

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



DETERMINACION DE PARASITISMO
EN LARVAS DE

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith)

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

PRESENTA
CUAUHTEMOC NUÑEZ RAMOS

MONTERREY, N. L.

SEPTIEMBRE DE 1980

T

SB945

.W6

N6

C.1




1080062618

15/10/80

Ramón:

te agradezco en lo particular al valioso apoyo que me brindas, espero más aún de tu amistad


Conchita Reyes Ramon

905

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



DETERMINACION DE PARASITISMO
EN LARVAS DE

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith)

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

PRESENTA
CUAUHTEMOC NUÑEZ RAMOS

MONTERREY, N. L.

SEPTIEMBRE DE 1980

T
SB945

W4
NS

04062
FAE
1980



Biblioteca Central
Magna Solidaridad



UANL
FONDO
TESIS LICENCIATURA

F. tesis

" Mientras nosotros tenemos la obligación de controlar, de la mejor manera posible brotes de insectos dañinos de todas las clases, sin embargo, el tiempo ha venido, al menos para controlar algunos de ellos, debemos de fijar lineamientos hacia la prevención más que hacia el control . . . Para lograr esta . . . profilaxis, nosotros necesitamos trabajar con la naturaleza, no contra ella y necesitamos razonar debidamente las causas que han originado los cambios en el medio ambiente, que han hecho posible que se presenten estos brotes. Nosotros -- hemos cambiado el medio ambiente una vez; tenemos los medios para cambiarlo de nuevo; y debemos ahora, hacer planes a largo plazo para realizar esto. Tal objetivo inspirador puede ser difícil de obtener, pero se encuentra bien comprendido dentro del campo de la moderna ciencia biológica."

J.D. Tothill, discurso pronunciado en el Décimo Congreso Internacional de Entomología en 1956.

DEDICATORIA

Biol. Ilich Metchnikoff Iliá (1845-1916)

Biólogo francés de origen ruso, autor de importantes trabajos sobre fagocitosis. Hizo sus estudios en la Universidad de Tiessen (Alemania) y los amplió en Nápoles, Messina y Odesa. Estudió diversas formas larvarias de invertebrados y, más tarde, en el Instituto Pasteur de París, realizó investigaciones sobre inmunología y la transmisión de la sífilis en el hombre. Premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1908 junto con Paul Ehrlich, por sus estudios en inmunología. Destacado patólogo de insectos que aún con el paso del tiempo sus trabajos siguen citándose. Quien en una o repetidas ocasiones se inoculó Vibrio nes Coléricos para detallar la sintomología de la enfermedad así como su control.

A Metchnikoff y a tantos hombres ilustres tales como los Dres. Leazear y Noguchi quienes murieron al inocularse el tifo Exantemático. Y muy especialmente al Nuevoleonés Dr. Eduardo Aguirre Pequeño, ilustre médico quien se inoculó el

" Mal del Pinto " quien a sufrido los estragos de dicha enferme
dad por el bien de la humanidad.

Para todas aquellas personas quienes han dedicado su vida -
a la investigación y que en momentos dados han arriesgado su -
integridad física, para aquellas personas quienes las páginas de
la historia a cubierto su nombre, dedicó esta humilde aporta--
ción.

CP Adalberto Núñez Galaviz

Aurora Ramos de Núñez

Padres modelo, que la vida me otorgó cuyos esfuerzos titánicos, lograron proporcionarme la educación deseada y la correcta senda del camino a seguir.

A mis queridos padres que cualesquier vocablo ó frase resultaría insignificante para demostrar el amor y agradecimiento infinito que siento y que es imposible describir.

Su hijo:

Cuauhtémoc.

A mi futura esposa:

Dra. Esperanza Alvarez Garza.

A mi gran mujer, quien con su apoyo moral y sus oportunos consejos, además de su asesoría y comprensión, formaron una gran parte para el desempeño de esta pequeña labor, empero titánica para mí.

Quién tras largos siete años de noviazgo y con -- cuatro años de lograr con ilusiones ver finalizado este trabajo, se lo dedico con todo mi amor, cariño y respeto.

Con todo el cariño imaginable

A mis queridos hermanos

Adalberto

María Elena

Aurora

Bernabe +

Francisco

Lucero

Martha Aidé

César

Victor Hugo

En especial:

A mi hermano Bernabe con quien compartí alegrías tan grandes como el mismo, con quien compartí un pequeño soplo de vida, que el viento lúgubre se la llevó. A este buen hermano que un día se fué, pero que mañana estaré con él para siempre, dedico este humilde trabajo.

A mis pequeños sobrinos, que con sus sonrisas inocentes y juegos traviezos inspiran la alegría y el proseguir del camino.

Adalberto

Francisco

María Elena

Amy

Alberto

Leslie

Aidé

Con todo cariño, a mis maestros.

En especial:

Ing. Alfredo Somarriba Aubert

Asesor de esta tesis.

Ing. Carlos Longoria Garza

PhD. Aurora Garza Zúñiga

PhD. Lucila Isabel Ramos

PhD. Antonio A. Guerra

PhD. José Luis de la Garza G.

Biol. Carlos H. Briseño de la Fuente

Ing. Benjamín Báez Flores

Ing. Josué Leos Martínez.

A todos ellos con toda mi gratitud, pues no existe palabra en el diccionario que pueda expresar mi agradecimiento en grado superlativo, por su valiosa colaboración y aportación de ideas en este humilde trabajo.

A los apreciables amigos:

Q.B.P. José Ruiz Ordoñez

Q.B.P. Juan Manuel Sánchez Jañez

Q.B.P. Luis Galán Wong.

Quienes desinteresadamente, me ofrecieron su amistad y enorme colaboración para esta pequeña labor, para estos - buenos amigos, de los cuales me siento orgulloso haber pertenecido a sus discípulos, para conocer un inimaginable microcosmos lleno de sorpresas para aquellos, como su servidor, neófitos en un universo invisible.

Mi agradecimiento:

A el Centro de Investigaciones Agropecuarias.

dirijido por:

Ing. Raúl Braulio Rodríguez.

A este buen amigo y compañero

quien apoyó moral y económicamente

los planes e ideas para lograr la

culminación de esta aportación.

Con cariño:

A la Universidad Autónoma de Nuevo León de la cual siento orgullo el haber egresado de ella.

A mi Facultad de Agronomía

de quien me considero parte de ella, y recordando los días de alumno, aún resuena en el pensamiento la voz de los queridos maestros y el bullicio alegre de los compañeros en las inolvidables aulas y pasillos, de mi Facultad.

INDICE

	PAGINA
INTRODUCCION	1
LITERATURA REVISADA	1
Consideraciones económicas	1
Descripción taxonomica	4
Noctuidae	4
<u>Spodoptera frugiperda</u> (J. E. Smith) †	5
Biología y Hábitos	6
Hospederos de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J. E. Smith)	8
Control Cultural	10
Control Biológico	12
Control Microbial	14
Control Químico	15
Otros medios de lucha	17
Generalidades sobre patología de insectos ocasionada por bacterias	18
Bacterias Entomopatógenas	19
Bacterias formadoras de esporas	19
Bacterias no formadoras de esporas	21

	PAGINA
Patógenos obligados	22
Patógenos potenciales	23
Patógenos facultativos	25
Diagnóstico de insectos enfermos	32
Diagnóstico de enfermedades producidas por:	
Bacterias	32
Hongos	33
Virus	34
Epizootiología	34
Descripción del género <u>Bacillus</u>	35
<u>Bacillus thuringiensis</u> (Berlier):	
Características morfológicas	36
Clave para la especie	37
Serotipos	37
Clave para los serotipos <u>thuringiensis</u> , <u>sotto</u> y-	
<u>alesti</u>	38
Mecanismo de penetración	39
Penetración por vía intergumental	39
Penetración por el sistema traqueal	40
Infección oral	40

	PAGINA
Toxinas producidas	41
Desarrollo de la infección producida por	42
Parálisis general producida por	43
Parálisis del intestino producida por	43
Dispersión	44
Viabilidad	45
Tamaño del Inóculo (Dosis)	47
Virulencia	53
Hospederos	56
Susceptibilidad del hospedero	61
Inmunidad del hospedero	63
Inmunidad celular	63
Inmunidad humoral	64
Inmunidad adquirida activamente	65
Inmunidad adquirida pasivamente	66
Formulaciones	66
Productos comerciales	79
Efectos sobre el hombre y animales domesti-- cos	81
MATERIALES Y METODOS	83

	PAGINA
Materiales utilizados	84
Metodología :.	88
Primera etapa	88
Segunda etapa	97
Tercera etapa	101
Cuarta etapa	109
Quinta etapa	113
RESUMEN	128
RESULTADOS Y DISCUSION	131
CONCLUSIONES	134
RECOMENDACIONES	138
BIBLIOGRAFIA	139

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	PAGINA
CUADRO 1. Hospederos de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J. E. Smith)	9
CUADRO 2. Lista de insectos parásitos y predatores, indicando orden, familia, nombre científico, y estado metamórfico de <u>S. frugiperda</u> sobre el cual actúan.	13
CUADRO 3. Clasificación de bacterias entomopatógenas según Bucher	20
CUADRO 4. Especies de bacterias no esporuladas. Grupo de patógenos potenciales	24
CUADRO 5. Lista de insectos susceptibles a colonias rojas de <u>Serratia marcescens</u> (Bizio)	26
CUADRO 6. Clave para las principales bacterias entomopatógenas.	31
CUADRO 7. Hospederos de <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berlier)	57

CUADRO 8.	Aditivos de <u>Bacillus thuringiensis</u> - (Berlier)	72
CUADRO 9.	Compatibilidad de <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berlier) con parasitici-- das.	76
CUADRO 10.	Productos comerciales de <u>Bacillus</u> <u>thuringiensis</u> (Berlier).	80
CUADRO 11.	Cristalería Pyrex	84
CUADRO 12.	Materiales diversos	85
CUADRO 13.	Instrumentos	87
CUADRO 14.	Dieta de Shōrei modificada, utiliza-- da para la alimentación de larvas de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. - - Smith)	92
CUADRO 15.	Porcentaje de patógenos y parásitos en larvas de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith) en el cultivo de - - maíz en el ciclo tardío de 1977. .	96
CUADRO 16.	Pruebas bioquímicas y morfológi-- cas utilizadas para colocar bacte-	

rias aisladas de larvas de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith) en el género <u>Corynebacterium</u>	102
CUADRO 17. Pruebas bioquímicas utilizadas para ubicar las bacterias aisladas de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith) en el género <u>Klebsiella</u>	103
CUADRO 18. Pruebas bioquímicas de la bacteria <u>Klebsiella</u> aislada de larvas de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith) con relación a <u>Klebsiella pneumoniae</u>	104
CUADRO 19. Pruebas bioquímicas utilizadas para colocar bacterias aisladas de larvas de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith) en el género <u>Pseudomonas</u>	105
CUADRO 20. Análisis de varianza del primer experimento.	132
DIAGRAMA DE FLUJO Segunda Etapa	99
DIAGRAMA DE FLUJO Tercera Etapa	110
DIAGRAMA DE FLUJO Cuarta Etapa	114

	PAGINA
DIA GRAMA DE FLUJO Quinta Etapa	127
FIGURA 1. Alas anteriores y posteriores de la familia Noctuidae.	6
FIGURA 2. Cristal bipiramidal de <u>Bacillus thuringiensis</u> clave GM-1.	37
FIGURA 3. Larva de <u>S. frugiperda</u> presentando el crecimiento micelial de un hongo no identificado.	93
FIGURA 4. Larva de <u>S. frugiperda</u> presentando -- sintomatología post-mortem de una infección por virus, 24 hrs después de su muerte.	94
FIGURA 5. Larva de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith) presentando sintomatología -- post-mortem de una infección bacteriana, 24 hrs después de su muerte.	94
FIGURA 6. Larva de <u>S. frugiperda</u> presentando -- sintomatología post-mortem de una infección bacteriana, 72 hrs después de su muerte.	95

FIGURA 7.	Torymido adulto, quien en estado larvario parasit6 larvas de <u>S. frugiperda</u>	95
FIGURA 8.	Larva de <u>S. frugiperda</u> 12 hrs despues de haber emergido larvas de Tachinidae.	97
FIGURA 9.	Estructura de <u>Bacillus thuringiensis</u> .	112
FIGURA 10.	Corte transversal del intestino medio, larvas de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith) de tercer estado. ~ 600 x.	118
FIGURA 11.	Acercamiento de la Fig. 10. 1200 x.	118
FIGURA 12.	Corte transversal de la pared del intestino medio. 1,500 x.	119
FIGURA 13.	Corte longitudinal de c6lula epitelial del intestino medio, larva de <u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith) -- 10,000 x.	124
FIGURA 14.	Corte longitudinal de c6lula epitelial del intestino medio, larva de <u>S. frugiperda</u> (J.E. Smith) 27,000 x. ..	125

FIGURA. 15. Corte longitudinal de la zona basal -
del intestino medio de S. frugiperda
25,000 x.

