudiendo en ocasiones causar defoliación completa del árbol. Para el control de esta plaga se utilizan principalmente insecticidas químicos (Cornell Cooperative Extensión, 2003; Yamanaka, 2001).

El objetivo del presente trabajo es implementar la cría masiva de *Hyphantria cunea* a nivel de laboratorio, para contar con una población suficiente y estandarizada del insecto plaga para utilizarse posteriormente en la búsqueda y selección de una cepa nativa de *Bacillus thuringiensis* y otros entomopatógenos con actividad tóxica hacia este insecto.

Material y Métodos

Para implementar la cría de *H. cunea* se utilizó una dieta artificial de Shorey, ya que en la literatura no se encontró una dieta artificial específica para esta plaga. Se estableció la primer colonia a partir del estadio larvario, estas larvas fueron colectadas de nogales infestados en el estado de Nuevo León. Se esperó a que formaran las pupas

permitiendo que las larvas se alimentaran de follaje del nogal, una vez que puparon se colocaron en cubetas de 4 lt de capacidad. Cuando emergieron los adultos se estableció una colonia en cubetas de 4 lt de capacidad, en una proporción de 30 hembras y 20 machos. Las paredes de las cubetas y la base, se cubrieron con papel encerado. Dentro de las cubetas se colocó un vaso pequeño de plástico impregnado con una solución de azúcar al 15 % para alimentar a los adultos. Posteriormente, de las cubiertas plásticas se realizó la recolección de los huevecillos, de manera manual, cortando el área donde se encontraban los huevecillos y depositándolos en cajas petri pequeñas rociándolas con un poco de agua, cada caja fue rotulada con el nombre del insecto, generación y fecha. La temperatura se mantuvo entre 26- 28 °C y la humedad entre un 70-80 %, con un fotoperíodo de 12/12h. Una vez que eclosionaron los huevecillos, se llevó a cabo la preparación de la dieta artificial de Shorey y se distribuyó en copas de 7.5 cm de diámetro y 4 cm de profundidad llenándolas a 2/3 partes de su capacidad, se dejó solidificar y reposar por espacio de 1 hora y media. Una vez lista la dieta, se llevó a cabo la infestación colocando 3 larvas por copa. A los 15 días, se realizó un recambio de las larvas a dieta nueva debido a la acumulación excesiva de telaraña y excremento que les impedía seguirse alimentando. Una vez que empezó el ciclo de pupación se llevó a cabo la recolección y nuevamente se colocaron en cubetas de 4 lt de capacidad.

Resultados

La primera generación se inició a partir del estadio larvario utilizando para ello 200 larvas, la primera generación de adultos nos proporcionó 1100 larvas a partir de las cuales se continuo para lograr la segunda generación. El ciclo de *H. cunea* criada en el laboratorio bajo las condiciones de 26- 28°C, 70-80 % de H. R. y un fotoperíodo de 12/12h., fue de 35 a 40 días, de los cuales, 6 a 8 días corresponden al estadio de huevecillo a larva, 20 a 25 días del paso de larva a pupa, de 8 a 9 días del paso de pupa a adulto.

Discusión

La implementación de la cría masiva de un insecto plaga en un laboratorio es parte importante para el biocontrol del insecto plaga, ya que una vez establecida en el laboratorio se puede llevar a cabo la evaluación de la actividad tóxica de diferentes agentes entomopatógenos, para seleccionar una cepa efectiva que pueda en un futuro ser utilizada como alternativa al uso de insecticidas químicos. Durante el proceso de implementación de la cría en el laboratorio se realizaron varias adaptaciones. Se probaron varios soportes para la ovoposición, primero se probó un papel negro rugoso de polipropileno y una lámina de polietileno que no funcionaron adecuadamente, después se utilizó un papel encerado en el cual se observó que se incrementó la oviposición. Una vez que los adultos ovipositaron el principal problema fue el bajo porcentaje de eclosión, debido a la deshidratación de los huevecillos durante la incubación. Después de probar vasos de plástico y bolsas de papel, tuvimos éxito al colocarlos en pequeñas cajas Petri conteniendo un papel filtro húmedo, cuidando no

excederse en agua para evitar la contaminación con hongos, con esto se observó una buena eclosión de los huevecillos y una elevada sobrevivencia de las larvas. Para pasar las larvas a la dieta artificial se ensayaron diferentes recipientes, hasta encontrar el tamaño adecuado que permitiera a las larvas alcanzar su máximo desarrollo. También se realizaron varias pruebas para determinar el número de ejemplares que habrían de depositarse en cada copa al inicio de cada generación. Con lo que respecta a la dieta de Shorey no sufrió ninguna modificación ya que *Hyphantria cunea* aceptó perfectamente la dieta. Actualmente la cría se ha mantenido por tres generaciones y se pretende continuarla por tres generaciones más antes de utilizarla para efectuar la selección de cepas entomopatógenas.

Conclusiones

Se ha implementado la cría masiva de *H. cunea* a nivel laboratorio. Hasta el momento se han logrado completar exitosamente tres generaciones de *Hyphantria cunea* en laboratorio. Se probó a dieta artificial de Shorey, la cual cubre las exigencias nutricionales de *H. cunea*. Se determinó el ciclo de vida del insecto en laboratorio, el cual es de 35-40 días bajo las condiciones de cría de 26-28°C, 70-80 % de H. R. y fotoperíodo de 12/12h.

Literatura Citada

- Cornell Cooperative Extensión. 2003. Fall Webworm *Hypantria cunea*.
www.entomologycornell.edu
- Fundación Produce, INIFAP 2002. Cadena Agroalimentaria/ Agroindustria del Nogal Pecanero
- Mihm, J. A., 1984. Técnicas eficientes para la crianza masiva e infestación de insectos, en la selección de plantas hospedantes para resistencia a taladores del tallo de maíz. Boletín del Centro Internacional de mejoramiento del maíz y del trigo (CIMMYT).
- SAGAR 2000. Anuario estadístico de producción agrícola.
- Shorey, H. 1963. A simple artificial rearing medium for cabbage looper. J. Econ. Entomol. 56: 536-537.
- Singh, P. 1977. Artificial diets for insects, mites and spiders, IFI/ Plenum Data Company, New York, pp. 35-36, 333- 352, 395- 401.
- Yamanaka, T., S. Tatsuki and M. Shimada. 2001. Flight Characteristics and Dispersal Patterns of Fall Webworm (Lepidoptera:Arctiidae) Males. Entomological Society of America. 1-3.

20. LONGEVIDAD DE *Psyllaephagus bliteus*, PARASITOIDE DEL PSÍLIDO DEL EUCALIPTO ROJO (*Glycaspis brimblecombei*), BAJO DIFERENTES TRATAMIENTOS PARA SU ENVÍO POR PAQUETERÍA

Guillermo Sánchez-Martínez¹, Ernesto González-Gaona¹ y María Leonor Sandoval-Cruz².

¹INIFAP-CEPAB. Km. 32.5 Carr. Ags. – Zac. CP 20660. Pabellón de Arteaga, Ags. gsanchez@pabellon.inifap.conacyt.mx, ²INIFAP-CENID-COMEF

Palabras Clave: eucalipto, psílido, parasitoide, longevidad.

Introducción

El psílido del eucalipto rojo (*Glycaspis brimblecombei* Moore) es originario de Australia, pero recientemente ingresó a México. Para el control de este insecto, en California (E.U.A) se estableció un programa de control biológico clásico, con la introducción de la avispa *Psyllaephagus bliteus* (Dahlsten y Rowney, 2000). México se unió a este programa en junio del 2001 (Cibrián *et al.*, 2001). En febrero de 2002, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) inició un proyecto de investigación al respecto, encontrando que sin haber hecho alguna liberación dentro del estado de Aguascalientes, *Psyllaephagus bliteus* ya se encontraba parasitando al psílido, alcanzando, a nivel estatal, un porcentaje promedio de parasitismo en ninfas maduras de 40% (Sánchez-Martínez y González-Gaona, 2002). Sin embargo, para otros lugares, se requiere la introducción artificial de *P. bliteus*. Algunos receptores de envíos de parasitoides, por parte de la Comisión Nacional Forestal, han reportado que al momento de recibirlos, los insectos llegan muertos. Esto puede ocurrir por la forma de preparación del envío y por el manejo de la paquetería durante el traslado. Los objetivos del presente estudio fueron: a) determinar la longevidad del parasitoide, en estado adulto, bajo tres condiciones alimenticias en condiciones de laboratorio y b) determinar la forma de preparación y envío de *P. bliteus*, que asegure que al llegar a su destino, los insectos estén vivos para su incremento o liberación.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó de noviembre de 2002 a agosto de 2003, consistiendo de un experimento de laboratorio y otro de campo. Para el primero, se colectó follaje de eucalipto infestado por *G. brimblecombei* en el Campo Experimental Pabellón (INIFAP), en Pabellón de Arteaga, Ags. Del follaje infestado se identificaron ninfas parasitadas por *P. bliteus*, mediante la remoción de la cubierta protectora y la identificación de "momias". Las ninfas parasitadas fueron colectadas, recortando el pedazo de hoja que las contenía y confinándolas en cajas Petri de 9.0 cm de diámetro. Las cajas se observaron diariamente para obtener avispias recién emergidas (23 de noviembre al 04 de diciembre del 2002). Se arregló un experimento con un diseño completamente al

azar. Se colocó una avispa por caja de Petri y se les asignó uno de los siguientes tratamientos: T1) esponja de 1.0 cm³ con miel diluida al 10%, T2) esponja con agua melosa al 10% + un pedazo de hoja infestada por el psilido, T3) esponja con agua melosa al 10% + pedazo de hoja infestada + una gota de miel de abeja. Se tuvo diferente número de repeticiones por tratamiento: 24, 30 y 17 para T1, T2 y T3 respectivamente. Las cajas se revisaron en forma diaria para determinar la longevidad de las avispas en cada unidad experimental. La variable evaluada fue días transcurridos desde el nacimiento a la muerte del parasitoide. Se realizó un análisis de varianza, seguido por una prueba de Tukey-Kramer HSD, a un nivel de significancia de 0.05, utilizando JMP SAS (Sall y Lehman, 1996).

Para el segundo experimento, el 15 y 16 de julio del 2003, se obtuvieron ninfas parasitadas por *P. bliteus* (momias) con el procedimiento arriba descrito. Se arregló el experimento en bloques completos al azar, con 10 tratamientos y cuatro bloques. Cada unidad experimental estuvo compuesta por 20 momias, las cuales fueron colocadas en frascos de plástico de 280 ml. En el interior de cada frasco se asignó uno de diez tratamientos, compuestos de las siguientes combinaciones: esponja con agua melosa al 10% (E), gota de miel de abeja (M), pedazo de hoja infestada (H), tapa del frasco cerrada (C) o tapa reemplazada por organza (O). Los tratamientos fueron: T1) EMHC, T2) EMHO, T3) EMC, T4) EMO, T5) MC, T6) MO, T7) EC, T8) EO, T9) HC y T10) HO. Cada tratamiento se envió desde Aguascalientes, vía terrestre, a cuatro destinos (bloques): Distrito Federal, Guadalajara., Cd. Madera, Chih. y Saltillo. Las variables de respuesta fueron: Fecha 1) avispas vivas al momento de recibir el envío, Fecha 2) avispas vivas siete días posteriores a la recepción y Fecha 3) avispas vivas al retorno del envío a Aguascalientes (aprox. cuatro semanas después del envío inicial). Se realizó un análisis de multivarianza (MANOVA) ajustado para mediciones repetidas, a un nivel de significancia de 0.05, seguido por análisis de varianza (ANOVA) para cada fecha de evaluación (Sall y Lehman, 1996).

Resultados

Para el primer experimento, las dietas aplicadas tuvieron un efecto significativo en la longevidad de los parasitoides ($F = 41.47$, $p < 0.001$). La prueba de Tukey-Kramer indicó que las tres dietas produjeron longevidades totalmente diferentes, obteniendo una longevidad media de 5.75 días (ES 2.46, $n = 24$) para el T1, 17.26 días (ES = 2.20, $n = 30$) para el T2 y 40.41 días (ES = 2.92, $n = 17$) para el T3. Estos resultados sugieren que la gota de miel de abeja sin diluir, incrementa considerablemente el tiempo de vida de las avispas (Figura 1).

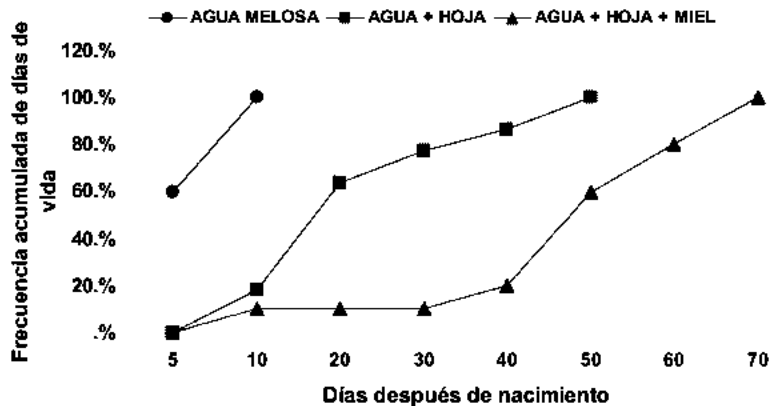


Figura 1. Longevidad de *Psyllaephagus bliteus* en respuesta a tres dietas experimentales.

Para el segundo experimento, el tiempo transcurrido entre la fecha de envío de las avispidas y la fecha de llegada a su destino fue de ocho días a Guadalajara, seis días a Madera, Chih., tres días a Saltillo, y 12 días al Distrito Federal. El MANOVA señaló diferencias significativas entre tratamientos (Wilk's Lambda = 0.079, $F = 34.79$, $p < 0.001$). Los ANOVA subsiguientes mostraron que la forma de preparación de los envíos afectó significativamente el número de avispidas vivas que se obtuvieron al momento de recibirlas en los lugares destino ($F = 4.17$, $p = 0.0018$) y este efecto se mantuvo siete días después de haberlas recibido ($F = 14.95$, $p < 0.001$) y aún después de obtenerlas de regreso al lugar de origen ($F = 7.93$, $p < 0.001$). Las medias de los tratamientos indican que la miel de abeja sin diluir y el uso de organza en los frascos, prolongan la vida de las avispidas hasta por lo menos cuatro semanas a partir del envío (Figura 2).

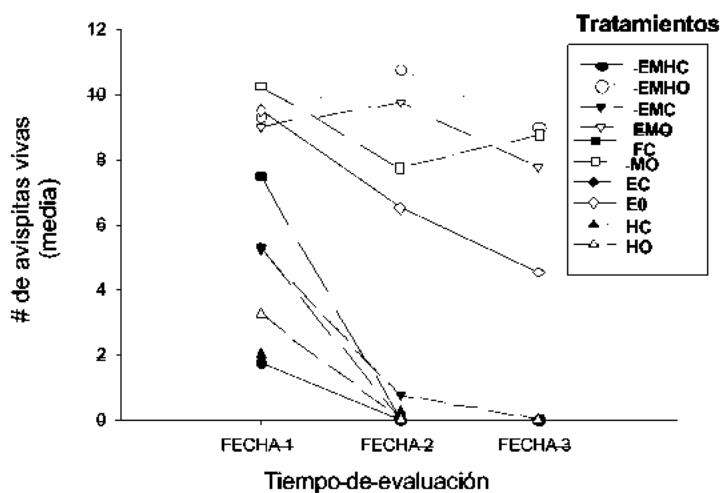


Figura 2. Longevidad de *Psyllaephagus bliteus* al ser enviados por vía terrestre a diferentes destinos. Los tratamientos resultan de las siguientes combinaciones: E = Esponja con miel diluida al 10%, M = Gota de miel de abeja sin diluir, H = Hoja de eucalipto infestada por *G. brimblecombei*, C = Frasco con tapa de plástico y O = Frasco

tapado con organza. Fecha 1 = Día en que llegó el envío a su destino, Fecha 2 = Siete días después de recibido el envío, Fecha 3 = Fecha de retorno de las avispidas al lugar de origen (cuatro semanas después del envío original).

Conclusiones

Una forma de asegurar que, durante un envío, las avispidas (*P. bliteus*) lleguen vivas a su destino, es colocarlas dentro de frascos de plástico, incluyendo como parte de la dieta una gota de miel de abeja sin diluir y reemplazando la tapa del frasco con tela de organza.

Literatura Citada

- Cibrián, T. D., G. Iñiguez, D. Dahlsten, L. 2001. Conchuela del eucalipto, *Glycaspis brimblecombei* Moore (Homoptera: Psylloidea; Spondylaspididae) una nueva plaga del eucalipto introducida a México. In Resúmenes XXXVI Congr. Nac. de Entomol. Querétaro, Méx. p E-95.
- Dahlsten D. L. & Rowney, D.L. 2000. The red gum lerp psyllid, a new pest of eucalyptus species in California. University of California.
<http://www.cnr.berkeley.edu/biocon/dahlsten/rglp/index.htm>
- Sánchez-Martínez, G. y E. González-Gaona. 2002. Auto-dispersión y establecimiento de un parasitoide del psílido del eucalipto (*Glycaspis brimblecombei* Moore), en Aguascalientes. In Actas del XXV Congr. Nac. Control Biológico, Hermosillo, Sonora, Méx. pp. 180-182.
- Sall, J. y A. Lehman. 1996. *JMP Start Statistics. A guide to statistics and data analysis using JMP IN Software*. SAS Institute.

21. BIOENSAYOS DE DEPREDACION SOBRE EL PSÍLIDO DEL EUCALIPTO ROJO (*Glycaspis brimblecombei* Moore) EN AGUASCALIENTES

¹González-Gaona Ernesto, Guillermo Sánchez-Martínez.

¹INIFAP – CEPAB. Km. 32.5 Carr. Ags. – Zac. CP 20660. Pabellón de Arteaga, Ags. eggaona@yahoo.com.mx.

Palabras Clave: eucalipto, psílido, depredación.

Introducción

El psílido del eucalipto rojo (*Glycaspis brimblecombei* Moore) fue detectado por primera vez en México, en el año 2000. Durante los años 2001 y 2002, este insecto provocó fuertes infestaciones en varios estados del país; mientras que en Australia, de donde es nativo, no causa problemas, ya que sus poblaciones son reguladas por la acción conjunta de parasitoides y predadores (Moore 1970). En los Estados Unidos de Norteamérica, donde el psílido del eucalipto rojo también fue detectado en años recientes, se han observado algunos insectos y aves que depredan a dicho insecto. Para México Lomeli y colaboradores (2001), reportan 11 familias de organismos depredadores en el bosque de Aragón, de los cuales, las catarinitas *Harmonia axyridis*, *Olla v - nigrum* y algunos arácnidos son los más abundantes; sin embargo, se desconoce si realmente impactan a las poblaciones del psílido. El objetivo del presente estudio fue determinar si algunos depredadores locales pueden completar su ciclo de desarrollo sobre el psílido del eucalipto rojo.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en el Campo Experimental Pabellón del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en Pabellón de Arteaga, Aguascalientes. Los depredadores seleccionados fueron sometidos a los siguientes cinco bioensayos: 1).- Primer prueba de depredación. En una caja Petri de 9.0 cm de diámetro se colocó una esponja de 1.0 cm³ embebida en miel diluida al 10%, dos a tres pedazos de hoja de eucalipto y un espécimen del depredador seleccionado. Cada dos días se introducían 10 ninfas de IV o V estadio y diariamente se registró si existía alimentación del depredador. Las especies evaluadas fueron: *Hippodamia convergens*, *Azya orbiger*, *Cycloneda sanguinea*, *Anthocoris* sp, *Geocoris* sp y dos catarinitas no identificadas, colectadas en follaje de eucalipto en Aguascalientes. 2).- Alimentación de predadores con ninfas sin cubierta protectora. La metodología fue similar a la prueba anterior, a excepción de que en este caso se registró el número de ninfas consumidas, días a pupa, días a emergencia del adulto y peso de pupa, considerando 10 repeticiones por depredador. Los insectos seleccionados fueron aquellos de los que se tenía información que depredaban sobre el psílido. El bioensayo se inició con larvas de depredadores de dos días de nacidos. Los organismos evaluados fueron: *H. convergens*, *C. sanguinea*, *H. axyridis*, *O. v nigrum* y *Chrysoperla carnea*. 3).- Alimentación sin remoción de la cubierta protectora. En una caja petri se colocó una

larva de la especie depredadora de dos días de nacida. Cada 48 horas, se introdujeron cuatro pedazos de hoja con infestación del psílido, sin remover la cubierta protectora. Se evaluó a *C. carnea*, *H. axyridis* y *Geocoris* sp. Se tuvieron 10 repeticiones por especie y se registraron los días a pupación y emergencia del adulto. 4).- Sobrevivencia en cajas de cría. Se utilizaron cajas de cría originalmente diseñadas para el parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (D.L. Dahlsten, U. Cal.). En cada caja se introdujeron tres plantas de eucalipto que se inocularon con 40 ninfas de *G. brimblecombei* del V estadio. Treinta días después se introdujeron en cada caja, 12 inmaduros (depredadores) de dos a tres días de nacidos. En esta prueba se evaluó a *H. axyridis*, *Geocoris* sp, *H. convergens*, *C. carnea* y un testigo en blanco. Se tuvieron cuatro repeticiones por depredador. Las variables de respuesta fueron el número de depredadores adultos obtenidos, la presencia de mudas y el número de ninfas amarillas en 10 hojas tomadas al azar. 5).- Evaluación de depredadores en árboles encerrados. Se encerraron con tela de organza, árboles de *Eucalyptus camaldulensis* de 1.5 a 2.0 m de altura, infestados por el psílido. Previamente se contabilizó la población del psílido en 10 hojas tomadas al azar. Los depredadores evaluados fueron *H. axyridis*, *Geocoris* sp, *C. carnea* y un testigo sin depredador. Se tuvieron tres repeticiones por tratamiento y se incluyeron 10 inmaduros por árbol, excepto en *Geocoris*, para el cual solo se liberaron siete. Un mes después se evaluó la población del psílido residente en los árboles en 10 hojas tomadas al azar.

