

Universidad de Guadalajara

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIV. DE CS. AGRONÓMICAS



**EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE INSECTICIDAS NO
CONVENCIONALES *Metarhizium anisopliae* Y LA
PIRETRINA PARA EL CONTROL DE PLAGAS DEL MAÍZ**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO FITOTECNISTA

PRESENTA

EDGAR OCAÑA ESQUINCA

Las Agujas Mpio. de Zapopan, Jal., Septiembre de 1997.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERO AGRONOMO
COMITE DE TITULACION

M.C. SALVADOR MENA MUNGUIA
DIRECTOR DE LA DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS
PRESENTE

Con toda atención nos permitimos hacer de su conocimiento, que habiendo sido aprobada la modalidad de titulación: TESIS, con el título:

"EFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE INSECTICIDAS NO CONVENCIONALES *Metarhizium anisopliae* Y LA PIRETRINA PARA EL CONTROL DE PLAGAS DEL MAIZ"

El cual fue presentado por él (los) pasante(s):

EDGAR OCAÑA ESQUINCA

El jefe del Departamento de Producción Agrícola, a sugerencia de los miembros de la academia de Protección Vegetal designo como director y asesores, respectivamente, a los profesores:

PH.D. MARCELINO VAZQUEZ GARCIA
M.S. ENRIQUE PIMIENTA BARRIOS
M.C. SALVADOR DE LA PAZ GUTIERREZ

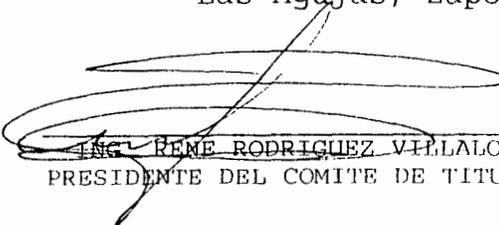
Una vez concluido el trabajo, el Comité de Titulación designó como sinodales a los profesores:

ING. LETICIA FREGOSO FRANCO	PRESIDENTE
ING. MOISES MARTIN MORALES RIVERA	SECRETARIO
ING. HILDA CUEVAS CONTRERAS	VOCAL

Se hace constar que se han cumplido los requisitos que establece la Ley Orgánica de la Universidad de Guadalajara, en lo referente a la titulación, así como el Reglamento del Comité de Titulación.

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"

"Año del Hospital Civil de Guadalajara"
Las Agujas, Zapopan, Jal. a 2 de septiembre de 1997


ING. RENE RODRIGUEZ VILLALOBOS
PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION


M.C. SALVADOR GONZALEZ LUNA
SRIO. DEL COMITE DE TITULACION

DEDICATORIA

A Dios:

Por haberme dado vida, salud e inteligencia para poder concluir una etapa mas de mi vida y así darme la fé y la fuerza para lograr nuevas metas.

A mis padres:

**Marlene Esquinca Santos.
Cristobal Ocaña Palacios.**

Por haberme fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida, por que han constituido un poderoso estimulo capaz de obligar mi pluma, disponer mi mente, ocupar mi tiempo y dedicar el mejor de mis esfuerzos en pro del logro de mis objetivos.

A mi hermana:

Erika

Por el apoyo que me brindo y por la confianza que deposito en mí.

A mis abuelitos:

**Esperanza Santos Ramos.
Leobardo Esquinca Ayala (+).**

Por el amor y respeto que les tengo.

A ustedes debo este logro, y con ustedes lo comparto

Con todo mi cariño:

Edgar

AGRADECIMIENTOS

A la **Escuela Superior de Agricultura <<Hermanos Escobar>>** (Cebolleros) de Cd. Juárez Chih. por ser la raíz de este fruto hoy logrado 1991-1993.

A la **Universidad de Guadalajara, División de Ciencias Agronómicas (C.U.C.B.A)** por la oportunidad de abrirme sus puertas para la culminación de mi profesión 1994-1996.

Al Ph. D. Marcelino Vázquez García por la coordinación y desarrollo brindado como director de este trabajo de tesis.

Al M.S. Enrique Pimienta Barrios por sus consejos, sugerencias y su atenta asesoría en la redacción y revisión del manuscrito.

Al M.C. Salvador de la Paz Gutierrez por la colaboración y sugerencias otorgadas como asesor del presente trabajo.

A los maestros:

Ing. Leticia Fregoso Franco.

M.C. José Luis Martínez Ramirez.

Por sus consejos y apoyo que me brindaron durante mi carrera.

A todos mis compañeros de la **generación 91-96 Agronomía.**, a Loreto, Pablo, José Luis C., Gilmar, Agapito, Juan Antonio, Erick, a mi amiga Marijose, entre otros y demás compañeros y amigos de Agronomía, Biología y Veterinaria por su amistad y entusiasmo durante el desarrollo del presente trabajo.

A Rubén P. B., Isaac H. V., Carlos M., y al Ing. Moisés M. entre otros, por el apoyo brindado para la realización de este trabajo de tesis.

LA
TIERRA
ES AL MISMO TIEMPO
MADRE,
ELLA ES LA MADRE DE TODO
LO QUE ES NATURAL
MADRE DE LO QUE ES HUMANO.
ELLA ES LA MADRE DE TODO,
Y DENTRO DE ELLO
ESTAN LAS SEMILLAS
DE TODO

Hildegard de Bingen
(Siglo XII)

INDICE

	Págs.
Indice de Cuadros	i
Indice de Gráficas	ii
RESUMEN	iii
I.- INTRODUCCION	1
1.1.- Objetivos.....	3
1.2.- Hipótesis.....	4
II.- REVISION DE LITERATURA	5
2.1.- Descripción general de las plagas tratadas.....	5
2.1.1.- Gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i>	5
2.1.2.- Gusano barrenador <i>Diatraea saccharalis</i>	5
2.1.3.- Diabroticas <i>Diabrotica balteata</i> y <i>Diabrotica virgifera zea</i>	6
2.1.4.- Esqueletonizador <i>Colaspis chapalensis</i>	7
2.2.- <i>Metarhizium anisopliae</i>	8
2.2.1.- Taxonomía.....	9
2.2.2.- Patogénesis.....	11
2.2.3.- Producción de toxinas.....	13
2.2.4.- Epizootiología.....	15
2.2.5.- Formulación.....	19
2.2.6.- Ingeniería genética.....	20
2.3.- Piretrina.....	21
2.3.1.- Aspectos generales del <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	22
2.3.1.1.- Descripción.....	22
2.3.1.2.- Distribución.....	23
2.3.1.3.- Ecología.....	23
2.3.1.4.- Química.....	24
2.3.2.- Extracción del piretro.....	24
2.3.3.- Formulación.....	25
2.3.4.- Componentes activos de la piretrina.....	26
2.3.5.- Sinergistas o activadores de la piretrina.....	27
2.3.6.- Estabilidad.....	28
2.3.7.- Modo de acción.....	29

2.3.8.- Toxicidad a mamíferos.....	30
2.3.9.- Usos de la piretrina.....	30
III.- MATERIALES Y MÉTODOS.	32
3.1.- Localización del área experimental.....	32
3.2.- Aspectos agroclimáticos.....	32
3.2.1.- La Barca, Jalisco.....	32
3.2.2.- Ameca, Jalisco.....	32
3.3.- Establecimiento de los ensayos.....	34
3.3.1.- Experimento 1. La Barca, Jalisco.....	35
3.3.2.- Experimento 2. Ameca, Jalisco.....	35
3.4.- Análisis de datos.....	36
IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.	37
4.1.- Experimento 1.- La Barca, Jalisco.....	37
4.1.1.- Efecto sobre larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	37
4.1.2.- Efecto sobre adultos de <i>Colaspis chapalensis</i>	38
4.1.3.- Efecto sobre adultos de <i>Diabrotica virgifera zea</i>	39
4.2.- Experimento 2.- Ameca, Jalisco.....	40
4.2.1.- Efecto sobre larvas de <i>Diatraea saccharalis</i>	40
4.2.2.- Efecto sobre adultos de <i>Diabrotica balteata</i>	42
V.- CONCLUSIONES.	50
VI.- LITERATURA CITADA.	51
VII.- APENDICE.	56

Indice de Cuadros

Cuadro	Contenido	Pág.
Cuadro 1.	Tratamientos (Insecticidas botánico, microbial y químico) evaluados en los experimentos.....	34
Cuadro 2.	Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> en la localidad La Barca, Jal. 1996.....	37
Cuadro 3.	Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre poblaciones de adultos de <i>Colaspis chapalensis</i> en la localidad La Barca, Jal. 1996.....	39
Cuadro 4.	Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre poblaciones de adultos de <i>Diabrotica virgifera zea</i> en la localidad La Barca, Jal. 1996.....	40
Cuadro 5.	Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre larvas de <i>Diatraea saccharalis</i> 1o. Aplicación en la localidad Ameca, Jal. 1996.....	41
Cuadro 6.	Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre larvas de <i>Diatraea saccharalis</i> 2da. Aplicación en la localidad Ameca, Jal. 1996.....	42
Cuadro 7.	Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre adultos de <i>Diabrotica balteata</i> en la localidad Ameca, Jal. 1996.....	43

Indice de Gráficas

Gráfica	Contenido	Pág.
Gráfica 1.	Plantas dañadas por <i>Spodoptera frugiperda</i> antes y después de la aplicación de los tratamientos La Barca, Jal. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.....	44
Gráfica 2.	Adultos de <i>Colaspis chapalensis</i> antes y después de la aplicación de los tratamientos La Barca, Jal. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.....	45
Gráfica 3.	Adultos de <i>Diabrotica virgifera zea</i> antes y después de la aplicación de los tratamientos. La Barca, Jal. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.....	46
Gráfica 4.	Larvas de <i>Diatraea saccharalis</i> después de la primera aplicación de los tratamientos. Ameca Jal. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.....	47
Gráfica 5.	Larvas de <i>Diatraea saccharalis</i> después de la segunda aplicación de los tratamientos. Ameca, Jal. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.....	48
Gráfica 6.	Adultos de <i>Diabrotica balteata</i> antes y después de la aplicación de los tratamientos. Ameca, Jal. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.....	49

RESUMEN

Uno de los principales problemas a los que se enfrentan los productores de maíz (*Zea mays* L.), es la presencia de insectos plagas. Dentro de las plagas importantes en el cultivo de maíz en Jalisco, son las especies de *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Diatraea saccharalis* y otras plagas secundarias.

Dado el caso de la gran tendencia del uso de insecticidas convencionales en el cultivo de maíz, se pretendió con este trabajo ver nuevas opciones que puedan competir en cuanto a efectividad con los insecticidas mencionados.

Se efectuaron estudios con el fin de evaluar la efectividad del insecticida de origen botánico Piretrina y del insecticida de origen microbioal *Metarhizium anisopliae* sobre el control de *Spodoptera frugiperda*, *Diatraea saccharalis* y especies de plagas secundarias de adultos de *Diabrotica balteata*, *Diabrotica virgifera zae* y *Colaspis chapalensis* en el cultivo del Maíz.

Los ensayos se realizaron en 2 localidades, uno en la región de San José Casas Caídas, municipio de La Barca, Jal., y otro en el campo agrícola experimental de Ameca, Jal. Se evaluaron 8 tratamientos, los cuales fueron con Piretrina+(b.p.+t.d.) 2 kg/ha, 2.5 kg/ha y 3 kg/ha; *Metarhizium anisopliae* 10^{12} conidias/ha; mezcla de Piretrina+(b.p.+t.d.) 2.5 kg/ha con *Metarhizium anisopliae* 10^{12} conidias/ha y la mezcla entre Piretrina+(b.p.+t.d.) 2.5 kg/ha con Clorpirifos 0.75 l/ha; tratamiento solo con Clorpirifos 0.75 l/ha, y un testigo absoluto, bajo un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones.

Para determinar la efectividad de estos tratamientos sobre el control de *Spodoptera frugiperda* se tomaron muestreo de plantas dañadas por larvas en 10 m lineales; para el caso de *Diatraea saccharalis* se tomaron 4 plantas al azar/ parcela con el recuento de larvas presentes en el tallo, para plagas secundarias de las especies *Diabrotica virgifera zae* y *Colaspis chapalensis* se dieron 25 golpes de red/parcela, y para *Diabrotica balteata* 60 golpes de red/parcela. Los datos fueron analizados respectivamente bajo un análisis de varianza y prueba de Tukey al nivel de 0.05 %. El tratamiento Piretrina+(b.p.+t.d.) con dosis de 2.0 y 2.5 kg/ha, presentaron menor población de larvas de *Spodoptera frugiperda*. *Diatraea saccharalis* se controló con mayor efectividad con el tratamiento

Metarhizium anisopliae 10^{12} conidias/ha. Piretrina+(b.p.+t.d.) 3.0 kg/ha resultó con menor población de adultos que los otros tratamientos para *Diabrotica balteata*. Para el control de *Colaspis chapalensis*, el tratamiento que presentó menor población de adultos fue la de *Metarhizium anisopliae* 10^{12} conidias/ha a los 6 días después de la aplicación.

I.- INTRODUCCION

La producción de alimentos es una de las grandes prioridades para el hombre, sin embargo en la agricultura las cosechas de los cultivos se ven mermadas principalmente por problemas fitosanitarios (insectos plaga, enfermedades y maleza).

La problemática con los insectos plaga ha existido desde la antigüedad, por muchas generaciones el hombre estuvo expuesto a la acción de las plagas en sus cultivos, sin embargo esto pareció ser cosa del pasado cuándo el hombre empezó a hacer uso de los insecticidas químicos, logrando solucionar sus problemas con las plagas, pero el mal uso de estos productos vinieron pronto a demostrar las siguientes limitaciones: selección de resistencia en las poblaciones insectiles, destrucción de especies benéficas, resurgimiento de las poblaciones tratadas, aparición de plagas secundarias, residuos en los forrajes y alimentos, y riesgo para el hombre y el medio ambiente.

El control de plagas del follaje en el cultivo de maíz en el estado de Jalisco comúnmente se lleva a cabo con el uso de insecticidas de los grupos organofosforados y piretroides sintéticos disponibles en el mercado. El insecticida más comúnmente utilizado es el *Clorpirifos*, principalmente para el control de *Spodoptera frugiperda*, así como plagas secundarias como adultos de diabroticas de las especies *D. virgifera zea*, y *balteata*, así como el barrenador del tallo *Diatraea spp*, adultos de picudos del cogollo *Geraeus senilis* y *Nicentrites testaceipes*, y adultos de *Colaspis spp*.

Sin embargo, se han estado buscando nuevas alternativas en el control de plagas, tal es el caso de los insecticidas de origen microbial y de los insecticidas de origen botánico.

Los insecticidas microbiales no afectan a las plantas, ni a los animales superiores y es inocuo en el ambiente. Un ejemplo de ello es el hongo *Metarhizium anisopliae* que tiene patogenicidad a plagas como *S. frugiperda*, *S. exigua*, *D. saccharalis*, *G. senilis* y *N. testaceipes*, y adultos de *D. balteata* y *D. virgifera zea*.

Desde hace mucho tiempo también se conocen las propiedades insecticidas de muchas plantas. Tal es el caso del extracto de piretro (*Chrysanthemum cinerariifolium*), de la familia Compositae. Su baja toxicidad para los mamíferos, por su inocuidad, y su modo de acción, ha sido útil para su aplicación en el control de algunas plagas urbanas y de campo.

1.1.- OBJETIVOS

- Determinar la efectividad biológica del hongo *Metarhizium anisopliae* y de la Piretrina, en el control del “gusano cogollero” *Spodoptera frugiperda*, del “gusano barrenador” *Diatraea saccharalis*, y algunas plagas secundarias del Maíz.
- Demostrar la competitividad de la piretrina y de *Metarhizium anisopliae* por su efectividad en el control de plagas foliares, al ser comparado con un insecticida convencional (Clorpirifos).
- Cuantificar la efectividad de las mezclas de la Piretrina con *M. anisopliae* y con el insecticida Clorpirifos.

1.2.- HIPOTESIS

- El hongo *Metarhizium anisopliae* y la Piretrina son igualmente efectivas en el control de plagas como el insecticida Clorpirifos.
- La mezcla de la Piretrina con *M. anisopliae* o Clorpirifos incrementan la efectividad de los insecticidas mencionados.

II.- REVISION DE LITERATURA

2.1.- Descripción general de las plagas tratadas.

2.1.1.- Gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) Noctuidae (Lepidoptera).

Por lo general, se encuentra una larva en el verticilo debido a las características canibalísticas que presenta. Después de seis instares larvales, mide hasta 3 cm de largo y es de color café grisáceo, posteriormente cae al suelo e inicia la etapa de pupa en una celdilla de tierra a unos pocos centímetros debajo de la superficie del suelo. Los adultos son palomillas de color gris oscuro que miden de 20 a 25 mm y presentan una conspicua mancha blanca en el extremo de las alas traseras; las hembras ponen sus huevecillos de uno en uno hasta formar masas de 40 a 60 cubiertos con escamas que dan la impresión de pelusa. Los huevecillos son de color blanco, rosado o verde claro y normalmente son depositados en el envés de las hojas. Las larvas emergen de los huevos en un lapso de 7 días aproximadamente; su tasa de mortalidad es elevada cuando ocurren factores reguladores de la población como lluvia, depredadores y parásitos.

Las larvas causan extensos destrozos en las hojas, al alimentarse de la epidermis foliar y más tarde pasan al verticilo cogollo donde comen de manera voraz (Ortega, 1987).