I N T R O D U C C I O N

En nuestro país es ampliamente difundido el uso de productos químicos para el combate del gusano cogollero Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) así como para gran cantidad de insectos fitófagos que causan daños en los cultivos; no conciderando otros métodos de control que son igual o más importantes que el control químico a costos más reducidos y con menos riesgos para la salud del hombre, animales domésticos y la fauna en general.

En México no se llevan a cabo inspecciones sobre los residuos de parasiticidas en los productos agrícolas como son granos, frutas y hortalizas, que la población consume directamente, haciéndolo solamente en productos para exportación, debido a que el país importador lo impone como requisito para su compra.

La realidad, es que, la Secretaría de Salubridad y Asistencia, Sub-Secretaría del Mejoramiento del Ambiente y Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos no llevan a cabo estudios

sobre la cantidad de residuos de parasitocidas en los productos agrícolas que consumen diariamente los mexicanos y es por se guro que el tejido adiposo de la mayoría de los mexicanos con tengan diversas concentraciones de parasitocidas, por ejemplo: el DDT fué prohibido su uso en 1972 en los E.U.A. y en Mé- xico hasta este año (1980) se sigue vendiendo en casas co-- merciales y se aplica en los cultivos para controlar diferentes insectos y es utilizado por algunas compañías fumigadoras pa- ra tratar de controlar insectos perjudiciales en los hogares.

En un estudio hecho por Duggan y Corneliussen en 1972 -- fueron tomadas muestras procedentes de 30 tiendas comercia- les de alimentos en los E.U.A. encontrando que un 43% de - las carnes rojas, pescado y pollos contenían residuos de in-- sectocidas organofosforados y clorados y un 37% contenían - residuos de DDT y sus análogos (DDD, DDE); en granos y cereales encontraron residuos de un 12% y 10% respectivamente, en frutas los residuos fueron de 5 a 22% y de 5 a 15% respectivamente (56).

Casarett et al 1968 reportan que en 44 autopsias realiza- das en humanos se encontraron residuos de insectocidas clorada

dos en el excremento, cerebro, sangre, gónadas, en las proteínas contenidas en los músculos y otras partes del cuerpo - (56).

En estudios sobre la fauna se han encontrado residuos de insecticidas químicos, clorados principalmente, en fitoplancton, zooplancton, así como en una diversidad de peces, aves y mamíferos.

Los insecticidas químicos como clorados y organofosforados, están comprobados como agentes que producen cambios mutagénicos en algunos vegetales, mamíferos, aves y peces y en algunos casos en el hombre, además son posibles agentes carcinógenos, como lo son el Carbaryl, DDT, DDA, DDD, DDE, DDOM, Dichlorvos, Dieldrin, Endrin, Fenthion, Hempa, Lindano, Malathion, Parathion, Parathion metílico, Metepa, Phosphamidon, Arseniato sódico, Systox, Trichlorfon, Tapa y otros (56).

El control biológico y en especial el microbiológico, posee ventajas y desventajas como cualesquier tipo de control, pero es una buena opción para el control integrado de plagas, ya -

que tiene más ventajas que el control químico y por lo general es más económico a largo plazo.

El presente trabajo se trazó con los siguientes objetivos:

- 1.- Determinar si larvas de Spodoptera frugiperda (J. E. - - Smith) son parasitadas por insectos y/o microorganismos causantes de enfermedades en forma natural.

- 2.- Aislamiento e identificación de bacterias patógenas de muestras de larvas que presentaban sintomatología de una infección por dichos microorganismos.

Al cumplirse estos objetivos, se puede manifestar que esta humilde aportación llega a formar parte de un control integrado en el combate de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith).

LITERATURA REVISADA

Consideraciones Económicas

El maíz es el cultivo en México que mayor cantidad de hectáreas se le destina. Tan sólo en 1978 se sembraron 7;184,000 ha. y es el segundo en cuanto a valor de la producción nacional agrícola; es antecedido sólo por el café. El maíz durante el año de 1978 tuvo un valor bruto de \$32,727;090,000.00 m.n. Este cultivo ocupa el primer lugar en cuanto a consumo se refiere, debido a que ésta gramínea tiene un lugar muy importante en la dieta diaria de los mexicanos. En la década de los setentas se ha observado un marcado incremento en la importación de este grano; tan sólo en el año 1978 se importaron 3,982;900,000 Ton. y desde el año de 1971 hasta 1978 se importaron 9,263;650,000 Ton. con un valor estimado en \$19,091;153,000.00 m.n. Estimando un promedio anual durante estos años, tendríamos que se importan por año 1,151;706,200 Ton. de maíz con un valor promedio de \$2,386;356,721.00 m.n. (68).

Comparado con las exportaciones del petróleo crudo desde 1971 a 1978 tenemos que exportamos durante este período*

48,147;055,000 Ton. de petróleo crudo, con un promedio de --
6,018;382,000 Ton. lo cual observaremos que por cada 6 Ton.
exportadas de crudo, nosotros importamos 1.2 Ton. aproxima-
damente de maíz anualmente (68).

Las importaciones de maíz se han debido a diversas cau--
sas: gran parte de las tierras destinadas a este cultivo son de
temporal, siembras de subsistencia, falta de crédito, etc. --
Sin embargo los daños ocasionados por Spodoptera frugiperda -
(J. E. Smith) sobre el maíz son considerables. En Quintana
Roo se indica que de no protegerse oportunamente contra esta
insecto se puede llegar a reducir 700 Kg/Ha. Tomando en -
cuenta que durante ese año (1977) el rendimiento promedio -
de ese Estado fué de 1,500 Kg/Ha. de maíz aproximadamente,
el daño ocasionado por gusano cogollero fué de un 46.66% del
rendimiento por hectárea cosechada; lo cual indica que este -
insecto está seriamente involucrado en las importaciones de -
maíz (43).

De todas las larvas de Lepidoptera que infestan el maíz -

* Datos estimados dado que no se tienen registros de 1971 a
1973.

en México, las del gusano cogollero S. frugiperda son las más voraces y las que se encuentran más ampliamente distribuidas en el país. puede decirse que no existe región maicera donde no esté presente; sin embargo, el daño que hace no es igual - en todas las áreas (72).

Es reportado también en el cultivo del sorgo causando daños de un 30 a 50 % junto con otras plagas en el Estado de - Tamaulipas, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Guanajuato, Jalisco, - Quintana Roo y en la zona del Bajío. (43).

En el cultivo de cebolla en el Estado de Morelos se re-- porta a S. frugiperda como el segundo en importancia (39):-

En el cultivo del algodón se ha reportado ocasionando - daños ligeros y ocasionalmente severos en los Estados de - - Chihuahua, Sonora, Baja California, Sinaloa, Coahuila, Durango, Tamaulipas, Michoacán, Oaxaca y Chiapas. Estimandose que son utilizados más del 70% del volumen total de insecti-- sidas comerciales en este cultivo para combatir un complejo de plagas que incluyen a este insecto (73).

Generalidades de la familia Noctuidae

Esta familia contiene 2,700 especies, muchas de ellas de importancia económica, por ejemplo: los géneros Agrotis, Hadena, Peridroma, Feltia, Nephelodes, Pseudaletia, Spodoptera y Heliothis.

Los adultos de ésta familia son palomillas que poseen hábitos nocturnos y una gran mayoría son atraídos por la luz artificial durante la noche. Los noctuidos varían tanto en tamaño como en color, empero tienen un tamaño promedio de 25 a 250 mm (con las alas extendidas) y un color generalmente pajizo.

La familia noctuidae es bien conocida por poseer organos auditivos en forma pareada que se encuentran localizados en la base del abdomen, estos organelos detectan sonidos de alta frecuencia con los cuales pueden evadir predadores o bien los usan para localizar alimento, los organelos detectan frecuencias de 3 hasta 100 KHZ³ (21), (9), (8).

Descripción taxonómica

Noctuidae

La mayoría de los Noctuidos poseen el cuerpo robusto, -

las alas anteriores son estrechas y las posteriores son ensanchadas. Los palpos labiales son usualmente largos y las antenas son generalmente filiformes. Las características de venación que encontramos en Noctuidae es que la M_2 de las alas anteriores nace o emerge cerca de la M_3 y sube para estar equidistante de la M_1 y M_3 , desde donde nace la vena cubital hasta sus bifurcaciones se puede observar 4 ramas y en las alas anteriores la subcosta y la radial se encuentran separadas en su base, empero casi unidas a muy corta distancia de la base de la celda, la M_2 en las alas anteriores puede estar presente ó ausente (9) Fig. No. 1. Generalmente presentan 2 ocelos y en el margen frontal de las alas anteriores es recto. (45).

Las larvas de la familia Noctuidae son opacas, no poseen colores llamativos, generalmente tienen 5 pares de falsas patas (9); en ocasiones pueden estar reducidas de tamaño en los segmentos del 3o. a el 5o. o ausentes en el 3o. y el 4o. (63). Presentan verruga prespiracular con dos setas sobre protórax. Tubérculo o pináculo vi con dos setas ó una tanto en el meso como en el metatórax (18).

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith)

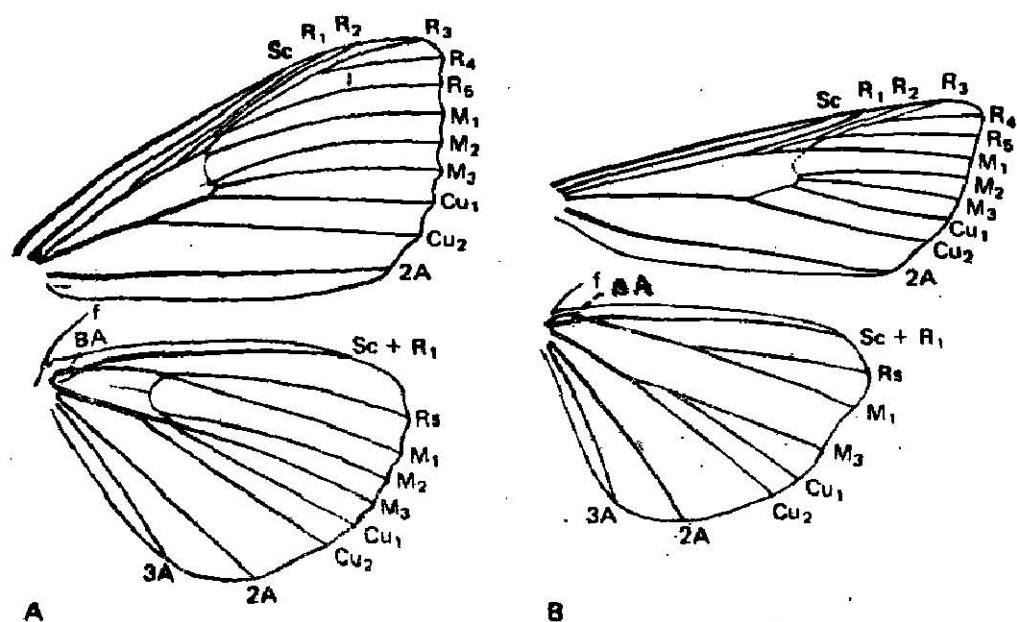


Fig. 1,- Alas anteriores y posteriores de la familia Noctuidae.
 (A) La M_2 se encuentra presente en el ala posterior y la Cu aparece con 4 ramificaciones. (B) En el ala posterior se encuentra ausente la M_2 y la Cu aparece con tres ramificaciones.
 (BA) Areola basal.

Los adultos de esta especie miden 3.7 cm de extensión alar, las alas anteriores son grisáceas con los márgenes anteriores - más oscuras y presentan manchas claras en la región apical, - las alas posteriores son claras y presentan manchas grisáceas.

Las larvas pueden ser de color verdoso o cobrizo, aunque - pueden poseer coloraciones rosadas, amarillentas, café pajizas y en ocasiones negras. Pueden llegar a medir de 3.0 a 3.5 cm de longitud y 0.45 cm de grosor; poseen 3 rayas blanco-amari-
llentas que recorren todo su dorso y el área supraspiracular - del dorso es de color oscuro, particularmente se desvanece - en todos y cada uno de los segmentos abdominales.

En la región pleural aparece una raya ancha de color blan-
co-amarillento que recorre toda ésta región. En la cabeza se encuentra resaltada la sutura epicraneal en forma de una "Y" invertida de color blanco-grisáceo; presentan prominentes pi-
náculos o tubérculos de color negro, de los cuales nacen se-
tas, poseen integumento suave, espiráculos de color pálido re
dondeados con un halo de color blanco (5), (64), (60).