En adición a las pruebas descritas, se realizó un muestreo de depredadores en campo mediante 20 golpes de red entomológica, cada 15 días, sobre el follaje de árboles de eucalipto infestados con el psílido.

Resultados

En la primer prueba de depredación se observó que los adultos de *H. convergens* y *A. orbigera* no se alimentaron de las ninfas *G. brimblecombei*. Las ninfas de *Geocoris* sp se alimentaron, pero no completaron su desarrollo. *Cycloneda sanguinea* y la catarina amarilla (especie no identificada) colectadas en eucalipto se alimentaron y/o ovipositaron ante la presencia de ninfas del psílido, mientras que la chinche *Anthocoris* sp se alimentó y pudo completar su desarrollo con ninfas del psílido. En el segundo bioensayo, los inmaduros de la *C. carnea* y de *H. axyridis* completaron satisfactoriamente su ciclo con la sola alimentación de ninfas del psílido, aunque la última requiere el doble del tiempo para su desarrollo. *Cycloneda sanguinea*, *O. v nigrum* e *H. convergens* lograron completar su desarrollo pero el tamaño de los adultos fue muy reducido y se presentan fallas en la emergencia. En el tercer bioensayo, tanto *C. carnea* como *H. axyridis* pudieron sobrevivir con ninfas del psílido encerradas con sus cubiertas. Posiblemente se alimentaron de las ninfas fuera de sus cubiertas protectoras, durante una muda y de los primeros estadios. *Geocoris* sp. no sobrevivió en estas condiciones.

La sobrevivencia de depredadores en las cajas de cría fue mínima. Sólo se obtuvieron 3, 8, 0 y 8 adultos (de 48 inmaduros introducidos) de *H. axyridis*, *Geocoris* sp, *H. convergens* y *C. carnea* respectivamente. La actividad de los depredadores indicada por las mudas se contabilizó y se ubicó como sigue 14, 9, 11 y 2 exuvias en el orden

descrito anteriormente. Resalta el hecho de que haya habido 11 exuvias de *H. convergens* y cero adultos. Esto se obtuvo en una sola caja y no se obtuvieron adultos debido a que en dicha caja alcanzaron a introducirse algunas arañas. En los árboles encerrados, a un mes de introducidos los depredadores, las poblaciones del psílido fueron incipientes con una mayor proporción de ninfas amarillas y huevecillos. Como tratamiento, la mayor población se observó en los árboles encerrados con *H. axyridis* y *C. carnea* mientras que la menor se presentó en el testigo. A los tres meses se observó que el tratamiento con *H. axyridis* mostró la mayor cantidad de ninfas maduras. En la población de ninfas amarillas y masas de huevecillos *H. axyridis* y el testigo mostraron la mayor población; no se observaron efectos de la inclusión o no del depredador en la población del psílido. Mediante el redeo sobre el follaje del eucalipto se observó que el insecto depredador más común en Ags. fue *O. v nigrum* con 33 ejemplares seguido por las chinche piratas, *Anthocoris* sp y en forma ocasional se colectó a *C. sanguinea*, moscas sirfidas, chinches asesinas y arañas. Sin embargo, el insecto más asociado a *G. brimblecombei* fue la avispa parasitoide *P. bliteus* (5,149 psílicos y 474 avispidas).

Conclusiones

En Aguascalientes existen insectos depredadores que se pueden alimentar de *G. brimblecombei*; sin embargo, en condiciones controladas, sólo *C. carnea* y *H. axyridis* fueron capaces de completar su desarrollo cuando recibieron al psílido del eucalipto como única dieta. Las catarinitas *C. sanguinea*, *O. v nigrum* e *H. convergens*, aunque llegan a alimentarse del psílido, evidentemente requieren de otra fuente de alimentación, como la mielecilla producida por el mismo psílido.

No se observó un impacto de los depredadores sobre la población del psílido en los árboles encerrados y la sobrevivencia de depredadores en las cajas de cría fue muy baja 16%, por lo cual es necesario afinar la metodología de esta prueba.

En condiciones de campo, el insecto depredador más asociado al psílido es *O. v nigrum*; sin embargo, fue mucho más notoria la presencia del parasitoide *P. bliteus*, el cual es parasitoide específico de *G. brimblecombei* por lo que seguramente este parasitoide ejerce un mayor impacto en la población del psílido.

Los depredadores que pudieran afectar la población de la plaga son: *O. v nigrum*, *C. carnea*, Aves, *Anthocoris* sp y arañas; *H. axyridis* no se encuentra en Ags., y en las pruebas de laboratorio se considera que *C. carnea* es igual de efectiva por lo cual no se considera necesaria su introducción.

Literatura Citada

- Dahlsten, D.L. 2001. Biological control of the red gum lerp psyllid, a pest of *Eucalyptus* species in California. [http:// nature.berkeley.edu/biocon/dahlsten/rglp/index.htm](http://nature.berkeley.edu/biocon/dahlsten/rglp/index.htm).
- Lomeli, F. J. R., K. G. Clemente, M., y A. Equihua, M. 2001. Factibilidad del uso de depredadores en el control del psilido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Spondylaspididae) en México. In Reunión NAPPO, Cuernavaca, Mor. 23 p.
- Moore, K.M. 1970. Observations on some Australian Forest Insects. 31. The *Glycaspis* spp (Homoptera: Psyllidae) – *Eucalyptus camaldulensis*. Jour. Entomol. Soc. Of Australia. Proc. Linnean Soc. New South Wales 7: 3-7.

Agradecimientos

A la Comisión Nacional Forestal por el financiamiento recibido para el presente estudio.
Al Sr. Rafael Hernández A. por su apoyo en las actividades de laboratorio y de campo.

22. ETOLOGÍA DE FORRAJE DE LOS DEPREDADORES PHYTOSEIIDAE SOBRE EL ÁCARO ANCHO

Badii, M. H., A. E. Flores, G. Ponce & S. ¹Varela

¹UNAL, Ap. 391, San Nicolás de los Garza, N. L., 66450, México, & ¹UAT, Cd. Victoria, Tamaulipas

Introducción

El ácaro ancho, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), fue descubierto atacando los limones en huertas comerciales (Brown, 1980; Brown y Jones, 1982, McMurtry et al. 1984). El ácaro ancho es una plaga de té, café, algodónera, aguacate, tomate, chile, y mangos en zonas tropicales y, además, ataca las plantas en invernaderos en zonas subtropicales y áreas templadas en el mundo (Jeppson et al. 1975). Para determinar el potencial de control biológico del ácaro ancho, nueve especies de la familia depredadora Phytoseiidae fueron probadas en esta presa en el laboratorio. Cuatro de estas nueve especies, es decir, *Typhlodromus rickeri* Chant, *T. porresi* McMurtry, *T. annectens* DeLeon, y *Euseius stipulatus* Athias-Henriot, resultaron como especies promisorias en contra de esta especie plaga (McMurtry et al. 1984). El objetivo de este estudio fue describir el patrón de alimentación y las diferencias en los rasgos alimenticios de estas cuatro especies depredadores sobre el ácaro ancho.

Materiales y Métodos

El ácaro ancho fue criado sobre las frutas pequeñas de limón (menor de 4 cm en diámetro). Estas frutas fueron puestas en contenedores plásticos de la un litro, bajo las condiciones de 26.6 °C y 60% de humedad relativa. Frutas viejas fueron reemplazadas por las frescas bisemanalmente, durante este tiempo también fueron reemplazados los contenedores plásticos por los nuevos.

Cada arena experimental consistió de una hoja de limón tierna de color púrpura (6-8 cm de longitud) puesto, con la parte envez hacia arriba, sobre una esponja saturada de agua y rodeada por tiras de papel higiénico con el fin de confinar los individuos de los depredadores dentro de las arenas experimentales. Todas las fases de desarrollo del ácaro ancho fueron sepillados de las frutas en las arenas. Las hembras ovipositaron sobre las hojas y, después de 4-5 días hubo un exceso de todos los instares (huevo, larva activa, ninfa inactiva y adulto activo) del ácaro presa en las arenas experimentales. Hembras de diferentes especies de ácaros depredadores que habían sido creados previamente sobre el ácaro ancho, fueron liberadas de manera individual sobre las hojas arenas. Diferentes comportamientos alimenticios de los depredadores sobre el ácaro ancho fueron observados, durante un lapso de 60 minutos continuos, usando un microscopio estereoscópico. Cuatro individuos de cada especie de depredador fueron probados en estos experimentos.

Los siguientes actividades del depredador fueron observados como sigue. La limpieza (el acto de limpiar los quelíceros, pedipalpos y las patas por medio de las patas y los pedipalpos); descanso (sin movimiento en un sitio); manipuleo (en contacto físico con la presa e intentando a vencer la y comerla pero sin éxito); alimentación (penetrar y alimentar sobre la presa, resultando en la muerte de la misma); y caminar. La proporción del tiempo cada individuo de cada especie del depredador consumió en cada actividad, y también el número y el instar de la presa atacada que fue contactada y alimentada fueron registradas. En este estudio la palabra 'contacto' significa que el depredador contactó físicamente a la presa mientras el depredador o la presa o ambos estaban caminando activamente.

Resultados y Conclusión

Hábitos Alimenticios Generales de los Depredadores

1) Hubo un período alimenticio de alrededor de 10-12 minutos inmediatamente después de la introducción del depredador en la arena. 2) Durante el lapso inicial (12 mn) y el lapso intermedio (20 mn) de alimentación, cada depredador fue extremadamente tolerante al disturbio por una larva o adulto de la presa, probablemente debido al alto nivel del hambre del depredador después de un lapso de ayuno de 24 horas. Para evitar el contacto y el disturbio por un individuo de la presa, el depredador extendía sus patas posteriores y levantaba la zona intermedia y posterior de su cuerpo (mientras alimentado sobre la presa), permitiendo el pase de la presa por debajo de su cuerpo. Las hembras depredadoras también usaban sus patas para empujar y liberarse de los individuos de presa que intentaban hacer contacto con ellas. En contraste, Sabelis (1981), trabajando con diferentes especies de Phytoseiidae, observó que los individuos hambrientos de depredador eran más sensible a los contactos con los individuos de ácaro de dos manchas. Debido a que las hembras depredadoras en el presente estudio no atacaban las presas invasoras durante las fases iniciales y intermedias de alimentación, entonces, este comportamiento de evitar el disturbio, como fue descrito arriba, probablemente, redujo el número potencial de la presa que pudiera sido atacado (Tabla 1). 3) Después de la fase intermedia de 20 minutos, los individuos del depredador, normalmente, retomaron su actividad alimenticia, sin embargo, ahora eran muy sensible a los contactos con los individuos de la presa, y en mayoría de los casos, la hembra depredadora abandonó la primera presa para atacar y destruir la segunda que causaba el disturbio. Este alto nivel de sensibilidad del depredador durante este lapso de alimentación (28 mn) resultó en un mayor número de las presas destruidas por el depredador por unidad de tiempo, en comparación con las fases de alimentación previa en donde el depredador era insensible a los contactos con los individuos de la presa (Tabla 1).

Rasgos Alimenticios Específicos de Cada Especie Depredadora

Dos especies de los depredadores, *E. stipulatus* y *T. annectens* atacaron tanto las hembras como las larvas de la presa. Sin embargo las hembras de la presa fueron capturadas con éxito, sólo cuando fueron atacadas anteroventralmente,, los ataques

por la parte posterior de la presa nunca resultaron con éxito. Ambas especies de depredador promediaron más tiempo alimentando sobre la hembra que la larva (Tabla 2). *Euseius stipulatus* promedió más tiempo consumiendo el huevecillo de la presa en comparación con cualquier otro instar.

Tabla 1. Proporción de capturas exitosas por minuto durante diferentes lapsos de tiempo.

Especie depredador	Período de observación (mn)		
	Fase inicial (12 mn)	Fase intermedio (20 mn)	Fase final (28 mn)
<i>T. rickeri</i>	0.0248	0.0278	0.0389
<i>T. porresi</i>	0.0396	0.0349	0.0817
<i>T. annectens</i>	0.0197	0.0196	0.0391
<i>E. stipulatus</i>	0.1366	0.0429	0.2340

Tabla 2. Promedio de contactos y presas consumidas por cada especie de depredador (M = media aritmética, EE = Error estándar, P = Presa, Ds = Destruídas, AT = Ataque Exitoso, AI = Alimentación).

Depredador	Instar	Contactos P *		Presas Ds		Tasa AT	Tiempo AI
		M±EE	%	M±EE	%	M±EE	M±EE
<i>T. rickeri</i>	Larva	92.25±2.46a	44	6.77±2.21	100	0.08±0.05	0.76±0.23
	Ninfa	11.00±2.45b	5	0	0	0	0
	Macho	11.99±11.11b	5	0	0	0	0
	Hembra	94.25±49.22a	46	0	0	0	0
<i>T. porresi</i>	Larva	49.25±31.22a	47	4.75±2.21	100	0.26± 0.36	1.42±0.76
	Hembra	54.25±33.73a	53	0	0	0	0
<i>T. annectens</i>	Larva	72.25±23.91a	42	4.00±1.63	76.2	0.06±0.03	1.87±0.51
	Ninfa	4.00±0b	2	0	0	0	0
	Hembra	96.75±27.00a	56	0.75±0.95	23.8	0.007±0.008	2.47±1.92
<i>E. stipulatus</i>	Huevecillo	4.66± 5.19b	8	1.00±0.80a	16.7	0.81±1.03	8.00±5.19
	Larva	24.50±13.31a	40	2.50±2.38a	41.6	0.16±0-18	2.16±1.04
	Ninfa	6.50± 4.95b	11	0	0	0	0
	Macho	4.00±3.60b	6	1.50±1.29a	25	0.67± 0.58	2.66±1.52
	Hembra	21.25±9.91a	35	1.00±0a	16.7	0.06± 0.07	4.50±0.70

* Valores dentro de cada especie seguidos por letras similares no son diferentes significativamente (DMRT, $p \leq 0.05$).

Un análisis del promedio de tiempo que un depredador consume en alimentar sobre la presa reveló que *T. rickeri* fue el depredador más rápido y *E. stipulatus* la más lenta entre todos las especies depredadoras probadas en estos experimentos. No hubo correlación entre el promedio de tiempo consumido en alimentar sobre una presa larva y el promedio de número de larvas consumidas por el depredador. *Typhlodromus rickeri* y *T. porresi* consumieron solamente las larvas de la presa. La dieta de *T. annectens* en este experimento consistió de 76.2% de larvas y 23.8% de hembras de la presa. *Euseius stipulatus* consumió todos los instares de la presa con la excepción de la ninfa. La mayor parte de la dieta de *E. stipulatus* fue de larva (41.6%) mientras que la hembra y los huevecillos de la presa constituyeron, de manera igual, la menor proporción (16.7) de su dieta.

Hassell (2000), Kramer (2001), y Abrams (2001), definieron la preferencia para un instar específico de la presa, como una desviación de la proporción del instar atacado de la proporción del mismo instar disponible en el ambiente. Debido a que las proporciones disponible no fueron determinado, entonces, las proporciones de los instares contactadas fueron utilizados para este fin.

Las hembras de la presa fueron contactados por el depredador, mas frecuentemente que cualquier otro instar, con la excepción de *E. stipulatus* (Tabla 2). Sin embargo, los contactos con las larvas resulto en mayor proporción de ataques exitosos. Los datos indican que las tres especies del genero *Typhlodromus* prefieren la larva de la presa (Tabla 2). *Euseius stipulatus* consumió todos los instares de la presa menos las ninfas. Además, este depredador atacó y consumió los diferentes estadios de la presa con la misa probabilidad. En general, la tasa del consumo de larva de la presa por este depredador fue menor comparado con las otras tres especies.

Para todas las especies con la excepción de *T. porresi*, la mayor proporción del tiempo se gasto en caminar (Tabla 3). Esta especie gasto el mayor por ciento del tiempo en la limpieza y la menor % en el manipuleo de la presa, en comparación con otras especies. *T. annectens* fue la especie más activa que todas y gasto menos tiempo en el descanso. *T. rickeri* descanso mas que cualquier especie. Todas las especies, con excepción de *T. rickeri* gastaron mas tiempo en alimentación que en manipuleo. Para *T. rickeri* este comportamiento se debe a tiempos cortos de alimentación sobre la presa. Esta especie y *E. stipulatus* gastaron el máximo y el mínimo porcentaje del tiempo en alimentación, respectivamente.

Tabla 3. Actividad comportamental de las cuatro especies depredadores.

Depredador	% de tiempo en diferentes actividades				
	alimentación	manipuleo	limpieza	descanso	caminar
<i>T. rickeri</i>	8.73	10.70	8.50	35.52	36.56
<i>T. porresi</i>	11.38	3.30	18.30	33.57	33.45
<i>T. annectens</i>	17.42	9.37	9.37	1.88	56.38

<i>E. stipulatus</i>	22.50	7.90	7.90	20.00	45.42
----------------------	-------	------	------	-------	-------

Los resultado de este estudio indican que las especies del genero *Typhlodromus* y *E. stipulatus* debido a su preferencia diferencial para su presa, pueden potencialmente complementar sus actividades en el control biológico de la presa en campo.

Literatura Citada

- Abrams, P. A. 2001. Predator-prey interaction. Pp.277-289. In: C. F. Fox, D. A. Roff & D. J. Fairbairn (eds). Evolutionary Ecology Concepts and Case Studies. Oxford University Press, Oxford.
- Brwon R. D. 1980. The broad mite on lemons. Pest Control Circular No. 508. Sunkist Grwoers, Inc., Van Nuys, California.
- Brwon, R. D. & V. P. Jones. 1983. The broad mite on lemons in southern California. Calif. Agric. 17-18.
- Hassell, M. P. 2000. The Spatial and temporal Dynamics of Host-Parasitoid Interactions. Oxford University Press, Oxford.
- Jeppson, L. R., H. H. Keifer & E. W. Baker. 1975. Mites Injurious to Economic Plants. University of California Press, Berkeley.
- Kramer, D. L. 2001. Foraging behavior. Pp. 232-246. In: C. F. Fox, D. A. Roff & D. J. Fairbairn (eds). Evolutionary Ecology Concepts and Case Studies. Oxford University Press, Oxford.
- Sabelis, M. W. 1981. Biological Control of two-spotted spider mites using phytoseiid predators. Part I. center for Agric. Publ. Doc. Wageningen.
- McMurtry, J. A., M. H. Badii & H. G. Johnson. 1984. The broad mite, *Polyphagotarsenemus latus*, as a potential prey for phytoseiid mites in California. Entomophaga, 29: 73-76.