2.1.2.- Gusano barrenador *Diatraea saccharalis* (Fabricius) Pyralidae (Lepidoptera).

Al quitar y examinar con detenimiento los verticilos tiernos es posible observar la primera generación de pequeñas larvas blancas de cabeza negra, alimentándose de las hojas enrolladas del verticilo. Al inspeccionar el tallo en las fases posteriores del crecimiento de la planta se encuentran larvas con manchas de cabeza color café, que horadan el tallo depositando su excremento semejante al aserrín. Las larvas de verano son moteadas, en tanto que las que sobreviven el invierno pierden sus manchas oscuras y toman una coloración blanco cremoso. Las larvas mudan varias veces antes de formar pupas de color café. La formación de pupas ocurre dondequiera que las larvas se alimentan (en los tallos, pedúnculos de la mazorca o en las mazorcas mismas). Las larvas desarrolladas que se

alimentan del tallo preparan la salida de la palomilla haciendo una "ventanilla" circular al final de la galería. Las palomillas de color paja, que ostentan dos líneas oscuras y oblicuas y un punto en el centro de las alas anteriores, suelen depositar masas de huevecillos blancos y ovalados, semejantes a escamas, en hileras traslapadas en el envés de las hojas. Al acercarse el momento de la eclosión, los huevos color rojizo se tornan negros.

Los primeros indicios del ataque de este insecto son las hileras de pequeños agujeros que pueden observarse cuando las hojas se van desplegando durante la etapa del verticilo medio. Algunas larvas taladran el verticilo tan profundamente que matan el punto de crecimiento y cortan las hojas centrales en la base. A la larga, estas hojas se marchitan, mueren y se tornan blancas, un síntoma comúnmente conocido como muerte del cogollo. En las etapas más avanzadas del desarrollo de la planta, los barrenadores causan otro tipo de daños, incluyendo el macollamiento y achaparramiento. Las larvas más desarrolladas perforan el tallo, por lo general donde la hoja se une a éste. También pueden taladrar las nervaduras centrales y alimentarse en la sección de la hoja que envuelve el tallo. Los tallos muy infestados están llenos de túneles, se rompen con facilidad y se acaman (Ortega, 1987).

2.1.3.- Diabroticas *Diabrotica balteata* (Le conte) y *Diabrotica virgifera zae* (Krysan y Smith) Chrysomelidae (Coleoptera).

Es posible encontrar pequeñas larvas de color blanco, delgadas y de cuerpo suave en las raíces de las plantas infestadas. Estas larvas tienen tres pares de patas, cabeza de color café y pueden alcanzar 1.2 cm de largo. Después de mudar tres veces, las larvas se convierten en pupas suaves y blancas dentro de celdillas de tierra, de las cuales emergen los adultos que varían en tamaño (de aproximadamente 6 mm); sus colores van de acuerdo con la especie. Depositán sus huevos en el suelo a una profundidad de hasta 30 cm; el número de generaciones al año (de una hasta tres o cuatro) depende de la especie (Ortega, 1987). Las larvas taladran las raíces, lo cual quizá resulte en tallos curvos o inclinados, o en plantas acamadas.

Las hojas de las plantas de maíz, son dañadas por los adultos en forma irregular. Cuando se está formando el jilote, los "cabellitos" (estigmas) son consumidos. Como consecuencia del daño a los estigmas muchos granos no se forman y las mazorcas "no llenan bien" (Rodríguez, 1978).

2.1.4.- Esqueletonizador *Colaspis chapalensis* (Blake) Chrysomelidae (Coleoptera).

Las primeras larvitas se detectan entre los 10 y 20 días de emergida la planta, localizándose entre los 20 y 25 cm. de profundidad. Su aspecto es de cabeza y patas no prominentes, color ligeramente amarillo, segmentos medios del cuerpo más grandes que los demás, presencia de “verrugas” apareadas localizadas en la parte ventral de los segmentos abdominales, así como en el tamaño de las larvas que llega medir hasta 8 mm. Presentan una longevidad de 22 días durante el cual se alimentan de la raíz de las plantas.

El estado pupal también transcurre bajo el suelo dentro de una celdilla de tierra; su forma es casi idéntica a la del género *Diabrotica* con una sola diferencia, la presencia de una espina prominente en la porción distal del femur del segundo y tercer par de patas; su duración es de 6 días.

Las características morfológicas del adulto son: color café pálido con la parte ventral verde oscuro, élitros esculpados con punciones redondas en forma de hileras dobles y de coloración pardo oscuro. El tiempo aproximado de vida es de 35 días y tienen hábitos alimenticios del tipo “esqueletonizador” sobre maíz y otras gramíneas, realizando también perforaciones irregulares o consumos de follaje tierno en el área del cogollo (Felix y Reyes, 1990).

2.2.- *Metarhizium anisopliae*

La palabra "muscardina", puede referirse a un tipo de enfermedades producidas por ciertos hongos, o a los hongos en sí.

Las infecciones con *Metarhizium anisopliae*, la causa de la muscardina verde, son similares en muchos aspectos a los causados por *Beauveria bassiana*. La muscardina verde fungosa fué descubierta por Metchinikoff en 1879, infectando larvas del escarabajo del trigo. Este científico ruso estudió la enfermedad y vislumbró su uso práctico en el control de los insectos. También apreció una evidencia de la importancia de las epizootias naturales en la reducción de las poblaciones de insectos. Desde su descubrimiento solamente en Norteamérica se han encontrado hasta 75 especies de insectos infectados con *Metarhizium* (Steinhaus, 1968).

En muestreos obtenidos de pinares plagados de lepidopteros defoliadores *Evita hyalinaria* Dyar en el Ajusco, D.F; en siembras de algodón plagado con G. perforador *Bucculatrix thurberiella* Buck en Apatzingan Mich; y de Caña de azúcar infestados con lepidopteros barrenadores *Diatraea saccharalis* Fabricius, en Papaloapan, Ver., se determinó que habían sido infectados por el hongo *M. anisopliae* (Gottwald, 1981).

El mismo autor mencionó que larvas de mayate prieto (*Rhynchophorus palmarum* L.) infectadas con *M. anisopliae* inoculados en alimento trampa (cortes de tallo de cocotero), el lapso de aparición de la infección varió entre 12 y 18 días, y el grado de control varió entre 20 % y 55 %.

M. anisopliae parásita un amplio espectro de insectos y se usó extensamente en Brasil, contra la chinche de la caña *Monarva posticata* y también contra chinches de pastizales, en invernaderos para plantas ornamentales, y contra el gorgojo *Otiorrhinchus suleatus*, de la fresa y de la vid. En Australia, se ensaya con buenos resultados contra varias plagas de pastos y, en filipinas, contra plagas del arroz (Primo, 1991 b).

En Brasil, las primeras detecciones de epizootias del salivazo *Monarva posticata* ocasionadas por *M. anisopliae* fueron reportadas a finales de los años 60's y principios de los 70's. En 1977 se aplicó el hongo entomopatógeno producido en arroz en 6000 ha, incrementándose a 123,000 ha. en 1980 y a 150,000 ha en 1984, reportándose mortalidades de 30 a 40 % en ninfas y de 20 a 30 % en adultos (Garza, 1996).

La muscardina verde, está siendo utilizado comercialmente en varios países productores de caña de azúcar en Sudamérica para el combate de diversas especies de mosca pinta. Actualmente, se encuentra en estudio su utilización contra plagas de pastos y caña de azúcar en México (Lagunes y Villanueva, 1994).

En los estados de Nayarit y Tlaxcala, en los años de 1994 a 1995 se han realizado colectas de poblaciones de los acrididos *Schistocerca piceifrans* y *Sphenarium* sp; respectivamente. donde han detectado micosis en adultos y ninfas por *M. anisopliae*.

De la Rosa *et al* (1995 a), concluyeron que *M. anisopliae* es un agente potencial de control biológico para la broca del café *Hypothenemus hampei*, y por lo tanto debería ser incorporado en un programa de manejo integrado de la plaga.

De la evaluación de cinco cepas de *M. anisopliae* sobre el parasitoide *Cephalonomia stephanoderis*, a nivel de laboratorio, De la Rosa *et al* (1995 b), demostraron que la respuesta biológica presentada por *C. stephanoderis* comparada con *H. hampei*, indicó que el parasitoide es más "tolerante" a *M. anisopliae*, característica importante para que ambos enemigos naturales sean incorporados en un manejo integrado de la broca del café.

2.2.1.- Taxonomía.

Este es un campo muy dinámico dentro de la micología de insectos.

La clasificación de los hongos entomopatógenos se basa en las características anatómicas o morfológicas, tomando en cuenta la forma del micelio, tipo de fructificación, tipo de hospedero, de origen, hábitat, condiciones ambientales, medios de cultivos en que se desarrollan, aunque también se realizan estudios a base de microscopía electrónica, análisis bioquímico, genético y biológicos. La mayoría de los hongos se encuentran en cinco taxa dentro de la división Eumycotina. Roberts y Humber (*vide* de la Rosa, 1995).

División: Eumycotina.
Subdivisión: Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Género: *Metarhizium*
Especie: *anisopliae*

Deuteromycotina: Las clases de esta subdivisión se caracterizan por no presentar estado sexual, por lo cual se les conoce con el nombre de hongos imperfectos. La clase Hyphomycetes es la más importante ya que incluye a la mayoría de las especies conocidas como patógenos de insectos. Los Hyphomycetes se caracterizan por formar micelio septado con conidióforo simple o agrupado y la identificación de los géneros se basa en la forma en que se originan las conidias en el conidióforo (Hernandez y Berlanga, 1996).

Samsón *et al* (*fide* Sánchez, 1993) Deuteromycetes: La ontogenia de las conidias es fundamental en su clasificación. La mayoría de los géneros entomopatógenos (*Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, etc.) presentan fialides, células en forma de botella productoras de conidias.

Metarhizium sp. El conidióforo es ramificado, las esporas son alargadas y se forman en cadenas originadas en fialides; la conidia más joven es la de la base del conidióforo, las cuales crecen unidas formando una masa prismática de cadenas de esporas.

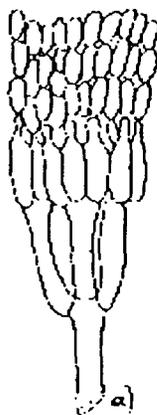


Figura 1. Estructuras morfológicas de conidias y conidioforos a) *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*.

Las conidias de este género son blancas cuando son jóvenes, pero conforme la conidia madura, el color se torna verde oscuro. El tamaño de la conidia permite diferenciar las especies del género: *Metarhizium anisopliae* con dos variedades *M. anisopliae* var. *anisopliae* forma conidias esféricas u ovals, de tamaño comprendido entre 3.5 y 9.0 μm de largo, y *M. anisopliae* var. *mayor* (Johston) con conidias entre 9.0 y 18.0 μm de largo (Berlanga, 1994).

2.2.2.- Patogénesis.

La patogenicidad es la capacidad de producir enfermedad; virulencia. Los hongos que infectan a los insectos hospederos no lo hacen por ingestión, sino que penetran a la cavidad del cuerpo a través del integumento. Esto requiere condiciones de temperatura y humedad adecuadas. Una vez dentro, el hongo prolifera, invade los tejidos y llena el cuerpo del insecto con una gran cantidad de hifas o cuerpos hifales. En la mayoría de los casos, el hongo emite sus conidióforos al exterior, donde se desarrollan los cuerpos fructíferos, capacitando al organismo para hacer contacto con nuevos huéspedes. El insecto infectado, generalmente se seca adquiriendo un aspecto momificado, frecuentemente llega a cubrirse con conidios, y algunas veces contiene esporas en reposo, las que permiten al hongo sobrevivir en periodos de condiciones adversas del medio ambiente o en la ausencia del hospedero (Steinhaus, 1968).

Los hongos entomopatógenos usualmente causan la muerte del hospedero por deficiencia nutricional, invasión y/o digestión de tejidos, y/o liberación de toxinas. El desarrollo de la micosis puede ser separado en tres fases: (1) adhesión y germinación de la espora sobre la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocelo y (3) desarrollo del hongo, lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto (Figura 2) (Hernandez y Berlanga, 1996).

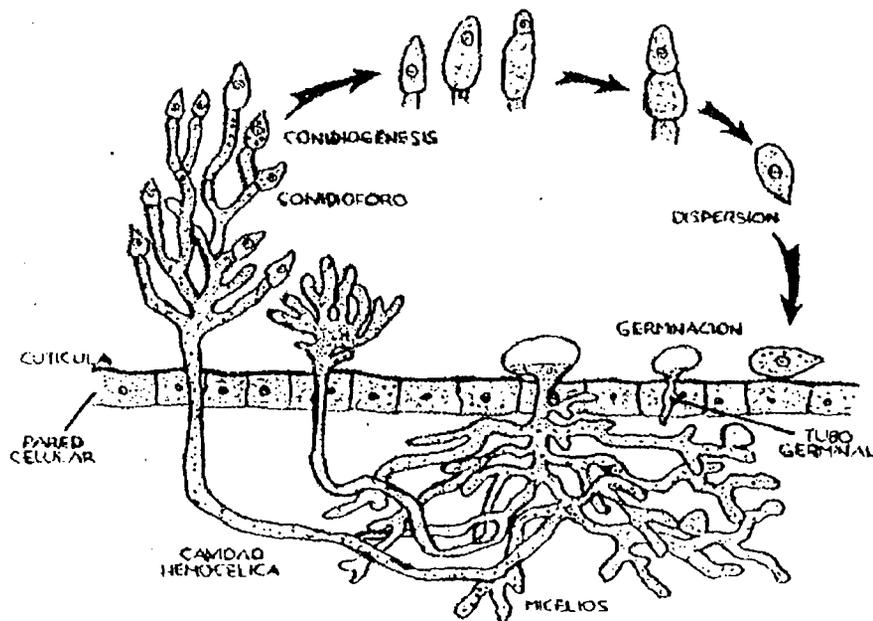


Figura 2. Desarrollo de micosis por entomopatógenos.

En todos los casos, la unidad infectiva de todas las especies de hongos entomopatógenos es una espora, usualmente un conidio. El curso del desarrollo de la enfermedad inicia por la adherencia de las esporas sobre la cutícula del insecto. Si las condiciones del medio ambiente son óptimas ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, HR $90 \pm 5\%$), esta espora germina y da origen a un tubo germinativo que penetra directamente a la cutícula o produce unas células apresorias que le dan una característica de mayor adherencia sobre el integumento del insecto. El hongo penetra al hemocelo donde normalmente crecen en forma de levaduras llamados cuerpos hifales o blastosporas, los hongos pueden producir toxinas en el hemocelo que producen la muerte, o causando otras anomalías en la fisiología del hospedero. Los hongos eventualmente invaden todo los órganos del insecto y después sale a la superficie de la cutícula para producir nuevos conidios. Charnley, St Leger, y Roberts (*vide* De la Rosa, 1995).

Steinhaus (1968), menciona que la palabra "muscardina", se refiere a un tipo de enfermedad producido por el hongo. En esta enfermedad el hongo emerge del cuerpo del insecto, cubriendo al insecto con material fungoso característico recordando, en cierta forma, al bombón francés o menta dulce (muscardin French.)

Estudios realizados por St. Leger *et al* en 1988, citado por de la Rosa (1995) con *M. anisopliae* han demostrado claramente que una proteasa es el factor principal en la penetración de los hongos en la cutícula de los insectos. La cutícula normal de un insecto tiene aproximadamente 70 % de proteínas, entonces la proteasa es la más importante que la quitinasa. Durante la fase de penetración, el 80 % de proteínas es sintetizado por la enzima quimioestasa (proteasa) (De la Rosa, 1995).

Metarhizium anisopliae ocasionalmente infecta larvas de elatéridos a través de los espiráculos y poros de órganos sensitivos (Hernandez y Berlanga, 1996). Osorio y Lezama (1991), demostraron que a nivel laboratorio la agresividad de los hongos entomopatógenos varía tanto entre especies y entre cepas, con respecto al origen del insecto del que fue aislado; las 7 cepas resultaron patógenas, pero la mortalidad osciló entre 43.8 % y 90.0 %, no encontrando correlación entre la agresividad de las cepas Ma L2, Ma L4 y Ma L5 que fueron aisladas de *Diatraea saccharalis* y la cepa Ma L4 que causó la mortalidad más alta de los adultos de mayate prieto, siendo ésta la más sobresaliente.

Lezama y Mellin (1991), compararon la actividad patógena de los hongos *Metarhizium anisopliae*, cepas Ma L2, Ma L3, Ma L4, Ma L5, Ma L6, Ma L7, Ma L8; *Beauveria bassiana*, cepas Bb L3, Bb L5, Bb L6 y Bb L7, y *Verticillium lecanii*, cepas V1 L1, V1 L2, V1 L3R y V1 L4, encontraron que las diferentes

especies de hongos utilizados, presentaron una agresividad variable contra larvas neonatas del gusano del melón *Diaphania byalinata* (L.). Resaltando la agresividad que mostraron las cepas del hongo *Metarhizium anisopliae*, con una efectividad comprendida entre el 91 y el 99 %; no obstante, no mostraron diferencias significativas con la cepa del hongo *B. bassiana* Bb L5, que eliminó el 88.8 % de las larvas, mientras que el resto de cepas de *B. bassiana* parasitaron entre un 10 y 53.8 %. Las cepas del hongo *Verticillium lecanii* fueron las menos efectivas al parasitar por debajo del 10 %.