Biología y Hábitos.

Los adultos de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) tiene una vida corta que es de 10 a 14 días, pero en este pequeño tiempo, pueden volar varios cientos de kilómetros y las hembras llegan a ovipositar hasta 1000 huevecillos depositados en masas de 150; las masas son cubiertas por setas y escamas procedentes del cuerpo de la palomilla hembra; estas masas de huevecillos son ovipositados en el envés de las hojas del maíz, ó en regiones ocultas de otras plantas atacadas (5), (55), (43).

En un estudio de invernadero realizado por Sifuentes en 1966 se encontró que existe diferencia para oviposición cuando se infestan simultáneamente plantas de sorgo y maíz con S. frugiperda, dando como conclusión que el número de posturas, tanto en número de masas y huevecillos fué mayor en maíz que en sorgo (71).

Cuando la temperatura es elevada los huevecillos pueden eclosionar en 2 días, las larvas emergidas se alimentan en una forma gregaria en las hojas de la planta, pero al alcanzar el segundo estadio tienden a separarse y buscar una planta cada larva, alimentandose en el cogollo (5), (55), (66).

La duración del estado larval depende de las condiciones -- climáticas, empero puede ser de 12 días a un mes, las larvas pasan por 6 instares larvales, al llegar a su máximo desarrollo larval miden 3.5. cm. de longitud y 0.45 cm. de diámetro aproximadamente, caen a el suelo en donde se entierran a 2.5 cm. y pupan. El estado de pupa no dura más de 8 a 10 días. El número de generaciones depende de las condiciones ambientales, al sur de los Estados Unidos se reportan de 5 a 10 generaciones al año, mientras que en el sureste se reportan de 9 a 11 generaciones al año (5), (64), (60), (66).

Hospederos de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith).

A continuación se citan plantas hospedero a quienes se le han reportado daños ocasionados por S. frugiperda, en diversos Estados de la República Mexicana, así como en el extranjero, daños que oscilan desde un 10 % a un 100% o pérdida total de la cosecha de no ser controlado a tiempo, este insecto. Sólomente existe una excepción con la malva rosa Althaea rosea (L.) en donde se le ha encontrado como hospede-ro alternante, pero causando leves daños no significativos -- (27).

Cuadro No. 1: Hospederos de Spodoptera frugiperda (J. E. --
Smith).

<u>Nombre científico</u>	<u>Nombre Común</u>	<u>Cita</u>
<u>Allium cepa</u>	cebolla	(55) (62)
<u>Arachis hypogaea</u>	cacahuate	(5) (60)
<u>Althea rosea</u> (L.)	malva rosa	(27)
<u>Beta vulgaris</u> var <u>rubra</u>	nabo	(60)
<u>Brassica oleracea</u> (L.)	col	(60) (62)
<u>Cicer arietinum</u>	garbanzo	(5)
<u>Cucumis sativus</u>	pepino	(60)
<u>Glycine max</u> (L.)	soya	(65)
<u>Gossypium hirsutum</u>	algodonero	(5) (73) (60)
<u>Ipomoea batatas</u>	camote	(60)
<u>Lycopersicon esculentum</u>	jitomate	(5) (60) (62)
<u>Medicago sativa</u>	alfalfa	(5) (60)
<u>Nicotiana tabacum</u>	tabaco	(60)
<u>Oryza sativa</u>	arroz	(62)
<u>Phaseolus vulgaris</u> (Lineo)	frijol	(60)
<u>Pisum sativum</u>	chícharo	(60)
<u>Sacharum officinarum</u>	caña de azúcar	(62)

(Continuación)

<u>Nombre científico</u>	<u>Nombre Común</u>	<u>Cita</u>
<u>Solanum tuberosum</u>	papa	(5) (60)
<u>Sorghum vulgare</u> (Pers.)	sorgo	(27) (14) (40) (43)
<u>Spinacea oleracea</u>	espinaca	(60)
<u>Trifolium repens</u> (L.)	trebol	(60)
<u>Zea mayz</u> (L.)	maíz	(27) (36) (37) (38) (40) (62)

Control Cultural.

La verificación de metodos de cultivo ayudan a disminuir - notablemente las poblaciones de plagas y consecuentemente el - daño que causan; a continuación se citan algunos:

1. - Preparar bien el terreno. Los barbechos - profundos y los rastreos exponen a larvas y pupas existentes en el suelo a predadores. - (44), (1).

2. - Sembrar en las fechas óptimas, lo que per-

mite que la planta se desarrolle bajo las me
jores condiciones ambientales y escape a las
más altas poblaciones de insectos. (44), -
(1).

- 3.- Utilizar las variedades recomendadas para -
la zona, ya que son las más adaptadas y de
mejor rendimiento.
- 4.- Desvarar y roturar inmediatamente después
de la cosecha, con lo que se evitará alargar
el ciclo biológico de plagas al destruir su re
fugio (44), (1).
- 5.- Mantener limpio de malas hierbas el cultivo
o la tierra cuando está desocupada, así co-
mo los caminos y regaderas. Esta prácti-
ca destruirá plantas hospederas secundarias
o alternantes de plagas. (44) (1).
- 6.- Efectuar rotaciones anuales con otros culti-
vos hasta donde sea factible, pudiendo usar

se para tal efecto las plantas leguminosas, -
forrajeras, oleaginosas y hortalizas, siempre
y cuando este insecto no esté reportado como
parásito de algunos de ellos. (44) (1).

7.- Establecer cultivos trampa, mediante peque-
ñas plantaciones que se efectúan, antes que -
la principal, para atraer a los insectos o --
alejarlos de este cultivo. Por lo común el -
cultivo trampa se debe destruir antes que --
los insectos se puedan reproducir. Los cul-
tivos trampa se pueden utilizar para atraer -
insectos en una etapa muy temprana, (ciclo
de primavera) estimulando la reproducción
de parásitos y predadores para un mejor con-
trol biológico (1).

8.- Aumentar en densidad de siembra y al "des-
hajjar" eliminar plantas dañadas (19).

Control Biológico.

El control biológico puede ser natural ó inducido por el --

hombre. Este control presenta 3 ventajas específicas: permanencia, seguridad y economía, a continuación se citan parásitos que pueden en un momento dado disminuir considerablemente las poblaciones de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) - - (28).

Cuadro 2.- Lista de insectos parásitos y predadores (control biológico); indicando el orden, familia, nombre científico, y estado metamórfico de S. frugiperda sobre el cual actúan.

<u>Familia</u>	<u>Nombre Científico</u>	<u>Estado Meta- mórfico en que Parasita 1/Pre- da 2</u>	<u>Cita</u>
Anthocoridae	<u>Orius tristicolor</u> (Wite)	Larva ²	(55)
Anthocoridae	<u>Orius insidiosus</u> (Say)	Larva ²	(55)
Braconidae	<u>Chelonus sonorensis</u> (Cam)	Huevo y Larva ¹	(55)
Braconidae	<u>Chelonus texanus</u> (Cres)	Huevo y Larva ¹	(55)
Lygaeidae	<u>Geocoris punctipes</u> (Say)	Huevo y Larva ²	(55)
Lygaeidae	<u>Geocoris pallens</u> (Stal)	Huevo y Larva ²	(55)

(C ontinuación)

<u>Familia</u>	<u>Nombre científico</u>	<u>Estado Meta- mórfico en que Parasita 1/Pre- da 2</u>	<u>Cita</u>
Malachiidae	<u>Collops femoratura</u> (Schffr)	Larva ²	(55)
Malachiidae	<u>Collops vittatatus</u> (Say)	Larva ²	(55)
Reduviidae	<u>Sinaea confusa</u> (Caud)	Larva ²	(55)
Reduviidae	<u>Zelus spp</u>	Larva ²	(55)
Tachinidae	<u>Lespesia archippivora</u> (Riley)	Larva ¹	(83)
Tachinidae	<u>Dannus plexippus</u> (Lineo)	Larva ¹	(83)
Tachinidae	<u>Voria ruralis</u> (Fall)	Larva ¹	(55)
Tichogrammati- dae.	<u>Tichogramma sp</u>	Huevo ¹	(55)

Control Microbial.

Este tipo de control es aplicado en forma comercial en varios países del mundo, debido a que presenta seguridad en el control de plagas insectiles y no causa perjuicios directos a la entomofauna benéfica como lo son parásitos y predadores, además no presenta riesgos para el hombre así como para los animales domésticos y la fauna en general. (1), (13), (20) (23), (58) (77).

- (Bacteria) Bacillus thuringiensis var. kurstaki serotipo 3a -
3b (6).
- (Bacteria) Bacillus thuringiensis var. sotto serotipo HD 412
- (Nematodo) Neoplectana carpocapsae (48)
- Virus de la Poliedrosis nuclear
de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (20)

Control Químico

El control químico es el uso de parasiticidas para disminuir las poblaciones de insectos plaga, estos parasiticidas son denominados insecticidas. Este control es el más utilizado en el país, sin embargo esto no quiere decir que sea el mejor. A continuación se menciona los productos recomendados para el control de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith).

Cultivo	Producto	Concentración (%)	Presentación	Dosis Kg ó Lts/Ha. Oportunidad
Maíz	Sevta	5	granular	8-15 cuando existan 25 - plantas dañadas de 100 - observadas
"	Dipterex	2.5	granular	10-12

Cultivo	Producto	Concentración (%)	Presentación	Dosis Kg ó Lts/Ha. Oportuni- dad.
Mafz	Bux	2.5	granular	15
"	Sevin	80	polvo humec- table	1.5
"	Sevin	2	granular	15
"	Birlane	2	granular	15
"	Lorsban 480E		líquido E.	1
"	Telodrfn	2	granular	15
"	Diazinon	14	granular	6.8
"	Dipterex	80	polvo humec- table	1
+ Sorgo	Volati6n	2.5	granular	12
Cebolla	Lannate	90	líquido E.	1
Cebolla	Thiodan	35	líquido E.	2.5
Algod6n	Endrex 300		líquido E.	2.5-3.5
Tomate	Lannate	90	polvo humec- table	0.3-0.4
Tomate	Azodrfn	5	líquido E.	1.0-1.5

Fuentes (14) (36) (37) (38) (39) (40) (41) (42) (43) (44) (70)

+ Para sorgo se pueden utilizar los mismos insecticidas que se citan para mafz.

Otros Medios de Lucha

a) Disuasivos de Alimentación

4 - (Dimetiltriazeno - acetanilida)

6 - Metoxibenzoxazolina

dimisina

dihidro - solina

leptinas

solacaulina

solanina

tomatina

(1)

b) Utilización de feromonas como control biológico

Trampas con feromonas sexual de hembras

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith)

cis - 9 tetradecen - 1 - al acetato

(69)

c) Posibles liberaciones de Machos y/o Hembras estériles de -

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith)

Wendell (84) reporta que la cantidad necesaria de irradiación de CO^{60} para esterilizar al macho de S. frugiperda está esta--

blecida en 35 Krad y de 15 Krad para esterilizar la hembra de S. frugiperda, ya que en pruebas efectuadas en laboratorio y en el campo las esterilizaciones no afectaron la vida de los -- adultos, esto es, la habilidad de la hembra para atraer al macho, o la habilidad del macho para buscar a la hembra, o -- bien, la habilidad de los adultos para copular. La esterilización de alguno de ellos sólo disminuye el número de oviposiciones tanto en el laboratorio como en pruebas de campo.(84)

Generalidades sobre patología de insectos ocasionada por bacterias.

La patología de insectos ocasionada por bacterias es la -- más extensamente estudiada dentro de esta materia pues se -- tienen reportes desde Aristóteles (322-384 A.C.) en su Historia Animalum describe enfermedades en algunos insectos, -- en similares circunstancias, Pliny escritor Romano, enuncia -- severas enfermedades en abejas. (20)

Actualmente se han efectuado una gran cantidad de trabajos sobre este tema, entre los que cabe resaltar a Eduard A. Steinhaus, Hannay, Ishiwata, Metalnikoff, Toumanoff, Chorine,

Berliner, Angus, Heimpel, Le Corroller, Dulmage, Falcon, --
Ignoffo y otros más.

Las enfermedades ocasionadas por bacterias en insectos son comunes y ampliamente distribuidas y en algunas ocasiones son lo suficientemente severas que en un momento dado pueden casi erradicar una población de insectos en un determinado habitat.

Bacterias Entomopatógenas

Las bacterias que causan enfermedades en insectos se divi-
den en 2 grandes grupos: (ver cuadro 3).