23. EVALUACIÓN DE LIBERACIONES INUNDATIVAS DE *Anagyrus pseudococci* PARA CONTROL DEL PIOJO HARINOSO *Planococcus ficus* EN VID DE MESA

Agustín Fu Castillo¹, José Grageda G.¹, Víctor Búrquez D.²

¹INIFAP-CECH. Carret. Bahía Kino Km.12.6, fuca40@hotmail.com. ²JLSV-CREROB. Blvd. García Morales No. 42, jlsv@hotmail.com.

Palabras claves: inundativa, parasitoide, piojo harinoso, vid

Introducción

El piojo harinoso de la vid *Planococcus ficus* (Signoret) es una plaga de reciente aparición y grave amenaza para la viticultura en Sonora, ya que es uno de los insectos más dañinos y difíciles de controlar (Fu *et al*; 2002). Una vez que el insecto se establece en un viñedo es difícil de erradicar, y su control necesitará repetidas y costosas aplicaciones de insecticidas (Malakar-Kuenen *et al*; 2001). Ante la importancia de esta plaga y con el fin de reducir el uso de insecticidas para su combate se evaluó el impacto de liberaciones inundativas de *Anagyrus pseudococci* en el control de piojo harinoso en vid.

Materiales y Métodos

El ensayo se estableció en plantaciones de vid de mesa en la Costa de Hermosillo, Sonora en los cvs. "Flame" y "Superior" en la primavera del 2003. Los tratamientos consistieron en liberar 3 dosis de *A. pseudococci* (25,000, 50,000 y 100,000 individuos/ha) con control de hormigas, un testigo sin liberación y sin control de hormigas (SCH y SA); y un testigo sin liberaciones y con control de hormigas (CCH y SA). El control de hormigas se realizó con clorpirifos a la base del tronco. En todas las parcelas se aplicó imidacloprid a través del riego por goteo. Las liberaciones se fraccionaron de marzo a junio (31 Marzo, 7, 14 y 29 Abril, 22 y 27 Mayo, 4 y 12 Junio). El experimento se estableció en franjas, utilizando una hilera de plantación con 96 plantas para cada tratamiento, separados 40 metros uno del otro para evitar contaminación entre parcelas. Las variables evaluadas fueron: población de piojos harinosos en muestreos de 5 minutos/planta y % de parasitismo mediante confinamiento de 100 piojos grandes en cápsulas de gelatina que se revisaban 3 semanas después de encapsulación. También se registró la población de hormigas en trampas de madera colocadas en la base de las plantas. Los datos se analizaron estadísticamente en el programa estadístico SAS.

Resultados y Discusión

Los resultados se presentan en el Cuadro 1, donde se aprecia que en el cv. Flame los niveles de parasitismo fluctuaron de 9.9 a 16.1%, y no se encontró diferencias significativas entre tratamientos. En los testigos se registró parasitismo por *A.*

pseudococci, debido posiblemente a movilización del parasitoide entre parcelas. La dosis de 25,000 *Anagyrus* y el testigo CCH y SA presentaron el mayor parasitismo. En "Superior", al igual que en "Flame" los testigos registraron parasitismo. Las parcelas con 25,000 y 50,000 *Anagyrus* registraron el mayor parasitismo; sin embargo, ninguno de los tratamientos redujo la población de piojos harinosos. Así mismo no se encontró diferencia en parasitismo por efecto del control de hormigas.

Cuadro 1.- Evaluación de *Anagyrus pseudococci* en el control del piojo harinoso *Planococcus ficus* en vid de mesa en la Costa de Hermosillo, Sonora 2003.

Tratamiento	Cv. Flame			Cv. Superior		
	Piojos Grandes ¹	% Parasitismo ¹	Hormigas/trampa	Piojos Grandes ¹	% Parasitismo ¹	Hormigas/trampa
SCH y SA ²	6.08b	9.9 ^a	2.7ab	27.3a	8.6a	2.8a
(25,000)	8.0ab	16.1a	2.5ab	15.4a	16.4a	3.1a
(50,000)	6.5b	12.5a	1.9b	11.3a	16.6a	2.4a
(100,000)	17.4a	13.7 ^a	8.4ab	23.7 ^a	11.1a	2.3a
CCH y SA ³	10.6ab	14.6 ^a	12.4a	15.2 ^a	10.3a	2.3a

¹Promedio de 5 muestreos, ²Sin control de hormigas y sin liberación de parasitoides, ³Con control de hormigas y sin liberación de parasitoides.

En ambos cultivares se encontró una tendencia negativa en el % de parasitismo a través del tiempo, ya que a principios de abril y mediados de mayo se presentaron los mayores niveles de parasitismo, los cuales disminuyeron significativamente a finales de mayo y junio. En "Flame" el parasitismo fue de 22, 19.6, 8.4 y 3.5% (Figura 1), mientras que en "Superior" registró niveles de 15.32, 18.24, 9.78 y 7.12% (Figura 2) en las fechas del 4 abril, 13 mayo, 26 mayo y 17 junio, respectivamente.

En todas las fechas de muestreo y en todos los tratamientos se registran piojos parasitados; sin embargo, en parcelas liberadas con 25,000 *Anagyrus* en el cv. Superior el día 4 Abril se obtiene el mayor parasitismo (36.7%), seguido de 50,000 parasitoides (28.9%). En "Flame" dosis de 100,000 parasitoides el 4 de abril registraron los mayores niveles de parasitismo (30.4%).

En ningún tratamiento se registró presencia de mielecilla en los racimos cosechados, a pesar de que en los cordones se tuvieron daños en más del 50% de las plantas muestreadas.

Las principales conclusiones indican que *A. pseudococci* parasitó piojos harinosos en todas las parcelas en ambos cultivares de vid. Las diferentes dosis de liberación no redujeron las altas poblaciones del piojo harinoso de la vid. No existió diferencia de parasitismo en las diferentes dosis evaluadas en "Flame"; sin embargo, en "Superior" el mayor parasitismo ocurrió con liberaciones de 25,000 y 50,000 individuos/ha. La mayor actividad de parasitoides se registró entre finales de marzo y abril.

Literatura Citada

Fu, C. A. A, G. Osorio A; A. Márquez C; G. Martínez D, J. L. Miranda B y J. Grageda G y G. Martínez D. 2002. Manejo integrado del piojo harinoso de la vid. Folleto técnico No. 25. CECH-CIRNO-INIFAP.

Malakar-Kuenen, R; K. M. Daane, W.J. Bentley; G.Y. Yokota y L. Martín. 2001. Population dynamics of the vine mealybug and its natural enemies in the Coachella and San Joaquín Valleys. Univ. Calif. Plant Prot. Q. 11:1-3.

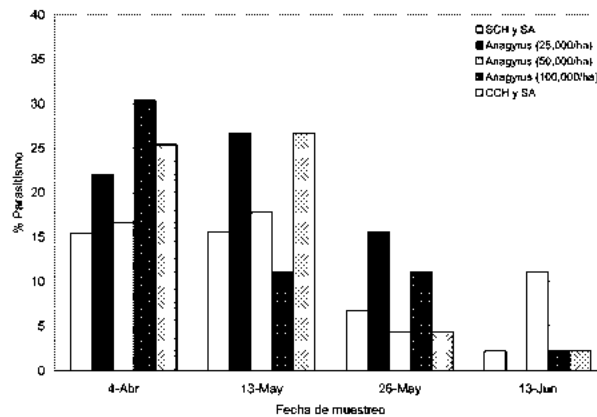


Figura 1.- Evaluación de *Anagyrus pseudococci* en el control de piojo harinoso en vid de mesa cv. Flame 2003

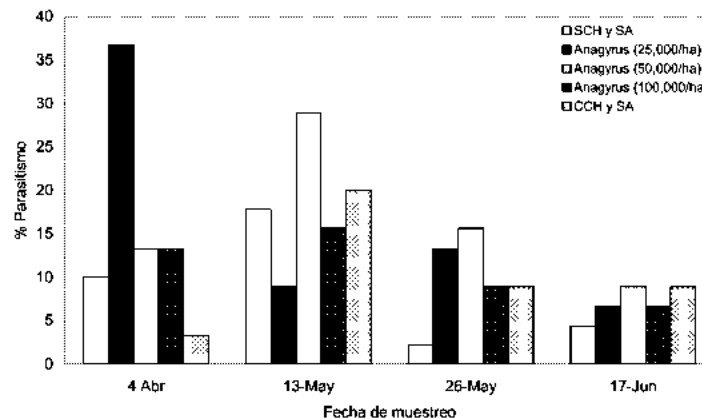


Figura 2.- Evaluación de *Anagyrus pseudococci* en el control de piojo harinoso en vid de mesa cv. Superior 2003.

24. ESTABLECIMIENTO DE *Anagrus pseudococci* EN EL CONTROL DE PIOJO HARINOSO *Planococcus ficus* EN VID DE MESA

Agustín Fu Castillo¹, José Grageda G.¹, Víctor Búrquez D.² y Josías Ayala G.²

¹Invest. INIFAP-CECH. Carret. Bahía Kino Km. 12.6, fuca40@hotmail.com. ²Técnicos JLSV-CREROB. Blvd. García Morales No. 42, jlsv@hotmail.com.

Palabras Claves: inoculativa, parasitoide, viñedos

Introducción

El cultivo de la vid en Sonora es considerado uno de los soportes socioeconómicos más importantes, debido a los ingresos y mano de obra que genera. En el 2001 el piojo harinoso de la vid *Planococcus ficus* (Signoret) ocasionó daños del 100% de la producción en 150 ha de vid de mesa (Fu *et al*; 2002). El principal daño causado por el insecto es contaminación de los racimos con insectos y "mielecilla", lo cual afecta la calidad de la fruta (Malakar Kuenen *et al*; 2001). La presencia del insecto en racimos puede causar rechazo de la fruta de exportación (Prado *et al*; 2000; Geiger y Daane, 2001). El objetivo del presente trabajo fue el de establecer *A. pseudococci* en campos de vid infestados con piojo harinoso, con el fin de buscar alternativas al control químico de esta plaga.

Materiales y Métodos

El experimento se desarrolló en la Costa de Hermosillo, Sonora y los *A. pseudococci* se obtuvieron del laboratorio de reproducción masiva del CREROB propiedad de la Junta Local de Sanidad Vegetal de Hermosillo. Los parasitoides fueron liberados en pequeñas áreas en 30 plantaciones de vid comercial con presencia de *P. ficus*, mediante liberaciones inoculativas de 2,000 individuos/ha en una proporción sexual 1:1 macho y hembra. Las liberaciones se efectuaron en julio del 2002, utilizando 1 millón de individuos en una superficie de 500 ha. Posteriormente, en el 2003 las inoculaciones con *A. pseudococci* se realizaron desde finales de marzo hasta julio, liberando un total de 900,000 individuos en 450 ha. En ambos ciclos las liberaciones se realizaron en diferentes meses del año y nunca se repetían en el mismo cuadro del viñedo, ya que siempre se buscó las áreas con mayor infestación de la plaga. Todos los viñedos liberados fueron aplicados con imidacloprid en el riego por goteo. Únicamente en 11 campos se tomaron datos, evaluando población de piojos harinosos en muestreos de 5 minutos/planta y % de parasitismo mediante confinamiento de 50 piojos grandes dentro de cápsulas de gelatina, las cuales se revisaban 3 semanas después de encapsulación, registrando momias y emergencia de parasitoides, desde octubre del 2002 hasta junio del 2003 en intervalos mensuales. Para ambas variables se descortezaban diferentes partes de la planta, cubriendo desde la base del tronco hasta los cordones. En cada tratamiento se revisaron 5 plantas en las diferentes fechas de muestreo. Los datos se analizaron estadísticamente en el programa estadístico SAS.

Resultados y Discusión

Los resultados se presentan en el Cuadro 1, donde se aprecia que en todos los viñedos inoculados con el parasitoide se obtuvo parasitismo de piojos harinoso. Los niveles fluctuaron entre 0.40 y 13.25 %, respectivamente, siendo los campos El Rosario, Pro-Agro, Santa Inés 1 y Luz Elena los que presentaron los mayores niveles promedio con 13.3, 11.7, 9.4 y 8.8%, respectivamente; sin embargo, en algunos campos como La Ventanita, Terranova y Don Luis los porcentajes de parasitismo fueron muy bajos con 0.40, 2.50 y 3.33, respectivamente, debido a que dichos campos fueron los últimos en ser inoculados con *A. pseudococci*. No se encontró una relación entre la población promedio de piojos harinosos por planta y el % de parasitismo entre los diferentes campos, por lo que se deberá continuar investigando el efecto de inoculaciones de parasitoides. En todos los campos se registró recuperación de adultos del parasitoide; sin embargo, los datos obtenidos indican que únicamente se recuperan 50% de adultos, ya que muchos mueren dentro de piojos momificados. El porcentaje de emergencia de adultos de *Anagyrus* se debe considerar en futuras liberaciones inoculativas. Otro factor negativo en el establecimiento de este parasitoide fue la recuperación de hiperparasitoides (especies no identificadas), en la mayoría de los campos. La dinámica de parasitismo se presenta en la Figura 1, donde se puede apreciar que los mayores niveles de parasitismo ocurrieron en octubre con 17%; sin embargo, en estas fechas en los campos Rosario y Pro-Agro se registraron altos niveles de parasitismo con 38 y 35%, respectivamente. Estos altos porcentajes se deben a que los insectos en octubre y noviembre se movilizan hacia la parte aérea de la planta y además no se realizan aplicaciones de insecticidas, debido a que el cultivo está en etapa de postcosecha. En primavera existió una fuerte presión de insecticidas, los cuales se reducen a mediados de abril.

Cuadro 1.- Establecimiento de *Anagyrus pseudococci* en el control de piojo harinoso *Planococcus ficus* en viñedos de la Costa de Hermosillo, Sonora 2003.

Viñedo	Piojos grandes 5 min/planta ¹	% Parasitismo			Hiper ³
		Piojos momias	Recuperación Anagyrus	Parasitismo Total ²	
El Rosario	67	7.0±9.5	6.3±7.2	13.3±16.5	0.5
Pro-Agro	11	9.7±16.7	2.0±3.5	11.7±20.2	0.3
Santa Inés 1	40	3.7±5.2	5.7±5.7	9.4±8.5	0.4
Luz Elena	105	4.8±3.4	4.0±2.2	8.7±5.5	0.5
San Arturo	48	4.4±3.5	2.4±2.3	6.8±3.9	0.4
Agroindustrial	46	4.0±3.2	2.6±2.9	6.6±4.5	0.2
El Talo	25	2.7±2.5	1.6±1.8	4.3±3.9	0.2
Santa Inés 2	73	1.4±1.6	2.9±3.2	4.2±3.8	0.0
Don Luis	27	0.0	3.3±5.8	3.3±5.7	0.3
Terranova	47	1.5±1.9	1.0±1.2	2.5±1.9	0.0
Ventanita	41	0.2±0.4	0.2±0.4	0.4±0.5	0.0

¹ Promedio de 5 repeticiones, ² Suma de momias y *Anagyrus*, ³ Especie no identificada,

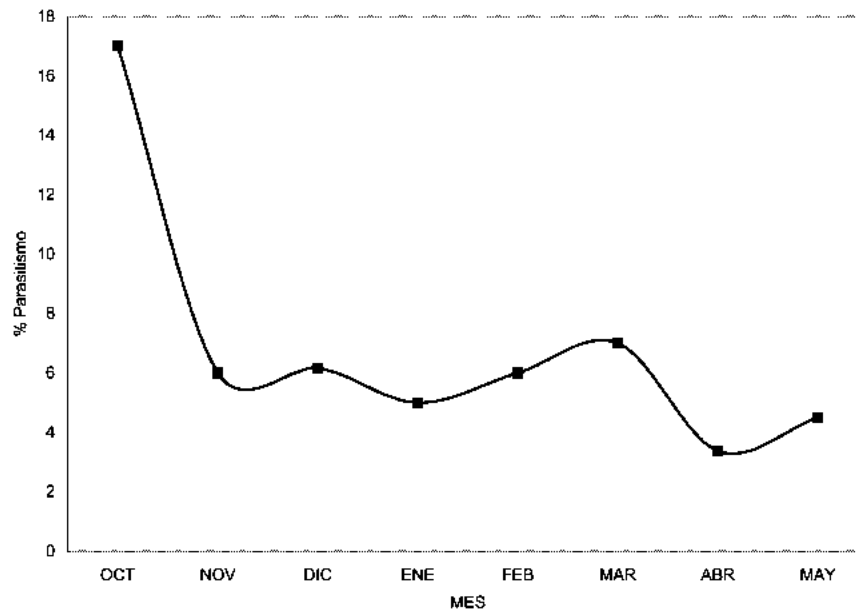


Figura 1- Dinámica de parasitismo regional en viñedos de la Costa de Hermosillo, Sonora ciclo 2002-2003.

Se puede concluir que *Anagyrus pseudococci* se estableció y recuperó en todos los viñedos inoculados; sin embargo, únicamente se recuperó un 50% de adultos del parasitoide. Existió una alta mortalidad natural. Los mayores niveles de parasitismo se registraron durante octubre y noviembre. En todos los viñedos inoculados se registraron hiperparasitoides de *A. pseudococci*.

Literatura Citada

- Fu, C. A. A, G. Osorio A; A. Márquez C; J. L. Miranda B; J. Grageda G y G. Martínez D. 2002. Manejo integrado del piojo harinoso de la vid. Folleto Técnico No. 25. ECH-CIRNO-INIFAP. 16 pp.
- Geiger, C. A. and K. M. Daane. 2001. Seasonal movement and sampling of the grape mealybug, *Pseudococcus maritimus* (Ehrhorn) (Homoptera: Pseudococcidae) in San Joaquin Valley vineyards. *Journal of Economic Entomology* 94: 291-301.
- Malakar-Kuenen, R; K. M. Daane; W. Bentley; G. Y. Yokota y L. Martín. 2001. Population dynamics of the vine mealybug and its natural enemies in the Coachella and San Joaquin Valleys. *Univ. Calif. Plant Prot. Q.* 11:11-3.
- Prado, E; R. Ripa y F. Rodríguez. 2000. Insectos y Ácaros. In: Uva de Mesa en Chile. Editor Jorge Valenzuela B. Colección Libros INIA No. 5. Gobierno de Chile. Ministerio de Agricultura. P: 234-249.

25. CONTROL BIOLÓGICO DE LA MONILIASIS *Moniliophthora roreri* (HYPHALES-MONILIACEAE) DE CACAO USANDO BIOFORMULADOS EN EL CULTIVAR NACIONAL “TENGUEL 25 (EET-103)”

Yáñez Viviana, Oleas Abraham y Falconí Cesar

¹Escuela Politécnica del Ejército, Facultad de Ciencias Agropecuarias (IASA), Centro de Investigaciones en Control Biológico .O. Box: 171-5-231B; Telefax (593) 02 2870187Sangolquí, Ecuador. E-mail: vivi983@hotmail.com, abrahamoleas@yahoo.com.mx, cesarfalconi@espe.edu.ec;

Palabras claves: Bioformulados, *Moniliophthora roreri*, cacao

Introducción

Las enfermedades fúngicas son el principal factor limitante en la producción de cacao a nivel nacional y en América Latina (2, 5). En Ecuador, la moniliasis (*Moniliophthora roreri*), conocida como “pudrición acuosa de la mazorca” o “enfermedad de Quevedo”, y escoba de bruja (*Crinipellis pernicioso*) son las enfermedades más devastadoras del cultivo, juntas disminuyen la producción entre un 40% a 80% (1, 9).

El control químico de la enfermedad, a demostrado ser ineficaz e inapropiado debido a la falta de cobertura total; y, a las múltiples aplicaciones requeridas que encarecen los costos de producción. Adicionalmente, medidas culturales como podas fitosanitarias son inconsistentes (2, 7). Bajo este concepto, el desarrollo de métodos alternativos de control como resistencia genética y control biológico son una herramienta atractiva para el manejo de la enfermedad (7).

En trabajos realizados para el control biológico de la moniliasis y otras enfermedades del cacao se ha demostrado que bacterias y hongos de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clonostachys* y *Trichoderma*, reducen la incidencia de monilia, escoba de bruja y pudrición negra (*Phytophthora palmivora*) (2, 7). Investigaciones realizadas por Páez y colaboradores (7) indican que *Pseudomonas cepacia*, *P. putida* y *Bacillus subtilis* aisladas de la filósfera y formuladas en suspensiones acuosas controlan la infección causada por *M. roreri* en los clones Tenguel 25 y CCN-51.