Garza y Medellín (1991), concluyeron que las larvas del tercer instar de moscas de la fruta cuando emergen del fruto dañado son sensibles a los hongos *M. anisopliae*, *Paecilomyces farinosa* y *P. javanicus*. La cepa Brasileña (ARSEF-3307) de *M. anisopliae* presentó 98.7 % de mortalidad; la cepa Davis (ARSEF - 3292) un 92.5 % y la cepa Colima (ARSEF - 3305) 83.5% de mortalidad; resultaron más sobresalientes que las especies de *P. farinosus*, *P. javanicus* en 37.5 y 13.7 % de mortalidad, respectivamente.

Metarhizium anisopliae mostró ser patogénico sobre larvas de siete días de *S. frugiperda* recolectadas en las zonas del Espinal, Armero - Guayabal y Meseta de Ibagué - Tolima, Colombia (King y Salazar, 1995).

2.2.3.- Producción de toxinas.

Las toxinas son sustancias venenosas producidas por microorganismos. Estas sustancias son metabolitos secundarios. Las toxinas pueden ser activas por ingestión, contacto ó inyección; obviamente, sólo las dos primeras categorías son de interés en el control de plagas. Las toxinas pueden ser producidas en el hospedero o en medios de cultivo. Pueden ser compuestos del bajo peso molecular o polipéptidos complejos (Sánchez, 1993).

La entomopatogenicidad parece expresarse mediante la perturbación de la fisiología del hospedero por el extenso crecimiento micelial en la hemolinfa del insecto, por la penetración micelial de los tejidos, y por la producción de toxinas que son las destruxinas como Destruxina A (Figura 3). Estas toxinas causan parálisis y la muerte en larvas de lepidopteros y en adultos de dípteros. Quince destruxinas relacionadas son aisladas, la Destruxinas A y B son las mas comunes sin embargo, la E es la más tóxica. Charnley, Roberts, Samuels, Reynolds y Charnley (Citados por Faull y Powell, 1995).

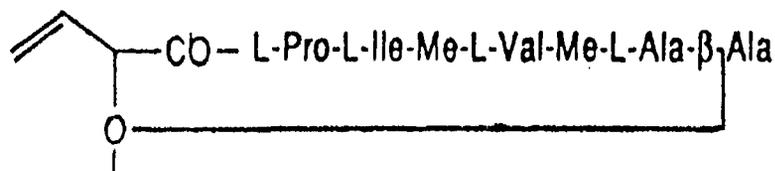


Figura 3. Estructura de la Destruxina A.

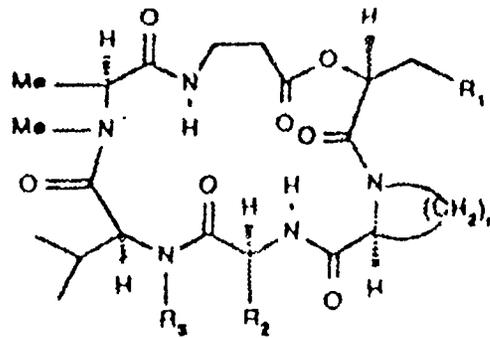
El modo de acción estudiadas de las destruxinas muestra que causan depolarización de las membrana musculares por activación de los cambios de ion calcio. Pero estas toxinas también tienen efectos citotóxicos en otros tejidos, aunque menos dramático. La importancia de las destruxinas en patogénesis permanece incierta. Alguna prueba de ello es la habilidad de algunos insectos a desintoxicar las destruxinas, y puede ser el efecto miotóxico lo que puede potenciar otros aspectos de la patogenicidad. Otros metabolitos fúngicos producidos son conocidos por inhibir la división celular y por potenciar otros aspectos de entomopatogenicidad, Samuels, Charnley, y Reynold (*vide* por Faull y Powell, 1995).

Los ciclodepsipeptidos son compuestos cíclicos en que el anillo está compuesto de residuos de amino y ácidos hidroxil unidos por amidas y enlaces de éster. Muchos son antibióticos; un número son reconocidos por sus propiedades insecticidas. Las destruxinas son una serie de ciclodepsipeptidos constituido de 5 aminoácidos y por α -hidroxiácido. 17 destruxinas son identificadas de tres diferentes fuentes, Russell; Gupta *et al* (*vide* por Addor, 1995).

Metarhizium anisopliae produce ciclodepsipeptidos (destruxinas) que son activas contra insectos por inyección. Estas toxinas producen tétanos y parálisis. Es importante mencionar que las esporas germinantes de *M. anisopliae* son capaces de matar insectos antes de invadir su cavidad corporal; esto se ha observado en larvas de mosquitos, atribuyéndose la mortalidad a toxinas (probablemente destruxinas) producidas por las conidias germinantes, Lacey (*vide* Sánchez, 1993).

De *Metarhizium anisopliae* se han aislado dos grupos de toxinas, las destruxinas y las citocalacinas, Roberts; País *et al* (*vide* de la Rosa, 1995).

Las estructuras de 16 de las destruxinas aisladas de cultivos de *Metarhizium anisopliae* se muestran en la Figura 4. (Addor, 1995).



Destruixinas	R ₁	R ₂	R ₃	n
Λ	CH=CH ₂	CHMeCH ₂ Me	Me	3
Λ ₁	CH=CH ₂	CHMeCH ₂ Me	Me	4
Λ ₂	CH=CH ₂	CHMe ₂	Me	3
B	CHMe ₂	CHMeCH ₂ Me	Me	3
B ₁	CHMe ₂	CHMeCH ₂ Me	Me	4
B ₂	CHMe ₂	CHMe ₂	Me	3
Desmethyl B (DMDB)	CHMe ₂	CHMeCH ₂ Me	H	3
C	CHMeCH ₂ OH	CHMeCH ₂ Me	Me	3
C ₂	CHMeCH ₂ OH	CHMe ₂	Me	3
D	CHMeCO ₂ H	CHMeCH ₂ Me	Me	3
D ₁	CHMeCO ₂ H	CHMeCH ₂ Me	Me	4
D ₂	CHMeCO ₂ H	CHMe ₂	Me	3
E	CH—CH ₂ O O	CHMeCH ₂ Me	Me	3
E ₁	CH—CH ₂ O O	CHMeCH ₂ Me	Me	4
E ₂	CH—CH ₂ O O	CH(CH ₃) ₂	Me	3
Chlorohydrin (CHL)		CHMeCH ₂ Me	Me	3

Figura 4. Destruixinas aisladas apartir de cultivos de *Metarhizium anisopliae*.

2.2.4.- Epizootiología.

Epizootiología es el estudio de las características, ecología y causas de las enfermedades que aparecen y crecen en forma explosiva en poblaciones de animales (Rodríguez, 1993).

La virulencia puede ser definida como la intensidad producida por la enfermedad o el poder de un microorganismo; y la infección, como la capacidad

del microorganismo patógeno para diseminarse de un insecto huésped a otro (Steinhaus, 1968). La infectividad o la capacidad para diseminarse, es uno de los factores más importantes en relación con las epizootias dentro de una población de insectos (Tanada, 1968).

Tres factores principales tienen que ver en una epizootia:

1) El patógeno o agente infeccioso, 2) Los huéspedes susceptibles dentro de la población; 3) Medios eficientes de transmisión de los patógenos a los huéspedes susceptibles. Estos tres factores primarios son a su vez muy afectados por el medio ambiente físico y biótico, el cual puede favorecer o inhibir la diseminación de la infección de huésped a huésped (Tanada, 1968).

Los factores ambientales pueden actuar no solamente sobre las infecciones activas, si no también pueden activar las infecciones latentes en la población de insectos. En las epizootias de algunas enfermedades, la influencia de los factores ambientales no es muy aparente (por ejemplo, ciertas enfermedades virósicas) pero en otras tales factores juegan un papel predominante (por ejemplo, enfermedades fungosas). En muchos casos el brote de una enfermedad es el resultado de una combinación e interacción de muchos factores en el medio ambiente, y es a menudo difícil separar la importancia de los diferentes factores individuales (Tanada, 1968).

Según Hernández y Berlanga (1996), las condiciones ambientales, particularmente humedad y temperatura sin descartar luz y movimiento del aire, son muy importantes en la infección y esporulación de hongos entomopatógenos. En la actualidad, diversa información permite distinguir entre el papel de la humedad atmosférica y la formación de epizootias. Es conocido que el desarrollo del hongo sobre el cadáver y su posterior información está asociado con humedad cercana al punto de saturación; bajo estas condiciones, la producción de inóculo resulta en la infección de insectos sanos favoreciendo el desarrollo de epizootias. Se ha demostrado que la infección de insectos se puede dar independientemente de la humedad ambiental, se piensa que las microhumedades en la superficie del integumento del hospedero o sobre el follaje puede ser suficiente para la germinación de la espora y la posterior penetración del hospedero así mismo esporas formuladas en aceite ocasionan la muerte de langostas en humedades relativas de 35 %.

La presencia de materia orgánica y el humus, aumentan las propiedades de retención de los suelos y la alta humedad resultante podría favorecer las infecciones del hongo. Sin embargo, en el hongo de la muscardina verde, *Metarhizium anisopliae*, además de la humedad, el contacto entre las esporas

absorbidas por las partículas del huevo y la cutícula del insecto, es importante para el desarrollo de la infección del insecto, Dutky (*vide* Tanada, 1968).

Hongos ubicuos, tales como el de la muscardina blanca, *Beauveria bassiana* y la muscardina verde *Metarhizium anisopliae*, y ciertos hongos entomofitales, aparentemente persisten con éxito en el hábitat del huésped. Esto ha sido indicado por que los brotes periódicos de la enfermedad se presentan cada año, bajo condiciones favorables entre los huéspedes susceptibles a este hongo (Tanada, 1968).

La humedad es el factor físico más frecuentemente citado que afecta la iniciación y desarrollo de las epizootias entre las poblaciones de insectos. En forma general, las epizootias de las enfermedades fungosas dependen principalmente de la humedad, teniendo papeles secundarios otros factores físicos como la temperatura, luz solar y viento. En el campo, la humedad del microclima es a menudo más importante que todo el clima (Tanada, 1968).

Hongos entomopatógenos como *Beauveria* y *Metarhizium* son primordialmente microbios del suelo; este hábitat protege a los hongos de los efectos adversos de la deshidratación, radiación ultravioleta y temperaturas extremas. Un problema en el suelo es la destrucción de entomopatógenos por microorganismos antagonistas (Sánchez, 1993).

Las temperaturas superiores a 35 °C generalmente inhiben el crecimiento y desarrollo de los hongos; la actividad infectiva disminuye a temperaturas aproximadas a los 50 °C. Las temperaturas inferiores de 10 °C inhiben el crecimiento de los hongos, pero aumentan la persistencia. La longevidad (en días) de conidias del hongo *M. anisopliae* a varias temperaturas en °C, se muestran a continuación (Lezama, 1994).

	Rango de temps. (° C)		
	5-10	20-30	45-50
<i>Metarhizium anisopliae</i>	455	85	< 1

Los Deuteromycotinos encontrados en áreas tropicales y subtropicales tienen una temperatura óptima de germinación sobre los 25 ° C. La rapidez del desarrollo micelial y evolución de la infección, también depende de la temperatura. En general los valores óptimos para *M. anisopliae* son de 27-28 ° C (Hernández y Berlanga, 1996).

En *M. anisopliae* la temperatura óptima para su desarrollo y esporulación es de 27 a 28 ° C, y sus esporas tiene un punto de muerte termal de menos de 15 minutos a 50 ° C. Ferron e Ignoffo (*vide* De la Rosa, 1995).

La acción de la luz solar, especialmente los rayos ultravioleta pueden tener un efecto directo sobre los patógenos de insectos.

La radiación solar puede actuar sobre la germinación de las conidias o sobre los estados iniciales de crecimiento del tubo germinativo. Se ha demostrado que los rayos ultravioleta tienen el mayor efecto negativo sobre conidios de *M. anisopliae* (Hernández y Berlanga, 1996).

La vida media de las conidias de hongos entomopatógenos a la luz solar es de 1 a 4 horas; aunque el color de la conidia influye en el impacto de la radiación sobre las conidias y, también, la longevidad de un hongo se puede mejorar cuando se encuentra en cultivos con follaje abundante. La vida media de *M. anisopliae* bajo condiciones simuladas es de 1.9 - 2.0 horas (Lezama, 1994).

Aunque las esporas pueden sobrevivir por largos períodos de tiempo en un ambiente extremadamente seco, es necesaria una humedad relativamente alta para su germinación y rápido desarrollo. La luz solar constituye el principal factor destructivo que afecta la persistencia de los hongos entomopatógenos y que los inactiva directa o indirectamente. El efecto directo de la luz solar sobre los entomopatógenos causa deleciones, uniones cruzadas, ruptura de bandas y formación de sitios lábiles en la cadena de ADN, y el efecto indirecto es debido a la generación de radicales altamente reactivos que inactivan a los entomopatógenos. Estos radicales producidos por la radiación ultravioleta, son los responsables de reducir la persistencia en el campo de los hongos y de los insecticidas microbiales, Madelin., Alves et al e Ignoffo (Citados por De la Rosa, 1995).

La capacidad de sobrevivencia de los patógenos de insectos puede ser separada en: (1) Sobrevivencia en el hábitat del huésped, y (2) Sobrevivencia entre los individuos de la población del huésped y los insectos parásitos asociados, depredadores y otros animales. De una manera general, los patógenos de insectos que produzcan esporas o estados resistentes en sus ciclos de vida, son capaces de sobrevivir y persistir por largos periodos de tiempo en el medio ambiente de sus huéspedes (Tanada, 1968).

La habilidad de dispersión de los patógenos o su capacidad para dispersarse a través de la población del huésped o del medio ambiente de éste es muy importante en la ocurrencia de epizootias entre los insectos. Esta característica está muy asociada con la persistencia de los patógenos en la

naturaleza. La dispersión en la naturaleza ocurre por varios métodos, tales como movimientos de vectores sanos y huéspedes infectados (primarios, secundarios, etc.), al ser transportados sobre los cuerpos de insectos o animales no susceptibles, por factores climáticos y físicos (vientos, lluvia, nieve y corrientes de agua), y por su propia movilidad o aparatos especiales de descargas (hongos) (Tanada, 1968).

El mismo autor, señaló que la dispersión por movimiento de los vectores sanos y huéspedes infectados primarios y secundarios es uno de los métodos principales de diseminación de patógenos de insectos. Los huéspedes infectados pueden distribuir los patógenos mediante sus huevos, deyecciones fecales, regurgitaciones y, después de su muerte, sus cuerpos desintegrados pueden dispersar los patógenos en el hábitat del insecto..

2.2.5.- Formulación.

Principalmente tres parámetros son evaluados para que un patógeno sea desarrollado como un micoplaguicida: 1) Factibilidad de producción, 2) Seguridad para el hombre, vertebrados, insectos benéficos y plantas, y 3) Efectividad contra la plaga. Iggnofó (*vide* de la Rosa, 1995). El desarrollo de la formulación de un insecticida microbial es semejante a un insecticida químico (Hernández y Berlanga, 1996). A diferencia de los insecticidas químicos, el micelio, conidios, blatosporas, zoosporas o esporangios, producidos por hongos entomógenos, son propágulos vivos. El objetivo del formulador es maximizar la estabilidad de la unidad infectiva y facilitar la infección del huésped en la aplicación. Mc Coy (*vide* Hernández y Berlanga, 1996).

Las formulaciones básicas de los entomopatógenos son: Polvos (espolvoraciones), gránulos, polvos humectables, formulaciones líquidas acuosas o no acuosas. La formulación de hongo entomopatógeno suele ser polvo humectable, con un polvo inerte y aditivos para aumentar la eficacia y la supervivencia de las esporas (adhesivos, humectantes para retener humedad, protectores contra la radiación ultravioleta, etc) (Primo, 1991 a).

Sánchez (1993), indicó que los polvos humectables son formulaciones de amplio uso en control microbiano. Las conidias de muchos Deuteromycetes (como *M. anisopliae*) son extremadamente hidrofóbicas y no se suspenden fácilmente en el agua, siendo necesario utilizar agentes humectantes para obtener una suspensión homogénea. En México se han utilizado a nivel experimental formulaciones en polvo humectable de *M. anisopliae* y *Paecilomyces fusumosoroseus* utilizando tierras diatomeas como inerte y surfactante. (Hernández, 1994). Los acarreadores comúnmente utilizados en la formulación de

hongos entomopatógenos son arcillas como caolín, sílica gel o tierras diatomeas (Hernández, 1994). En Brasil, *Metarhizium anisopliae* es formulado como una suspensión acuosa obtenida por el lavado de arroz y hongo con agua. Mendoca (*vide* Hernández, 1994). Un insecticida microbial debe ser producido, formulado y estabilizado para que bajo condiciones normales de almacenamiento no se afecten sus propiedades insecticidas. La temperatura y la humedad relativa son vitales para la estabilidad, de muchos hongos entomopatógenos, los cuales no permanecen estables por periodos de más de 12 meses a 4 °C.

2.2.6.- Ingeniería genética.

La sensibilidad a fungicidas hacen del control de enfermedades del cultivo incompatible con el control biológico de plagas mediante micoinsecticidas.

Los estudios de los mecanismos moleculares de la infección y de la producción de toxinas están avanzando rápidamente y ya se han desarrollado sistemas para la obtención de hongos transgénicos. Lo cual abre la posibilidad de aumentar la efectividad de los hongos entomopatógenos mediante la manipulación de los genes involucrados en el reconocimiento del huésped, la adhesión, la actividad enzimática y la producción de toxinas.