- 1.- Bacterias formadoras de esporas
- 2.- Bacterias no formadoras de esporas

1.- Bacterias formadoras de esporas:

Este grupo se ha sujetado a un intenso estudio y se cono--
cen un buen número de bacterias patógenas de insectos de es--
te tipo. Cerca de 100 especies han sido nombradas y aisla--

Cuadro 3 . Clasificación de bacterias entomopatógenas según Bucher (13)

formadoras de esporas		no formadoras de esporas	
formadores de cristal	no formadores de cristal	Potenciales	Facultativos
<u>Bacillus euloomaraha</u>	<u>Bacillus thuringiensis</u>	<u>Bacillus cereus</u>	<u>Pseudomonas aureginosa</u> <u>Serratia marcescens</u>
<u>B. fribourgensis</u>	var. <u>aizawai</u>		<u>P. chlororaphis</u>
<u>B. lentimorbus</u>	var. <u>amuscatotoxicus</u>		<u>P. fluorescens</u>
<u>B. lentimorbus</u>	var. <u>anagaestae</u>		<u>P. reptilivora</u>
var. <u>australis</u>	var. <u>dendrolimus</u>		<u>P. septica</u>
<u>B. popillae</u>	var. <u>entomocidius</u>		<u>P. putida</u>
<u>Clostridium</u>	var. <u>galleriae</u>		<u>Aerobacter</u> spp.
<u>brevifaciens</u>	var. <u>sotto</u>		<u>Cloaca</u> spp.
<u>C. malocosomae</u>	var. <u>pacificus</u>		<u>Proteus vulgaris</u>
	var. <u>subtoxicus</u>		<u>P. mirabilis</u>
	var. <u>thuringiensis</u>		<u>P. rettgeri</u>

das que han estado asociadas con insectos (77).

Debido a la gran semejanza que existe en los aislamientos solamente algunas especies son consideradas como válidas por taxonomistas.

Indudablemente muchos son "patógenos potenciales" que se multiplican en el homocelo con una pequeña cantidad de inóculo y producen una septicemia fatal (77)

Las especies, miembros de este grupo pertenecen a la familia Bacillaceae, esta familia ha sido extensamente estudiada por bacteriólogos, pero no siendo así relacionada con insectos. La familia Bacillaceae comprende 2 géneros de bacterias:

Bacillus que es aeróbico o anaeróbico facultativo y

Clostridium que es anaeróbico ó aeróbico tolerante

2. - Bacterias no formadoras de esporas:

Las bacterias no esporuladas, patógenas de insectos se -

encuentran en 2 órdenes de las clases Schiromycetes, Pseudomonadales y Eubacteriales. (77)

Las bacterias no esporuladas han sido colocadas en 3 grupos según las propuestas de Bucher (1960), (77) basadas en las propiedades o requerimientos del rango de significancia patoló--gica o de su posición taxonómica, los 3 grupos son:

1. - Patógenos Obligados
2. - Patógenos Potenciales
3. - Patógenos Facultativos

1. - Patógenos Obligados:

Los patógenos obligados requieren condiciones especiales pa--ra su crecimiento y reproducción. Son cultivados in vitro y so--lamente en insectos hospederos específicos, los rangos de hos--pederos son limitados y solamente en algunas pocas de espe---cies de insectos puede ser utilizados (77).

Especies de Bacterias no esporuladas.

Grupo de Patógenos Obligados.

Parásito	Hospedro	Cita
<u>Streptococcus pluton</u>	<u>Apis mellifera</u> (L.)	(77)
<u>Achromobacter eurydice</u>	<u>Apis mellifera</u> (L.)	(77)

2. - Patógenos Potenciales:

Los patógenos potenciales se multiplican extracelularmente en el homocelo de los insectos y producen una septicemia total. Estos patógenos pueden crecer en cultivos microbiológicos y atacan a un buen rango de insectos, lo que no hacen los patógenos obligados. Es de aceptarse que en este grupo de patógenos potenciales puedan tener poca o nada de patogenicidad, depende importantemente de la dosis.

Algunas bacterias inician la infección en el homocelo con dosis de 10 a 10,000 células y otros con dosis de 1 a 10 millones de células. Thus Bucher (1959-1960) define como patógenos potenciales aquellas bacterias capaces de iniciar una infección en el homocelo con una dosis letal (LD50) menores de 10,000 células (ver cuadro 4) (77)

Cuadro 4. - Especies de bacterias no esporuladas.
Grupo de patógenos potenciales.

Parásito

Hospedero

Pseudomonas aeruginosa
(Schroeter)

Melanoplus bivittatus (Say)

Cammula pellucida (Scudder)

Agrotis orhogonia (Morrison)

Phegethontius sextus (Johannson)

Pseudomonas chlororaphis

Cacoecia crataegana (Hüber)

Euproctis chrysorrhoea (Lineo)

Pseudomonas reptilivora

Bupalus piniarius (L.)

Saturnia pyri

Pseudomonas septica

Melolontha melolontha (L.)

Aporia crataegi (L.)

Trypodendron lineatum (oliver)

Phyllopertha spp.

Pseudomonas putida

Euproctis chrysorrhoea (lineo)

Pseudomonas striata

Hyphantria cunea (Drury)

3. - Patógenos Facultativos:

Este grupo de bacterias difiere del grupo de patógenos potenciales por poseer un mecanismo que invade a tejidos susceptibles del cuerpo del insecto o bien por el daño producido en el insecto haciendo que se dilate el intestino. Para esto no requiere de condiciones para su desarrollo y multiplicación en medios de cultivo, además no causan estos microorganismos, enfermedades específicas o requieren de huéspedes específicos, que es una diferencia en cuanto a los patógenos obligados. - - (77).

La especie característica de este grupo es Serratia marcescens (Bizio) la cual pertenece a la tribu Serratae y a la familia Enterobacteriaceae.

A continuación citan algunas especies de insectos que son susceptibles a S. marcescens (77) (ver cuadro 5).

Cuadro 5. - Lista de insectos susceptibles a colonias rojas de Serratia marcescens (Bizio), recopilado por Steinhaus (77).

Orden	Familia	Nombre científico
Coleoptera	Curculionidae	<u>Cleonus punctiventris</u> (G ermar)
		<u>Cylas formicarius</u> <u>elegantulus</u> (Summers)
		<u>Pantomorus spp</u>
		<u>Sitophilus granarius</u> (L.)
		<u>S. oryzae</u> (L.)
	Cerambycidae	<u>Saperda caprcharias</u> (L.)
		Scarabeidae
	<u>Oryctes rhinoceros</u> (L.)	
	Scolytidae	
		<u>Pityokeines confusus</u> (Le Conte)
<u>P. curvidens</u> (Germar)		

(Continuación)

Orden	Familia	Nombre científico
		<u>Scolytus multistriatus</u> (Marsham)
	Tenebrionidae	<u>Tenebrio molitor</u> (L.) <u>Tribolium confusus</u> (Jacquelin du Val)
Diptera	Chironomidae	<u>Tendipes</u> spp
	Drosophilidae	<u>Drosophila</u> spp
	Mucidae	<u>Musca domestica</u> (L.)
	Tephritidae	<u>Dacus dorsalis</u> (Hendel)
Hymenoptera	Braconidae	<u>Macrocentrus ancyli-</u> <u>vorus</u> (Rohwer)
	Diprionidae	<u>Neodiprion lecontei</u> (Fitch) <u>N. banksianae</u> (Rohwer) <u>N. swaini</u> (Middleton)
	Megachilidae	<u>Megachile</u> spp
	Pamphiliidae	<u>Cephalcia abietis</u> (L.)

(Continuación)

Orden	Familia	Nombre científico
	Pteromalidae	<u>Dibrachys cavus</u> (Walker)
	Tenthredinidae	<u>Dolerus gonager</u> (Fab.) <u>Nematus ribesii</u> (Scopoli) <u>Pristiphora erichsonii</u> (Hartig)
	Vespidae	<u>Polistes spp</u> <u>Vespula germanica</u> (Fab.)
Isoptera	Hodotermitidae	<u>Zootermopsis angusticollis</u> (Hagen)
	Rhinotermitidae	<u>Reticulitermes santonnesis</u> (De Feytaud)
Lepidoptera	Arcitidae	<u>Estigmene acrea</u> (Drury)
	Bombicidae	<u>Bombyx mori</u> (Lineo)
	Galleriidae	<u>Galleria mellonella</u> (Lineo)
	Gelechiidae	<u>Gnorimoschema operculella</u> (Zeller)

(Continuación)

Orden	Familia	Nombre científico
	Geometridae	<u>Sabulodes caberata</u> (Guenée)
	Lasiocampidae	<u>Malocosoma neustria</u> (Lineo)
	Lymantriidae	<u>Porthetria dispar</u> (Lineo)
	Noctuidae	<u>Agrotis ipsilon</u> (Hufnager) <u>Chorizagrotis auxiliaris</u> (Grote) <u>Heliothis zea</u> (Boddie) <u>Percyima cruegeri</u> (Butler) <u>Peridroma margaritosa</u> (Haworth) <u>Pseudaletia unipuncta</u> (Haworth)
Lepidoptera	Nymphalidae	<u>Nymphalis antiopa</u> (Lineo) <u>Junonia coenia</u> (Boisduval)

(Continuación)

Orden	Familia	Nombre científico
	Olethreutidae	<u>Carpocapsa pomenella</u> (Lineo)
	Pieridae	<u>Colias eurytheme</u> (Boisduval)
Orthoptera	Acrididae	<u>Camnula pellucida</u> (Scudder)
		<u>Locustana pardalina</u> (Walker)
		<u>Melanoplus bilituratus</u> (Walker)
		<u>M. bilituratus</u> (Say)
		<u>M. packardii</u> (Scudder)
		<u>Schistocerca gregaria</u> (Folskal)
	Blattidae	<u>Blattella germanica</u> (Lineo)

Cuadro 6. - Clave para las principales bacterias entomopatógenas (13).

- 1.- Bacterias crecen en medios nutritivos 2
 Bacterias que no crecen en caldo nutritivo y agar nutritivo
 5
- 2.- Bacilos esporulados 3
 Bacilos no esporulados 4
- 3.- Infección oral en larvas de abejas, produciendo cadáveres viscosos, adheridos a las paredes celulares; grupos de -- flagelos ondulados son notados en tinciones con Giemsa ..
 Bacillus Larvae²
 Infección oral limitada sólo a larvas de Lepidoptera esporangios elongados produciendo esporas terminales y presentan cristal bipyramidal Bacillus thuringiensis³
- 4.- Colonias color rojo ladrillo en medio de agar a 72-120 - hr Serratia marcescens⁴
 Colonias azul fluorescente en medio de agar nutritivo a - 72-120 hr. Pseudomonas aeuroginosa⁴
 (Otros colores o colonias grisáceas de esta bacteria pueden presentarse provenientes del crecimiento en el intestino medio de insectos muertos)
- 5.- En las primeras tinciones, el esporangio navicular con espora oval y cuerpo paraesporal, juntos aparecen como

(Continuación)

la forma de una huella de zapato. La hermolinfa infectada es de color blanco, en insectos terrestres (escarabajos).

. Bacillus popillae, B. fribourgensis⁵.

En las primeras tinciones, bacilos gruesos en el alimento contenido en el intestino, arreglados en forma de clavos - restringiendo el intestino. Reduciendo el cuerpo del huésped de larvas de Lepidoptera Clostridium brevifaciens⁶.

Diagnóstico de insectos enfermos:

Las enfermedades en insectos pueden ser infecciosas o no infecciosas (77). A continuación se citan signos y síntomas de las enfermedades producidas por bacterias, hongos y virus en forma general:

Diagnóstico de enfermedades producidas por bacterias:

El primer síntoma se presenta por una actividad reducida y una pérdida de apetito seguida por la descarga de fluidos - por la boca y ano. La infección puede comenzar con una -- desinterfa acompañada con diarrea y generalmente las bacte--

tias causan una septicemia. Después de la muerte, el cuerpo se oscurece tomando una coloración café o negra (23).

Usualmente los insectos recién muertos están blandos y al perder los tejidos enfermos su forma, pueden desintegrarse o tomar una consistencia viscosa, olorosa. El cadáver del insecto generalmente se seca y se encoge, el integumento permanece intacto (23).

Diagnóstico de enfermedades producidas por hongos:

Los insectos que han muerto por este tipo de enfermedades varían un poco en su apariencia, dependiendo del hongo en cuestión y de la etapa de su desarrollo. Cuando pervalecen las condiciones óptimas para su crecimiento y desarrollo, el hongo aparece usualmente en las formas de conidios, hifas o micelio sobre la superficie del cuerpo. En algunas ocasiones se encuentra el cuerpo cubierto totalmente y en otras ocasiones sólo aparece en áreas donde la pared del cuerpo es delgada, tales como las membranas intersegmentales. En ausencia de adecuada humedad atmosférica puede no encontrarse existencia externa del hongo (23).