Paralelamente al estudio de agentes de biocontrol, se han implementado sistemas de producción y formulación de bioproductos. El objetivo de estos sistemas es lograr que el principio activo se mantenga estable, efectivo y fácil de aplicar en el campo. Los bioproductos pueden ser procesados en el laboratorio y una vez comprobada su efectividad en el campo, incorporarlos en programas de manejo (4). Según los datos reportados por Yáñez (10) existe un método sencillo y eficiente para la formulación de *Pseudomonas cepacia* y *Bacillus subtilis* en bioformulados sólidos.

El objetivo de la investigación, entonces, fue evaluar la eficiencia de dos bioformulados preparados a partir de *Pseudomonas cepacia* y *Bacillus subtilis* en la reducción de la severidad de *M. roreri* sobre mazorcas de cacao nacional Tenguel 25 (EET-103), en

condiciones de campo, a fin de brindar al agricultor una herramienta alternativa en el manejo de la moniliasis.

Materiales y Métodos

La investigación se llevó a cabo en la Hacienda Limón, Cotopaxi, Ecuador durante el ciclo de producción septiembre 2002-febrero 2003. Las condiciones climáticas de la zona, para el período fluctuaron entre 2500 a 3000 mm; 21,3 a 27,9 °C y 80-90% para precipitación, temperatura y humedad relativa, respectivamente.

Los tratamientos en estudio fueron: dos bioformulados de *Pseudomonas cepacia* en turba Chimborazo y *Bacillus subtilis* en vermiculita, un control positivo y un control negativo (testigo absoluto) establecidos en un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por seis árboles de cacao nacional, cultivar Tenguel 25 (EET-103). Los bioformulados fueron producidos mediante un sistema artesanal mixto líquido-sólido de acuerdo a la metodología diseñada por Yáñez (10) (Figura 1A).

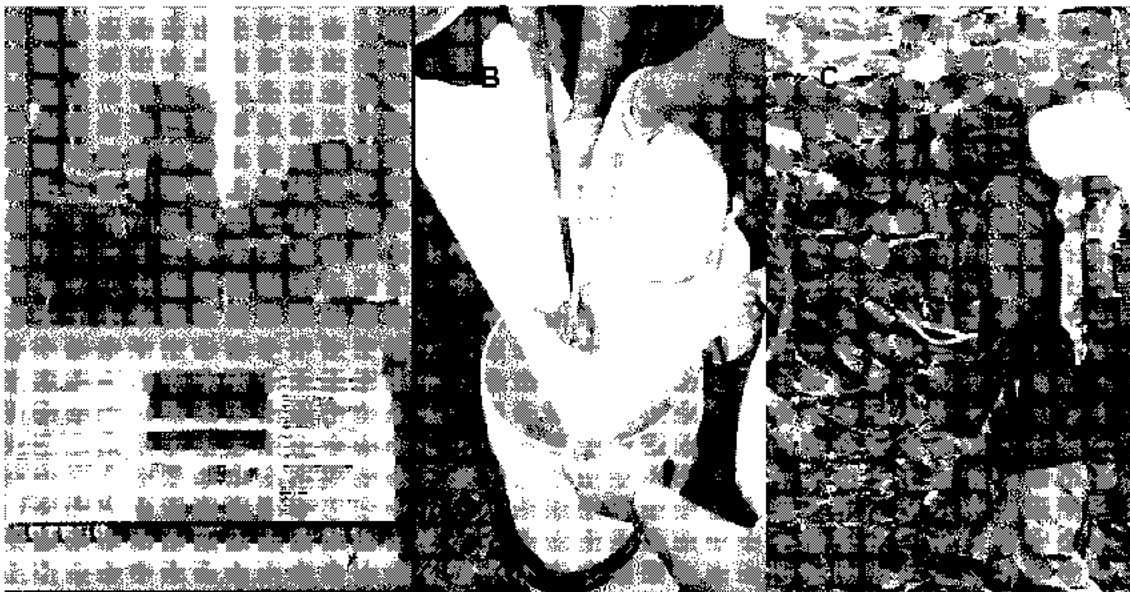


Figura 1 Preparación y aplicación de bioformulados. (A) Producción de bioformulados, (B) Preparación de tratamientos, (C) Aplicación de tratamientos.

La aplicación de los tratamientos en el campo se hizo suspendiendo 50 gramos de bioformulado a base de *P. cepacia* o *B. subtilis* (1×10^{10} UFC/g) en 12 litros de agua corriente más azúcar no refinada al 0,05% y Carrier Portador al 0,05% (Figura 1B). Para el control positivo se siguió el mismo procedimiento, con excepción de los bioformulados y en el control negativo no se realizó ninguna aplicación. Cada tratamiento se aplicó, por separado, con una bomba de motor (SOLO, 12l) hasta el punto de escurrimiento a razón de 0,5 l por planta con un equivalente de 312,5 l/ha (Figura 1C). Cada tratamiento se aplicó comenzando por el

control positivo y lavando la bomba después de cada aplicación. Las aplicaciones se realizaron cada 15 días.

Para evaluar la severidad externa se usó la escala diagramática diseñada por Sánchez y González (8). Los datos se registraron cada quince días. Con los datos de severidad externa se calculó el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) (3). Los datos de la ABCPE fueron analizados usando el software MSTACT- Michigan State (6). Para establecer diferencias significativas entre tratamientos se realizó un análisis de varianza ANOVA 1. Los rangos entre tratamientos fueron establecidos mediante la prueba de Tukey al 5%.

Adicionalmente, se realizaron podas fitosanitarias que consistieron en la remoción de frutos enfermos con moniliasis o escoba de bruja y ramillas muertas (*Colletotrichum gloeosporioides*).

Resultados y Discusión

Al realizar el análisis de varianza a los datos de ABCPE obtenidos en base a la severidad externa se determinó que en los controles positivo y negativo hubo un incremento progresivo de la severidad externa de monilia (relacionado con las condiciones ambientales), mientras que en los tratamientos con bioformulados se registró una tendencia hacia la baja (Figura 2). De acuerdo a otros trabajos (7, 9) la infección causada por *M. roseri* en el campo es favorecida por condiciones de alta humedad y temperatura. Los resultados obtenidos demuestran que las condiciones ambientales tienen una relación directa en la presencia de *M. roseri* y que los biopreparados son efectivos en el control de la enfermedad.

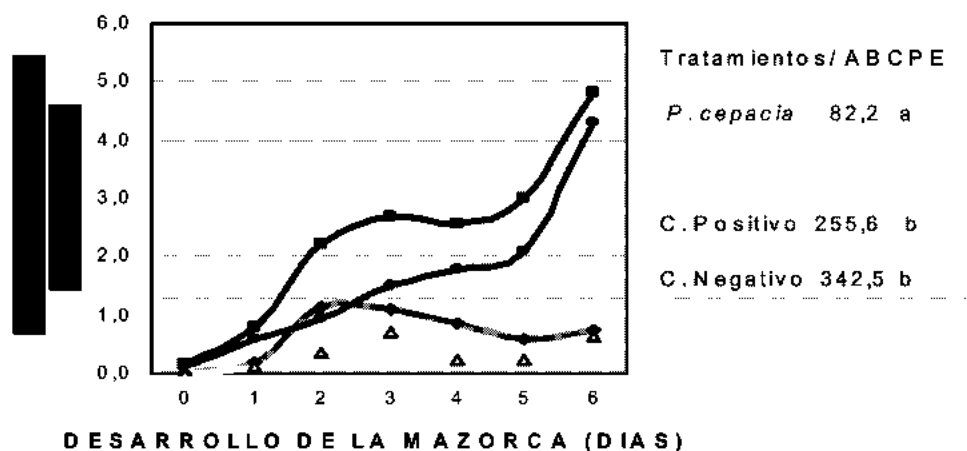
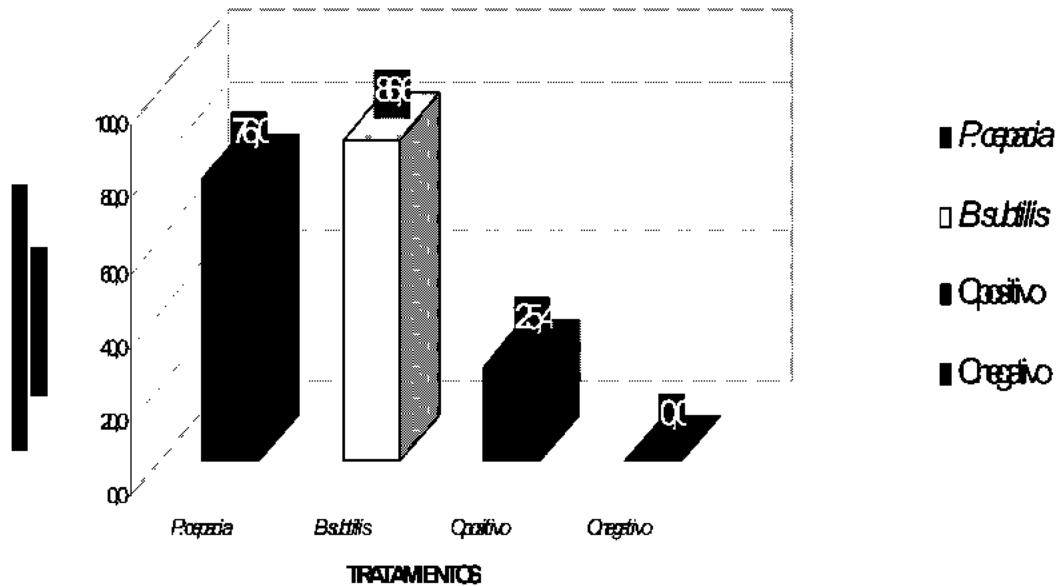


Figura 2. Efecto de cuatro tratamientos vs. la severidad externa de *M. roseri* mazorcas de cacao Tenguel 25 (EET-103) para el período septiembre del 2002 a febrero del 2003.

Los tratamientos a base de *Pseudomonas cepacia* y *Bacillus subtilis* disminuyeron la enfermedad en un 76,0 y 86,6%, respectivamente, con respecto al control negativo (Figura 3). El control positivo demostró una eficiencia de 25,4% con respecto al control negativo, esto puede ser porque el agua azucarada más Carrier portador favorezca el incremento de poblaciones de microorganismos benéficos, presentes naturalmente en la filósfera del cacao.



Los resultados obtenidos sugieren que la aplicación de los bioformulados podría ser una estrategia de control eficiente dentro de un plan de manejo integrado de la moniliasis (Figura 4).

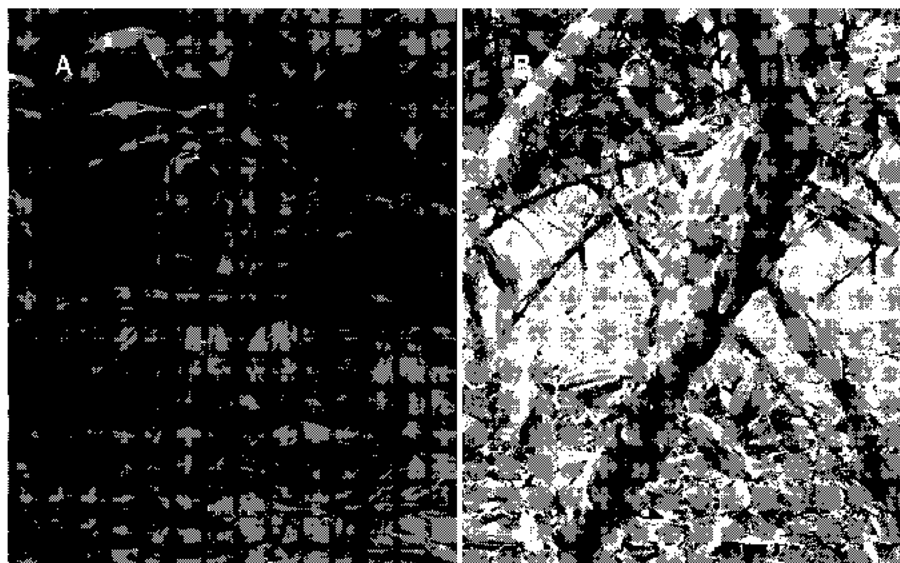


Figura 4. Efecto de biopreparados e el control de la moniliasis en el campo. (A) Control positivo, y (B) Tratamiento con bioformulados enbase de *bacillus subtilis*

Literatura Citada

- Evans, H. C., 1981. Pod rot of cocoa caused by *Moniliophthora roreri*. Phytopathological pap. 24, 1-44.
- Krauss, U. y Soberanis W., 2001. Biocontrol of Cocoa Pod Diseases with Mycoparasite Mixtures. *Biol. Control* 22, 149-158.
- Landeo, J.A., 1998. Data Processing and Interpretation of Late Blight resistance parameters. Apd. 3-SIFT Field Book. CIP, Phytosanitary Statement No.PSXXX-98. 4p.
- Lewis, J. A., y Rogers, D. L., 1998. A Formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to Reduce Damping-off Caused by *Rhizoctonia solani* and Saprophytic Growth of the Pathogen in Soilless Mix. *Plant Disease*, vol 82: 5.
- Maddison, A.C., Macias, G., Moreira, C., y Aragundi, J., 1993. Comparative Epidemiology Study: Ecuador. En: Disease Mangement in Cocoa. Comparative epidemiology of witches' broom. Chapman & Hall 244 pp.
- MSTACT., 1996. Michigan State University Software.
- Páez, T., Falconí C., Oleas, O., y Yáñez V., 2002. Biological control of Monilia pot rot in the field using epiphytic bacteria isolated from cocoa pods. *Phytopathology* vol. 92, No.6. Milwaukee, USA.
- Sánchez, J.A., y González. L.C., 1989. Metodología para Evaluar la Susceptibilidad a Moniliasis en Cultivares de Cacao (*Theobroma cacao*). *CATIE*, 39(4): 461-468.
- Suárez, C., y Delgado, J.C., 1993. Moniliasis del Cacao. FUNDAGRO-INIAP. Documento técnico No. 10. 18 pp.
- Yáñez, V., 2003. Producción y formulación de biopreparados a base de *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus subtilis* y *Trichoderma* sp. para el control biológico de la moniliasis de cacao. Boletín Técnico No. 2. Publicaciones ESPE, 36 pp.

Agradecimientos

Al auspicio de la Escuela Politécnica del Ejército y del PROMSA. Al personal técnico de la empresa ORECAO y del Centro de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

26. TRES DOSIS DE *Metarhizium anisopliae* PARA REGULAR MOSCA PINTA (*Aeneolamia* ssp.) EN CAÑA DE AZÚCAR EN LA REGIÓN DE LOS RÍOS DEL ESTADO DE TABASCO

Arely Bautista Gálvez¹ y Nicolás González Cortés

¹Profesor-Investigador Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Extensión Ríos. Carretera Km 1 Tenosique-Estapilla. Col Solidaridad, s/n, Tenosique, Tabasco, México. C.P. 86901 Teléfono 01(934)3421410 o 3423056 Correo electrónico: arelygalvez@hotmail.com

Palabras clave: *caña de azúcar*, *mosca pinta*, *metarhizium anisopliae*

Introducción

La caña de azúcar forma la agroindustria más importante en México que se mantiene dentro de los 10 principales países productores de azúcar en el mundo (Salgado *et al.*, 2001). El sector primario invierte anualmente de 25 a 30 millones de dólares en el control químico de plagas y enfermedades, sin embargo, no es efectivo, debido a la resistencia que crean los organismos a los plaguicidas. Por otra parte, el salivazo o mosca pinta, es la plaga más perjudicial en caña de azúcar que tenemos en extensas áreas en los litorales del golfo de México y del Océano pacífico, esta provoca reducciones significativas de hasta el 60 % en los rendimientos, obligando al productor a realizar un promedio de 3 o 4 aplicaciones de plaguicidas (Flores, 1994). Se estima que durante la campaña 2000-2001 para el control de la mosca pinta en el "Ingenio AZSUREMEX" hubo un gasto aproximada de \$ 1'161 934, afectando la economía de más de 228 productores cañeros, con un total de 2,209.4 ha (Bautista *et al.* 2003). El uso de organismos benéficos como los hongos entomopatógenos es una alternativa real para la regulación de plagas en caña de azúcar. Por lo que el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la efectividad de tres dosis conidias de *Metarhizium anisopliae* para regular mosca pinta (*Aeneolamia* ssp) en caña de azúcar (*Saccharum* ssp), con la finalidad de disminuir el número de aplicaciones de insecticidas en la región de los Ríos del estado de Tabasco.

Materiales y Métodos

El presente trabajo de investigación se realizó durante el periodo Junio-Diciembre 2002, en las zonas de abasto del ingenio AZSUREMEX de la región de los Ríos del estado de Tabasco, ubicado en el Km 2 carretera Tenosique - La Palma. La cepa de *Metarhizium anisopliae* fue obtenida del rancho los Pinos ubicado en el Km 7 carretera Xalapa-Coatepec, vía las Trancas, Veracruz. Primeramente se realizaron monitoreos de mosca pinta en estado adulto y ninfa, los cuales consistieron en detectar diferentes zonas para ubicar el lugar indicado para el establecimiento del experimento; el lugar que se eligió fue el ejido Ignacio Zaragoza del municipio de Tenosique, Tabasco. En esta área se encontró una población de 2 a 3 ninfas y adultos por cepa. El material vegetativo que se utilizó fue la variedad de caña Mex 68-P23. Se evaluó la efectividad de tres dosis de *M.*

anisopliae y se estableció un diseño de bloques completos al azar con 4 tratamientos donde T1=, 5×10^{11} , T2= 1×10^{12} , T3= 1.5×10^{12} conidias ha^{-1} y T4= sin aplicación, con 4 repeticiones. Las aplicaciones del hongo entomatógeno fueron realizadas cada 15 días, durante 60 días, de 6:30 a 8:30 a.m. Se utilizaron 200 lts de agua potable por ha^{-1} más 100 ml de ADE, se utilizó una bomba de aspersion con una boquilla de 0.2 mn. Después de cada una de las aplicaciones se realizaron monitoreos cada cinco días durante 60 días, efectuándose estos de 6:00-8:00 a.m, debido a que a esa hora las moscas se ubican en la parte media de la planta, el monitoreo consistió en determinar el número de moscas vivas y ninfas en las cinco cepas previamente seleccionadas por unidad experimental (80 cepas monitoreadas). Los datos fueron analizados estadísticamente en el programa de la UANL.

Resultados y Discusiones

La infestación de mosca pinta en caña de azúcar antes de la aplicación de *Metarhizium anisopliae* fue mayor que en la primera y cuarta aplicación (Figura 1); sin embargo, durante la segunda y tercera aplicación el número de moscas vivas se mantuvo de 1-2 por cepa, Espinosa (1998) donde indica que las poblaciones de insectos fluctúan debido a su respuesta a una diversidad de estímulos. Tomando en cuenta que *M. anisopliae* afecta más el estado adulto de la mosca pinta que en el estado ninfal.