Moorhouse *et al* (*vide* Sánchez 1993), encontraron que bajo condiciones de laboratorio los fungicidas Clorotalonil y Zineb, impidieron la germinación de conidias de *M. anisopliae*, mientras los fungicidas Benomyl, Carbendazim, Triforine y Etridiazole, así como los insecticidas Hostation, y Diclorvos inhibieron totalmente el crecimiento micelial de este entomopatógeno.

Se ha introducido un gen de resistencia al fungicida Benomyl en *Verticillium lecanii* y *Metarhizium anisopliae* y se está explorando la posibilidad de ampliar el número de copias del gen Prl (responsable de la producción de una proteasa que participa en la penetración del hongo a través de la cutícula del insecto huésped) con el objeto de aumentar la eficacia de *M. anisopliae*, (Barcenás, 1995).

Hernández y Berlanga (1996), mencionan que los hongos entomopatógenos tienen el potencial de modificar sus características genéticas a través de técnicas de biología molecular. Un aislamiento de *M. anisopliae* fue recientemente obtenido por esta técnica. Un gen de resistencia al Benomyl del hongo *Aspergillus nidulans*, fue insertado por fusión de protoplastos en *M. anisopliae*, el gene se expresó y dió origen a un aislamiento de *M. anisopliae* resistente al fungicida.

2.3.- Piretrina.

Muchas especies de plantas contienen materiales insecticidas naturales, aunque muchos de ellos no pueden ser extraídos provechosamente. Sin embargo, varios de estos extractos han proporcionado valiosos insecticidas de contacto que tienen la ventaja de que su uso parece no provocar el surgimiento de cepas de insectos resistentes en el mismo grado que los insecticidas sintéticos.

Algunos ejemplos de los insecticidas botánicos y derivados son la nicotina, el piretro, y los derivados de Derris (rotenona) (Cremlyn, 1982).

Las piretrinas son insecticidas de origen botánico con acción de contacto, ingestión y fumigante. Otros nombres comerciales asociados con este compuesto son Buhach, *Chrysanthemum cinerariaefolium*, Ofirmotox, Insect Powder, Dalmation Insect flowers, Firmotox, y Parexan and NA 9184

El uso del piretro como un insecticida se originó en la región transcaucásica de Asia, alrededor de 1800. En 1850, después de la publicación sobre la naturaleza del producto, su uso se volvió mundial y fue la exportación más importante de Dalmacia y países adyacentes hasta que vino la primera Guerra mundial, cuando el Japón se convirtió en el principal productor. La industria empezó a florecer en Kenya más o menos en 1932, y por 1940 ese país era el principal proveedor del piretro para los E.U.A. Las investigaciones de Staudinger y Ruzicka, en 1924 tuvieron como resultado la identificación parcial de los constituyentes químicos activos del piretro, pero los descubrimientos en cuanto a los compuestos exactos relacionados fueron hechos tan tarde como 1947, debido principalmente al trabajo de La Forge y Barthel (Metcalf y Flint, 1965).

Piretros (pelitre) es el nombre común para las flores secas, y los ingredientes insecticidas contenidos en pelitre son conocidas como piretrinas. Morgan (1989), indicó que el piretro se encuentra sólo en plantas que pertenecen al género *Chrysanthemum = Pyretrum*, familia Compositae. Las 2 especies que poseen un contenido suficientemente tóxico para ser adecuados para la manufactura de insecticidas son *C. cinerariaefolium* y *C. coccineum (= roseum)* (Metcalf y Flint 1965; Barberá, 1974).

La única especie comercial existente es *T. cinerariifolium* (idéntica a *Chrysanthemum cinerariifolium* y a *Phyretrum cinerariifolium*). Esta planta es nativa de las regiones costeras de Yugoslavia (Dalmatia) y algunas partes de Caucasia. Según lo indican (Mc Donnell, Roark, Kennan, en 1922; Mc Donnell, Roark, y La Forge en 1926, citados por Henrick, 1995).

2.3.1.- Aspectos generales del *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Visiani FAM. ASTERACEAE (COMPOSITAE).

Hay confusiones acerca de la taxonomía de las especies de plantas de las cuales es obtenida el piretro. Algunos autores lo manejan como *Chrysanthemum cineracaeifolium* y recientemente algunos autores lo reportan como *Chrysanthemum cinerariifolium*.

Actualmente publicaciones recientes transfieren estas especies del género *Chrysanthemum* al género *Tanacetum*. Existen sólo 2 especies de plantas con importancia histórica y comercial, la margarita pintada o Persian insect flower (flor roja), *Tanacetum coccineum* (willd.) Grierson, y la Dalmatian insect flower (flor blanca), *Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Schultz- Bip. Ambas son daisylike herbáceas, perennes de la familia, Compositae. (Soreng y Copen Maumann, 1990; Mc Donnell, Roark, y Kennan en 1922; Mc Donell, Roark y La Forge, 1926, citados por Henrik, 1995).

2.3.1.1.- Descripción.

Planta herbácea perenne de 30-75 cm de altura; de raíces numerosas y fibrosas; tallos sin ramificación, esbeltos, pilosos; hojas alternadas de 15-30 cm de largo, pecioladas, oblongas u obaladas, subdivididas en segmentos lineares, (Figura 5). Flores solitarias sobre pedúnculos largos de 3-4 cm de diámetro; radio de las flores blanco, cerca de 20, femeninas (Stuart, 1981). El disco es amarillo, bisexual, hermafrodita, pentamera, simétricos; con 5 nervaduras, delgadas, café cerca de 5 mm de longitud. La época de floración es variable, generalmente de mayo a julio (Duke y duCellier, 1993).

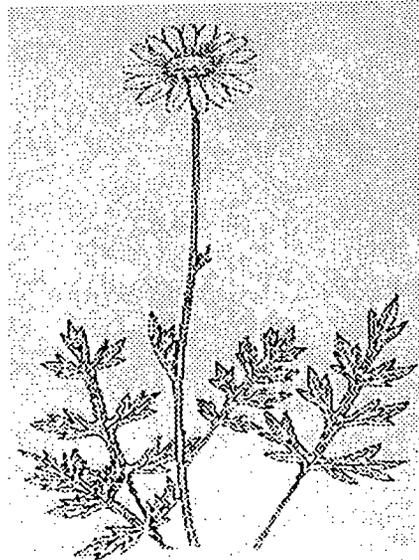


Figura 5. Planta de *Chrysanthemum cinerariifolium* mostrando sus características

2.3.1.2.- Distribución.

Probablemente es nativa de la Costa Dálmata de Yugoslavia, el pelitre ha sido introducido a Japón, Europa, Kenya, India, Kashmir, África oriental, Brasil, Ecuador y Perú. Se han hecho intentos para cultivar pelitre en casi todos los países (Duke y duCellier, 1993).

2.3.1.3.- Ecología.

El pelitre es un cultivo de gran altitud en el trópico o de bajas altitudes de climas templados, requiere de 90 - 125 mm de precipitación pluvial, prosperando mejor en regiones con suelos con alto contenido de materia orgánica, bien drenados, donde el frío es necesario para iniciar el brote de las flores. Las temperaturas medias máximas de 24 °C por una semana o más inhiben la floración. Diez días bajo los 16 °C estimulan la máxima floración alrededor de 3 meses después del frío máximo. En zonas templadas, la floración es limitado a un par de meses en verano, pero en altitudes considerables en el trópico (2,000 a 3,000 m) la floración puede extenderse por 10 meses. Rangos de húmedo a húmedo frío templado, desde zonas subtropicales húmedas a subtropicales secas, el pelitre puede tolerar precipitaciones anuales de 4.3 a 21.4 dm (media de 10.4 dm), temperaturas anuales de 8.6 a 27.3 °C (media de 15 casos = 6.14) Duke (*vide* Duke y du Cellier, 1993).

2.3.1.4.- Química.

Los vástagos de la planta contienen por cada 100 gr, en una muestra- cero base, 13 gr de proteína, 0.5 gr grasa, 79.4 gr de carbohidrato total, 23.6 gr de fibra, 7.1 gr. de ceniza, y 240 a 530 mg de calcio. Las flores contienen piretrina 0.7 - 20 %, ácido palmítico y linoléico y algo de aceite volátil. Además D, L - y L- stachydrina ($C_7H_{18}NO_2$) y un alcaloide de pirrolidina (mezcla de stachydrina cholina = crisatemina). Las flores también producen (+) - sesamina y beta-cyclopyrethrosina . Los extractos de alcohol de las flores de piretro producen algunas sesquiterpeno lactonas, entre ellos beta- cyclopyrethrosina, chrysanolide, y chrysanin y beta- amyrin, List y Hohammer (*fide* Duke y duCellier, 1993).

2.3.2.- Extracción del piretro.

Las flores son recogidas manualmente después de un corto tiempo luego de la floración y contienen un 80 % de agua aproximadamente. Posteriormente son secadas, usando secadores mecánicos, expuestas al sol o con tierra. Desde 1919, la mayoría de los piretros han sido refinados por medio de una extracción con solvente. El polvo es extraído con un solvente como hexano ó keroseno, para producir una oleoresina oscura, viscosa y concentrada conteniendo alrededor de 30 % de piretrinas (extracto de piretro). Otros procesos de refinación (basados en solventes principalmente) son utilizados para preparar un material incoloro y ceroso adecuado para su uso en aerosoles. Aunque la piretrina es presentada en pequeñas cantidades en todas las partes de la planta, la mayor concentración esta en la cabezuela de las flores. La piretrina contenida en las flores es óptima cuando están completamente abiertas. Mas del 90 % de las piretrinas en la cabezuela de las flores están localizadas en los ductos secretores de aquenios (Henrick, 1995).

Según Ray (1991), el polvo por si solo fue usado en la antigüedad como insecticida, pero ahora es extraído. La producción de extractos primarios, después la concentración, de un material oscuro y viscoso conteniendo aproximadamente 30-35 % de piretrinas y cerca de 50 % de impurezas (concentrado de oleorosina), las cuales pueden ser diluidas y estandarizadas para contener 25 % de piretrinas (extracto de oleorosina). La oleorosina puede ser procesada hasta un extracto refinado conteniendo 50-55 % de piretrinas y cerca de 23 % de impurezas.

El piretro se obtiene de flores secas del crisantemo, por medio de la extracción con queroseno o dicloruro de etileno y el extracto se concentra por destilación al vacío (Hartley y West, 1969; Lagunes y Villanueva, 1994).

Actualmente se preparan extractos de pelitre empleando disolventes apropiados (queroseno, petróleo, alcohol, gasolina, etc.), mucho más activos que

los primitivos, polvos insecticidas obtenidos por pulverización de las flores secas de pelitre, y además se evita en parte la inestabilidad, por la adición de antioxidantes, como el tanino, hidroquinona, 1-4 tolvilenantroquinona, etc. La concentración usual de este insecticida en pulverizaciones es de 1 por 1000 en piretrinas. Se ha comprobado que existen sustancias "activadoras" del poder insecticida de los extractos de pelitre; por ejemplo el etilenglicol, éter del pineno y el tiocianato de fenchilo (Blass, 1961).

Las flores maduras completamente abiertas, contienen la mayoría de los constituyentes activos, el tallo tiene sólo más o menos 1 décimo de esa cantidad. Los aquenios de la cabeza de la flor contienen más o menos el 90 % de las piretrinas de la flor. Los concentrados de piretro son preparados por la extracción en las flores molidas, con solventes tales como éter de petróleo, bicloruro de etileno, ácido acético glacial, alcohol metílico, o acetona. Estos solventes también extraen cantidades considerables de ceras y materia colorante que pueden ser eliminados por precipitación, absorción en carbón de madera, o por enfriamiento y filtración. Por la extracción de tal concentrado usando nitrometano, seguido por la absorción sobre carbón activado, pueden ser preparados los concentrados que contienen de 90 a 100 % de piretrinas.

Los disolventes empleados en la obtención en el extracto de pelitre son éter de petróleo, dicloroetileno y otro. El valor del extracto conseguido radica en su contenido en piretrinas, cuya constitución fue aclarada principalmente por los trabajos de Staudinger y Ruzicka (*vide* Barbera 1974).

2.3.3.- Formulación.

Las flores secas contienen de 1 a 3 % de piretrinas, el extracto crudo de 30 a 35 % y el grado más refinado 60 %. En forma comercial se suelen encontrar preparados del 20 al 25 % de piretrinas (Simental, 1992).

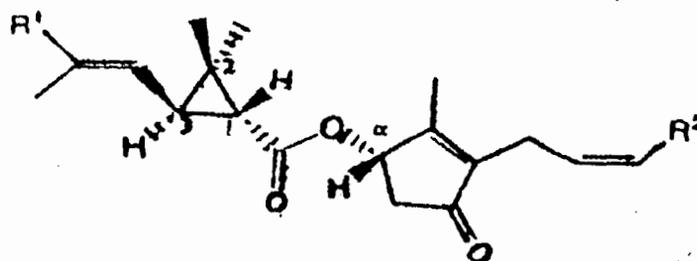
Las flores de Kenya contienen un promedio de 1.3 % de piretrinas (máximo 3 % en razas seleccionadas) mientras que las flores japonesas muestran un promedio de 1.0 % y las flores dalmatas 0.7 % (Metcalf y Flint, 1965; Gunther y Jeppson, 1962).

Eagleson (*vide* Cremllyn 1982), descubrió que formulando el piretro en aceite de sésamo, aumentaba la efectividad insecticida, aunque el aceite por sí mismo no tenía acción insecticida..

2.3.4.- Componentes activos de la piretrina.

Los 6 ingredientes activos son conocidos, en conjunto como piretrinas, las que están basadas en ácido crisantémico son llamadas piretrinas I, y aquellas basadas en ácido pirétrico son llamadas piretrinas II (Ray, 1991).

Un total de 6 ésteres activos relacionados (piretrinas) han sido aislados del extracto de pelitre. Sus estructuras se muestran en la (Figura 6). Son ésteres formados de 2 ácidos carboxílicos, ácido crisantémico ($R^1 = CH_3$ -) y ácido pirétrico ($R^1 = CH_3O_2C$ -), con 3 alcoholes (rethrolones), piretrolona, cinerolona, y jasmolona. Los ésteres difieren únicamente en las sustituciones terminales en el lado de las cadenas del ácido y alcohol diluido. El extracto de piretrinas contiene generalmente cantidades iguales de ácido crisantémico y ésteres ácidos pirétricos, con piretrina I (1) y piretrina (2) presentándose un 65 - 70 % de ésteres en la mezcla. La estequiometría total en el anillo de ciclopropano de la porción ácida es 1R, 3 R y el α carbono de la posición del alcohol tiene la configuración (S). De cualquier forma, por conveniencia, la estequiometría del átomo sustituyente en el átomo de carbono C- 3 del anillo de ciclopropano de piretrinas es generalmente dado como cis ó trans relativo al grupo éster con respecto al plano del anillo de ciclopropano, Head, Elliot, Janes y Pulman (*vide* Henrick 1995). Esta nomenclatura es usada para evitar la confusión que puede surgir usando la designación R y S cuando el átomo sustituyente C- 3 es variado. Así, las piretrinas son designadas teniendo la (1R) - trans estequiometría en la mitad ácida (Henrick, 1995).



E; (1R)-trans; α S;Z'

pyrethrin I [1]	$R^1 = CH_3$	$R^2 = CH=CH_2$
jasmolin I	$R^1 = CH_3$	$R^2 = CH_2CH_3$
cincrin I	$R^1 = CH_3$	$R^2 = CH_3$
pyrethrin II [2]	$R^1 = CH_3O_2C$	$R^2 = CH=CH_2$
jasmolin II	$R^1 = CH_3O_2C$	$R^2 = CH_2CH_3$
cincrin II	$R^1 = CH_3O_2C$	$R^2 = CH_3$

Figura 6. Componentes activos del piretro.

Los componentes del piretro con actividad insecticida reconocida son seis ésteres, formados por la combinación de los ácidos crisantémico y pirétrico, y los alcoholes piretrolona, cinerolona, y jasmolona (Lagunes y Villanueva, 1994).

Contiene cuatro componentes insecticidas principales llamados piretrinas. Los ésteres de dos ciclopentenolonas (1) ($R^1 = CH \setminus CH^3$) y dos ácidos ciclopropanocarboxílicos ($R = CH_3$ ó $CO_2 CH_3$) (2).

Los alcoholes ($R' = -CH = CH_2$ y CH_3) se conocen como piretrolona y cinerolona, mientras que los ácidos carboxílicos ($R = CH_3$ y $CO_2 H$) son los ácidos crisantémicos y pirétrico. La piretrina I es la más activa de las piretrinas naturales. Los componentes ácidos son capaces de existir como isómeros cis y trans geométricos, debido a la presencia de una doble ligadura olefínica, y cada uno de estos isómeros puede existir, como isómeros ópticos dextrógivos (+) y levógivos (-). En forma similar, los alcoholes pueden hallarse en cuatro formas esteroisoméricas (Cremlyn, 1982).

Los tóxicos activos son cuatro ésteres: las piretrinas I y II, y cinerinas I y II. Estos se forman de los alcoholes piretrolón y cinerolón, y del ácido monocarboxílico del crisatemo y del éster momometil ácido bicarboxílico del crisatemo. Las cinerinas son más estables que las piretrinas, y la piretrina I y la cinerina I parecen ser algo más tóxicas que la piretrina II y la cinerina II. (National Academy of Sciences, 1978).