Diagnóstico de enfermedades producidas por Virus:

Las larvas infectadas, frecuentemente se licuan y desintegran rápidamente. Los insectos generalmente se tornan de un color pálido o amarillento en algunas ocasiones, aunque pudiese presentarse tonalidades oscuras. Al tocar o apretar el integumento se desintegra fácilmente y sale del cuerpo un líquido opaco o turbio. (23)

Para mayor información sobre signos y síntomas de enfermedades producidas por hongos, bacterias, virus, rikettsias, amibas, protozoarios y nemátodos, ver claves a nivel de especie en (13) (79):

Epizootiología.

La epizootiología es la ciencia que está involucrada con la dinámica de las enfermedades, esto es que existe una interrelación incesante entre la población del hospedero, la población del patógeno y el medio ambiente. El progreso de la mortalidad en insectos, debido a una enfermedad es expresada en tiempo, algunas ocasiones en la forma de epizootias.

La forma de curva epizootica está generalmente gobernada

da por un complejo de factores, tales como el incremento o ---
disminución de la virulencia de los patógenos, susceptibilidad del
hospedero; distribución espacial del hospedero y el efecto de los
factores ambientales, que pueden incrementar o disminuir el grado
de infección.

Cuando una enfermedad se encuentra continuamente presente
pero a una incidencia baja es denominada como enfermedad en-
zótica. Una enfermedad puede por lo tanto, oscilar entre fases
enzoóticas y epizooticas.

La falta de un conocimiento relacionado con la epizootiología
de las enfermedades de insectos ha originado que algunos estu-
diosos de la patología de insectos hayan tenido que adoptar mu-
chos principios de la epidemiología. (1), (23). (77).

Descripción del género Bacillus

Las células del género Bacillus poseen forma de bacilo, al--
gunas veces forman cadenas. Producen endosporas. El espo-
rangio es parecido a células vegetativas, excepto en al-

gunas especies, la espora presenta un diámetro grande y las células en algunos casos se engrosan. La mayoría de especies de Bacillus atacan una variedad de sustratos mediante enzimas que son excretadas como material de deshecho por la célula (77).

Son bacilos Gram positivos, aeróbicos o facultativos, producen usualmente catalasa. (11).

Características Morfológicas de Bacillus thuringiensis (Ber-- lier)

Los cuerpos paraesporales de las diferentes especies de Bacillus varían considerablemente en forma como en tamaño. En la mayoría de las variedades encontradas de B. thuringiensis se describe un cristal regular en forma de diamante - - (ver Fig. No. 2) este puede ser de forma octaédrica o tetragonal. Esto no es invariable ya que existen otras formas de cristales que pueden ser triangulares o cuboidales y algunas de estas formas ya han sido reportadas y estudiadas. -
Comúnmente las células al esporular contienen un cristal, -
pero se ha reportado que algunas células pueden contener 2

cristales (77), (+).

Clave para la especie Bacillus thuringiensis (Berlier)

Endospora generalmente elíptica, en posición central, ácido y acetofina se producen a partir de glucosa, no siendo así gas. Catalasa positiva, crecen en medios con saboraud, dextrosa, - agar, conteniendo 7% de Na₂Cl. Hidroliza almidón y caseína.

Las medidas de B. thuringiensis son: ancho 1.0-1.2 μ m la largo 3.0-5.0 μ m. Presenta cristales proteínicos intracelulares. Movilidad variable, reduce NO₃ a NO₂, reacción de yema de huevo positiva, crece en agar anaeróbico, alcaliniza medios - con citrato (citrato positivo).

Temperatura máxima de crecimiento 40 a 45°C, temperatura mínima de crecimiento 10 a 15°C (11) (10).

Serotipos de Bacillus thurgiensis (Berlier)

(+) Comunicación personal con PhD. Howard T. Dulmage, -
Cotton Insect Research Laboratory, A.R.S. U.S.D.A.,
Brownsville, Texas 78520 U.S.A.

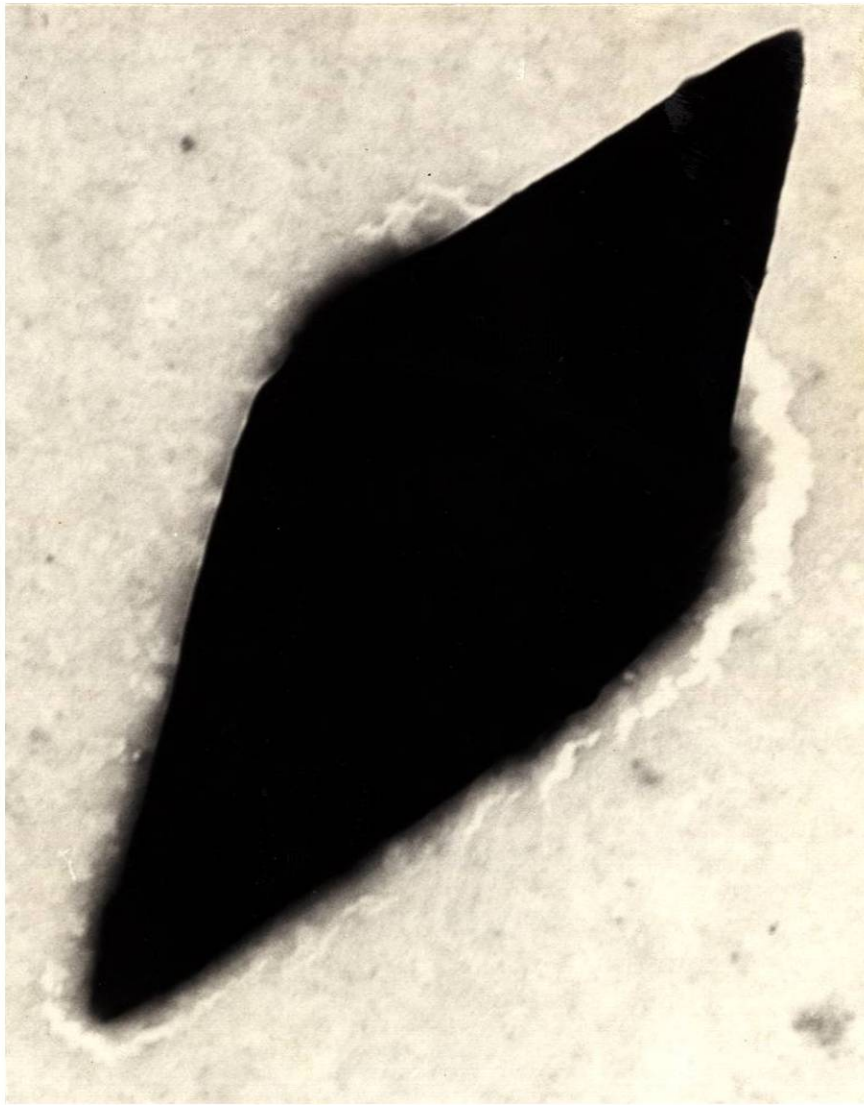


Fig. 2. - Cristal bipyramidal de Bacillus thuringiensis calve - -
GM-1, 25,000 x. (original José Ruiz Ordoñez)

Los serotipos que se enuncian a continuación es según la -
clasificación de Bergyis Manual of Determinative Bacteriology.
(6).

1. - thuringiensis
2. - finitmus
3. - alesti
- 4 a-4 b. - sotto
- 4 a-4 c. - kenyae
5. - galleriae
6. - entomocidus
7. - aizawai
8. - anagastae
9. - tolworthi
10. - darmstadiensis
11. - toumonoffii

Clave para los Serotipos thuringiensis, sotto y alesti.

Bacillus turingiensis var thuringiensis:

No forma pelcula en caldo nutritivo, en ocasiones forma -
turbidez en caldo nutritivo y agitándolo se puede dispersar la

turbidez. Altamente tóxico a lepidopteros. No forma pigmentos al crecer en agar yema de huevo. (77)

Bacillus thuringiensis var. sotto:

Forma pigmento rosa en agar después de varios días de -- crecer en agar yema de huevo. (77)

Bacillus thuringiensis var. alesti:

No produce acetofna. (Acetilmetilcarbinol) No produce fosforilosa C. Produce " trialosa ", levulosa y glucosa después -- de 20 días de incubación a una temperatura de 32°C. Alta -- toxicidad para muchos lepidopteros. (77)

Mecanismo de penetración de Bacillus thuringiensis (Berlier):

Para los patógenos de insectos la vía de penetración ocurre por diferentes rutas: pudiendo ser por el integumento, el sistema traqueal, por vía oral o bien pudiendo penetrar en huevecillos. (77)

1.- Penetración por vía integumental:

La estructura de la epidermis del integumento puede ser penetrado por protozoarios, bacterias, hongos, rikettsias y virus. Es bien conocido que las bacterias pueden penetrar el integumento y causar una infecci3n. Es posible que la ruta de infecci3n sean los ductos de las gl3ndulas d3rmicas. (77)

La literatura revisada no menciona esta penetraci3n por B. thuringiensis, sin embargo es muy probable que ocurra.

2.- Penetraci3n por el sistema traqueal:

La membrana que recubre las traqueas es muy delicada y permeable a el agua y esto es factible para una f3cil invasi3n por v3a traqueal de pat3genos de insectos. (77). La literatura no menciona la penetraci3n de B. thuringiensis por esta v3a, es probable que ocurra.

3.- Infecci3n oral:

La penetraci3n de muchos microorganismos a el intestino de los insectos por 3sta v3a es relativamente muy f3cil. Especialmente cuando el pH del intestino es aproximadamente neutral. Muchos microorganismos pueden encontrarse en el

intestino de los insectos, que bien pueden ser simbióticos o comensalistas.

La mayoría de los patógenos de insectos encuentran esta vía de infección y Bacillus thuringiensis (Berlier) puede penetrar - por esta vía y produce cristales paraesporales con una alta patogenicidad en larvas de lepidopteros, en especial en noctuidos - ya que estos poseen poca alcalinidad o bien tienden a un pH - - neutro. (77)

Toxinas producidas por Bacillus thuringiensis (Berlier):

Las diferentes variedades de B. thuringiensis producen cuatro tipos de toxinas, según sea el caso, cada uno de los tóxicos actúa en forma diferente sobre el hospedero. Las diferencias se describen en virulencia de B. thuringiensis.

Los tóxicos producidos por B. thuringiensis son, según - - Heimpel (13) (20) (+).

- a) α - exotoxina
- b) β - exotoxina
- c) γ - exotoxina
- d) δ - endotoxina.

Actualmente no existe un acuerdo internacional sobre los tóxicos producidos por B. thuringiensis, (+) ya que otros autores como Krieg (77) mencionan con otros nombres estos tóxicos.

1. - endotoxina termoinestables
2. - exotoxina termoestable
3. - antibiótico bacilogénico
4. - lecitinasa
5. - protinasa

Desarrollo de la infección producida por Bacillus thuringiensis
(Berlier)

El desarrollo de la infección producida por B. thuringiensis se puede dividir en 2 formas:

- a) Parálisis general
- b) Parálisis del intestino

(+) Comunicación personal PhD. Howard T. Dulmage. Cotton
Insect Reserch, Laboratory, .A.R.S. U.S.D.A. Browns
ville Texas 78520 U.S.A.

a) Parálisis general producida por Bacillus thuringiensis (Berlier)

Ha sido estudiada la parálisis causada en Bombyx mori -- (Lineo) por ingestiones de B. thuringiensis variedades sotto, alesti y thuringiensis. El desarrollo de la parálisis es relativamente rápido ya que en este insecto queda completamente incapacitado en 80 minutos después de haber ingerido los cristales. El desarrollo de la parálisis es acompañado de un -- progresivo incremento en la alcalinidad de la hemolinfa, esto es debido a que los cristales actúan sobre el epitelio del intestino medio, alterando su permeabilidad, ocurriendo así un desequilibrio en el pH del intestino medio. El incremento de alcalinidad desarrolla daños en el epitelio del intestino.

(77)

b) Parálisis del intestino producida por Bacillus thuringiensis (Berlier)

Estos síntomas son notados en una amplia variedad de -- lepidopteros infectados con B. thuringiensis y sus diferentes variedades, notándose que se producen los siguientes -- efectos: cesan de comer, ocurren regurgitaciones y una dia

rrea, seguida de estos síntomas y de inmediato ocurre este -- tipo de parálisis, no siendo así en el caso de B. mori. Larvas susceptibles de Lepidoptera fueron examinadas después de la ingestión de esporas y cristales y no se encontró un cambio significativo en el pH de la hemolinfa. El uso de rayos X de mostró que el intestino se había paralizado y la muerte ocurrió de 24 a 48 hrs. posteriores a la infección. (77)

Dispersión.