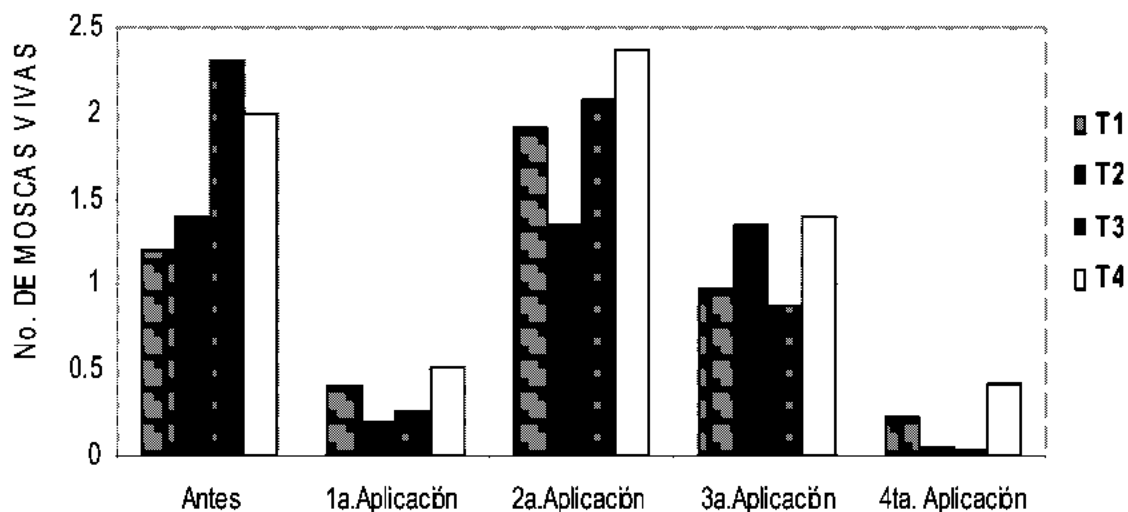


Figure 2. Effectiveness of 3 dose of conidias of *Metarhizium anisopliae* in the regulation of the fly paints (*Aeneolamia spp*) in cane of sugar (*Saccharum ssp*) in four applications in field (T1= 1×10^{10} , T2 = 1×10^{12} T3 = 1×10^{14} T4 = without application)

Figura 1. Efectividad de tres dosis de conidias de *Metarhizium anisopliae* en la regulación de la mosca pinta (*Aeneolamia ssp*) en caña de azúcar (*Saccharum ssp*) en cuatro aplicaciones en campo (T1= 5×10^{11} , T2= 1×10^{12} , T3= 1.5×10^{12} y T4= sin aplicación).

La efectividad, en la última aplicación, fue del 80.8%, 96.4% y 98.7% para el primero, segundo y tercer tratamiento, en comparación con Utrera *et al.*, (1996) donde ellos obtuvieron un 80 % de efectividad en la regulación de la mosca pinta con el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*. El análisis estadístico no se observó diferencia significativa; sin embargo, numéricamente se observa, como se señala en la Figura 1, en la cuarta aplicación disminuyó la infestación de la plaga; estos resultados son exitosos, ya que para los próximos 2 años se espera reducir el uso de insecticidas para el control de mosca pinta o salivazo en caña de azúcar en la región de los Ríos del estado de Tabasco. Es importante mencionar que el control biológico hoy en día contribuye en la inocuidad de alimentos, ya que la contaminación química constituye un problema mundial que se ha agravado en proporción geométrica especialmente a lo largo de las últimas cinco décadas (Ramírez, 2002), representando en la actualidad un asunto de prioridad atención y un problema fundamental de la toxicología alimentaria la cual estima el riesgo que representan las sustancias químicas a los consumidores. En base a los resultados obtenidos se concluye que el uso de *Metarhizium anisopliae* para el control de la mosca pinta en caña de azúcar, es una alternativa real y potencial para los productores cañeros de la región, además de no contaminar el ambiente y contribuye a la inocuidad química de los alimentos y tiene una efectividad mayor del 96% en campo.

Literatura Citada

- Bautista G.A., González C.N., Herrera G.L.A. y Perez L.N. 2003. Aplicación de tres dosis de *Metarhizium anisopliae* para la regulación de la mosca pinta (*Aeneolamia ssp*) en caña de azúcar. In: IV Congreso Nacional de Alimentación y Nutrición. Resúmenes. Asociación para la Ciencia y la Tecnología de los alimentos de Cuba. La Habana, Cuba. p26.
- Espinosa C. P. I. 1998. Síntomas de infección en insectos y huellas de entomofagia. In: Evaluación de agentes de control biológico. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico y Sociedad Mexicana de Control Biológico. Tecomán, Colima, México. p. 11.
- Flores C. S. 1994. Plagas de la Caña de Azúcar en México. S/ Editorial. Primera edición. pp. 3-127.
- Salgado G. S., Bucio A. L, Riestra D. D y Lagunas Espinoza L. C. 2001. Caña de azúcar hacia un manejo sustentable. Colegio de posgraduados en Ciencias agrícolas. Instituto para el desarrollo del sistema de producción del trópico húmedo de Tabasco. Villahermosa Tabasco. México. p.2.
- Ramírez A. A. 2002. Tóxicos en alimentos. In: Agentes patógenos transmitidos por alimentos. Vol. 1 Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jal. México. pp.369-370.
- Utrera L. D., García L. F. y Chávez M. R. 1996. Colección, selección y evaluación de hongos entomopatogenos para el control de lagas en caña de azúcar. Resúmenes. Novena Reunión Científica- Tecnológica Forestal y Agropecuaria. Veracruz, México p.163.

27. PERMANENCIA DE ADULTOS DE *Chrysoperla carnea* Stephens (NEUROPTERA:CHRYSOPIDAE) LIBERADOS EN CAMPOS DE FRESA.

Manuel Darío Salas-Araiza¹ y Eduardo Salazar-Solis

¹Instituto de Ciencias Agrícolas. Ugto. ExHda El Copal.km 5. Carr. Ipto.-Silao. A.Postal 311 C.p 36500. salasm@dulcinea.ugto.mx

Palabras clave: crisopas, liberación, fresa.

Introducción

La crisopa *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera:Chrysopidae) es uno de los depredadores naturales más importantes empleados en el control biológico. De los atributos que le caracterizan, destaca su amplia distribución geográfica, la cantidad de organismos de los cuales se alimenta, la resistencia a algunos insecticidas y su alta capacidad de depredación (New,1975). Este depredador es de los más utilizado en los programas de manejo integrado de plagas, llegando al 44% en cuanto a producto vendido entre las especies de insectos benéficos producidos masivamente (Tauber *et al.*, 2000).

Generalmente en las liberaciones comerciales de crisopas se utilizan huevecillos o larvas; aunque también se han empleado adultos en aplicaciones aumentativas, es menos común. Las liberaciones de adultos en los cultivos comerciales supone que éstos van a ovipositar en los cultivos donde fueron liberados; sin embargo, las hembras tienen un periodo de preoviposición durante el cual se dispersan del lugar donde fueron liberados; *C. carnea* en particular, presenta un vuelo migratorio durante las primeras 2-3 noches después de la emergencia de la pupa y antes del periodo de oviposición, la distancia del vuelo de las hembras recién emergidas es de varios kilómetros en ausencia de viento, y de hasta 40 km cuando hay viento favorable, es posible que este vuelo influya para que las hembras finalmente no se establezcan en los cultivos donde se liberaron (Knutson y Tedders, 2002).

Por lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la permanencia de los adultos de *Chrysoperla carnea* y su efecto en las plagas de fresa.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en la localidad de El Romeral del municipio de Abasolo en el estado de Guanajuato, en dos campos con fresa de la variedad Camarosa de seis meses de haberse trasplantado, cada una de las parcelas tuvo una superficie de 3,000 m² con el sistema comercial de cultivo. Los adultos liberados tenían 15 días de haber emergido y habían comenzado a ovipositar en los tubos de oviposición de la cría masiva donde se alimentaron con dieta artificial. Se liberaron en total 400 ejemplares en diferentes fechas. Los adultos de crisopa se llevaron al sitio de liberación en un frasco de plástico de dos litros de capacidad, con un cartón en el

interior con perforaciones de 2 cm. con el fin de que tuvieran donde posarse; el frasco se cubrió con una tela de organza colocando encima por la parte externa un trozo de algodón humedecido para mantener húmedo el interior y proveerles de agua. La liberación se realizó colocándose a 10 m de una de las cabeceras de la parcela donde se destapó el frasco dejando salir las crisopas durante un minuto, luego de lo cual se volvió a tapar y se continuó caminando en zigzag volviendo a destapar el frasco, después de 30 pasos. Esta estrategia se repitió hasta que todos los individuos se habían liberado. Se tuvo una parcela testigo a una distancia de 300 m, donde no se liberaron crisopas.

Con el fin de cuantificar las poblaciones de huevecillos y formas móviles de araña roja y áfidos en la planta de fresa, semanalmente se tomaron 25 trifolios en cada una de las parcelas, éstos se colocaron en una bolsa zip, y se llevaron al laboratorio para observar al estereoscopio. Al mismo tiempo se dieron 100 golpes de red para evaluar las poblaciones de otro tipo de insectos presentes en la planta, los cuales difícilmente permanecían en los trifolios cuando se cortaban. Se realizó un muestreo previo para evaluar las poblaciones antes de las liberaciones. Posteriormente 21 días después de la última liberación, con el fin de determinar si los adultos liberados estaban aún presentes, se colocaron 107 trampas adherentes en cada una de las dos parcelas distribuidas uniformemente en toda la superficie.

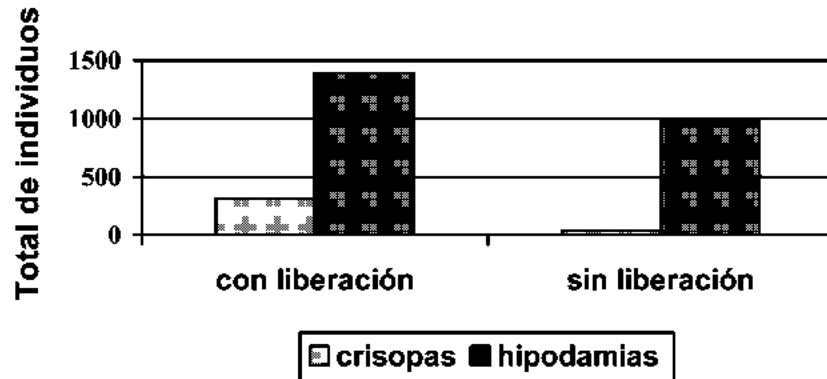
Resultados y Discusión

En la Figura 1 se muestran los resultados de las capturas totales de adultos de crisopas e *Hippodamia convergens* Guerin en las trampas adherentes 21 días después de la última liberación, en ella se puede observar que el mayor número de crisopas se obtuvieron en la parcela con liberación con 314 individuos, así como el de hipodamias con 1,390, en cambio en la parcela sin liberación solo se registraron 36 crisopas y un número menor de hipodamias. Es posible que las crisopas hayan permanecido en la parcela debido a que no ocurrió el vuelo migratorio de apareamiento de las hembras como lo señalan Knutson y Tedders (2002), ya que las hembras se habían apareado y estaban ovipositando en el laboratorio cuando fueron liberadas, por lo que su esfuerzo y energía lo encaminaron ovipositar permaneciendo en el campo donde se liberaron.

Por otro lado, al analizar los muestreos realizados mediante red de golpeo, se puede observar que la cantidad de insectos benéficos es más alta en la parcela donde se liberó las crisopas, es notable la cantidad de arañas, coccinélidos del género *Scymnus* spp., y chinches del género *Geocoris* spp., en cambio en la parcela donde no se hicieron liberaciones las poblaciones fueron marcadamente menores. Posiblemente la presencia de los adultos de crisopas favorecieron la integración de cadenas tróficas atrayendo a otros depredadores que incluso se alimentaron de larvas de crisopa como fue el caso de chinches reduvidas.

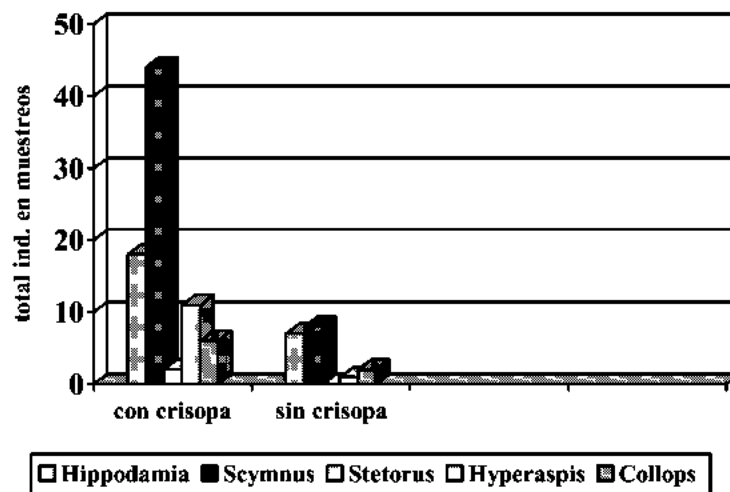
Respecto al número de huevecillos y formas móviles (ninfas y adultos) de araña roja no fue tan evidente el efecto de las liberaciones de crisopa en las primeras

**Adultos de crisopa capturados con trampas adherentes en parcelas de fresa (29/abr.).
Irapuato, Gto.**



fechas, por lo que se tuvo que hacer una aplicación de acaricida para disminuir la densidad, posteriormente las poblaciones de araña fueron más bajas en la parcela donde hubo liberación alrededor de 21 días después de la última aplicación de crisopas.

En la parcela donde se liberó el neuróptero la población de áfidos es menor; aunque posteriormente aumenta el número de pulgones y disminuye notablemente en la parcela sin liberación.



Literatura Citada

- Knutson A.E. y L. Te mentation of green lacewing, *Chrysoperla rufilabris*, in cotton in Texas. *Southwestern dders.* 2002. *Au Entomologist.* 27 (3/4): 231-239.
- New T.R. 1975. The biology of Chrysopidae and Hemerobiidae (Neuroptera) with reference to their esage as biocontrol agents a review. *Trans. R. Entomol. Soc. Lond.* 127:115-140.
- Tauber M.J., C.A. Tauber, K.M. Daane, y K.S. Hagen. 2000. Commercialization of predators: Recent lessons from geen lacewings (Neuroptera:Chrysopidae:*Chrysoperla*). *Am. Entomol.* 46(1):26-38.).

28. EMPLEO DE ANILLOS DE CARTÓN EN EL ANÁLISIS DEL DESEMPEÑO DE LA LIBERACIÓN DE CRISOPA *Chrysoperla carnea* (NEUROPTERA:CHRYSOPIDAE) EN UNA NOGALERA DE LA COMARCA LAGUNERA.

Cisneros Flores, B. A.¹, Vázquez Navarro, J. M.² y L.G. Torres Meza³.

¹ Depto. de Parasitología Univ. Aut. Agr. "Antonio Narro" U.L. Torreón, Coah., ² Div. de Estudios de Posgrado Fac. de Agr. y Zoot.-Univ. Juárez del Edo. de Durango, Venecia, Dgo. mavazna@hotmail.com. ³ Tesista UAA"AN"UL.

Palabras Clave: Crisopa, Liberaciones, Nogal Pecanero

Introducción

Las liberaciones inundativas del depredador crisopa se han convertido en una práctica rutinaria en las explotaciones agrícolas de la Comarca Lagunera. Si bien la literatura asegura que esta práctica contribuye a la reducción de poblaciones de insectos plaga como áfidos, mosquita blanca, larvas de noctuidos, entre otros, las referencias regionales sobre evaluaciones del desempeño de este agente de control biológico son escasas.

La filosofía del manejo integrado de plagas consigna que cada herramienta de manejo de plagas que se emplea debe probar su eficiencia y conveniencia, de ahí la gran importancia que conlleva el escrutinio de la capacidad de regulación poblacional de los agentes de control biológico. Por lo anterior, se propuso evaluar el desempeño de las liberaciones comerciales de crisopa tratando de recuperar material biológico en anillos de cartón en una huerta de nogal pecanero.

Materiales y Métodos

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa DESLAC en el Ejido Glorieta, Mpio. de Gómez Palacio, Durango, en el km. 43 de la carretera a Gómez Palacio-Tlahualilo.

El trabajo se llevó a cabo la temporada 2002 y se muestreó la huerta desde junio 4 hasta que se generalizó la caída de nuez. En tres fechas, se establecieron seis tasas de liberación: 50, 100, 250, 500, 750 y 1,000 huevecillos por árbol, así como un testigo por cada liberación. A los 15 días después de liberar se colocaron bandas de cartón corrugado de 14 cm de ancho, que fueron detenidas con cinta adhesiva (Masking tape) y que se dejaron por espacio de otros veinte días, periodo después del que el cartón era retirado y se trasladaba a laboratorio donde la pupas eran recuperadas y contabilizadas. Las pupas se colocaron en cajas de petri plásticas que se incubaron por cinco días a fin de determinar la emergencia de adultos. Se tomaron muestras de crisopas adultos de la cría a fin de determinar las especies predominantes, empleando la clave de Agnew *et al.* (1981).

Resultados y Discusión

Si bien, la metodología de las bandas de cartón corrugado arrojó un número interesante de pupas capturadas (en promedio 863 pupas por fecha de liberación), en ninguno de los tres casos existió una correlación directa entre la cantidad liberada de huevecillos y las pupas colectadas. El Cuadro 1, muestra la cantidad de pupas por metro cuadrado de cartón corrugado que se obtuvieron en las tres fechas y el promedio. De manera contrastante, y con incrementos de liberaciones controladas más cercanos al normal comercial (100 huevecillos por nogal). Quiñones *et al.*, 1999, encontraron un incremento ligero en los adultos, larvas y huevecillos colectados por terminal; sin embargo, concluyen que no hay efecto directo en la reducción de áfidos.

Cuadro 1.- Pupas de crisopa colectadas por metro cuadrado de cartón corrugado en árboles de nogal pecanero en tres fechas bajo diferentes tasas de liberación de huevecillos

Huevecillos liberados	Jul-01	Sep-06	Sep-23	Promedio
0	119.88	271.5	322.68	238.02
50	430.53	198.82	99.85	243.07
100	472.97	242.4	405.89	373.75
250	no se hizo	492.8	429.13	460.97
500	547.75	204.43	354.22	368.80
750	422.18	274.36	552.26	416.27
1000	104.53	269.36	610.87	328.25

Como puede observarse en este mismo Cuadro, sólo la liberación del 23 de septiembre denota algo de correlación lineal entre la cantidad liberada de huevecillos y el número de pupas colectadas. El análisis de regresión por cuadrado mínimo entre estas variables arroja un factor de determinación (r^2) de 0.63 para el modelo $Y = 266.037 + 0.3444 X$; donde "X" es el número de huevecillos liberados y "Y" el número pupas colectadas. En las otras dos colectas los valores de correlación son aun más bajos. En la Figura 2 se presenta la línea de regresión y los datos reales para la colecta de pupas de huevecillos liberados el 23 de septiembre.

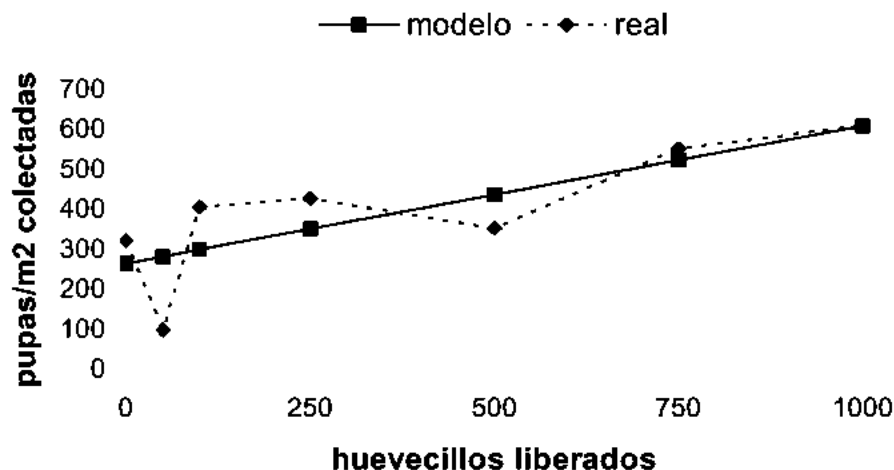


Figura 2.- Correlación entre el número de pupas de crisopa por metro cuadrado de cartón corrugado colectadas en función de la liberación de huevecillo de crisopa para la liberación de septiembre 23 ($r^2 = 0.63$).

Claramente, el hecho de encontrar en promedio 238 pupas en los árboles en los que no se hizo liberación por nuestra parte, es un indicador de factores ajenos a nuestra liberación. Entre éstos se encuentra la fauna nativa de crisópidos, pues al revisar los adultos que emergieron de las pupas colectadas se encontró una especie diferente a la liberada: *Chrysopa nigricornis*, que se encontró con un 12, 15 y 16% en las tres colectas de pupas, respectivamente.

Otro factor interesante fue el denotar que en varias ocasiones el viento frustró las liberaciones al remover de un día a otro hasta el 96% de los huevecillos liberados. Esta situación ya había sido comentada por Nava *et al.*, 2002, quienes consignan la conveniencia de liberar huevecillo en tiras de papel.