Se han aislado y purificado los compuestos activos del pelitre, siendo ésteres de un ácido derivado del ciclopropano (ácido crisantemúmico y análogos) con un alcohol derivado de la ciclopentenona (piretrolona y análogos). Se ha logrado la síntesis del ácido crisantemúmico y de la piretrolona y de análogos de ambos. Estos descubrimientos han abierto el camino a los piretroides sintéticos (Primo, 1991 a).

2.3.5.- Sinergistas o activadores de las piretrina.

Con este nombre se conocen a una gran cantidad de sustancias químicas, que generalmente no son tóxicas o sólo ligeramente tóxicas por sí mismas.

Una sustancia para que pueda ser denominada sinérgica es preciso que no posea actividad insecticida "per se", pero que, en cambio, aumente la eficacia de un producto insecticida (Barberá, 1974).

La adición de sinergistas a las preparaciones de piretro permite reducir sustancialmente la cantidad de componentes activos sin perder su capacidad

insecticida; así que, cuando una parte de piretro se mezcla con dos partes de butóxido de piperonilo, la mezcla resultante es tan activa que equivale a siete partes de piretro por sí solo (Cremlyn, 1982).

Las piretrinas tienen una rápida acción insecticida lo que se refuerza por la combinación con los sinergistas como el butóxido piperonilo, el sulfóxido, el n-propil isome, Mgk-264 [N-(2 etilexil) - 5- norbornene-2,3-bicarboxilimida] y otros sinergistas que contienen la mitad de bioxifenil metileno (National Academy o Sciencies, 1978).

Los sinergistas aparentemente estabilizan las piretrinas en cuanto a la acción de la luz y el aire, de tal manera que se obtiene una acción residual más prolongada (Metcalf y Flint, 1965).

2.3.6.- Estabilidad.

Una de las desventajas principales del piretro es su falta de persistencia, especialmente en su uso contra plagas en la agricultura, debido a su inestabilidad ante la presencia de la luz y del aire, (Muñoz, 1979; Cremlyn, 1982; y Henrick, 1995).

Las piretrinas, son tóxicos específicos de contacto de la totalidad de los insectos y venenos activísimos de los mismos, que la naturaleza produce en las flores de algunas plantas compuestas, no son productos estables ni persistentes (Blass, 1961).

Ray (1991), mencionó que las piretrinas son descompuestas mediante la exposición a la luz. También, son rápidamente oxidadas e inactivadas en su contacto con el aire. Los antioxidantes usados para proteger los residuos insecticidas de las piretrinas incluyen pequeñas concentraciones de pirocatecol, pirogalol e hidroquinona; el 1-beneno-azo-2- naftol es usado para protegerlo contra los efectos de la luz solar. Cuando las piretrinas se acercan al 100 % de pureza, su estabilidad disminuye, piretrinas I y II son menos estables que los otros compuestos.

A diferencia del DDT, el piretro no es persistente y no deja residuos tóxicos, que puede ser la razón por la cual este insecticida no tiende a desarrollar poblaciones de insectos resistentes (Martín y Worthing, 1974).

Las piretrinas tienen pequeños efectos residuales. En granos almacenados, el 50 % o más de las aplicaciones de piretrinas desaparecen durante los primeros

tres o cuatros meses de almacenaje. Al menos el 80 % de los residuos son removidos por el manejo, procesamiento y cocimiento.

Las piretrinas solo proporcionan una protección limitada a la cosecha por que no son estables. Las piretrinas, además de que son inactivadas y descompuestas por la exposición a la luz y al aire, también son descompuestas rápidamente por ácidos y álcalis moderados.

Como las piretrinas son purificadas, su estabilidad se disminuye así, piretrina - I y piretrina - II puros son las menos estables de las piretrinas (Hayes 1982). Las piretrinas purificadas son muy costosas y solo estan disponibles para uso de laboratorio.

2.3.7.- Modo de acción.

Las piretrinas afectan a los insectos por medio de una acción paralítica muy rápida, lo que las hace especialmente valiosas en las fórmulas caseras debido a su efecto rápido. El sistema nervioso del insecto es afectado y ocurren convulsiones violentas antes de la muerte, la cual puede llegar después de varios días de parálisis. La vacuolización y degeneración características del sistema nervioso central, son encontrados en los insectos que han muerto por envenenamiento con piretrinas. Es muy común la recuperación de los insectos expuestos a dosis subletales. Las piretrinas son absorbidas rápidamente a través de la cutícula del insecto o por conducto de los espiráculos (Metcalf y Flint, 1965).

Las piretrinas naturales son venenos de contacto que rápidamente penetran al sistema nervioso del insecto. Unos minutos después de la aplicación, el insecto no puede moverse o volar lejos. Pero, "una dosis demoledora" no significa una dosis letal. Las piretrinas naturales son rápidamente desintoxicadas por enzimas del insecto. Así, algunos insectos se recuperarán. Para retardar la acción de la enzima se agrega un sinergista a las piretrinas.

Muñoz (1979), menciona que las piretrinas en cuanto a su acción biológica, son muy tóxicas para los insectos produciendo en ellos una acción rápida de parálisis conocida como "efecto de derribo".

El piretro debe su importancia a la rápida acción de derribo (unos cuantos segundos) que tiene sobre insectos voladores (Martín y Wortling, 1974).

2.3.8.- Toxicidad a mamíferos.

Para el hombre y animales de sangre caliente es inofensivo por vía oral; pero por vía intravenosa es un enérgico veneno del sistema nervioso, produciendo la muerte por parálisis general. Todos los animales de sangre fría son intoxicados por las piretrinas (Blass, 1961).

Inhalando altos niveles de piretro se puede ocasionar respiración asmática, estornudo, sofocaciones nasales, dolor de cabeza, náuseas, incoordinación, temblores, sonrojo facial e hinchazón ardiente y sensaciones de picazón. La baja dosis oral letal de piretro es de 750 mg/kg para niños y 1,000 mg/kg para adultos. (Occupational Health Services, 1987).

Las piretrinas, los piretroides, y sus metabolitos no son acumulados en el cuerpo ni excretados en la leche. La orina y heces de la gente con dosis oral de piretro contienen el ácido crisantemumico y otros metabolitos (Elliot et al., 1972, y Hayes, 1982).

Hayes (1982) señaló que los compuestos padres son menos tóxicos a los mamíferos (Verttorazzi, 1979). La piretrina I y II son excretados inalteradamente en las heces (Elliot *et al.*, 1972). Otros componentes de piretro, experimentan una rápida destrucción y desintoxicación en el hígado y el tracto gastrointestinal.

El daño a los humanos por piretro, es resultado de las propiedades alergénicas del material más que su toxicidad directa. Aunque la alergia ha sido asociada con contactos de uso directo o terapéutico, es imposible excluir la posibilidad de daño asociado con otros tipos de exposición. Bajo condiciones prácticas, piretro y sus derivados son probablemente los menos tóxicos a los mamíferos que todos los insecticidas usados comúnmente (Ray, 1991).

Las piretrinas, aunque prácticamente no son tóxicos para los animales de sangre caliente cuando éstas son ingeridas, tiene un marcado efecto tóxico y el cordón espinal sería el principal sitio de acción (Duke y duCellier, 1993).

2.3.9.- Usos de la piretrina.

De acuerdo con Metcalf y Flint (1965), los campos principales de utilidad del piretro son:

- Como insecticidas caseros. Las piretrinas, debido a su rápida actividad paralizante o mortal y su baja toxicidad para los mamíferos, son los ingredientes más ampliamente usados en miles de insecticidas comerciales empleados para

combatir moscas, mosquitos, chinches de cama, hormigas, polillas de la ropa, pescaditos de plata y cucarachas.

- Como aspersiones para el ganado o las reses. Las piretrinas como aspersiones a base de aceite o agua, son particularmente efectivas en la protección de los animales contra las molestias ocasionadas por las moscas picadoras y no picadoras y tienen un efecto repelente considerable, especialmente cuando se usan sinergistas o diluyentes apropiados.

- Como aspersiones para los molinos, almacenes, y para el grano en almacén. Las piretrinas con sinergistas apropiados, son adecuadas especialmente debido a su baja toxicidad, para el combate de los insectos de los productos almacenados.

- Como polvo y aspersiones para hortalizas y frutales. Su baja toxicidad para los mamíferos hace a las piretrinas útiles para su aplicación a los cultivos de hortaliza, para combatir pulgones e insectos masticadores poco antes de la cosecha.

Las piretrinas son letales contra un amplio rango de especies de insectos, pero sus toxicidades relativas varían con la especie y las condiciones del tratamiento (Henrick, 1995).

Algunos polvos de "piretrinas", usados para el control de insecto en cultivos de hortalizas, son solo de 0.3 % a 0.5 % de concentración y son usados en índices de hasta 50 lb/A. Otros compuestos de piretrinas pueden ser usados en granos de almacén, en plumas de aves de corral y en perros y gatos para control de piojos y pulgas.

El piretro es usado para combatir plagas en alimentos almacenados, contra insectos caseros y de cultivos industriales, dirigido a larvas y adultos de lepidópteros y de otros insectos fitófagos, siempre y cuando parte de su ciclo biológico pueda estar expuesta a la acción de contacto del tóxico (Lagunes y Villanueva, 1994).

III.- MATERIALES Y METODOS.

3.1.- Localización del área experimental.

Se establecieron dos experimentos en localidades distintas:

1.- Uno en el Campo Agrícola Experimental de San José Casas Caídas, Municipio de La Barca, Jal. que se localiza en la región Centro del Estado, a los $20^{\circ} 16' 37''$ de latitud norte y a los $102^{\circ} 33'$ de longitud oeste del meridiano de Greenwich. Con una altitud de 1536 msnm.

2.- Otro en el Campo Agrícola Experimental de Ameca, Jal., que se localiza en el occidente Centro del Estado, en las coordenadas $20^{\circ} 25'00''$ y $20^{\circ} 42'00''$ de latitud norte y los $103^{\circ} 53' 15''$ y los $104^{\circ} 17' 30''$ de longitud oeste. Con una altitud de 1235 msnm.

3.2.- Aspectos agroclimáticos.

3.2.1.- La Barca, Jalisco.

- **Clima:** Está considerado como semi-seco y semi-calido.

- **Precipitación pluvial:** La precipitación media anual es de 863 mm. La lluvia máxima promedio en 24 horas es de 39.0 mm; sin embargo, se han presentado máximas de 71.6 mm y 70.0 mm en los meses de julio y agosto respectivamente.

3.2.2.- Ameca, Jalisco.

- **Clima:** Está considerado como semi-seco con invierno y primavera secos semi-cálido sin estación invernal definida.

- **Precipitación pluvial:** El régimen de lluvias, principalmente monzónico, registra un promedio de 819.7 mm de precipitación al año, siendo el verano su período más húmedo.

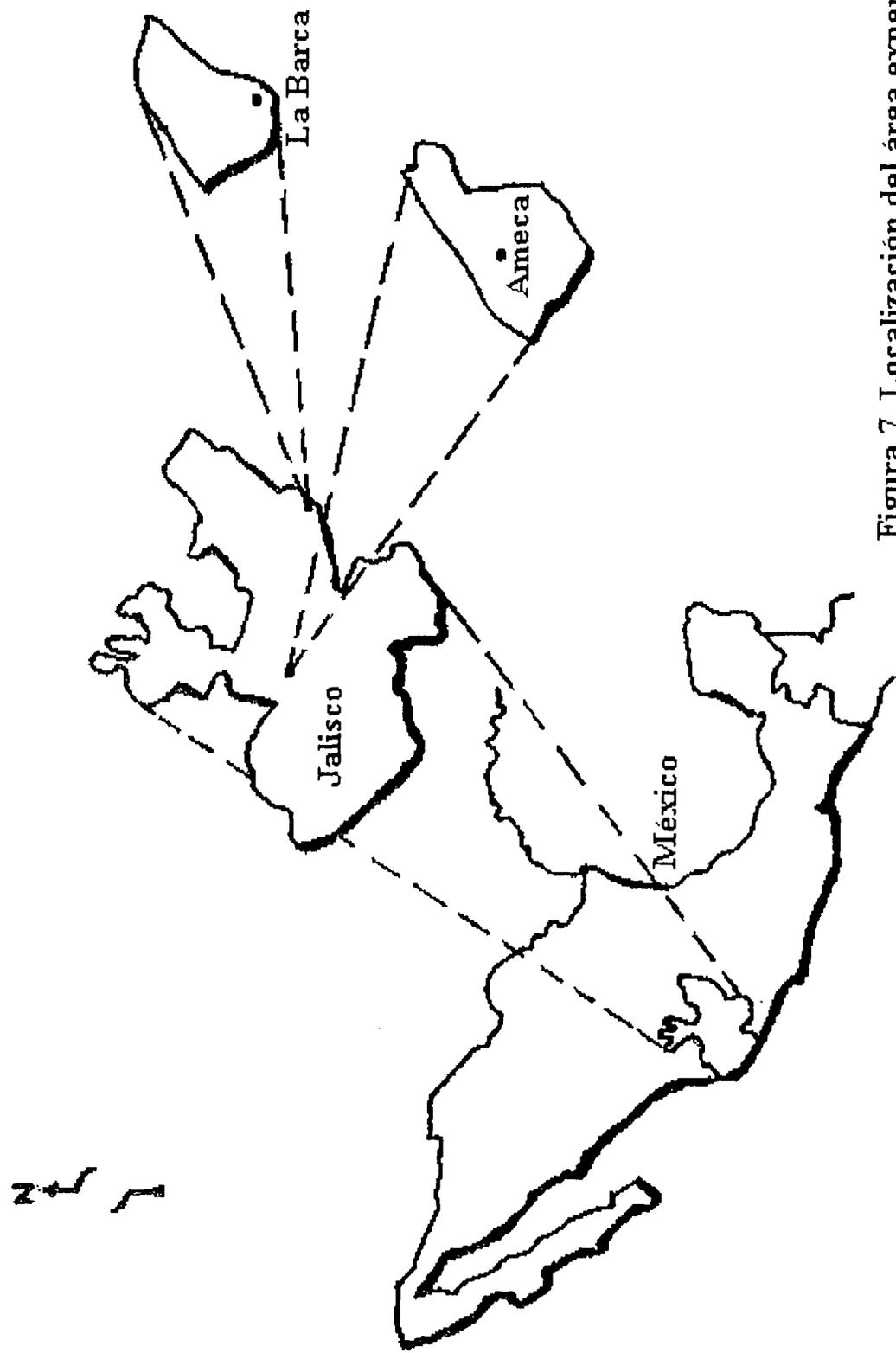


Figura 7. Localización del área experimental.

3.3.- Establecimiento de los ensayos.

El presente trabajo se realizó durante el ciclo Primavera-Verano de 1996, bajo condiciones de temporal.

Ambos experimentos se establecieron bajo un diseño de Bloques completos al azar con cuatro repeticiones y 8 tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos (Insecticidas botánico, microbial y químico) evaluados en los experimentos.

No. Trat.	PRODUCTO Y CONCENTRACION DE I. A.	DOSIS DE PRODUCTO FORMULADO POR HECTAREA
1	Piretrina 0.2% + (b.p.1.0% + t.d. 88.0%)	2.0 kg
2	Piretrina 0.2% + (b.p.1.0% + t.d. 88.0%)	2.5 kg
3	Piretrina 0.2% + (b.p.1.0% + t.d. 88.0%)	3.0 kg
4	<i>Metarhizium anisopliae</i>	1×10^{12} conidias
5	Piretrina 0.2% + (b.p.1.0% + t.d. 88.0%) + <i>Metarhizium anisopliae</i>	2.5 kg + 1×10^{12} conidias
6	Piretrina 0.2% + (b.p.1.0% + t.d. 88.0%) + Clorpirifos 480 gr/l	2.5 kg + 0.75 l
7	Clorpirifos 480 gr/l	0.75 l
8	Testigo	-----

b.p.= (butóxido piperonilo).
t.d.= (tierra diatomacea).

I.A.= Ingrediente activo.

Los tratamientos fueron aplicaciones foliares hacia al cultivo con una aspersora de mochila de palanca.

En la Barca, Jal., la parcela experimental estuvo conformada por 10 surcos de 10 m de longitud, de los cuales, los seis surcos centrales sirvieron para efectuar los muestreos.

En Ameca, Jal., la parcela experimental estuvo conformada por 6 surcos de 15 m lineales, de los cuales los cuatro centrales sirvieron para la toma de muestras.

3.3.1.- Experimento 1. La Barca, Jal.

Los muestreos consistieron en: 25 golpes de red por parcela, posteriormente los insectos colectados fueron transportados al laboratorio para su recuento. También, se consideraron conteos de plantas dañadas por larvas de *Spodoptera frugiperda* en 10 m lineales de surco.

Se realizó un muestreo previo a la aplicación de los tratamientos, el 21 de Julio; en este muestreo, las poblaciones insectiles presentes fueron bajas en general. Tres especies estaban presentes: *Spodoptera frugiperda*, *Colaspis chapalensis*, y *Diabrotica virgifera zea*.

Para determinar la efectividad en el control de las especies consideradas se programaron 3 muestreos: a los 3, 6 y 10 días después de la aplicación de los tratamientos; sin embargo, las condiciones climáticas prevalecientes, específicamente las lluvias, impidieron que se realizara el último de ellos y en algunos casos el muestreo se realizó 13 días después cuando las lluvias cesaron, por ello las evaluaciones se hicieron solamente con las poblaciones de los muestreos realizados a los 3 y 6 días, y para el caso de adultos de *Colaspis* a los 13 días.