La habilidad de dispersión de los patógenos o su capacidad para dispersarse a través de la población del hospedero o del medio ambiente de éste es muy importante en la ocurrencia de epizootias entre los insectos. La dispersión en la naturaleza ocurre por varios métodos, tales como movimientos de vectores sanos y hospederos infectados (primarios, secundarios, etc.) al ser transportados sobre los cuerpos de insectos o animales no susceptibles, por factores climáticos y físicos (vientos, lluvias, corrientes de agua, aire).

La automovilidad en los patógenos es muy limitada, y en general los patógenos no poseen propiedades comparables con las capacidades de búsqueda de los parásitos de insec

tos y predadores. (23)

La dispersión por movimiento de los vectores sanos y hospederos infectados primarios y secundarios es uno de los métodos principales de diseminación de patógenos de insectos. Los hospederos infectados pueden distribuir los patógenos mediante sus huevos, deyecciones fecales, regurgitaciones y después de su muerte, sus cuerpos desintegrados pueden depositar los patógenos en el habitat del insectos. (13) (23) (77)

La dispersión de los patógenos puede también efectuarse por la intervención del hombre que en la sección de formulaciones y tamaño del inóculo son mencionados.

Viabilidad.

A fin de que un insecticida microbial sea activo, un microorganismo debe ser viable y virulento. En 1879 Metchnikoff había escrito: " Para una solución práctica del problema de la diseminación de los hongos muscardinos, es sumamente importante conocer que tanto tiempo las esporas verdes preservan su habilidad para germinar "

La viabilidad de Bacillus thuringiensis se ve afectada por

diversos factores abióticos, tales como, la luz solar (ultravioleta), y el pH del suelo, principalmente estos dos factores en aplicaciones de campo. (1) (+)

La viabilidad de B. thuringiensis puede ser disminuida por inapropiados medios de cultivo o propagación (1) (13) (20) (77) (+), o altas y bajas temperaturas durante los procesos fermentativos (13) (20) (77) (+), la no adición de lactosa durante el proceso fermentativo (+), también puede ser -- afectada esta bacteria después de 12 hrs de almacenamiento una vez preparada para la aspersión en el campo (62) (+), además la viabilidad y virulencia de B. thuringiensis puede ser -- afectada en formulaciones, cuyas mezclas de B. thuringiensis se lleven a cabo con insecticidas químicos, tales son los casos de las mezclas efectuadas con Diazinon-Malathión B. thuringiensis. (82)

Mezclas llevadas a cabo de Stirophos-B. thuringiensis han resultado antagonistas (61).

(. +) Comunicación personal PhD. Howard T. Dulmage. Cotton

Insects Research Laboratory, A.R.S., U.S.D.A. - - -

Brownsville, Texas 78520, U.S.A.

Existen diversos factores que afectan la viabilidad de B. thuringiensis, desde su producción industrial, formulaciones y métodos de aplicación en el campo, en realidad, no son muchos los trabajos que traten sobre este tema, (ver tamaño de inóculo y formaciones),

Tamaño del Inóculo (Dosis)

Para determinar el tamaño del inóculo a emplear de B. thuringiensis contra un insecto dado, es necesario tomar en cuenta diversos factores, por ejemplo: susceptibilidad de un "X" insecto a B. thuringiensis, formulación empleada, estado metamórfico del insecto, condiciones ambientales, etc. (1) (13) (20) (23) (77)

El tamaño del inóculo ha sido expresado internacionalmente como las unidades internacionales que son calculados con la fórmula establecida en 1966 en Wageningen por la Comisión de Estandarización de preparaciones basadas en Bacillus thuringiensis (Berlier).

El valor del standard internacional a sido fijado arbitrariamente en 1000 unidades por mg. (6) (12) (26)

$$\text{I/U mg de la muestra} = \frac{\text{LD50 del standard}}{\text{LD50 de la muestra}} \times \text{IU/mg del standard}$$

A. continuación se citan reportes sobre las cantidades empleadas de B. thuringiensis para el control de insectos.

En bioensayos de laboratorio con suspensiones de Dipel, -- producto comercial, equivalentes a 0.5, 1.0 y 1.5 lb de Dipel/acre en 30 galones de agua estéril y a una presión de asper-- sión de 45 lb/ pul². Causaron un 90% de mortalidad en -- Sylepta derogata (Fallen) (Piralidae) en 48hrs un 50% de -- mortalidad se obtuvo con dosis de 1.0 y 1.5 lb de Dipel/acre -- entre las 48hrs y las 60 hrs.

Además, se llevaron a cabo pruebas de campo asperjando -- las concentraciones de 0.5, 1.0 y 1.5 lb de Dipel/acre sobre quimbombó Abelmoschus esculentus (Lineo) en Nigeria, Afri-- ca. La plantación de quimbombó tenían líneas de 18 a 26 plan-- tas por tratamiento. Las dosis utilizadas fueron para contro-- lar Spodoptera littoralis (Fallen), Sylepa derogata (Fallen), Anomis leona (Schaus), Heliothis armigera (Hübner), Earias insulata (Boisduval) y E. biplaga (Boisduval), obteniéndose -- satisfactorios resultados. (2)

Beegle et al (5) reportan un control regularmente efectivo

en Plathypena scabra (F.) utilizando Bacillus thuringiensis --
(Berlier) en dosis de 0.25 lb/acre.

Ignoffo C.M. et al reporta un control del 69-96% en larvas de Heliothis zea (Bodie) utilizando Bacillus thuringiensis var. kurstaki (Berlier). Utilizando 454 g/0.4 ha. se obtuvo un 66% de control y 1814 g/0.4 ha se obtuvo un 85% de control. - Estas pruebas fueron hechas en aspersiones sobre soya. (35)

Mc Gaughey y Kinsinger reportan un 90-100% de control de --
Sitotroga cerealella (Oliver) en pruebas de laboratorio utilizando Bacillus thuringiensis en dosis de 125 a 250 mg de B. thuringiensis /g de dieta. (59)

Macuehey (58) reporta una reducción en la población de -
las palomillas Plodia interpunctella (Hübner) y Ephestia caute-
lla (Walker) en un 92 % y de una disminución mayor al 82%
en el daño producido por larvas al comer. Las dosis emplea-
das fueron de 100, 125 y 150 mg de B. thuringiensis /kg de -
mafz. Estas pruebas fueron efectuadas en almacenes de gra-
nos con una capacidad de 2 m³ . (58)

Yendol (87) reporta disminución en el daño producido por
Porthetria dispar (L.) sobre encino blanco Quercus alba (L.)

y encino rojo Q. borealis (Michx.) con aplicaciones de Bacillus thuringiensis (Berlier) (thuricide HPC) en forma de aspersión con dosis de 16×10^9 de unidades internacionales/acre ó expresando de otra forma: 1 galón y 0.5 gal./acre respectivamente. La disminución en el daño fué de un 25 a 100%. La efectividad de B. thuringiensis en cuanto a reducir la población de larvas de segundo estadio al alimentarse de hojas que contenían B. thuringiensis después de las aspersiones fué de 100% después de 7 días de la aplicación, 97.6% después de 14 días posteriores a la aplicación, 100% a los 23 días de la aplicación y 100% a los 29 días posteriores a otra aplicación. (87)

Hall (30) reporta mortalidades del 100% en larvas del -- primer estadio de Harrisina brillianis (Barnes and Mc D.) y en larvas de segundo y tercer estadio entre un 46 y 75% de mortalidad efectuando aplicaciones en viñedos de Bacillus thuringiensis en forma de aspersión (30).

Charpentier (16) reporta un control efectivo en Diatraea saccharalis (F.) en pruebas de campo y de laboratorio en los cuales se aplicó Bacillus thuringiensis var. alesti (Dipel HD-1) mostrando un buen control en larvas de segundo y tercer estadio. En pequeños lotes experimentales se obtuvo un-

91 % de control con 3 aplicaciones con intervalos de 21 días entre cada aspersión. En aplicaciones aéreas, se obtuvo un 86% de control con 3 aplicaciones con intervalos de 21 días entre cada aspersión. (50)

Bishop (7) reporta un control efectivo de Thyridopteryx -- ephemeraformis (Haworth) obtenido, con asperciones de Bio-- trol XK sobre cedros Juniperus spp. utilizando dosis de 4, 2, 1 y 0.5lb/100 gal. de agua, con estas dosis se obtuvo cerca de - un 100% de control a excepción de 0.5 lb/100 gal. de agua que obtuvo un 72.5% de control. (7)

Lewis et al (52) reporta un control efectivo de Porthetria- dispar (L.) efectuando aplicaciones aéreas de B. thuringiensis sobre este insecto utilizando una formulación de Dipel 1 lb, -- Cargill base insecticida 2 qt., Chevron Spray adherente 6 fl oz, 2 galones de agua, toda esta formulación fué aplicada en 2 galones/acre. De la misma forma fué preparada la formulación - con Thuricide a excepción que ésta llevó 2 qt. de Thuricide.

Se reporta un 99.6% de mortalidad de larvas de P. dispar - con Dipel y un 99.4% de mortalidad con Thuricide. (52)

Kaya (47) reporta que en pruebas efectuadas en laboratorio

con Thuricide HPC y Dipel con una concentración de 1.80 billones de unidades internacionales (BIU)/100 gal. de agua y Biotrol XK con 3.74 BIU/100 gal. fueron efectivos para controlar en los cinco estadios larvarios de Anisota senatoria (J.E. - - Smith), al aplicar Biotrol XK 7.48 BIU/100 gal. ó 2.20 lb/100 gal. se obtuvo un 96.7% de mortalidad de A. senatoria, el mismo porcentaje de mortalidad se obtuvo al aplicar 3.74 BIU/100 gal. ó 1.10 lb/100 gal. Al aplicar DIPEL 7.26 BIU/100 gal. ó 1.0 lb/100 gal. se obtuvo un 90% de control, con 0.50 lb./gal. ó 3.43 BIU/100 gal. se obtuvo un 100% de control. Al aplicar Thuricide HPC 1.80 qt/100 gal. ó 7.20 BIU/100 gal. se obtuvo un 100% de control, siendo igual el control al aplicar dosis de 0.90 qt/100 gal. ó 3.60 BIU/100 gal. (47)

Harper y Abrahamson (32) determinaron en pruebas de -- campo, aplicando formulaciones de B. thuringiensis (Dipel y - Thuricide) para el control de Malacosoma disstria (Hüber) - sobre Nyssa aquatica (L.) y se obtuvieron alta mortalidad de larvas y una prevención mayor del 20% en daños al forraje en lotes de 4.0 y 8.1 ha. Utilizándose una concentración de Dipel WP de 8.6 BIU/ha, Dipel LC de 4.8 y 9.6 BIU/ha, Thuricide - 16B de 9.6 BIU/ha. (32)

Dulmage T.H. et al (25) enuncian que B. thuringiensis -- Gamma endotoxina (H.D-1) es efectiva en el control Tricho-- plusia ni (Hübner) en pruebas de campo cuya formulación fué de 1.1 y 4.5×10^9 BIU/acre y aplicaciones de 2.2 y 4.5×10^9 BIU/acre fueron equivalentemente efectivas después de una semana de la primera aplicación.

Virulencia.

Existe una diferencia sutil pero importante entre los términos virulencia, infecciosidad y patogenicidad. Considerando que en la literatura estas palabras se usan a menudo indiscriminadamente es conveniente definir su significado.

Virubencia: Es la capacidad relativa de un microorganismo para vencer las defensas corporales del huésped. (1)

Patogenicidad: Es la capacidad para ocasionar la enfermedad -- (reacción, mórbida del hospedero) y es una cualidad fija inherente al microorganismo en relación con cada hospedero potencial que se considere. (1) La mejor estimación de la patogenicidad de un microorganismo para su hospedero dado, es la determinación de su LD50 (23)

La virulencia de B. thuringiensis es atribuida a 4 compuestos tóxicos que se forman en la célula bacterial o en el medio de cultivo.