De manera paralela, se colectaron en las cajas de Petri, seis especies diferentes de avispidas parasitoides. Sólo se contabilizó el porcentaje de pupas parasitadas de las dos últimas fechas, resultando de 10.6 y 7.58%, respectivamente. Las avispidas se separaron en frascos con alcohol y se enviaron a especialistas para su identificación. Se encontraron a los géneros *Aprostocetus* (*Eulophidae*), *Pachyneurox* (*Pteromalidae*), *Perilampus* (*Perilampidae*), *Cheiloneuros* (*Encyrtidae*) y otras dos especies no identificadas a género de las familias *Eurytomidae* y *Braconidae*. Esto concuerda con lo señalado por Balduf (1974), quien consigna la existencia de una buena cantidad de especies de parasitoides de pupas de crisópodos.

Conclusiones

1.- El método de anillos de cartón fue muy útil para colectar pupas de crisopa, sin embargo, no se encontró correlación efectiva entre la captura de pupas con respecto al número de huevecillos liberados.

2.- Durante el desarrollo del experimento se encontraron evidencias claras de que existen factores diferentes a la liberación que son importantes con respecto a la existencia de crisópidos en las huertas, como la pérdida de casi la totalidad de huevecillos liberados por efecto del viento y, por otra parte, la existencia de crisopas en la fauna nativa.

3.- La consignación de seis parasitoides de pupas de crisópidos constituye una contribución del presente estudio al conocimiento de las interrelaciones que rodean a las liberaciones de crisópidos en las huertas nogaleras.

Literatura Citada

- Agnew, C.W. , Sterling, W.L. and D.A. Dean. 1981. Notes on the Chrysopidae and Hemeroibiidae of eastern Texas with keys for their identification. The Southwest. Entomol. Suppl. N° 4. 20 p.
- Balduf, W.V. 1974. The bionomics of entomophagous insects. Clasey LTD. . 384 p.
- Nava C.,U., Vázquez N., J.M. y F. García G. 2002. Producción y utilización de Crisopa. *In*: Vázquez N., J.M. (Ed.) 2002. Memoria del 1er Taller Nal. Herramientas de la agricultura del tercer milenio. Fundación Produce Sinaloa. Guasave, Sin., Méx. p. 6-15.
- Quiñónes P., J. , Tarango R., S.H. y R. Galván M. 1999. Evaluación de poblaciones de *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera:Chrysopidae) en el control de áfidos amarillos del nogal. *In*: Leyva R., E. Y J.J. Escobar A. (Eds.) 1999. Memoria del XXII Congreso Nacional de Control Biológico. Montecillos, México. p- 165-167.

Agradecimientos

Se agradece la colaboración del Dr. Alejandro González H. y la M.C. Myriam Coronado de la UANL por la identificación de parasitoides y a la empresa DESLAC-BIOINSECTUM por las facilidades prestadas.

29. MÉTODO DE CAMPO PARA EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA BIOLÓGICA DE LARVAS DE CRISOPA (NEUROPTERA:CHRYSOPIDAE) A INSECTICIDAS.

Juan José Pacheco Covarrubias y José Luis Martínez Carrillo.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Valle del Yaquí. Calle Dr. Norman E. Borlaug, Km 12.5, Cd. Obregón, Son. Correo Electrónico: pacheco.j@cirno.inifap.conacyt.mx y jlmc@cirno.inifap.conacyt.mx

Palabras Claves: crisopa, insecticidas, método.

Introducción

El control biológico, natural e inducido, participa en forma importante en el desarrollo de las poblaciones de plagas. Sin embargo, gran parte de su actividad se ve limitada, por la acción de los insecticidas, que aunque estos dos tipos de combate forman parte del Manejo Integrado de Plagas, en la mayoría de los casos no son compatibles, es decir, en el momento en el que se hace uso irracional del combate químico, la acción del control biológico puede decrecer en gran medida.

Desafortunadamente, no se dispone de información detallada del efecto de los insecticidas sobre la fauna benéfica bajo condiciones de campo, parte de esa problemática corresponde a la carencia de la metodología que permita evaluar dicha actividad. En este apartado, es importante recapacitar sobre los modelos tradicionales de evaluación de insecticidas, los cuales en algunos casos no cumplen con el objetivo deseado; y a pesar de que satisfacen parámetros estadísticos, en ocasiones no logran captar el fenómeno biológico, pudiendo arrojar conclusiones tales como el insecticida "A" es más eficaz que el insecticida "B", cuando en realidad es lo contrario; o que el tratamiento control, causa mayor mortalidad que uno o que todos los insecticidas evaluados (Taylor, 1987). El mismo autor reporta que los cambios en distribución de los insectos causados por disminución de sus poblaciones pueden ocasionar reportes incorrectos en los análisis estadísticos para el caso de eficacia de los insecticidas. El autor menciona que la severidad del problema está directamente relacionado con el índice de agregación de la Ley de Poder de Taylor. Sin embargo, la transformación de los resultados, en algunos casos, por medio de correcciones de mortalidad por medio de la fórmula de Abbott, 1925, disminuye un poco el problema. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue el desarrollar la metodología que permita evaluar la mortalidad de larvas de crisopa como resultado de la acción de insecticidas.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en el Campo Experimental Valle del Yaquí, Son. Los insecticidas seleccionados como estándares para la configuración del método fueron endosulfán a dosis de 945 g/ha y amitraz a dosis de 500 g/ha. Se usó al algodón como cultivo-sustrato para el diseño del método. Se tomó como base la metodología desarrollada por Pacheco, 1999, quien determinó un método de evaluación de

insecticidas para el caso de adultos de crisopa. Dicho método está basado en la técnica de confinamiento grupal de individuos.

Los requisitos preestablecidos para el diseño del método fueron: la ausencia de mortalidad o mortalidades no mayores al 10% para el testigo; la no-contaminación por los tóxicos entre las diferentes parcelas; la cuantificación de mortalidad por efectos de los tóxicos; la degradación normal por efectos de las condiciones ambientales normales de en una aplicación convencional de insecticidas, y la estandarización de las condiciones biológicas de evaluación. Así como la repetición de los resultados en pruebas contiguas. Se usó el esquema de error y acierto para ajustar la metodología.

El método resultante de este trabajo consiste en la obtención del material biológico de evaluación de crías artificiales de crisopa (larvas de cuarto instar), en este caso se obtuvo del Centro Reproductor de Organismos Benéficos (CREROB), perteneciente a la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Yaqui, Son, o de material biológico procedente de campo, en el cual bajo condiciones de laboratorio se obtienen larvas para su evaluación.

Las larvas de 4to instar se manejaron en forma individual, tanto para su traslado al campo como en su evaluación biológica, lo anterior, para evitar canibalismo entre las larvas. Para su traslado en campo se usaron recipientes individuales de plástico de 20 ml de capacidad con tapadera. Una larva de 4to instar fue depositada en cada recipiente por medio de pinzas entomológicas. Los recipientes son trasladados al campo con el auxilio de carteras diseñadas para contener huevo, lo que permite el fácil manejo del material biológico.

Para cada tratamiento a evaluar se selecciona, antes de la aplicación del tratamiento, quince terminales (repetición) en el cultivo a evaluar (según la distribución vertical del depredador en cada cultivo), ubicando cada terminal en plantas diferentes. Se sugiere cuatro repeticiones por tratamiento. Cada terminal fue preparada con una bolsa de muselina de 30 cm de largo por 9 cm de diámetro, antes de la aplicación del insecticida, la cual se realizó con una aspersora motorizada de mochila y realizada en forma terrestre, dejando expuesto el follaje a infestar para la libre aspersión de los tóxicos. Inmediatamente después de que se evaporó el tóxico, (2 a 3 minutos aproximadamente) cada terminal fue infestada con una larva y cerrada la bolsa para mantener a las crisopas dentro del área contaminada.

El diseño usado para el método fue completamente al azar, con cuatro repeticiones (15 larvas individuales por repetición). La lectura de mortalidad fue realizada en laboratorio, al cortar las terminales con las bolsas a las 24 horas después de la aplicación de los insecticidas. El criterio de mortalidad fue larva sin movimiento, al tocarla con un lápiz. En caso necesario se realizaron correcciones de mortalidad por medio de la fórmula de Abbot, 1925, siempre y cuando la mortalidad en el testigo por efecto de manejo del material biológico y/o efecto ambiental no fuera superior al 10%.

La evaluación definitiva de acuerdo al método fue realizada usando un aguilón de tres boquillas tipo Tee-jet 8004, con un gasto de agua de 870 l/ha.

Resultados y Discusión

Los resultados indicaron que el método anteriormente expuesto, permite detectar diferencias en la respuesta a insecticidas en una población de crisopa, cuyos resultados pueden ser reproducidos en una segunda evaluación sin diferencias significativas. El método actualmente ha permitido detectar diferencias entre diferentes fuentes de orígenes del depredador, por ejemplo crías artificiales, y de campo recolectadas en diferentes cultivos. No se detectó mortalidad en el testigo absoluto, y la mortalidad en los tratamientos fue de 8.32 y 14.97 para endosulfán y amitraz, respectivamente con una varianza de 11.02 y 11.22, respectivamente. No fue necesario realizar la corrección por el método de Abbot (1925).

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:265-267.
- Taylor R, A.J. 1987. On the accuracy of insecticide efficacy reports. *Environ. Entomol.* 16(1):1-18.
- Pacheco Covarrubias, Jan José. 1999. Método de evaluación de insecticidas para adultos de crisopa. Reporte Técnico en Archivo Técnico del Campo Experimental Valle del Yaqui, CEVY-CIRNO-INIFAP. Cd. Obregón, Son.

30. PARASITISMO NATURAL DE MOSQUITA BLANCA EN MORELOS, MÉXICO.

Leticia Bravo Luna, Elizabet Flores Moctezuma,¹Patricia Villa Ayala, María Luisa Corona Rangel y Kalina Bermúdez Torres.

¹Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN. Carr. Yautepec-Jojutla, Km. 8.5, San Isidro, Yautepec, Morelos. 62731 lbravol@hotmail.com

Palabras Clave: Parasitoides, Parasitismo natural, Mosquita Blanca.

Introducción

El papel que juegan los enemigos naturales en la regulación de poblaciones de mosquita blanca aún no ha sido establecido.

En México se han iniciado algunos trabajos tendientes a determinar el complejo de mosquitas blancas presentes en los agroecosistemas y así mismo los parasitoides nativos que las atacan.

Se ha reportado que para México se encuentran registradas 12 especies de parasitoides afelinidos, no necesariamente parasitando *Bemisia tabaci* siendo los mas comunes los géneros *Encarsia* Foester y *Eretmocerus* Haldeman.

Otros autores han reportado además de los anteriores, al género *Amitus* (Platigasteridae) parasitando al parecer *Trialeurodes vaporariorum* sobre tomate (*Lycopersicon esculentum*) en Morelos (García et al., 2000). Nikolaevna y Coronado (2000) reportaron a *En. formosa* y *En. lutoela* parasitando a *T. vaporariorum*, mientras que *En. hispida*, *En. pergandiella* y *En. lutoela* parasitando a *B. tabaci*.

El uso de insecticidas sintéticos ha provocado el desarrollo de poblaciones resistentes y la eliminación o disminución de sus enemigos naturales. Este trabajo tuvo como objetivo determinar el parasitismo natural en cultivos y maleza adyacente a éstos, en nueve localidades de Morelos.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó de enero a junio del 2000, periodo en el que se tiene conocimiento de los picos poblacionales de mosquita blanca más altos del año, además de la época de siembra de *Cucurbita pepo*, *Phaseolus vulgaris* y *Lycopersicum esculentum*.

En nueve localidades del Estado de Morelos, se colectaron hojas de la base de las plantas infestadas con ninfas de 3° y 4° estadio, el número de hojas fue de 1-15 dependiendo el cultivo o la maleza, con una periodicidad de 15 días. Las muestras se colocaron por separado en recipientes de plástico previamente etiquetados, estos se cubrieron en la parte superior con tela de organza, para esperar la emergencia de

adultos de mosquita blanca y de parasitoides. El porcentaje de parasitismo se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula.

$$\% \text{ de parasitismo} = \frac{\text{No. de parasitoides emergidos} \times 100}{\text{No. de parasitoides emergidos} + \text{No. de mosquitas blancas emergidas}}$$

Los parasitoides, fueron montados en Bálsamo de Canadá e identificados taxonómicamente con claves de Schauff *et al.*, 1996.

Resultados

En el cuadro 1 se observa que los géneros *Eretmocerus* (Aphelinidae) y *Encarsia* (Aphelinidae) se encontraron en las nueve localidades muestreadas, mientras que *Amitus* (Platigasteridae) se localizó en ocho de las nueve localidades. *Signiphora* (Signiphoridae) estuvo presente únicamente en la maleza adyacente de frijol y calabaza de Anenecuilco, con 0.56% de parasitismo.

El porcentaje de parasitismo natural que ejerció *Eretmocerus* en cultivos varió de 0.42% (calabaza) a 38.59% (frijol), mientras que en la maleza adyacente fue de 3.83% a 59.61%. En *Encarsia* por su parte el porcentaje de parasitismo fue menor que el de *Eretmocerus*, siendo de 1.02% (calabaza) a 9.95% (frijol) y en maleza de 1.17% a 23.38% como máximo. *Amitus* ejerció un bajo parasitismo comparado con *Eretmocerus* y *Encarsia* ya que este varió en cultivos de 0.11% (jitomate) a 0.98% (frijol), mientras que en malezas fue de 0.31% a 3.09%.

Discusión

Eretmocerus spp. y *Encarsia* spp. fueron los parasitoides predominantes de mosquita blanca en nuestro estudio, lo cual coincide con lo encontrado por otros autores (Bravo, 1996; Angulo y Hernández, 1996 y García *et al.*, 2000).

En Zacatepec, Morelos Domínguez y Rodríguez, (1991) encontraron que los parasitoides predominantes fueron *Encarsia* spp., *Eretmocerus* spp. y *Aspidiotiphagus*, mientras que las mosquitas blancas fueron *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci*, encontrando un parasitismo hasta de 71.4%, en nuestro caso el máximo fue de 59.61 % de parasitismo en maleza adyacente a frijol de Cd. Ayala.

El en caso del género *Amitus* son pocos los reportes de parasitismo en México; García *et al.*, (2000), reportaron que fueron pocos los ejemplares de *Amitus* que encontraron parasitando *T. vaporariorum*.

El género *Signiphora* es considerado como hiperparasitoide de *Encarsia* y *Eretmocerus* (Nikolaevna y Coronado, 2000) para este género no se tiene ningún reporte en México, su presencia en maleza se atribuye que en ésta no se realizan aplicaciones de

plaguicidas, por lo cual las poblaciones naturales de insectos de las diferentes cadenas alimenticias se encuentran presentes.

Cuadro 1.- Parasitismo natural de mosquita blanca en siete zonas productoras de hortalizas del Estado de Morelos, México.

Localidad	Cultivo y Malezas	Parasitismo natural (%)				Total
		<i>Eretmocerus</i>	<i>Encarsia</i>	<i>Amitus</i>	<i>Signiphora</i>	
Anenecuilco	Mal. Ady.	42.25%	23.38	3.09%	0.56%	69.29%
	Frijol	0.78%	1.33%	0.84%	0%	2.96%
	Calabaza	3.03%	1.02%	0.72%	0%	4.78%
Col. Abelardo	Mal. Ady.	20.02%	13.68%	0.86%	0%	34.56%
	Frijol	3.91%	7.71%	0.31%	0%	11.94%
Ayala	Mal. Ady.	59.61%	8.77%	0%	0%	69.02%
	Frijol	7.54%	1.67%	0.98%	0%	10.19%
Tenextepango	Mal. Ady.	3.83%	8.04%	0%	0%	11.87%
	Calabaza	0.42%	0%	0%	0%	0.42%
Xalostoc	Mal. Ady.	33.61%	2.51%	1.66%	0%	37.82%
	Frijol	38.59%	9.95%	0.34%	0%	48.89%
Axochiapan 1	Mal. Ady.	8.74%	1.17%	0.31%	0%	10.22%
	Jitomate	6.07%	0%	0.11%	0%	6.19%
Axochiapan 2	Mal. Ady.	30.33%	22.49%	0.34%	0%	53.17%
	Jitomate	4.50%	3.71%	0.92%	0%	9.15%
Zacatepec 1	Mal. Ady.	30.26%	20.84%	2.43%	0%	53.54%
	Tomate de cáscara	1.50%	2.63%	0%	0%	4.13%
Zacatepec 2	Mal. Ady.	37.46%	11.40%	0.39%	0%	49.27%
	Tomate de cáscara	4.41%	1.32%	0.44%	0%	6.18%

Literatura Citada

- Angulo, B. A. y Hernández, G. A. 1996. Enemigos asociados a mosquitas blancas en el Valle de Culiacán, Sinaloa. Memorias del XIX Congreso Nacional de Control Biológico. p 111-112
- Bravo, M. E. 1996. Evaluación del parasitismo natural de mosca blanca en los valles centrales de Oaxaca. Memorias del XIX Congreso Nacional de Control Biológico. p 109-110.
- Domínguez, R. Y. y Rodríguez, S. L. 1991. Algunos aspectos de parasitismo de *Encarsia* sp y *Eretmocerus* sp. (Hymenoptera: Aphelinidae), sobre la mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. y *Bemisia tabaci* Gen. (Homoptera:

- Aleyrodidae) en jitomate dentro del campo experimental de Zacatepec, Morelos. Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Entomología. pp. 391-392.
- García, V. F., Ortega, A. L. O. y Guzmán, F. A. W. 2000. Influencia de la frecuencia de aplicación de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* sobre la mosquita blanca y sus parasitoides. Memorias XXIII Congreso Nacional de Control Biológico pp. 119-122.
- Nikolaevna, M. S. y Coronado, B. J. M. 2000. Especies de *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) del estado de Tamaulipas, México. Memorias del XXII Congreso Nacional de Control Biológico pp. 225-227.
- Schauff, M. E., G. A. Evans and J. M. Heraty. 1996. A pictorial guide to the species of *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitic on whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) in North America. Proc. Entomol. Soc. Wash. 98: (1): 1-35.

31. ANALISIS DE TENDENCIAS DE LAS MORTALIDADES DE NINFAS DE *Bemisia* (GENNADIUS) spp. EN LA EVALUACIÓN DE *Paecilomyces fumosoroseus* (WISE) BROWN & SMITH

Ana Gabriela Osuna Páez¹, Héctor Manuel Cárdenas Cota² y Rene Castro Montoya³

¹Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología, ²Centro de Ciencias de Sinaloa, Avenida de las Américas 2771 Nte., Culiacán, Sinaloa CP 80010. gabriela@computo.ccs.net.mx; hector@computo.ccs.net.mx. ³Facultad de Fisicomatemáticas, Ciudad Universitaria, Universidad Autónoma de Sinaloa. rene@uas.uasnet.mx.

Palabras Claves: tendencias de mortalidad, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Bemisia* spp.

Introducción

Los análisis de tendencias de mortalidad se han venido adoptando en diversas investigaciones para interpretar el comportamiento de una población de insectos plaga al aplicar un tratamiento con entomopatógenos para su control (Wraight *et. al.* 2000; James *et. al.* 2001; Wraight y Ramos, 2002), porque estos análisis son mas representativos del comportamiento de poblaciones que las comparaciones de medias de valores puntuales. Por lo anterior en este trabajo se utilizó el análisis de tendencias de las mortalidades para evaluar la eficiencia de *Paecilomyces fumosoroseus* contra ninfas de *Bemisia* spp.

Materiales y Métodos

La cepa Pfrd de *Paecilomyces fumosoroseus* fue cultivada en medio sólido y sumergido; cuya composición y condiciones de cultivo se describe en Osuna Paez *et al.*, 2003.

Las evaluaciones se hicieron previas a cada aplicación y a las 48 horas después. La población de ninfas sanas y enfermas se evaluó en una plg² de una hoja seleccionada al azar de la parte media de una planta de la parcela útil. Los datos poblacionales fueron expresados en cm² para su comparación con otros trabajos. Las ninfas sanas presentaron turgencia y un amarillo pálido, considerándose como ninfas enfermas las que estaban deshidratadas o presentaron cambio hacia una coloración café. Las pruebas de campo se realizaron en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, durante el ciclo otoño-invierno 1998-99. El área experimental consistió de 3 surcos de 1 m de largo con una distancia entre surcos de 1.5 m. Se aplicaron cinco tratamientos (Cuadro 1), con seis repeticiones en un diseño de bloques al azar. La humedad y temperatura promedio durante los días del experimento y sus desviación estandar fueron de 58% ± 6.23 y 22°C ± 1°C. Los porcentajes de mortalidad fueron analizados mediante regresión lineal y las pendientes de cada tratamiento fueron comparadas con el testigo y entre sí.