3.3.2.- Experimento 2. Ameca, Jal.

Los muestreos consistieron en: 60 golpes de red por parcela, posteriormente los insectos colectados fueron transportados al laboratorio para su recuento. Paralelamente se diseccionaron tallos de 4 plantas por parcela y se efectuó un recuento de larvas de barrenador.

Este experimento se realizó en una siembra tardía que por lo general presentan mayores problemas de plagas. Sin embargo las poblaciones encontradas fueron bajas en general. Se realizó un muestreo el 31 de agosto previo a la aplicación de los tratamientos que fue el 1o. de Septiembre. Las especies presentes fueron: *Diatraea saccharalis* y *Diabrotica balteata*.

Para determinar la efectividad sobre *D. balteata*, se programaron 2 muestreos a los 3 y 6 días después de la aplicación. Para el caso de larvas de barrenador se realizaron 5 muestreos (el 7, 14, 21 y 28 de Septiembre y el 5 de Octubre). En este experimento se repitió la aplicación de tratamientos el 5 de Octubre y se realizaron 2 muestros adicionales, para verificar el efecto sobre los barrenadores del tallo.

3.4.- Análisis de datos.

Los datos originales de los muestreos seguían una distribución de Poisson, razón para transformarlos a $\sqrt{x+1}$, para que siguieran una distribución normal y estos fueron sometidos a los análisis de varianza respectivos, se realizó prueba de separación de medias de Tukey al nivel de significancia del 0.05% considerando solamente a los totales de los muestreos después de cada aplicación, debido a que los datos individuales de cada muestreo por fecha eran bajos.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1.- Experimento 1. La Barca, Jal.

4.1.1.- Efecto sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.

En general, las poblaciones de los tratamientos fueron más bajas que las del testigo sin aplicación, situación más evidente a los 3 días después de la aplicación (Gráfica 1). La presencia de una fuerte lluvia entre el primer y el segundo muestreo provocó que las poblaciones en todos los tratamientos disminuyeran considerablemente.

En los totales de los muestreos después de la aplicación se detectó un menor daño en el tratamiento con Clorpirifos 48 % con dosis de 0.75 l/ha y en los tratamientos con Piretrina+(b.p.+t.d.) con dosis de 2.0 y 2.5 kg/ha al encontrarse 3,5,5, plantas dañadas por larvas de cogollero, respectivamente (Cuadro 2).

Sin embargo, estadísticamente los tratamientos no mostraron diferencia significativa (N.S.) en el control de la especie (Apéndice 1).

Cuadro 2. Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre *Spodoptera frugiperda* en la localidad La Barca, Jal. 1996.

Trat. ^{1/}	Plantas dañadas por larvas ^{2/}			
	Antes	3 dda	6 dda	Totales dda
1	4	4	1	5 A
2	0	4	1	5 A
3	7	6	5	11 A
4	2	3	6	9 A
5	6	10	3	13 A
6	9	9	2	11 A
7	5	2	1	3 A
8	6	20	6	26 A

Tukey 0.05

C.V. = 50.76 %

^{1/} Insecticidas. Para ver dosis ir al Cuadro 1.

^{2/} Por muestra en 10 m lineales.

Las mezclas de Piretrina+(b.p.+t.d.) con *Metarhizium anisopliae* y Piretrina+(b.p.+t.d.) con Clorpirifos no presentaron el efecto esperado de aditividad o sinergismo sino que por el contrario, el efecto parece ser antagonista, al encontrarse 13 y 11 plantas dañadas por larvas de *S. frugiperda*, respectivamente sin embargo, antes de llegar a esta conclusión, mas estudios serán requeridos.

Los resultados indican posibilidades del hongo *Metarhizium anisopliae* y la Piretrina para poder competir con los insecticidas convencionales al ser estadísticamente iguales en todos los tratamientos para el uso en larvas de *Spodoptera frugiperda*.

4.1.2.- Efecto sobre adultos de *Colaspis chapalensis*.

Las poblaciones observadas en el lote experimental antes de la aplicación fueron muy variables y poco uniformes. Inexplicablemente todos los tratamientos incluyendo el testigo bajaron sus poblaciones considerablemente después de la aplicación de los tratamientos, tal vez debido a una disminución natural de la población a partir del inicio del experimento (Gráfica 2). Sin embargo, se puede rescatar el hecho de que en el muestreo realizado 13 días después de la aplicación todos los tratamientos con Piretrina+(b.p.+t.d.) redujeron las poblaciones de colaspis presentando 0 adultos, así también las mezclas de Piretrina+(b.p.+t.d.) con Clorpirifos, también tratamientos de Clorpirifos 0.75 l/ha y *Metarhizium anisopliae* 10^{12} conidias/ha con 0 adultos (Cuadro 3, columna 5).

No obstante, estadísticamente los tratamientos no mostraron diferencia significativa (N.S.) en el control de *Colaspis chapalensis* (Apéndice 3 y 4).

Sin embargo observando los totales, se detecta una menor población de adultos en tratamientos con *Metarhizium anisopliae* 10^{12} conidias/ha con 3 adultos en total, así como también se detecta la actividad sinérgica de mezcla de Clorpirifos 0.75 l/ha+Piretrina (b.p.+t.d.) 2.5 kg/ha. al presentarse 4 adultos (Cuadro 3, columna 6).

Cuadro 3. Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre las poblaciones de adultos de *Colaspis chapalensis* en la localidad La Barca, Jal. 1996.

Trat. ^{1/}	No. de adultos ^{2/}				
	Antes	3 dda	6 dda	13 dda	Total dda
1	9	8	4	0	12 A
2	4	2	7	0	9 A
3	15	5	4	0	9 A
4	11	3	0	0	3 A
5	22	3	3	1	7 A
6	14	0	4	0	4 A
7	10	4	2	0	6 A
8	9	1	5	4	10 A

Tukey 0.05

C.V. = 25.38 %

^{1/} Insecticidas. Para ver dosis ir al Cuadro 1.

^{2/} Por muestra 25 golpes de red/parcela.

4.1.3.- Efecto sobre adultos de *Diabrotica virgifera zea*.

Las poblaciones observadas de adultos de diabrotica en la parcela experimental antes de la aplicación eran bajas, situación que prevaleció hasta el primer muestreo 3 días después de la aplicación. A los 6 días después de la aplicación la población se incremento considerablemente en todos los tratamientos (Gráfica 3).

Estadísticamente los tratamientos no mostraron diferencia significativa (NS) en el control de esta especie (Apéndice 5).

Sin embargo, el tratamiento con *Metarhizium* presento una menor población de adultos en el total de los muestreos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre poblaciones de adultos de *Diabrotica virgifera zea* en la localidad La Barca, Jal. 1996.

Trat. ^{1/}	No. de adultos ^{2/}			
	Antes	3 dda	6 dda	Total dda
1	0	6	48	54 A
2	4	4	50	54 A
3	2	8	51	59 A
4	6	6	31	37 A
5	4	6	60	66 A
6	3	8	66	74 A
7	9	3	70	73 A
8	5	4	40	44 A

Tukey 0.05

C.V. = 33.41 %

^{1/} Insecticidas. Para ver dosis ir al Cuadro 1.

^{2/} Por muestra en 25 golpes de red/parcela.

4.2.- Experimento 2. Ameca, Jal.

4.2.1.- Efecto sobre larvas de *Diatraea saccharalis*.

En el cuadro 5 se presentan los resultados del efecto de los tratamientos sobre larvas de barrenador. En los análisis se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (Apendice 7). Destaca el tratamiento de *Metarhizium anisopliae* 10¹² conidias/ha con tan solo 4 larvas en total, esto tal vez debido a la prolongación de los muestreos, logrando con esto al mejor desarrollo del hongo (Apéndice 8).

Los tratamientos de Piretrina+(b.p.+t.d.) con dosis de 2.5 y 3.0 kg./ha, mezcla de Piretrina+(b.p.+t.d.) con *Metarhizium anisopliae* y mezcla de Piretrina+(b.p.+t.d.) con Clorpirifos y Clorpirifos solo, demuestra que en estos tratamientos la diferencia entre ellas no es significativa (Apéndice 8). Sin embargo, se ve una menor población de larvas en tratamientos con Clorpirifos 0.75 l/ha y Piretrina 2.5 kg/ha al presentarse 6,8 larvas respectivamente (Gráfica 4).

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre larvas de *Diatraea saccharalis* Lo. Aplicación en la localidad Ameca, Jal. 1996.

Trat. ^{1/}	No. de Larvas ^{2/}						Total dda
	Antes	7 Sept.	14 Sept.	21 Sept.	28 Sept.	5 Oct.	
1	0	4	8	4	2	3	21 B
2	0	1	0	5	2	0	8 AB
3	0	1	3	4	4	5	17 AB
4	0	0	0	0	2	2	4 A
5	0	1	3	2	3	0	9 AB
6	0	3	0	1	3	3	10 AB
7	0	0	0	2	1	3	6 AB
8	0	1	7	0	3	4	15 AB

Tukey 0.05

C.V. = 24.10 %

^{1/} Insecticidas. Para ver dosis ir al cuadro 1.

^{2/} Por muestra 4 plantas al azar/parcela.

Igualmente, esta plaga es muy importante económicamente en algunas gramíneas (Maíz y Caña de azúcar); los resultados indican buenas perspectivas de el uso del insecticida microbioal *Metarhizium anisopliae* para el control de larvas de barrenador por mostrar su micosidad para esta especie, ayudando con esto a reducir costos de producción, residualidad y toxicidad en mamíferos.

En la segunda aplicación, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 6) (Apéndice 9).

Observando la Gráfica 5 nos da una respectiva que tratamientos con mezcla de Clorpirifos 0.75 l/ha+Piretrina (b.p.+t.d.) 2.5 kg/ha, se observa que no presentan ninguna larva en los 2 muestreos dda.

Cuadro 6. Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre larvas de *Diatraea saccharalis* 2da. Aplicación en la localidad. Ameca, Jal. 1996.

Trat. ^{1/}	No. Larvas ^{2/}			
	Antes	12 Oct.	19 Oct.	Totales dda
1	3	5	0	5 A
2	0	3	0	3 A
3	5	2	3	5 A
4	2	2	1	3 A
5	0	0	5	5 A
6	3	0	0	0 A
7	3	2	2	4 A
8	4	3	2	5 A

Tukey 0.05

C.V. = 23.28 %

^{1/} Insecticida. Para ver dosis ir al Cuadro. 1

^{2/} Por muestreo 4 plantas al azar/parcela.

4.2.2.- Efecto sobre adultos de *Diabrotica balteata*.

Las poblaciones observadas en el lote experimental antes de la aplicación fueron poco variables. En general, se observa que en los muestreos después de aplicar los tratamientos con Piretrina se redujeron considerablemente las poblaciones de adultos de *Diabrotica balteata* (Gráfica 6).

No obstante, estadísticamente los tratamientos no muestran diferencia significativa entre tratamientos (NS) en el control de adultos de esta especie (Apéndice 11).

Observando la suma de los muestreos, que el tratamiento con la dosis más alta de Piretrina+(b.p.+t.d.) dosis de 3.0 kg/ha presentó una menor población de insectos con solamente 4 adultos de esta especie (Cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto de los tratamientos a base de insecticidas sobre adultos de *Diabrotica balteata* en la localidad Ameca, Jal. 1996.

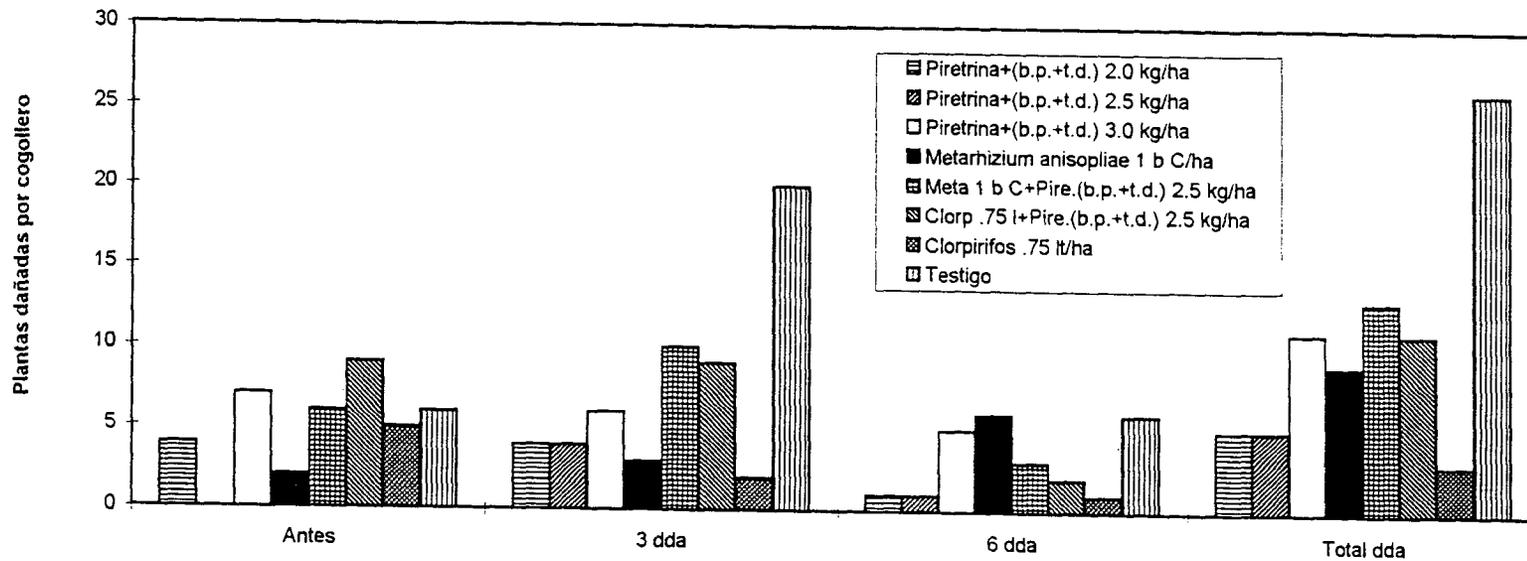
Trat. ^{1/}	No. de adultos ^{2/}			
	Antes	4 dda	7 dda	Total dda
1	7	2	5	7 A
2	5	5	5	10 A
3	9	2	2	4 A
4	6	5	2	7 A
5	7	8	4	12 A
6	7	3	9	12 A
7	6	3	14	17 A
8	6	11	4	15 A

Tukey 0.05

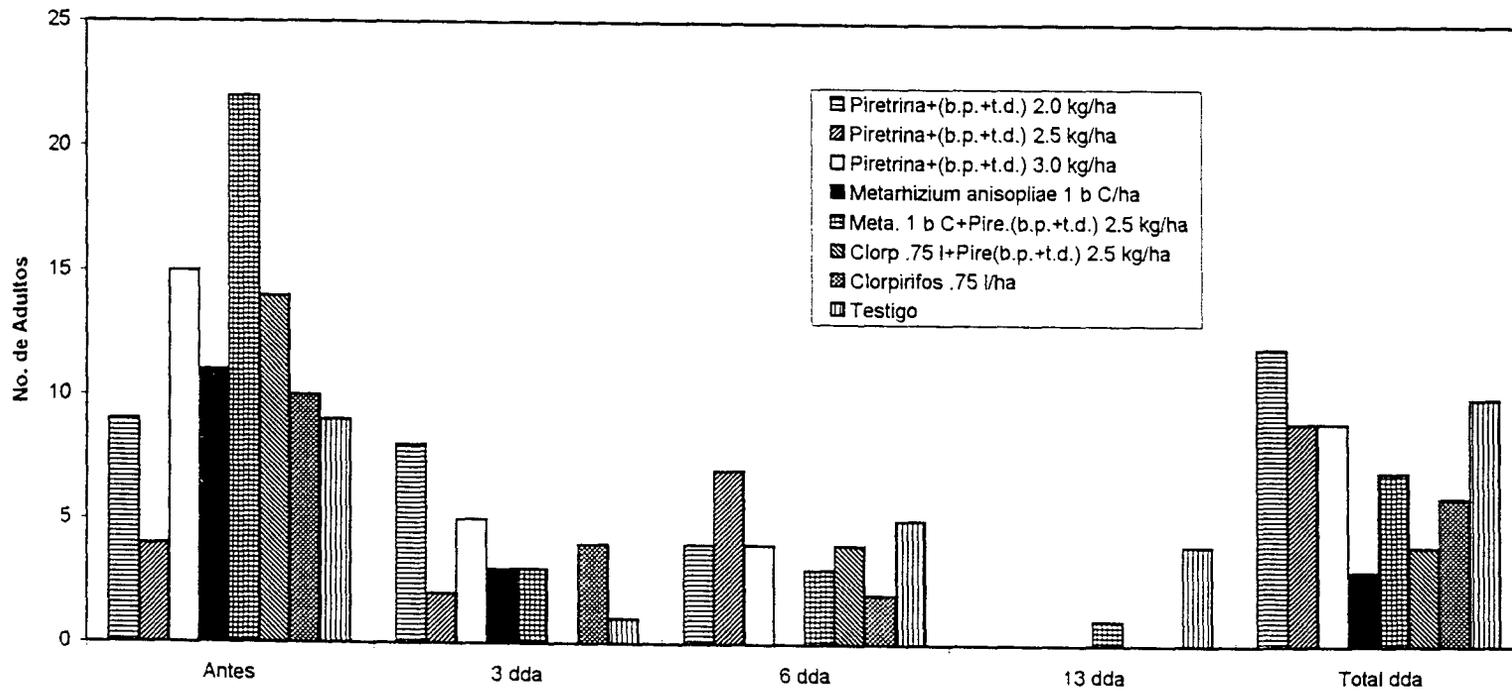
C.V. = 22.34 %

^{1/} Insecticidas. Para ver dosis ir al Cuadro 1.