- α exotoxina: El producto tóxico es la fosfolipasa C.
- β exotoxina: Ha sido aislada en medio de crecimiento bacterial y se ha reportado 1:1:1 radio de adenina ribosa y fósforo. El modo de acción de la β exotoxina parece ser que inhibe los nucleotidasas y el DNA dependiente de los polimerasas del RNA involucrados con ATP, impidiendo la síntesis del RNA.
- γ exotoxina: La estructura molecular se desconoce.
- δ entodoxina: Contiene un cuerpo paraesporal cristalino, es termolábil y soluble en soluciones alcalinas. El cristal proteico es sintetizado por aminoácidos derivados del crecimiento de la célula vegetativa durante la esporulación. La estructura integral del cristal es probablemente debido a el enlace prote-

fnas-silicones y esterres. Esta endo-
toxina funciona en intestinos alcalinos
de larvas de lepidóteros. Al infectar
se las larvas estas dejan de comer -
debido a una parálisis del intestino -
que ocurre en pocos minutos después
de la ingestión de los cristales. (20)
(Para mayor información ver desa--
rrollo de la infección producida por -
B. thuringiensis)

Los insectos son tan variables que -
los cambios en el huésped pueden tener mayor significación que
los cambios en el patógenos específicos. (1) Los aumentos en
la virulencia de los microorganismos patógenos de insectos pue-
den ser después de:

- a) Pasar los patógenos a través de insectos sus-
ceptibles ó posiblemente otros animales.
- b) Causando que se disocie el patógenos en va--
riedades más virulentas.
- c) Mezclar especies patógenas antes de introdu-

cirlos al huésped.

d) Mezclar patógenos con sustancias como almidón o mucina que protegen a los patógenos -- contra posible daño por falta del contenido del intestino y de los materiales de defensa.

e) Mezclar con agentes sinergistas.

Los microorganismos patógenos pueden sufrir pérdida de virulencia por:

a) Disociación forzada hacia formar baja y -- altamente virulentas.

b) Condiciones de cultivo que son anormales.

c) Paso a través de hospederos inadecuados.

d) Cultivo a temperaturas anormalmente bajas o altas. (1) (20) (23) (77)

Hospederos de Bacillus thuringiensis (Berlier):

Esta bacteria formadora de endospora ataca a más de 100 - especies, muchas de ellas de importancia económica. (77) A continuación se citan algunas especies, en las cuales se ha utilizado con éxito B. thuringiensis para controlar las poblaciones

de dichos insectos en diferentes formulaciones empleadas en el campo, a excepción del gusano de seda Bombyx mori (L.) -- que sólo es reportado como hospedero de B. thuringiensis.

Cuadro 7. - Hospederos de Bacillus thuringiensis. (Berlier)

<u>Nombre científico</u>	<u>Cita</u>
<u>Abelomoschus esculentus</u> (Lineo)	(2)
<u>Acleris variana</u>	(13)
<u>Alabama argillacea</u>	(6)
<u>Alosophila pometaria</u> (Harris)	(13) (49)
<u>Anagasta kühniella</u> (Zeller)	(77)
<u>Anomis leona</u> (Schaus)	(2)
<u>Anomis insulata</u> (Schaus)	(2)
<u>Anticarsia gemmatalis</u>	(6)
<u>Archips argyrosphilus</u>	(13)
<u>Anisota sentaoria</u> (J.E. Smith).	(47)
<u>Antigrasta catalaunalis</u>	(6)
<u>Aporia crataegi</u>	(13)
<u>Bombyx mori</u> (Lineo)	(77)
<u>Brassolis sophorae</u>	(6)

(Continuación)

<u>Nombre científico</u>	<u>Cita</u>
<u>Caligo ilineus</u>	(6)
<u>Ceramidia sp</u>	(13)
<u>Clysia ambiguella</u> (Hübner)	(77)
<u>Colias eurytheme</u> (Boisduval)	(13) (77)
<u>Desmia funeralis</u>	(13)
<u>Diatrea saccharalis</u> (Fabricius)	(16)
<u>Earias biplaga</u> (Boisduval)	(2)
<u>E. insulata</u> (Boisduval)	(2)
<u>Ephestia cautella</u> (Walker)	(58)
<u>Ephestia elutella</u> (Hübner)	(77)
<u>Erannis defoliaria</u>	(13)
<u>E. tiliaria</u>	(13)
<u>Erinnis ello</u>	(6)
<u>Estigmene acrea</u>	(6) (13)
<u>Euproctis chrysorrhoea</u>	(13)
<u>Gelechia gossypiella</u> (Saunders)	(77)
<u>Harrisma brillians</u>	(30)
<u>Hedya nubiferana</u>	(13)
<u>Herse cingulata</u>	(6)
<u>Heliothis armigera</u> (Hübner)	(2)

<u>Nombre científico</u>	<u>Cita</u>
<u>Heliothis virescens</u>	(6)
<u>H. Zea</u> (Bodie)	(6) (13) (35)
<u>Lipeurus caponis</u> (Lineo)	(33)
<u>Hyphantria cunea</u>	(13)
<u>Hyponomeuta malinellus</u>	(13)
<u>Lymantria</u> (<u>Porthetria</u>) <u>dispar</u>	(13)
<u>Mocis latipes</u>	(6)
<u>M. punctualis</u>	(6)
<u>Malocosoma fragile</u>	(13)
<u>M. disstria</u> (Hubner)	(32)
<u>M. neustria</u>	(13)
<u>Manduca quiquemaculata</u>	(13)
<u>M. sexta</u>	(6) (13)
<u>Menacanthus stramineus</u> (Nitzsch)	(33)
<u>Menopon gallinae</u> (Lineo)	(33)
<u>Musca autumnalis</u> (De Geer)	(86)
<u>M. domestica</u> (L.)	(86)
<u>Oiketicus kirbi</u>	(6)
<u>Operophtera brumata</u>	(6)
<u>Opsiphanes cassina</u>	(6)

(Continuación)

<u>Nombre científico</u>	<u>Cita</u>
<u>O. numatius</u>	(6)
<u>O. sp</u>	(13)
<u>Orgyua pseudotsugata</u> (Mc Dunnoug)	(61)
<u>Ostrinia nubilalis</u>	(13) (34) (54)
<u>Paleacrita vernata</u>	(13)
<u>Papilo cresphontes</u>	(13)
<u>Phygandia californica</u>	(13)
<u>Phthorimaea operculella</u>	(6)
<u>Pieris brassicae</u>	(13)
<u>P. rapae</u>	(13)
<u>P. sp</u>	(6) (77)
<u>Platynota sp</u>	(13)
<u>Platypena scabra</u> (Fabricius)	(5)
<u>Plusia sp</u>	(6)
<u>Plodia interpuntella</u> (Hübner)	(58)
<u>Plutella maculipennis</u>	(13)
<u>Plutella sp</u>	(6)
<u>Prays citri</u>	(13)
<u>P. oleae</u>	(13)
<u>Prodenia litura</u> (Fabricius)	(77)

(Continuación)

<u>Nombre científico</u>	<u>Cita</u>
<u>Pseudoplusia includens</u>	(6)
<u>Porthetria dispar</u> (Lineo)	(52) (87)
<u>Pyrausta</u> (<u>Ostrinia</u>) <u>nubilalis</u> (Hübner)	(77)
<u>Sibine fusca</u>	(6)
<u>Sitotroga cerealella</u> (Oliver)	(59)
<u>Sparganothis pilleriana</u> (Schiffernüller)	(77)
<u>Spilonota ocellana</u>	(13)
<u>Spodoptera frugiperda</u> (J.E. Smith)	(6)
<u>S. eridiana</u>	(6)
<u>S. littoralis</u> (Fallen)	(2)
<u>S. ornitogalli</u>	(6)
<u>Stenoma cecropia</u>	(6)
<u>Sylepa derogata</u> (Fallen)	(2)
<u>Thamnonoma wauaria</u>	(13)
<u>Thymelicus lineola</u>	(13)
<u>Thyridopteryx ephemeraformis</u> (Haworth)	(7)
<u>Trichoplusia ni</u>	(6) (13) (25) (74)
<u>Tortrix viridana</u>	(13)

Susceptibilidad del hospedero.

La inmunidad que presente un insecto a los microorganismos

patógenos de insectos, en los cuales se incluye a B. thuringiensis puede variar por diversas causas, tales como :

- a) El hospedero a infectar.
- b) Estado metamórfico del hospedero
- c) Inmunidad que presente el hospedero por --
diversos factores, que se denotarán en el -
capítulo inmunidad del hospedero.
- d) Virulencia del patógeno.
- e) Viabilidad del inóculo (patógeno)
- f) Tamaño del inóculo (dosis del patógeno)
- g) Formulación del inóculo (patógeno)
- h) Métodos de aplicación en pruebas de labora-
torio y de campo (ver tamaño del inóculo
y formulaciones)

En realidad son extensos los factores por los cuales un in-
secto puede presentar susceptibilidad a B. thuringiensis.

(1) (2) (5) (7) (13) (16) (17) (20) (23) (25) -
(26) (30) (32) (33) (34) (35) (47) (49) (51) --
(52) (54) (57) (58) (59) (61) (74) (76) (77) --
(81) (82) (86) (87)

Inmunidad del hospedero.

La inmunidad que presente un insecto a los microorganismos patógenos de insectos puede citarse de 4 formas (1) - - (13) (23) (67) (76) (77)

1. - Inmunidad celular:

Metchnikoff fué el descubridor de la capacidad de las células sanguíneas libres para absorber a los organismos invasores; él utilizó la pulga de agua, Daphnia sp. y determinó que existía fagocitosis.

Los hemocitos responden a la mayor parte de materiales extraños que se introducen a la cavidad corporal (hemocele). Los hemocitos son células " sanguíneas " de los insectos quienes más correctamente deberían llamarse células hemolinfáticas o células hemolinfáticas. Los hemocitos son atraídos en la hemolinfa hacia objetos vivos o inanimados que no tienen la cubierta específica que cubre todos los tejidos de un insecto específico.

A las partículas extrañas en la corriente de la hemolinfa los encierra una masa de células hemolinfáticas que depositan so

bre el objeto extraño una capa de mucopolisacárido y al mismo tiempo recubre con melanina a los objetos vivientes. Por lo general esta capa mata al organismo extraño, previniendo así la proliferación de este, posteriormente ocurre la deposición de la capa, en la cual casi todos los fagocitos circundantes se dispersan en el hemocele (cavidad corporal).

2. - Inmunidad humoral:

La inmunidad humoral en los insectos no ha sido descrita precisamente como en los vertebrados quienes poseen anticuerpos específicos como lo son los aglutininas, anticuerpos complejo-fijadores, opsoninas, antitoxinas y bacteriolisinas.

Existe la evidencia de la presencia de una pequeña molécula en la homolinfa de los insectos que posee un efecto lisigénico sobre la bacteria y esta acción se puede relacionar con la melanización en la hemolinfa del insecto. La hemolinfa larvaria -- del gusano de seda Bombyx mori (L.) se melaniza durante el almacenamiento en frío y pierde sus propiedades antibacteriales proporcionalmente; en cambio la hemolinfa de Galleria mellonella (L.) que ha sido inmunizado contra Pseudomonas sp. no se melaniza al exponerse al aire.

Es necesario investigar algunas explicaciones de éstos y --
otras observaciones similares, tales como:

- a) El proceso de formación de melanina retiene los compuestos fenolíticos que por lo común están libres en la hemolinfa y los fenoles son germicidas no específicos.
- b) Las proteínas quedan ligadas a la melanina y luego salen de la solución durante el proceso de melanización.

3. - Inmunidad adquirida activamente.

Se ha intentado inmunizar insectos con la mayoría de los -
antígenos efectivos en mamíferos, incluyendo toxoides, vacunas
preparadas con microorganismos atenuados, microorganismos -
muertos con calor o sustancias químicas y varios extractos de
microorganismos patógenos. Los resultados de la mayor parte
de los experimentos son dudosos, excepto cuando se emplean -
las vacunas. El consenso de que los insectos desarrollan inmu-
nidad no específica hacia algunas bacterias después de una se--
rie de inyecciones de vacunas preparadas a partir del cultivo -
de bacterias, esta inmunidad dura poco, rara vez más de 3 ó 4

dfas. La inmunidad adquirida activamente se puede decir que - en casi nula o tal vez nula completamente.

4.- Inmunidad adquirida pasivamente.

Sobre este tipo de inmunidad permanece casi sin investigar, sin embargo se ha reportado que es posible transferir hemolinfa de insectos vacunados y obtener protección de corta duración en insectos que reciben la hemolinfa de los insectos vacunados.

Formulaciones.

Las formulaciones de Bacillus thuringiensis (Berliet) empleadas para el combate de insectos perjudiciales a cultivos, que ocasionan daños a los animales domésticos y silvestres, daños a las vías de comunicación, a la vivienda, a plantas ornamentales y a el hombre directamente, es muy variado, las formulaciones empleadas para " X " insecto dependen de muchos factores, tales como: el insecto a controlar, estado metamórfico, susceptibilidad del mismo, dosis a emplear, condiciones climatológicas viabilidad del patógeno, fase logarítmica de crecimiento de B. thuringiensis en medio de cultivo, medio de cultivo utilizado para la producción de B. thuringiensis, variedad utilizada de este

patógeno, métodos de aplicación, dispersión del patógeno, en realidad son extensos los factores que se deben de manejar para llevar a cabo una formulación adecuada, que pueda en un momento dado controlar un insecto en cuestión. (1) (13) - (20) (23) (77)

A continuación se enuncian formulaciones empleadas de B. thuringiensis en diferentes campos de combate de insectos.