Resultados y Discusión

Las diferencias de las pendientes de cada tratamiento son analizadas mediante los valores de $F_{calculada}$, F_{tablas} y P valor. Cuando las diferencias de las tendencias son significativas se obtiene una $F_{calculada}$ superior a la F_{tablas} y con un P valor pequeño; mientras que cuando las diferencias no son significativas tenemos un $F_{calculada}$ inferior a la F_{tablas} con P valor grande. Las pendientes de los porcentajes de mortalidad de los tratamientos como se describen en el Cuadro1 (PCS + CF, CA, PCS y CF) fueron significativamente diferentes con respecto al testigo ($F_{PCS+CF} = 91.45$, $F_{CA} = 83.12$, $F_{PCS} = 41.43$, $F_{CF} = 44.12$, $\geq F_{0.05, 1, 80} = 3.96$, $P = 0.00$). Las pendientes de los porcentajes de mortalidad de los CA y PCS + CF no fueron significativamente diferentes entre si ($F = 0.09 \leq F_{0.05, 2, 80} = 3.11$, $P = 0.91$) pero fueron significativamente superiores a las de los CF y PCS ($F = 395.63 \geq F_{0.05, 2, 80} = 3.11$, $P = 0.00$); a su vez estos últimos tratamientos no fueron diferentes entre si ($F = 0.02 \leq F_{0.05, 2, 80} = 3.11$, $P = 0.98$) Figura 1. El alto porcentaje de mortalidad con los tratamientos CA, PCS + CF y PCS muestran que *Paecilomyces fumosoroseus* puede infectar en condiciones de baja humedad relativa en el macroambiente, ya que pueden aprovechar la humedad de la superficie de la hoja, del cuerpo del insecto y de sus excreciones (Wraight *et al.*, 2000). En experimentos de laboratorio a 23°C con 28-52% de HR, en hojas de *Hibiscus rosasinensis* infestadas con ninfas N3 de *Bemisia argentifolii*, Wraight *et al.*, (1998), reportaron dosis letales medias de 50-150 y 350-4000 conidios/mm² para 22 aislados de *P. fumosoroseus* y 5 de *P. farinosus*, respectivamente. Bajo condiciones similares, Wraight *et al.*, (2000) reportaron que *P. fumosoroseus*, en dosis de 600 a 1400 conidios/mm², logró mortalidades de 54-68% en 8 días, mientras que en pruebas de campo con 5 aplicaciones de 5×10^{13} conidios/ha en intervalos de 4 días, logró 85% de mortalidad después de 27 días a 21°C y 81% de HR, en un cultivo de pepino (Wraight *et al.*, 2000). El porcentaje de mortalidad de los PCS + CF fue mayor que la de los PCS ($F = 395.63$, $P = 0.00$), esto podría deberse a que cuando *P. fumosoroseus* se crece en cultivo sumergido, produce sustancias antibióticas como *beauvericina* (Peeters *et al.*, 1983) y los *beauverólidos* L y La (Jegorov *et al.*, 1994), que podrían ser las responsables de la diferente efectividad entre estos dos tratamientos. De acuerdo al análisis de tendencias podemos concluir que los propágulos de cultivo sumergido requieren del caldo de fermentación para poder ser tan efectivos como los conidios aéreos para controlar las poblaciones de *Bemisia* spp. Los propágulos de cultivo sumergido pueden utilizarse en menor concentración que los conidios aéreos de la cepa Pfrd de *Paecilomyces fumosoroseus* para tener el mismo control sobre las poblaciones de *Bemisia* spp.

Literatura Citada

- James, R. R. 2001. Effects of exogenous nutrients on conidial germination and virulence against the silverleaf whitefly for two Hyphomycetes. J. Inverteb. Pathol. 77, 99-107.

- Jegorov, A., Sedmera, P., Matha, V., Simek, P., Zahradnichova, H., Landa Z., and Eyals, J. 1994. Beauverolides L and La from *Beauveria tenella* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *Phytochemistry* 37:1301-1304
- Peters, H., Zocker, R., Madry, N., and Kleinkau, H. 1983. Incorporation of radioactive precursors into beauvericin produced by *Paecilomyces fumosoroseus*. *Phytochemistry* 22:1719-1720.
- Osuna Paez, A. G.; Estrada Ramírez F. J.; Caro Macias, P. H.; Galván Piña, B. y Cárdenas Cota, H. M. 2003. Virulencia de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown & Smith contra ninfas de *Bemisia* (Genadius) spp en un cultivo de Berenjena (*Solanum melongena* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. Volumen 21; ejemplar número 3
- Wraight, S.P., Carruthers, R.I., Bradley, C.A., Jaroski, S.T., Lacey, L.A., Wood, P., and Galani-Wraight, S. 1998. Pathogenecity of the fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology* 71:217-226.
- Wraight, S.P., Carruthers, R.I., Jaronski, S.T., Bradley, C.A., Garza, C.J., and Galaini Wraight, S. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control* 17:203-217.
- Wraight, S. P and Ramos, M. E. 2002. Application parameters affecting field efficacy of *Beauveria bassiana* foliar treatments against Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Biological Control* 23, 164-178.
- Cuadro 1. Formulaciones de los tratamientos con *Paecilomyces fumosoroseus* aplicados contra *Bemisia* spp. en un cultivo de berenjena.**

Abreviaturas	Tratamiento	Ecuación
T	Testigo, sin aplicación alguna	$Y = 0.6859 X_i$
CA	Conidios aéreos obtenidos de sustrato sólido (medio SALM). Dosis: 5×10^{13} conidios/ha	$Y = (0.6859 + 1.5355) X_i$
PCS + CF	Propágulos* obtenidos de cultivo sumergido más el caldo de fermentación. Dosis: 6×10^{11} propágulos/ha	$Y = (0.6859 + 1.6105) X_i$
CF	Caldo de fermentación del cultivo sumergido, sin propágulos. 333 L/ha	$Y = (0.6859 + 1.1187) X_i$
PCS	Propágulos* obtenidos de cultivo sumergido. Dosis: 3×10^{11} propágulos/ha	$Y = (0.6859 + 1.0828) X_i$

*Propágulos = Conidios y blastosporas.

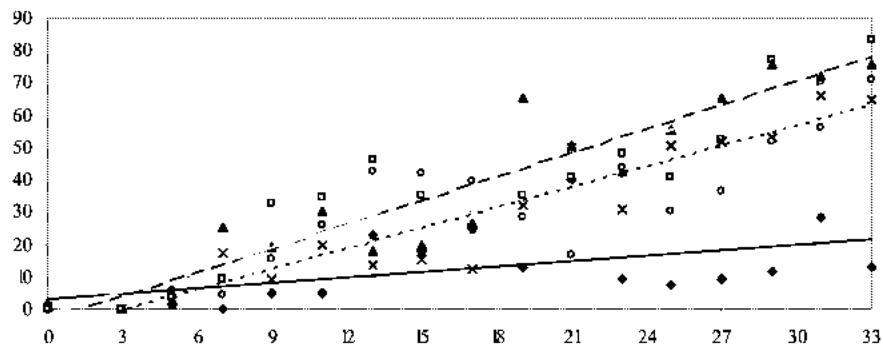


Figura 1. Líneas de tendencia de los porcentajes de mortalidad de ninfas de *Bemisia* spp. tratadas con la cepa Pfr1 de *Paecilomyces fumosoroseus*: conidios aéreos (▲), propágulos de cultivo sumergido más el caldo de fermentación (■), caldo de fermentación (●), propágulos de cultivo sumergido (×) y testigo (◆).

**32. SELECTIVIDAD DE TEBUFENOZIDE EN DEPREDADORES DE ÁFIDOS DEL NOGAL Y EFICACIA SOBRE GUSANO BARRENADOR DEL RUEZNO
Cydia caryana (FITCH) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)**

Francisco Javier Quiñones Pando¹, Socorro Héctor Tarango Rivero¹ y Carlos Alberto Blanco Montero²

¹Campo Experimental Delicias-INIFAP, km 2 carr. Delicias-Rosales; Cd. Delicias, Chihuahua, 33000 México. ²USDA, ARS, Southern Insect Management Research Unit; Stoneville, Mississipi, 38776.

Palabras Clave: Insectos benéficos, *Cydia caryana*, tebufenozide

Introducción

En el estado de Chihuahua el nogal pecanero se cultiva en más de 36,000 ha, siendo el principal productor de nuez del país. El complejo de plagas que atacan a este cultivo está constituido por áfidos, principalmente *Monellia caryella*, gusano barrenador del ruezno (GBR) *Cydia caryana*, gusano barrenador de la nuez *Acrobasis nuxvorella* y chinches pentatómidas y coréidas; su importancia varía entre regiones y a través del ciclo agrícola.

En este contexto de presencia de insectos nocivos en tiempo y espacio tan multivariado en las nogaleras de Chihuahua, el uso de plaguicidas selectivos puede apoyar a la conformación de un programa de manejo integrado de plagas (MIP), que dé relevancia al uso del control biológico en todas sus modalidades. Es por ello que se necesita un insecticida que controle eficazmente a *C. caryana* y *A. nuxvorella* y que no tenga efecto en la entomofauna benéfica.

Actualmente, productos con nuevos modos de acción están disponibles en el mercado, entre ellos el tebufenozide, un regulador del crecimiento específico para lepidópteros e inocuo con los insectos benéficos (Legaspi *et al.* 2000).

En este trabajo se realizaron ensayos para evaluar el efecto de tebufenozide y clorpirifos sobre *C. caryana* y los principales depredadores de áfidos nativos de las nogaleras, y en algunas especies que se ofrecen comercialmente para el control de esta última plaga.

Materiales y Métodos

Los ensayos de laboratorio se realizaron siguiendo la metodología de Mizell y Schiffhauer (1990), con huevecillos de uno a dos días de desarrollo, larvas de tercer instar y adultos de más de tres días de edad, de seis especies de depredadores de áfidos. Los tratamientos insecticidas fueron: 1) tebufenozide (Confirm 2F^{MR}) utilizado a 0.6 mL/L de solución final, 2) clorpirifos (Lorsban 480 EM^{MR}) 1.5 mL/L y 3) agua (testigo). En los tres casos se adicionó el dispersante-humectante Latron B-1956^{MR}

mezclado a 0.5 mL/L de solución. La mortalidad que se reporta es después de tres días de exposición.

El trabajo de campo se realizó en una nogalera de 22 hectáreas, plantada con las variedades Western y Wichita; se fraccionó en tres franjas de tal manera que en cada una quedaran las dos variedades. La aplicación de los tratamientos, a las concentraciones señaladas, se hizo por vía aérea empleando 120 L de agua por hectárea, seis días después de tener una captura de 3.4 adultos de GBR por día en cuatro noches consecutivas. El daño de *C. caryana* se revisó en 25 nueces de ocho árboles de cada variedad y tratamiento.

La información se analizó mediante un diseño experimental completamente aleatorizado, con el paquete estadístico SAS 6.03 (SAS Institute 1988).

Resultados y Discusión

En los huevos de coccinélidos tebufenozide no tuvo ningún efecto, ya que en el 100% de las oviposuras se observó eclosión y dispersión normal de las larvas. Clorpirifos tuvo un efecto claramente ovicida sobre *H. axyridis* y ligero en *O. v-nigrum*; en esta última especie la mayor parte de la mortalidad se debió a que las larvas recién nacidas se intoxicaron con los residuos de plaguicida depositados en el corion del huevo, dado su hábito de permanecer por algunas horas sobre el lugar donde nacieron. En los crisópidos tebufenozide tuvo sólo una ligera toxicidad mientras que clorpirifos fue muy tóxico; la respuesta anterior fue más evidente en las larvas recién nacidas (cuadro 1).

En las larvas de las especies bajo prueba, el regulador de crecimiento fue inocuo, excepto en *O. v-nigrum* que exhibió una mortalidad no significativa; clorpirifos en cambio causó una mortalidad superior al 97% en todas ellas (cuadro 1).

Los adultos de los coccinélidos fueron insensibles a tebufenozide, sólo *H. convergens* exhibió una ligera mortalidad atribuible a factores diferentes al producto. En los crisópidos sólo *C. carnea* tuvo cierta sensibilidad a tebufenozide, pero aun así la mortalidad corregida, según Abbott (1925), en ninguna especie alcanzó el 20%. En ambos grupos, los adultos fueron muy susceptibles a clorpirifos (cuadro 1).

Tebufenozide tuvo un buen efecto de control sobre *C. caryana*, siendo éste estadísticamente mejor o igual que clorpirifos en cuanto a daño. La variedad Wichita manifestó mayor susceptibilidad a la plaga debido en parte a que es atacada más temprano en la estación (cuadro 2).

Agradecimientos

Se agradece al Ing. Oscar Rivera Aguilar su apoyo logístico en la realización del presente trabajo y revisión del manuscrito.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18:265-267..
- Legaspi, J.C.; J.V. French and B.C. Legaspi. 2000. Toxicity of novel and conventional insecticides to selected beneficial insects. Subtropical Plant Science 52: 23-32.
- Mizell, R.F. and D.E. Schiffhauer. 1990. Effects of pesticides on pecan aphid predators *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae), *Hippodamia convergens*, *Cycloneda sanguinea* (L.), *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae), and *Aphelinus perpallidus* (Hymenoptera: Encyrtidae). J. Econ. Entomol. 83(5):1806-1812.
- SAS Institute. 1988. SAS/STAT user's guide, release 6.03. SAS Institute, Cary, N.C.

Cuadro 1. Mortalidad (%) de tres estados biológicos de seis especies de depredadores de áfidos del nogal expuestos a tebufenozide y clorpirifos.

Tratamiento	Estado biológico		
	Huevo	Larva	Adulto
		<i>Harmonia axyridis</i>	
Testigo	0.0 b ¹	10.0 b	0.0 b
Tebufenozide	0.0 b	0.0 b	0.0 b
Clorpirifos	100 a	100 a	100 a
		<i>Olla v-nigrum</i>	
Testigo	0.0 b	5.0 b	2.5 b
Tebufenozide	0.0 b	10.0 (5.3) ² b	0.0 b
Clorpirifos	90.0 a	97.5 (97.4) a	100 a
		<i>Hippodamia convergens</i>	
Testigo	-	-	7.5 b
Tebufenozide	-	-	5.0 b
Clorpirifos	-	-	95.5 (94.6) a
		<i>Chrysoperla carnea</i>	
Testigo	10.0 b	0.0 b	17.5 c
Tebufenozide	20.0 (11.1) b	0.0 b	32.5 (18.2) b
Clorpirifos	95.0 (94.4) a	100 a	100 a
		<i>Chrysoperla rufilabris</i>	
Testigo	0.0 c	17.5 b	10.7 b
Tebufenozide	15.0 b	0.0 c	17.9 (8.1) b
Clorpirifos	100 a	100 a	100 a
		<i>Chrysopa nigricornis</i>	
Testigo	-	0.0 b	7.5 b
Tebufenozide	-	0.0 b	10.0 (2.7) b
Clorpirifos	-	100 a	100 a

¹Medias con misma letra son iguales al 0.05 (Tukey). Pr>F= 0.0001 en todos los casos.

²Entre paréntesis mortalidad corregida con la fórmula de Abbott (1925).

33. UTILIZACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DE LA CHINCHE DEL SORGO *Oebalus mexicana* Sailer EN SUS SITIOS DE INVERNACIÓN.

¹Eduardo Salazar Solis y Roberto Garcidueñas Piña

¹Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A.C. Tel. (462) 6241889 y 6248678. salazare@dulcinea.ugto.mx

Palabras Clave: sorgo, *Oebalus* spp, invernación, *Beauveria bassiana*.

Introducción

La chinche del sorgo *Oebalus mexicana* constituye una plaga de importancia económica en el cultivo de sorgo, en el centro de México. Afecta con mayor intensidad a las siembras realizadas con el sistema de punta de riego, ya que la migración del insecto a los campos coincide con el estado de grano lechoso del cultivo. Las pérdidas en los años 80's fueron calculadas en 14% de la superficie global, lo que representaba más de 200,000 ton/año (Salazar, 1993). El insecto pasa 9 meses de su vida, en diapausa como adulto, entre la vegetación de los cerros aledaños a los sitios de cultivo. En los sitios de invernación se han cuantificado poblaciones hasta de 22,000 chinches/m². La chinche inverna en sitios protegidos situados en alturas de 2,200 a 2,700 m.s.n.m. Los refugios preferidos por el insecto son los macollos de los zacates y la hojarasca de los bosques de encino, principalmente en áreas donde no inciden directamente los vientos. Las principales áreas de invernación de la chinche comprenden unas tres mil hectáreas, alrededor del 1% de la superficie establecida en campo (Salazar, 1993). Para reducir las aplicaciones de insecticidas en los campos de cultivo, de 1981 a 198

Metodología

En 1997 se seleccionó un aislamiento de *B. bassiana* obtenido de chinches invernantes y se inició su multiplicación en laboratorio. En 1998 se inició la utilización del aislamiento de *B. bassiana* para combatir a la plaga en sus sitios de invernación. En 1999 se decidió prescindir de los insecticidas químicos y emplear sólo al hongo en las campañas. *B. bassiana* (Biofung) es formulada en granulado y en polvo humectable. Los sitios de fácil acceso fueron inicialmente tratados por medio de aspersoras motorizadas y de ultrabajo volumen, utilizando soluciones con una concentración mínima de 1×10^7 conidios/ml, previamente a las aplicaciones se utilizaban termonebulizadores con diesel, para hacer salir a los insectos de la hojarasca (Garcidueñas y Salazar, 2000). Los sitios de difícil acceso fueron tratados con granulados (granos de arroz con micelio y conidias) distribuidos al voleo, entre la hojarasca. Sin embargo en los últimos tres años la aplicación ha sido casi exclusivamente de producto granulado. Los efectos en este caso son diferidos; la infección de los insectos se produce hasta después de la ocurrencia de precipitaciones pluviales, las cuales promueven el desarrollo de micelio sobre los granos de arroz, la

esporulación, la dispersión de las conidias y la invasión y micosis de los insectos. La aplicación de Biofung se realiza en los meses de Noviembre a Febrero, cuando la chinche se encuentra en diapausa y se aprovecha la humedad residual del temporal y las "cabañuelas", cuando éstas se presentan. La superficie tratada con *Beauveria bassiana* ha alcanzado un máximo de 1,200 ha (superficie menor a la tratada con plaguicidas en años anteriores),

Resultados y Discusión

Los resultados de las aplicaciones se han evaluado de dos principales maneras, la mortalidad directa en los sitios de invernación y el nivel poblacional y de daños de la chinche en los campos de sorgo. La evaluación de la mortalidad inicialmente se realizaba a los 30 días de la aplicación, sin embargo en muchas ocasiones no se presentaban las condiciones de humedad necesarias para el desencadenamiento de una infección masiva, aunque el inóculo permaneciera viable.

En estas evaluaciones la mortalidad registrada presentaba grandes fluctuaciones (20-80%). En los últimos dos años la evaluación de mortalidad se realiza aproximadamente a los seis meses de la aplicación, dando suficiente tiempo para que se presenten condiciones favorables de humedad. A este intervalo la reducción de poblaciones ha sido consistentemente alta, del 60 al 90%; además es frecuente localizar insectos micosados o con signos de afectación por hongos. Además se observa que los cerros tratados con Biofung en un año, al siguiente presentan poblaciones muy bajas; es decir las chinches que regresan de los campos no los prefieren para refugiarse e invernar.

Respecto a las poblaciones y daños del insecto en los campos de cultivo, éstos se han reducido marcadamente, prevaleciendo el problema sólo en zonas limítrofes con los estados de Jalisco y Michoacán (que no realizan campañas). Además, en estos estados las poblaciones de chinches han seguido causando problemas, siendo necesarias hasta cuatro aplicaciones para su control en algunos predios.

Una ventaja adicional del control del insecto en invernación, con un método biológico, ha sido el incremento en la importancia de los entomófagos nativos que parasitan a *Oebalus mexicana*. Uno de ellos, *Telenomus* sp. que en 1982 alcanzaba porcentajes de parasitismo de sólo 28.5%, en los últimos años presenta porcentajes de parasitismo entre 55 y 70%, variando entre esos números, en los diferentes municipios y en los diferentes años.