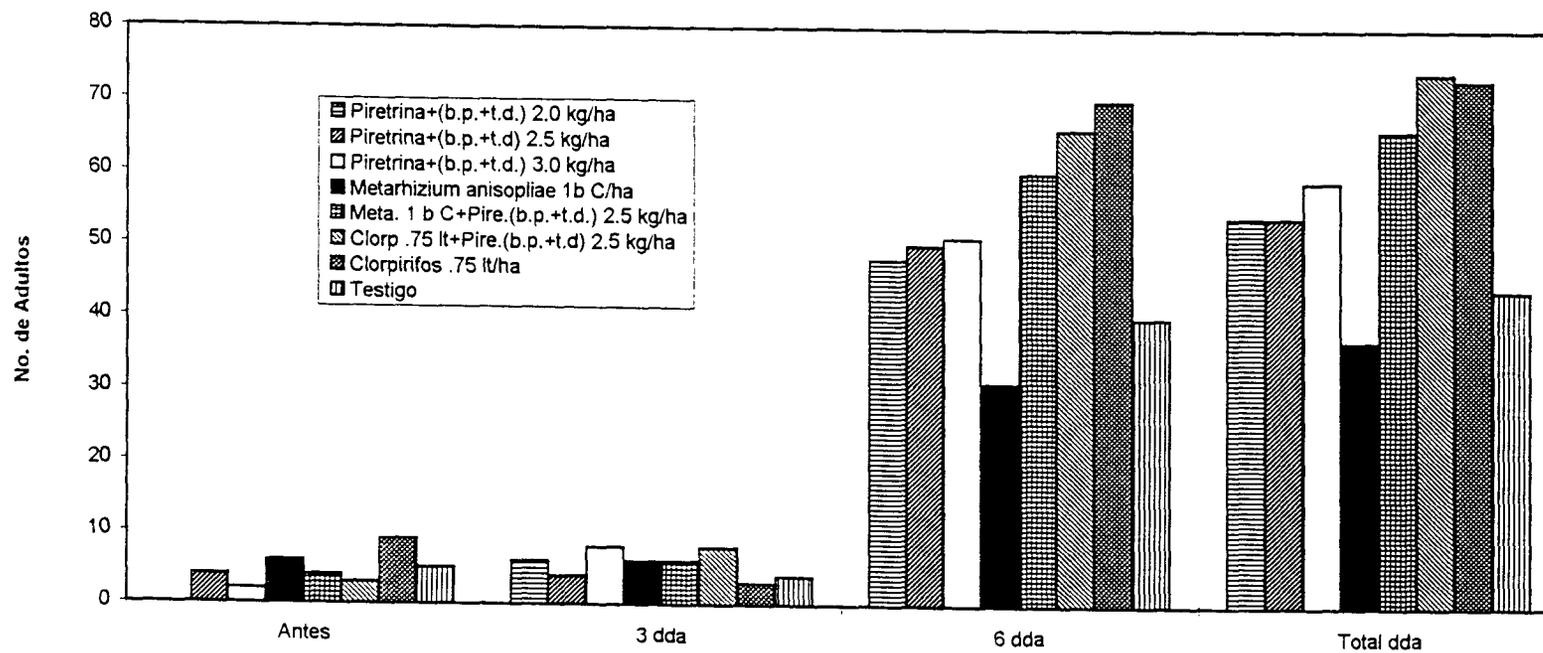
^{2/} Por muestra 60 golpes de red/parcela.



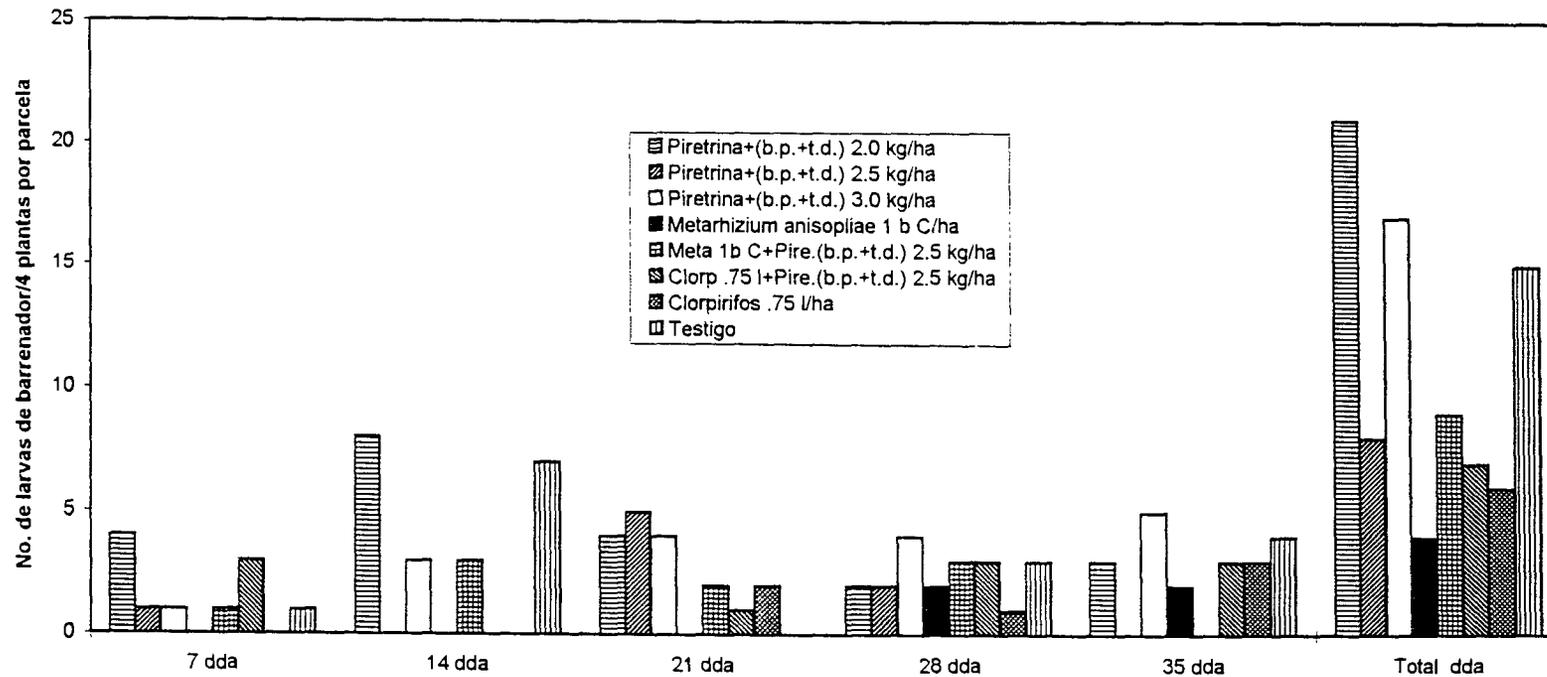
GRAFICA 1. PLANTAS DAÑADAS POR *Spodoptera frugiperda* ANTES Y DESPUES DE LA APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS. LA BARCA, JAL. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.



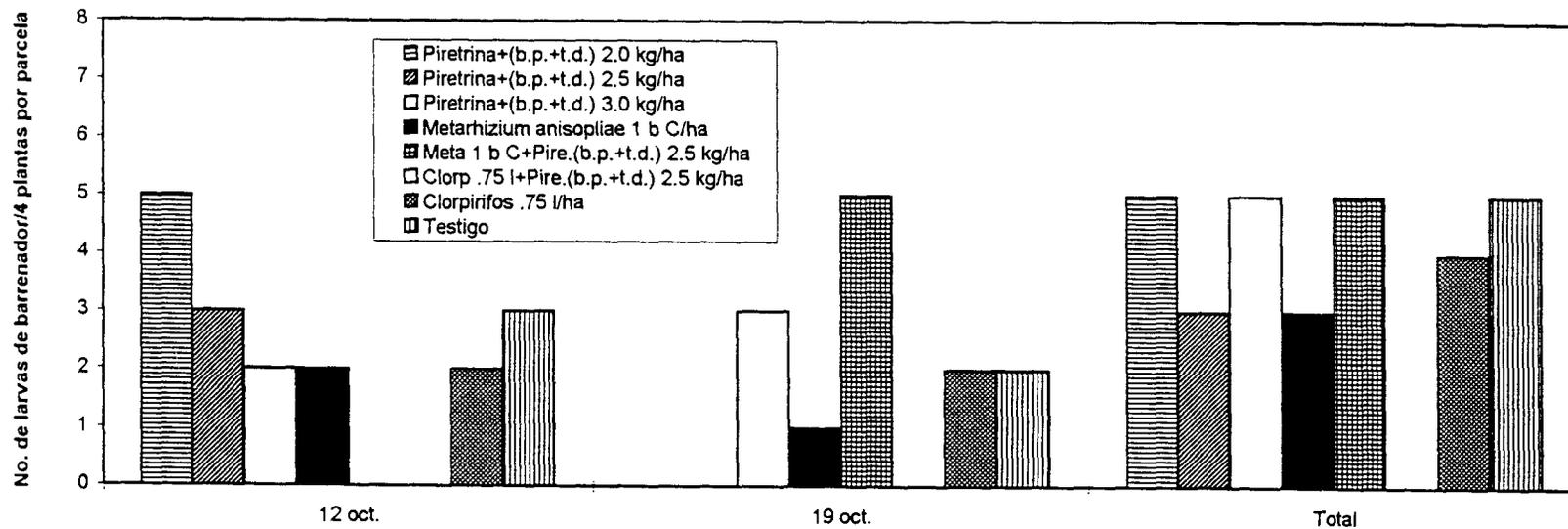
GRAFICA 2. ADULTOS DE *Colaspis chapalensis* ANTES Y DESPUES DE LA APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS. LA BARCA, JAL. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.



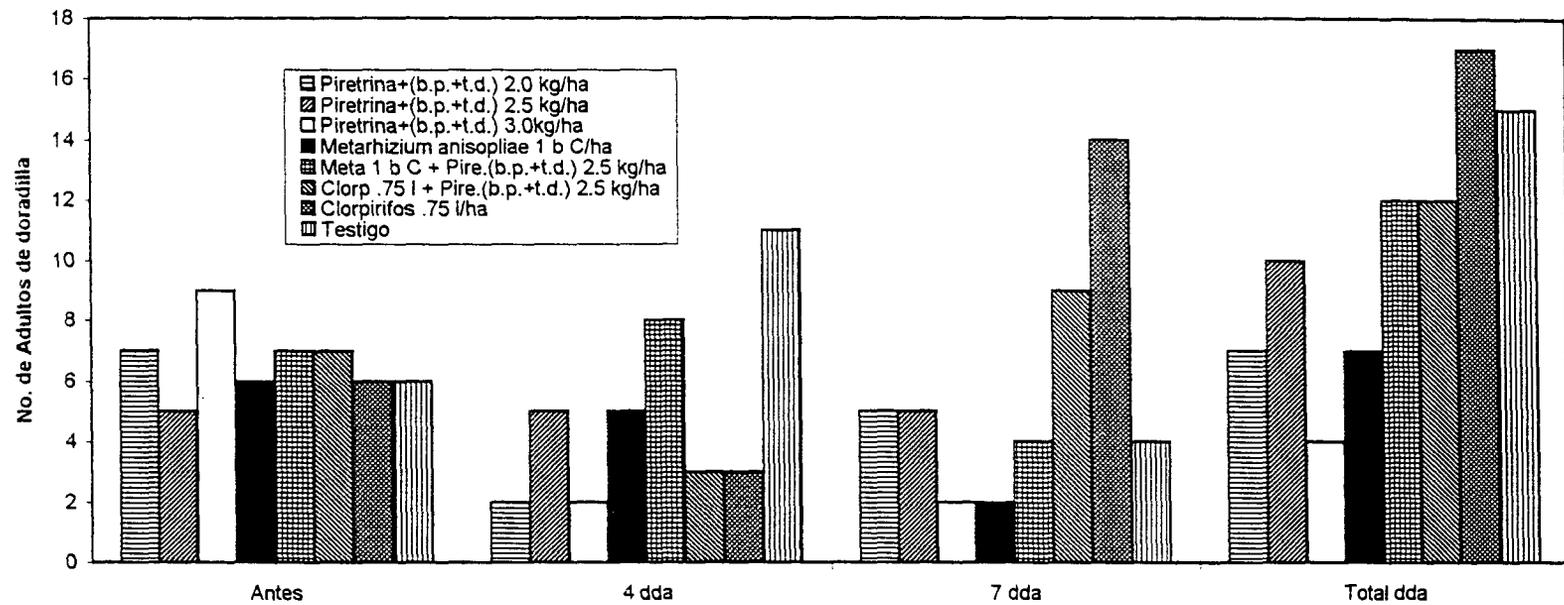
GRAFICA 3. ADULTOS DE *Diabrotica virgifera zea* ANTES Y DESPUES DE LA APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS. LA BARCA, JAL., CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996



GRAFICA 4. LARVAS DE *Diatraea saccharalis* DESPUES DE LA PRIMERA APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS. AMECA, JAL. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.



GRAFICA 5. LARVAS DE *Diatraea saccharalis* DESPUES DE LA SEGUNDA APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS. AMECA, JAL. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.



GRAFICA 6. ADULTOS DE *Diabrotica balteata* ANTES Y DESPUES DE LA APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS. AMECA, JAL. CIPV. DPTO. PROD. AGR. CUCBA. 1996.

V.- CONCLUSIONES.

1.- No habiendo diferencia significativa entre tratamientos en el control de larvas de *Spodoptera frugiperda*, se llegó a la conclusión de acuerdo al número total de los muestreos de plantas dañadas, que dosis de 2.0 kg/ha y 2.5 kg/ha de Piretrina+(b.p.+t.d.) fueron las que presentaron menor daño de plantas por larvas de *S. frugiperda*, así como el Clorpirifos. No hubo posibilidad de observar el efecto a mas largo plazo, dado el evento de lluvia presentado que bajo las poblaciones notoriamente en el experimento.

2.- La dosis de *Metarhizium anisopliae* 10^{12} conidias/ha resulto con menor cantidad de larvas de *Diatraea saccharalis*, siendo esto evidente en la primera aplicación.

3.- Las dosis de 3.0 kg/ha de Piretrinas+(b.p.+t.d.) fué la que presento menor población de adultos de *Diabrotica balteata*.

4.- Los resultados obtenidos sobre adultos de *Diabrotica virgifera zea* no fueron consistentes para ninguno de los tratamientos por lo que requiere una nueva evaluación.

5.- El tratamiento *Metarhizium anisopliae* 10^{12} conidias/ha resulto con una menor población en adultos de *Colaspis chapalensis*, sin embargo para llegar a una conclusión concreta en esta especie, se necesitaría una nueva evaluación.

6.- La mezcla de Piretrina+(b.p.+t.d.) 2.5 kg/ha con *Metarhizium anisopliae* 10^{12} conidias/ha presentaron una reducción razonable de poblaciones de larvas de *Diatraea saccharalis*.

7.- Los resultados indican que *Metarhizium anisopliae* y Piretrina son tan competitivos como los insecticidas convencionales.

VI.- LITERATURA CITADA

Addor, R.W. 1995. Insectecides. VI Cyclodepsipeptides. En: Agrochemicals from Natural Products. Edited by C.R.A. Godfrey. Printed in the United States of America. pp. 28-29.

Barberá, Claudio. 1974. Otros Insecticidas y medios de lucha. Piretroides. En Pesticidas Agrícolas. Ed. Omega S. A. Barcelona, España. pp. 239-242.

Barcenas Ortega, Nina Malena. 1995. La ingeniería genética en el control biológico. En Memoria: VI Curso Nacional de Control Biológico. 6-8 Nov. SMCB. Tapachula, Chiapas. p.195.

Blass, L. 1961. Insecticidas Orgánicos (Serie ciclánica). Piretrinas. En Química de los Insecticidas. pp. 139-142.

Berlanga Padilla, Angélica M. 1994. Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos. En Memoria: Taller de producción masiva de hongos entomopatógenos. 21-23 Sept. CNRCB. p. 18.

Cremlyn, R. 1982. Insecticidas botánicos. Plaguicidas Modernos y su acción bioquímica. Ed. Limusa. Impreso en México. pp. 67-74.

De la Rosa Reyes, William. 1995. Hongos entomopatógenos. En: Memoria VI Curso Nacional de Control Biológico. SMCB. 6-8 Nov. ECOSUR. Tapachula, Chiapas. pp. 100-107.

_____ ; Godínez A. J. L; Alatorre R. y Barrera G. J. F. 1995 a. Agresividad de cinco cepas del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) En Memoria: XVIII Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. 9-10 Nov. Tapachula, Chiapas. pp. 81-82.

_____ ; Godínez A. J. L. y Alatorre R. R. 1995 b. Efecto del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, sobre el parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* BETREM (HYMENOPTERA: BETHYLIDAE) Enemigo Natural de la Broca del café. En Memoria: XVIII Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. 9-10 Nov. Tapachula, Chiapas. pp. 181-182.

Duke, James A. y duCellier, Judith L. 1993. Handbook of Alternative cash crops. CRC. Printed in the United States of America. pp. 116-118.

Ecobichon, Donald J. 1991. Toxic Effects of Pesticides. In Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, Third Edition. Curtis D. Klaasen, Mary O. Amdur, and John Doull editors. Macmillan Publishing Company, NY.

Elliot, M; Janes, N.F. Kimmel, E.C.; and Casida J.E. 1972. Metabolic Fate of Pyrethrin I, Pyrethrin II, and Allethrin Administered Orally to Rats. J. Agr. Food Chem. 20: 300-312.

Faull, Jane Louise y Powell, Keith A. 1995. Biological Control Agents. En Agrochemicals from Natural Products. Edited by C.R.A Godfrey. Printed in the United States of America. pp. 383-384.

Felix Fregoso, Eleno y Reyes Rueda, Jaime. 1990. Plagas Rizofagas de Cultivos básicos en Jalisco. SARH. CREDIF. pp. 4-6.

Garza González, Enrique. 1996. Reseña histórica del Control biológico y programas que se desarrollan en México. En Memoria: II Curso de Actualización en Control Biológico. 28-29 Marzo. CNRCB. Tecomán, Col. pp. 10-11.

_____ y Medellín R. M. A. 1991. Sensibilidad in vitro de larvas de Mosca Mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) a tres cepas de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor.; dos aislamientos de *Paecilomyces farinosus* (holm en S. F. Gray) Brown y Smith y de *Paecilomyces javanicus* (Friederichs y Bally) Brown y Smith y tres cepas de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. En Memoria: XIV Congreso Nacional de Control Biológico. 10-11 Oct. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. pp. 286-290.

Gottwald de Alcocer, Carlota. 1981. Manejo de Hongos Entomopatógenos en México. Memoria: IX Reunión Nacional de Control Biológico. 27-30 Abril. Oax. Oax. pp. 64-73.

Gunther, F.A y Jeppson, L.R. 1962. Compuestos Botánicos. Insecticidas Modernos y la producción mundial de alimentos. Ed. CECSA. 1^{ra} Ed. en Español. México. p. 210.

Hartley, G. S y West, T. F; 1969. Chemicals for Pest Control, Pergamon Press, Oxford. p. 26.

Hayes, Jr; W. J. 1982. Pesticides Studied in Man. Williams & Wilkins. pp. 75-81.

Henrick, Clive A. 1995. 2 Pyrethroids. Agrochemicals from Natural Products. Edited by C.R.A. Godfrey. Printed in the United States of América. pp. 63-68.

Hernández Velázquez, Victor M. 1994. Formulación y control de calidad. En: Memoria Taller de producción masiva de hongos entomopatógenos. 21-23 Sept. CNRCB. SMCB. Tecomán, Col. Pp. 26-27.

_____ y Berlanga Padilla Angélica. 1996. Control Microbiano con hongos entomopatógenos. En Memoria: II Curso de Actualización en control biológico. 28-29 Marzo. CNRCB. Tecomán, Col. pp. 96-100.

King C., W. H y Salazar, G. L. 1995. Inhibidores de síntesis de quitina y hongos entomopatógenos en el control de *Spodoptera frugiperda* en sorgo. En Memoria: XVIII Congreso Nacional de Control Biológico. 9-10 Nov. SMCB. Tapachula, Chiapas. p. 89.

Lagunes Tejeda, Angel y Villanueva Jiménez J. Antonio. 1994. Piretroides. Toxicología y Manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Impreso en México. pp. 115-118.

Lezama Gutiérrez, Roberto. 1994. Epizootiología por hongos entomopatógenos. En Memoria: Taller de producción masiva de hongos entomopatógenos. 21-23 Sept. SMCB. CNRCB. Tecomán, Col. pp. 10-11.

Lezama Gutiérrez R. y Mellín Rosas M. A. 1991. Efectividad de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil y *Verticillium lecanii* (Aimm.) Viegas, (Deuteromycete: Hyphomycete) en el control del Gusano del melón *Diaphania byalinata* (L). (Lepidoptera: Pyralidae) en laboratorio. En Memoria: XIV Congreso Nacional de Control Biológico. 10-11 Oct. SMCB. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. pp. 261-267.

Martín, H. y Worthing, C.R; 1974. Pesticide Manual. 4a. ed; British Crop Protection Council.

Metcalf, C. L. y Flint W. P. 1965. Combate de Insectos. En: Insectos Destructivos e Insectos Útiles sus costumbres y su control. Ed. CECSA. México. 1a. Ed. en Español. pp. 375-379.

Morgan, Donald P. 1989. Insecticides of Biological Origin. Pesticides Poisonings Handbook. Recognition and Management of Pesticide Poisonings. Fourth Edition. Government Institutes, Inc. Printed and bound in the U.S.A. pp. 25-27.

Muñoz, Ricardo. 1979. Algunos nuevos insecticidas agrícolas en México. En: Memoria VIII Simposio Nacional de Parasitología. 7-10 Nov. Guad. Jal. México. p. 210.

National Academy of Sciences. 1978. Insecticidas. Insecticidas Orgánicos. En Manejo y Control de plagas de Insectos. Ed. Limusa. Vol. 3. Impreso en México. pp. 383-384.

Occupational Health Services, Inc. 1987. "Pyrethrum". Material Safety Data Sheet. 1 Abril. New York: OHS, Inc.

Ortega C., Alejandro. 1987. Insectos nocivos del maíz: una guía para su identificación en el campo. México, D. F. : CIMMYT. pp. 10,29,30,55 y 56.

Osorio Bautista, J. Guadalupe y Lezama Gutiérrez, Roberto. 1991. Actividad patogénica de *Metarhizium anisopliae* en adultos de Mayate prieto del cocotero *Rhinchophorus palmarum* L. en laboratorio. En Memoria: XIV Congreso Nacional de Control Biológico. 10-11 Oct. SMCB. Buenavista, Saltillo, Coahuila. pp. 254-259.

Primo Yufera, Eduardo 1991 a. La investigación de nuevos métodos de lucha. En Ecología Química Nuevos métodos de lucha contra insectos. Ed. Mundi-prensa. Impreso en México. pp. 29-30.

_____. 1991 b. El uso de microorganismos para la lucha contra insectos nocivos. En Ecología Química Nuevos métodos de lucha contra insectos. Ed. Mundi-prensa. Impreso en México. Pp. 185-187.

Ray, David E. 1991. Pesticides Derived from Plants and Other Organisms. En: Handbook of Pesticide Toxicology. (Editor Hayes Wayland y Laws Edward R.) Classes of pesticides. Academic Press. 2: 586-593.

Rodríguez del Bosque, Luis A. 1978. Clave de Campo para identificación de plagas del maíz y su combate. Norte de Tamaulipas. CIAGON 6/78. INIA. Río Bravo Tamaulipas.

_____. 1993. Glosario de control biológico. En: Memoria: IV Curso Nacional de Control Biológico. 4-6 Oct. SMCB. UANL. p. 189.

Sánchez Peña, Sergio R. 1993. Biología y aplicación de hongos entomopatógenos. En Memoria: IV Curso Nacional de Control Biológico. 4-6 Oct. SMCB. UANL. Pp. 146-151.

Steinhaus, Edward A. 1968. Cap.18. Enfermedades Microbianas de los Insectos. En el libro de Control biológico de las plagas de Insectos y Malas Hierbas. Por de Bach Paul. Ed. CECSA. Impreso en México. pp. 613, 617.

Stuart, Malcolm. 1981. Enciclopedia de Hierbas y Herboristería. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. pp. 172-173.

Simental S., Carlos. 1985. Biorracionales o Ecorracionales. Piretrinas. En Agroquímicos I Insecticidas y Acaricidas. Ed. Universidad de Guadalajara. Impreso en México. p. 126.

Tanada, Y. 1968. Epizootiología de las Enfermedades de Insectos. En Control Biológico de las plagas de insectos y Malas hierbas. Por De bach Paul. Ed. CECSA. Impreso en México. pp. 648-671.

Verttorazzi, G. 1979. International Regulatory Aspects for Pesticide Chemicals. CRC Press. pp. 89-90.

Apéndice 1. Tabla de datos concentrados de 2 muestreos de plantas dañadas por larvas de *Spodoptera frugiperda*. Transformados a $\sqrt{x+1}$. La Barca, Jal. 1996.

Tratamiento	B L O Q U E S			
	1	2	3	4
1	1.7320	1.4142	1.0000	1.7320
2	2.0000	1.7320	1.0000	1.0000
3	1.0000	3.1622	1.0000	1.7320
4	3.1622	1.0000	1.0000	1.0000
5	2.0000	2.4494	2.4494	1.0000
6	1.7320	1.0000	2.4494	2.2360
7	1.4142	1.0000	1.7320	1.0000
8	1.0000	4.4721	2.0000	2.2360

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	7	3.790710	0.541530	0.7158	0.661
Bloques	3	1.346375	0.448792	0.5932	0.630
Error	21	15.886459	1.756498		
Total	31	21.023544			

C.V. = 50.76 %

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
1	1.469550
2	1.433000
3	1.723550
4	1.540550
5	1.974700
6	1.854350
7	1.286550
8	2.427025

Apéndice 2. Comparación de medias para medir la efectividad de los insecticidas sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*. La Barca, Jal. 1996.

TABLAS DE MEDIAS

Tratamiento	Media
8	2.4270 A
5	1.9747 A
6	1.8543 A
3	1.7235 A
4	1.5405 A
1	1.4696 A
2	1.4330 A
7	1.2866 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA= 0.05

TUKEY = 2.0646

VALORES DE TABLAS:

$q(0.05) = 4.75$

$q(0.01) = 5.80$

Apéndice 3. Tabla de datos concentrados de 3 muestreos del número de adultos de *Colaspis chapalensis* transformados a $\sqrt{x+1}$. Ameca, Jal. 1996.

Tratamientos	BLOQUES			
	1	2	3	4
1	1.4142	2.0000	2.0000	2.4494
2	2.2360	1.7320	1.4142	1.7320
3	1.4142	2.2360	1.7320	1.7320
4	1.7320	1.0000	1.4142	1.0000
5	2.4494	1.0000	1.4142	1.4142
6	2.0000	1.4142	1.0000	1.0000
7	1.7320	1.4142	1.4142	1.7320
8	2.4494	1.0000	1.7320	2.0000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	7	1.540512	0.220073	1.2738	0.310
Bloques	3	1.009483	0.336494	1.9476	0.152
Error	21	3.628242	0.172773		
Total	31	6.178238			

C. V. = 25.38 %

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
1	1.965900
2	1.778550
3	1.778550
4	1.286550
5	1.569450
6	1.353550
7	1.573100
8	1.795350

Apéndice 4. Comparación de medias para medir la efectividad de los insecticidas sobre adultos de *Colaspis chapalensis*. La Barca, Jal. 1996.

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
1	1.9659 A
8	1.7953 A
3	1.7786 A
2	1.7786 A
7	1.5731 A
5	1.5995 A
6	1.3535 A
4	1.2866 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA= 0.05

TUKEY = 0.9867

VALORES DE TABLAS:

$q(0.05) = 4.75$

$q(0.01) = 5.80$

Apéndice 5. Tabla de datos concentrados de 2 muestreos del número de adultos de *Diabrotica virgifera zea* transformados a $\sqrt{x+1}$. La Barca, Jal. 1996.

Tratamiento	BLOQUES			
	1	2	3	4
1	4.2426	3.3166	5.0000	2.0000
2	5.7445	2.0000	3.0000	3.4641
3	4.0000	2.8284	5.6568	2.6457
4	2.6457	2.2360	4.1231	3.4641
5	3.8729	4.2426	4.3588	4.2426
6	5.6568	3.0000	2.0000	5.7445
7	3.3166	4.3588	4.1231	5.4772
8	2.0000	3.4641	3.6055	4.3588

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	7	4.949890	0.707127	0.4490	0.860
Bloques	3	3.543884	1.181295	0.7501	0.537
Error	21	33.071777	1.574847		
Total	31	41.565552			

C.V.= 33.41 %

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
1	3.639800
2	3.552150
3	3.782725
4	3.117225
5	4.179225
6	4.100325
7	4.318925
8	3.357100

Apéndice 6. Comparación de medias para medir la efectividad de los insecticidas sobre adultos de *Diabrotica virgifera zea*. La Barca, 1996.

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
7	4.3189 A
5	4.1792 A
6	4.1003 A
3	3.7827 A
1	3.6398 A
2	3.5522 A
8	3.3571 A
4	3.1172 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA= 0.05

TUKEY= 2.9789

VALORES DE TABLAS:

$q(0.05)= 4.75$

$q(0.01)= 5.80$

Apéndice 7. Tabla de datos concentrados de 5 muestreos del número de larvas de *Diatraea saccharalis* transformados a $\sqrt{x+1}$. Primera aplicación. Ameca, Jal. 1996.

BLOQUES				
Tratamiento	1	2	3	4
1	2.2360	2.0000	2.6457	3.0000
2	1.7320	1.4142	2.2360	1.4142
3	2.4494	2.4494	2.4494	1.7320
4	1.4142	1.0000	1.4142	1.7320
5	1.7320	2.2360	1.7320	1.4142
6	1.7320	1.7320	1.7320	2.2360
7	1.4142	2.2360	1.4142	1.0000
8	3.0000	2.2360	1.4142	1.7320

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	7	3.851830	0.550261	2.6677	0.038
Bloques	3	0.140053	0.046684	0.2263	0.877
Error	21	4.331688	0.206271		
Total	31	8.323570			

C. V. = 24.10 %

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
1	2.470425
2	1.699100
3	2.270050
4	1.390100
5	1.778550
6	1.858000
7	1.516100
8	2.095550

Apéndice 8. Comparación de medias para medir la efectividad de los insecticidas sobre larvas de *Diatraea saccharalis*. Primera aplicación. Ameca, Jal. 1996.

TABLAS DE MEDIAS

Tratamiento	Media
1	2.4704 B
3	2.2701 AB
8	2.0956 AB
6	1.8580 AB
5	1.7785 AB
2	1.6991 AB
7	1.5161 AB
4	1.3901 A

NIVEL DE SIGNIFICANICA = 0.05

TUKEY = 1.0781

VALORES DE TABLAS:

$q(0.05) = 4.75$

$q(0.01) = 5.80$

Apéndice 9. Tabla de datos concentrados de 2 muestreos del número de larvas de *Diatraea saccharalis* transformados a $\sqrt{x+1}$. Segunda aplicación. Ameca, Jal. 1996.

Tratamientos	BLOQUES			
	1	2	3	4
1	1.0000	1.0000	2.2360	1.4142
2	1.4142	1.0000	1.4142	1.4142
3	1.4142	1.4142	2.0000	1.0000
4	1.0000	1.7320	1.4142	1.0000
5	1.0000	1.7320	1.7320	1.4142
6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
7	1.0000	1.7320	1.7320	1.0000
8	1.0000	2.0000	1.4142	1.4142

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	7	0.677090	0.096727	0.9520	0.510
Bloques	3	1.304356	0.434785	4.2794	0.016
Error	21	2.133587	0.101599		
Total	31	4.115032			

C. V. = 23.70 %

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
1	1.412550
2	1.310650
3	1.457100
4	1.286550
5	1.469550
6	1.000000
7	1.366000
8	1.457100

Apéndice 10. Comparación de medias para medir la efectividad de los insecticidas sobre larvas de *Diatraea saccharalis*. Segunda aplicación. Ameca, Jal. 1996.

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
5	1.4696 A
3	1.4571 A
8	1.4571 A
1	1.4125 A
7	1.3660 A
2	1.3106 A
4	1.2866 A
6	1.0000 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA= 0.05

TUKEY = 0.7566

VALORES DE TABLAS:

$q(0.05) = 4.75$

$q(0.01) = 5.80$

Apéndice 11. Tabla de datos concentrados de 2 muestreos del número de adultos de *Diabrotica balteata* transformados a $\sqrt{x+1}$. Ameca, Jal. 1996.

Tratamientos	BLOQUES			
	1	2	3	4
1	1.4142	1.4142	2.2360	1.4142
2	2.0000	1.4142	2.0000	2.0000
3	1.0000	1.4142	1.4142	1.7320
4	1.7320	1.4142	2.0000	1.4142
5	2.2360	1.7320	1.7320	2.2360
6	2.0000	2.0000	2.4494	1.4142
7	1.7320	2.2360	1.7320	3.1622
8	2.4494	1.7320	2.6457	1.7320

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	7	2.230469	0.318638	1.8639	0.127
Bloques	3	0.527199	0.175733	1.0280	0.402
Error	21	3.590042	0.170954		
Total	31	6.347710			

C.V. = 22.34 %

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
1	1.619650
2	1.853550
3	1.390100
4	1.640100
5	1.984000
6	1.965900
7	2.215550
8	2.139775

Apéndice 12. Comparación de medias para medir la efectividad de los insecticidas sobre adultos de *Diabrotica balteata*. Ameca, Jal. 1996.

TABLA DE MEDIAS

Tratamiento	Media
7	2.2155 A
8	2.1398 A
5	1.9840 A
6	1.9659 A
2	1.8535 A
4	1.6401 A
1	1.6197 A
3	1.3901 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

TUKEY= 0.9815

VALORES DE TABLAS:

$q(0.05) = 4.75$

$q(0.01) = 5.80$