Un complejo de cuatro taquínidos, entre los que se encuentran *Gymnoclytia* sp. y *Euthera* prox. *bicolor*, incrementaron su parasitismo de 4.85% en 1982 a niveles mayores del 25% en los últimos años. Este caso nos muestra que los efectos del control biológico son en muchos casos diferidos y que es importante tener en cuenta este fenómeno cuando evaluamos el resultado de su utilización. Por otra parte nos proporciona controles más sustentables que los logrados con el control químico.

Cuadro 2. Daño (%) de *Cydia caryana* en dos variedades de nogal con tres tratamientos de control.

Tratamiento	Nuez con ruezno dañado (%)	Nuez con cáscara manchada (%)
		Western
Testigo	16.5 a ¹	7.5
Tebufenozide	3.5 b	2.5
Clorpirifos	17.0 a	7.0
Pr>F	0.0413	0.1361
		Wichita
Testigo	43.0 a	18.5 a
Tebufenozide	16.0 b	12.0 b
Clorpirifos	18.0 b	6.0 b
Pr>F	0.0007	0.0294

¹Medias con misma letra son iguales al 0.05 (Tukey).

Literatura Citada

- Salazar, S. E. 1993. Factores que participan en la ocurrencia de la chinche del sorgo *Oebalus mexicana* Sailer (Hemiptera: Pentatomidae) en Guanajuato. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México.
- Garcidueñas, P. R. y E. Salazar S. 2000. Técnicas de aplicación de *Beauveria bassiana* para el control de la chinche café del sorgo en sitios de hibernación. Memorias del 1er. Taller de Técnicas de Aplicación de Entomopatógenos y de Liberación de Entomófagos. SMCB.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo parcial a través del proyecto J35306-B (CONACYT).

34. EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DEL CEBO MICOINSECTICIDA BIBISAV – 2 SOBRE LA HORMIGA ATTA CEPHALOTES (L). HYMENOPTERA. FORMICIDAE. EN IRAPUATO, GUANAJUATO, MEXICO PARA SU REGISTRO

Zoila G. Trujillo-González¹, Eduardo Salazar- Solis²

¹Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110, e/ 5ta B y 5taF, Playa, Ciudad de La Habana. CP. 11600. Cuba. Telf.: (537) 22 2510 al 16. E-mail: emasso@inisav.cu. (2) Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato y Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A. C. Apdo. 311 y Vicente Rodríguez s/n Fracc. La Paz, Irapuato, Gto. salazare@dulcinea.ugto.mx

Palabras claves: cebo, bibijagüero, pistas.

Introducción

Las hormigas cortadoras de hojas, son plagas ampliamente conocidas en el Mundo por los daños que causan a la agricultura y su entorno. En México se reporta la especie *Atta cephalotes* (L.) y esta se encuentra distribuida en el Ecuador, Brasil, Antillas y Barbados. El método de lucha más generalizado para el combate de esta plaga ha sido con el uso de cebos de naturaleza química, que tienen como desventaja la alta toxicidad, la afectación de la fauna, incluyendo los enemigos naturales (Cherrett, 1986), (Dielh – Fleig y col, 1988) informaron el efecto de diferentes líneas de hongos entomopatógenos para el control de la hormiga *Atta sexdens piriventris*.

Materiales y Métodos

Para determinar la atracción del cebo se tuvo en cuenta el tiempo transcurrido del inicio y final de la carga de este por las hormigas y la efectividad biológica del cebo se realizó en dos tipos de suelos (Vertisol y Phaeozen) en los alrededores de la Universidad Agraria de Guanajuato, para ello se seleccionaron 5 bibijagüeros los cuales fueron marcados con chapillas y en su selección se tuvo en cuenta la ubicación a distancia de más de 500 metros para evitar cualquier tipo de interferencia entre variantes, se evaluaron las dosis de 12, 50 y 100 grs del cebo/m² del bibijagüero, aplicado al lado de las pistas (camino) y se compararon con el cebo químico Patrón (estándar), que se aplicó a razón de 20 grs/m² del bibijagüero. Se realizó un conteo inicial de la población existente en horas de la mañana sobre el número de insectos que entraban y salían y anotaciones sobre el comportamiento de la actividad de estos, en un minuto en 4 agujeros/bibijagüero. Esta operación se repitió 5 veces y se halló el promedio de las observaciones realizadas.

Resultados y Discusión

Al realizar los tratamientos del cebo BIBISAV – 2, las hormigas iniciaron un proceso de reconocimiento del material aplicado y posteriormente acometieron la carga del cebo a sus nidos, aunque esta actividad se incrementó a partir de las 24, 48 y 72 horas. En las diferentes variantes se pudo observar que las hormigas sacaban pequeñas fracciones de cebos a la superficie, los cuales mostraron un menor tamaño y de consistencia húmeda, lo que indicó que dejaron en el interior de los jardines fungosos parte del material aplicado. En los diferentes suelos y dosis aplicadas, se pudo observar que las poblaciones de *A. cephalotes* disminuyeron, mostrando los mejores resultados la variante 3, aplicada a 100 g/m² del bibijagüero, que mantuvo las menores poblaciones de la plaga, con valores similares al estándar. El comportamiento del efecto del cebo sobre las poblaciones de *A. cephalotes* fue similar para los suelos Vertisol y Phaeozen. Es importante señalar que en todas las variantes los diferentes tratamientos mantuvieron poblaciones de hormigas inferiores al testigo sin tratamiento y que las poblaciones de hormigas no cesaron su actividad en el desarrollo de la experiencia (Fig.1 y 2).

Los resultados obtenidos en esta experiencia coinciden con los obtenidos por (Trujillo y col, 1995) y (Pérez, 1998) quienes observaron la disminución de las poblaciones de hormigas en los diferentes tratamientos, asociadas a la acción lenta en la locomoción y la detección de hormigas muertas en los hormigueros sobre las especies *A. insularis* y *Acromyrmex octospinosus* en las condiciones de Cuba y Guadalupe.

Figura. 1. Efecto de Bibisav - 2 sobre la hormiga *Atta cephalotes* (L) en suelo Vertisol. Irapuato, Gto. 2002

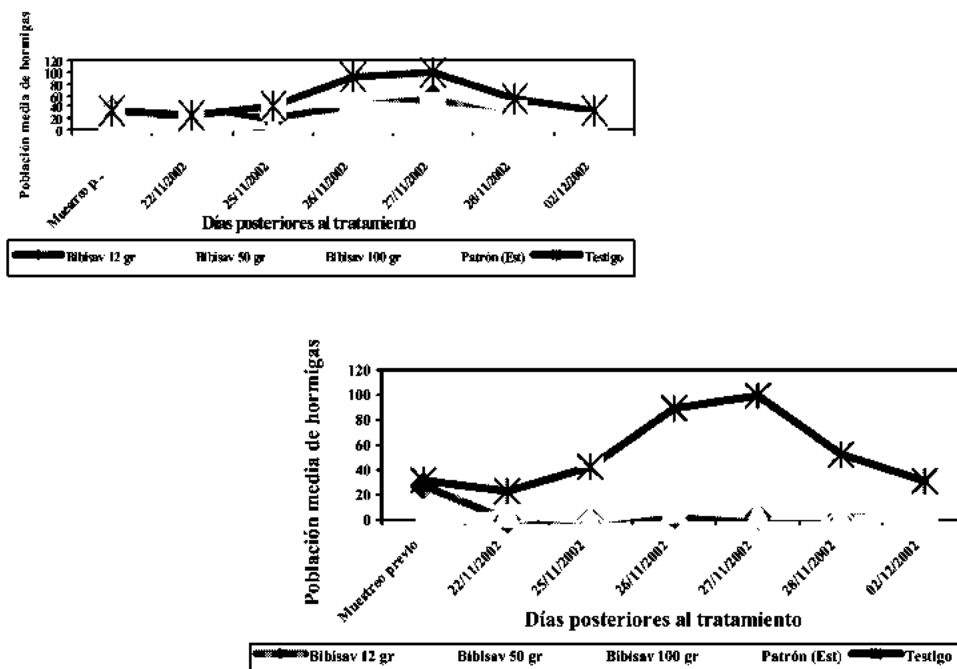


Fig. 2. Efecto de Bibisav – 2 sobre la hormiga *Atta cephalotes* (L) en suelo Phaeozen. Irapuato, Gto. 2002.

Lireratura Citada

- Cherret, J. M. The control off injurious animals. London. 210 p.1986.
- Dielh, Fleig, E., Da Silva, E. M y. Avalincao de diferentes linhagens de Fungos Entomopatogénicos para el controle da Formiga *Atta sexdens piriventris* (Santcchi,1919) (Hymenoptera Formicidae). Ann. Soc. Ent. Brasil. 17 (2). P. 263 – 269. 1988.
- Pérez, A., R. Informe sobre la efectividad de BIBISAV – 2 sobre *Acromyrmex octospinosus* en las islas Guadalupe. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Minagri 9 pag. 1998.
- Trujillo, G. Zoila., R. P. Pérez; Miriam López y Carmen Nieves. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre *Atta insularis*. IX Forum de Ciencia y Técnica. INISAV. 24p.1995

ÌNDICE DE AUTORES

A

Acosta Durán, C.	53
Acosta, A.M.	265
Adams, B	68
Aguirre U., L. A.	168
Alatorre Rosas., R.	344
Alejo Rodríguez., D.A.	402
Allende, M.R.	250
Alvarado Gómez, O. G.	59
Álvarez Cardiel, Y.	395
Álvarez Cilva, M.	282
Álvarez Zagoya, R.	159
Ángel Sahagún, C.A.	347, 351
Angeles Nuñez, G.	78
Arce González, F.	336
Arceo Palacios, F.	14
Arceo Palacios, M. A.	18
Arévalo Niño, K.	402
Armenta Bojórquez, D.	56
Arredondo Jiménez, J.I.	323
Arregui Echegaray, A.	300
Arteaga Flores, A.	102
Ávila Rodríguez, V.	184
Avila Valdez, J.	238, 327
Ayala García, Josías	106, 109, 421

B

Badii Mohammed, H.	151, 413
Bahena, F.	136
Barboza Corona, J. E.	75, 78, 81 358
Barranco Florido,E.	344
Barrera, J. F.	114, 118
Bautista Galvez, A.	429
Bautista Martínez, N.	53
Bean, D.W.	225
Becerra Lizardi, J.M.	288
Berlanga Padilla, A.M.	243, 276
Bermúdez Torres, K.	443
Blanco Montero, C.A.	451
Bonet Ceballos, A.	246
Bravo Luna, L.	443
Bravo Mosqueda, E.	335

Búrquez Delgado, V.	106, 109, 418	421
Byron, A.	68	
C		
Caballero Hernández, F.	306	
Cabanillas Durán, E.	56	331
Calyecac Cortero, G.	53	
Cano Ríos, P.	188	
Cantú Galindo, F.J.	209, 213	
Cárdenas Amezcua, J. I.	10	18 22
Cárdenas Cota, H.M.	447	
Caro Gastelum, A.,	172	
Carreón Amaya, J.	292	
Carreón Treviño, G.	383	
Carrillo F., A.	250	
Carrillo, H.R.	250	
Carrillo, R.	200	
Carrillo, T.	144	
Carrouters, R.I.	156, 225, 228	
Castellanos Moguel, J.	41, 83, 205	
Castillo, A.	123, 127	
Castillo, J.C.	200	
Castro Montoya, R.	447	
Cepeda Siller, M.	91	257, 265, 268
Chiriboga, X.,	36	
Cibrian Llanderal, V.	49	
Cibrián T., D.	164	
Cisneros Flores, B.A.	436	
Cisneros, J.	315	
Corona Rangel, M.L.	443	
Coronado Blanco, J.M.	71, 368	
Cortez Madrigal, Hipólito	68, 98	
Cortez Mondaca, E.	56, 331	
Cramer Hemkes, C.	148	
Cruz Camarillo, R.	81, 358	
Cruz Vasquez, C.	347, 351	
D		
Dahlsten, D.D.	156	
Damas Buenrostro, G.	354	
De Loach, C.J.	225, 228	
Del Rincón Castro, M. C.	311	
Del Rio Galván, S.	49	

Díaz Gómez Ovidio	164
E	
Elías Santos, M.	387
Elizalde Blancas, V.	391
Ellington, J.	144
España Luna, M.P.	59, 237
Esquivel Gutierrez, E.	188
Estrada Astudillo, C.I.	216
Estrada Coronado, M. I.	184
F	
Falconi, C.	424
Farias Larios, J.	209
Federico, B. A	75
Felipe Silvestre, J. M.	118
Fernández Salas, I.	323
Fierro Álvarez A.	364
Figueroa De La Rosa, J. I.	53
Flores, A. E.	151, 413
Flores Ambrosio, G.	33
Flores Martínez C.	164
Flores Moctezuma, E.	443
Flores Villegas, M.Y.	159
Fu Castillo, A.	106, 109, 418, 421
G	
Galán Franco, L. A.	383
Galán Wong, L.J.	375, 379, 383, 387
Galicia Gutierrez, V.	361
Galindo Velasco, E.	10, 18, 22, 250, 347, 351
Gallegos Morales, G.	91, 257, 265, 268,
Gaona García, G.	71, 368
García E., R.S.	250
García González ,F.	59, 88
García Gutiérrez, C	99, 188, 253
García Romero, J.M.	362
García Torres, Z.R.	347
García Valente, F.	192, 196
Garcidueñas Piña, R.	454
Garrido Mateos, E.	33
Garza Pérez, C.N.	379
Gaytán Mota, D.M.	261
Gil Martínez, D.	288

Gomez, J.	118
Gonzaga Muñoz, M.	361
Gonzalez Barajas, M.	41
González Cortés, N.	429
Gonzalez Gaona, E.	265, 268, 405, 409
González Hernández, A.	59, 88, 168
Gonzalez Hernández, H.	192, 196
Gonzalez Maldonado, M. B.	94, 253
González R., L. G.	216
González Ramírez, M.	10, 14, 18
Grajeda G., J.	418, 421
Guerrero López, J.	295
Guerrero Rodríguez, E.	91, 168, 257, 261, 292
Guzmán Franco, A. W.	192, 196
H	
Hernández Mendieta, E.	200,
Hernández Velázquez., V.M.	276, 281, 299
Herr, J.C.	225
Herrera, A.M.	156
Herrera, J.	114
Huerta Paniagua, A.	53
Huitrón Echeverria, C.	91
I	
Ibarra Aparicio, G.	243
Ibarra Cortés, K. H.	288
Ibarra, J.E.	311, 323
Infante, F.	123, 127
Iracheta, M.M.	354
K	
Kirkendall, R.L.	127
Knutson, A.E.	225
L	
Lezama Gutierrez, R.	10, 14, 18, 22, 347, 351
Loera Gallardo, J.	271
Lomeli F., J.R.	49
López Arévalo, A.	81
López Edwards, M.	14, 347, 351
López, G.	127
López, I.	246
López, J.	268
López Lavín, M.	10, 18, 22

López Martínez, V.	53			
López, R. N.	261			
López Toledo, J.F.	49			
Loya Ramírez, J. G.	144			
Lozano Gutierrez, J.	59,	235		
Lucero Pulido, M.C.	144			
M				
Marín Hernández, C. H.	148			
Marina, C.F.	323			
Marquez, Z.I.	250			
Martínez Carrillo, J.L.	331,	440		
Martínez Martínez, L.	53,	336		
Martínez Molina, S.	94			
Martínez Ramírez, J.L.	292			
Mata González, M.G.	45			
Medina, V.	136			
Mena Covarrubias, J.	231			
Méndez, S.P.	246			
Mier, T.	41,	83,	204	
Milbrath , L. R.	225			
Miranda Salcedo, M. A.	132,	136		
Molina Ochoa, J.	10,	14,	18,	22,
Montemayor Garza, S.L	387			347, 351
Montoya Díaz, G.	364			
Morales, L.	319			
Morales, .O. C..	246			
Morales Pérez, S.	68			
Morales Ramos, L.H.	375,	383,	387,	402
Morales Soto, M.	340,	361		
Moscardi, F.	2,	319		
Moya Raygoza, G.	26,	243		
Muñoz Castellanos, L.N.	45,			
N				
Nava Camberos, U.	184,	188		
Navarro Espino, D.	235,			
O				
Olayo Paredes, R.P.	91,	257		
Oleas, A.	36,	424		
Oppert, B.	354			
Ortega Arenas, L.D.	192,	196		
Osuna Paez, A.G.	447			

P

Pacheco Covarrubias, J.J.	440
Padilla R, J.S.	268
Palacios Vázquez, J.L.	184
Paredes González, E.	102
Paro, F.E.	319
Patiño, V.M.	250
Penagos, D.I.	315
Peña Martínez, R.	136, 364
Peña Olmos, L.	364
Pereyra Alférez, B.	375
Pérez Cortés, Z.	340
Pérez Domínguez, J.F.	276, 281, 300
Pérez Pacheco, R.	33
Pescador Rubio, A.	22
Pinson, Erika	114
Ponce, G.	151, 413
Posos Ponce, P.	292

Q

Quintero Zapata, I.	383, 387
Quiñónez Pando, F.J.	451
Quiroz Martínez, H.	148

R

Rabanales, R.	114
Ramírez Gómez, M.	62, 371
Ramón Miranda, L.	295
Rebolledo Domínguez, O.	10, 18 22, 347, 351,
Reyes M., L.	268
Reyes Montes, R.	41, 83, 204
Reyes Rosas, M.A.	30, 56 140, 271
Reyes Velázquez., W.P.	347, 351
Ríos Reyes, A.V.	26
Rodríguez Acevedo, J.I.	351
Rodríguez Castro, V.A.	148
Rodríguez De La Rocha, G.S.	45
Rodríguez Del Bosque, L. A.	30, 225, 229, 327
Rodríguez Navarro, S.	364
Rodríguez Padilla, C.	354
Rodríguez Vega, M.A.	10, 14
Rojas C., V.	246
Rojas, J.	118

Rosas García, N.M.	375
Ruiz Cancino, E.	71, 368
Ruiz Sánchez, A.	81, 358
S	
Sahagún Hernández, D.	179
Salas Araiza, M.D.	399, 432
Salazar Solís, E.	432, 454, 457
Salcedo Hernández, R.	78, 81, 358
Salinas, R.	213
Salvador Morales P.	68
Sanchez Aguilera, C.	66.
Sanchez García, J. A.	53, 336
Sánchez Martínez, G.	405, 409
Sánchez Pérez, F. De J.	257
Sánchez Valdez, V.M.	257, 261
Sandoval Camacho, K.	45
Sandoval Coronado, C.F.	379
Sandoval Cruz, M.L.	405
Saucedo Castañeda, G.	344
Serratos Arévalo, J.	292
Silva Romero, M.	22
Soldorio, I.L.	319
Solís Soto, A.	395
Sosa Gómez, D.R.	319
Sotelo Estrada, I.	102
Soto Trejo, E.	188
Svetlana Nikolaevna, M.	71
T	
Tamayo Mejía, F.	191, 196
Tamez Guerra, P.	253, 354
Tarango Rivero, S.H.	451
Terrón Sierra, R.	364
Tomic Carrouthers, N.	156
Toriello, C.	41, 83, 204
Torres Barrera, R.	288
Torres, C.C.	164
Torres Meza, L.G.	436
Tracy, J.L.	225
Trjapitzin, V. A.	368
Trujillo González, Z.G.	457
Trujillo, J.	123, 127

Tucuch Cahuich, M.	140
U	
Urrutia C., A.A.	168,
V	
Varela, S.	151, 413
Vargas Valenzuela, S.C.	45
Vásquez Navarro, J.M.	436
Vázquez Correa, S.	49
Vázquez García, M.	288
Vega, F. E.	127
Vejar Cota, G.	176, 180
Vela Coellar, E.	399
Velásquez V. R.	265
Vera Graziano, J.	123
Villa Ayala, P.	443
Villegas, N.	136
Virgen Calleros, G.	216
W	
Williams, T.	315, 323
Woo. Park; H	75
Y	
Yáñez Mendizabal, V.	36, 424
Z	
Zepeda Jazo, A.I.	10, 18

Esta impresión de 400 ejemplares se terminó en octubre de 2003 en Guadalajara,
Jalisco, México