Esta bacteria formadora de endospora y patógeno de más de 100 especies de insectos (77) puede ser preparada en diferentes formulaciones, según sea el caso. (13)

Formulaciones líquidas:

B. thuringiensis puede ser preparado en tres formulaciones líquidas que a continuación se enuncian:

- a) en agua
- b) en aceites
- c) Emulsiones (agua en aceite)
(cremas) (aceite en agua)

Formulaciones sólidas:

- a) Polvo espolvoreable
- b) Polvo humectable
- c) Granulado

46

Formulaciones semi-sólida:

Espumas

Bacillus thuringiensis (Berlier) ha demostrado compatibilidad con insecticidas químicos tales como carbamatos, organofosforados y clorados en formulaciones efectuadas para el control de insectos tanto en laboratorio como en el campo. (5) (13) (17) (23) (33) (34) (77) (81) (82)

Lynch et al (54) en formulaciones efectuadas en forma granular, espumosa y líquida de Bacillus thuringiensis var. kurstaki en cultivos de maíz para controlar Ostrinia nubilalis (Hübner) reportan que la formulación granular fué la que obtuvo mayor persistencia en el campo y eficacia en el control. (54)

Hudon (34), en 1961 reporta que dos preparaciones de B. thuringiensis, Thuricide (30×10^9 esporas/g) y Bakthane L-69 (75×10^9 esporas/g.) usados en polvo humectable y aplicados en aspersión fueron comparados y en algunos casos mezclados -

con DDT, Sevin, Kepone, Dylox, EPN, Zectran, Bayer 44646, Thiordan, para controlar Ostrinia nubilalis (Hübner) obteniéndose que el DDT, Sevin, y Dilox redujeron el número de larvas en las plantas tratadas en un 72% o más, Bakthane L-69 - DDT mezclados con Thuricide redujeron en un 69% la población de larvas. Sevin, Zectan, Kepone y Bekthane L-69 redujeron de un 54.7% a un 64.3%, EPN redujo el número de larvas de un 80.9% a un 89.3%. Kepone, Zectran y Bakthane L-69, -- DDT mezclados se redujeron de un 72,4% a un 78.6%. Sevin - 68.1% Thiordan 53.3%.

Cabe mencionar que B. thuringiensis es razonablemente -- efectivo en el control de O. nubilalis pero no significativamente mayor que los insecticidas químicos (34)

Sutter et al (82), encontraron que existe compatibilidad de carbamatos y organosfosforados con B. thuringiensis al agregar Aldrin, Heptacloro y DDT en cultivos de caldo nutritivo en rangos de 2.25 y 4.5 ppm. Solamente la mezcla de Diazinon y Malathión que contenían 550 ppm produjeron un trastorno en la propagación de B. thuringiensis en caldo nutritivo (82).

Smith et al (74) encontraron que la adición de sucrosa a la algina protectora UV o la adición de alcohol polivinílico y -

la algina UV en formulaciones de B. thuringiensis aumentaron - su efectividad sobre el control de Trichoplusia ni (Hübner) - Reportando que la mejor formulación fué la de alcohol polivinylíco algina protectora UV - Sucrosa (74)

Chen et al (17), reportan que varios organofosforados y - carbamatos fueron mezclados en formulaciones de 2 preparaciones comerciales de B. thuringiensis, Biotrol XK y Phosmet, Methomyl y Carbofuran no tuvieron efectos sobre la viabilidad de las esporas de las dos preparaciones de B. thuringiensis. Carboryl se comportó de forma sinergista; Stirophos se comportó antagonista.

Neisses (61), reporta que en 2 preparaciones comerciales de B. thuringiensis Dipel SC y Thuricide 32B fueron mezclados con agua que posea rangos de pH de 1-13 o de agua que contenga concentraciones de 0.0-100 ppm de concentraciones de cloro puro. Estas formulaciones fueron utilizados en bioensayos para controlar Orgyia pseudotsugata (Mc Dunnough). Las propiedades naturales de amortiguación de pH de los productos de B. thuringiensis causaron que el pH de las mezclas con agua fuera equivalente a las suspensiones, excepto en los dos extremos de pH 1 y 13.

No hubo efectos de disminución en la actividad de B. thuringiensis en los rangos de pH de las pruebas, la actividad generalmente declinó con el tiempo de almacenamiento. Las concentraciones de cloro de 0.0-100 ppm no tuvieron efectos sobre la actividad de las suspensiones de B. thuringiensis. (61)

Stern et al (81), reportan que en aplicaciones comerciales sobre alfalfa para controlar 3 especies de lepidopteros, en aplicaciones se utilizaron Bacillus thuringiensis (Berlier) (Thuricide S.S. con un mínimo de 15×10^9 esporas viables/gramo) en dosis de un 1/8 de galón/acre, además se aplicaron Naled y trichlorfon en 7.2 y 8 onzas respectivamente por acre. Las aplicaciones se efectuaron en 100 acres de alfalfa en forma de aspersión aérea. Se encontró que ambas dosis de Thuricide y de Naled y trichlorfon tuvieron un excelente control hasta de un 100% en Colias eurytheme (Boisdual) (81)

Mc Gauchey (57), reporta que larvas de Ephestia cautella (Walker) fueron altamente susceptibles a B. thuringiensis al ser expuestas a una concentración de 6.25, 25 y 100 mg de formación/g de dieta la formulación fué hecha con Dipel, 100 g de Dipel/10 ml. de agua estéril. Las larvas de E. cautella que fueron más susceptibles fueron las de primer estadio y los

demás estadfos en menor escala.

Además larvas de Plodia interpunctella (Hübner) mostraron alta susceptibilidad durante el primer y segundo estadfo y en -- menor escala hasta antes del cuarto estadfo. (57)

Hoffman y Gringrich (33), reportan que en formulaciones comerciales de Bacillus thuringiensis (Berlier) en forma de polvo humectable tuvieron un eficiente control sobre los piojos de la gallina Menacanthus stramineus (Nizch), Menopon gallinae (L.) y Lipeurus caponis (L.) en aplicaciones efectuadas sobre gallinas Leghorn. Se utilizó como fuente de B. thuringiensis Bakthane L-69 (75×10^9 esporas unidades/g.) resultado que una o más aplicaciones de 3.5 g. de Bakthane L-69 por ave demostraron un buen control. (33)

A continuación se enuncian aditivos que son empleados para la formulación de B. thuringiensis (13)

Cuadro 8.- Aditivos de Bacillus thuringiensis (Berlier)

Diluyente (Polvos espolvoreables)

Compatibilidad

Pyrofylita

Rec.

(Continuación)

Diluyente (Polvos espolvoreables)Compatibilidad

Talco

Rec.

Celita

Rec.

Yeso

Rec.

Almidón

Rec.

Silicatos sintéticos

Rec.

Kaolina

Rec.

Atapulgita

Rec.

Lactosa

Lab.

Agentes humectables y esparcidoresCompatibilidad

Alkyl fenoles

Campo

Vatsol OT

Lab.

Sandovit

Lab.

Novemol

Campo

Petro A.G.

Campo

Coloidal X 77

Campo

Triton X 114

Campo

Triton X 155

Lab.

(Continuación)

Agentes humectables y esparcidoresCompatibilidad

Igepal CO-630

Lab.

Adhesivos y GomasCompatibilidad

Aleurita

Campo

Arabol E 77L

Rec,

Melaza

Rec.

Leche en polvo descremada

Rec.

Glutolina

Campo

Methocel

Lab.

Latex polivinylícos clorados

Campo

Jarabe de maíz

Campo

Latex D.

Campo

Geon Latex 652

Rec.

Plyac

Lab.

Caseína

Lab.

Folicot

Lab.

Lovo 190

Lab.

Lovo 192

Lab.

(Continuación)

EmulsificantesCompatibilidad

9 D 207

Campo

Pinolene 1882

Lab.

Tween 80

Campo

Span 80

Campo

Triton B 1956

Campo

Constituyentes de cebosCompatibilidad

Sedimentos de harina de maíz

Rec.

VariosCompatibilidad

Cloruro de sodio

Campo

Acido propiónico

Campo

Xyleno

Campo

Acido bórico

Lab.

Lab.: En pruebas de laboratorio no se reporta que el aditivo

(Continuación)

sea dañino para B. thuringiensis

Rec: El uso del aditivo no se ha recomendado, pero no --
existen evidencias que dañen a B. thuringiensis, presu-
miblemente sea inofensivo.

Campo: Se han obtenido resultados en pruebas hechas en el --
campo, en las cuales el aditivo no reduce significati-
vamente la efectividad de B. thuringiensis.

Cuadro 9. - Compatibilidad de Bacillus thuringiensis (Berlier)
con parasiticidas. (13)

InsecticidasCompatibilidad

Azinphosmetil	B
Bidrin	B
Carbaryl	A
Carbophenothion	A
DDT	A
Demeton	A

(Continuación)

<u>Insecticidas</u>	<u>Compatibilidad</u>
Diazinon	A
Dieldrin	A
Dinitrocresol	A
Endosulfan	A
Endrin	B
Malathion	B
Mevinphos	B
Naled	A
Parathion	A
Parathion metílico	A
Phosphamidon	B
Piretrinas	B
Rotenona	B
Ryania	A
Strobane	B
TDE	B
Trithion metílico	B
Toxafeno	A
Trichlorfon	A

FundicidasCompatibilidad

Acetato fenil mercurio	A
Azufre	A
Captan	A
Cloranil	A
COCS	A
Daconil	B
Difolatan	B
Dichlone	A
Dimetoato	B
Dithane M 22, M45, Z78	B
Dyrene	B
Dodine	A
Ferbam	A
Folpet	B
Maneb	A
Oxicloruro de cobre	A
Thiocarbamatos	A
Zineb	A
Ziram	A

AcaricidasCompatibilidad

Aramita	B
Difocol	A
Tetradifon	B

A; Se obtuvieron buenos resultados en pruebas de campo y el parasiticida no redujo significativamente el efecto de B. thuringiensis.

B; El uso del parasiticida no se ha recomendado, pero no -- existen evidencias que dañen a B. thuringiensis, presumida mente sea inofensivo.

Productos comerciales de Bacillus thuringiensis (Berlier)

Actualmente B. thuringiensis es producido industrialmente y aplicado comercialmente en algunos países, existen diversos laboratorios que producen diferentes variedades y serotipos de B. thuringiensis (13) (77). A continuación se citan:

Cuadro 10. - Productos comerciales de Bacillus turingiensis - -
(Berlier).

Producto	País	Laboratorio
Agritol	U. S. A.	Merk
Bactospeine	Francia	Roger Bellon, Péchi ney Progil
Bactospeine	Francia	Roger Bellon, Rhone Poulec
Bactospeine IP 54 ^a	U. S. A.	Rhom and Hass Co.
Bakthane L-69 ^b	U. S. A.	Rhom and Hass Co.
Baktukai	Checoeslovaquia	Spolana n. p.
Biospor 2802 ^c	Alemania	Nutrilite Hoeschst
Biotrol B + B ^d	U. S. A.	Nutrilite
Dendrobacillin	U. R. S. S.	At Novosibirsk
Dipel	U. S. A.	Abbott
Entobakterin 3 ^e	U. R. S. S.	Near Moscow
Parasporine ^f	U. S. A.	Grain Proc.
Plantibac	Francia	Procida
Sporeine ^g	Francia	L. I. B. E. C.
Thuricide ^h	U. S. A.	Bioferm Co.

a. - Producto del Instituto Pasteur, France; b; producto de Rhom
and Haas Co., Philadelphia, Pennsylvania, U. S. A. c; produc

to del Instituto Pasteur, Francia; d: producto de Nutrilite Products Inc., Buena Park, California, U.S.A.; e: producto del Laboratorio Microbiológico de la Unión de Institutos para la protección de las Plantas (VIZR) U.R.S.S. - - - f: producto de Grain Processing Corporation, Muscatine, Iowa, U.S.A.; g: producto de Laboratoire L.I.B.E.C., París, Francia; h: producto de Bioferm Corporation, Wasco, California, U.S.A.

Efectos sobre el hombre y animales domesticos.

El uso convencional de los insecticidas químicos y el riesgo de salud que se corre al usarlos es bien reconocido. Los insecticidas microbiales basados en Bacillus thuringiensis - - (Berlier) no ocurren así, sin embargo cabe mencionar que las variedades de B. thuringiensis que producen la beta exotoxina son patógenos para el hombre. (+)

Existen considerables evidencias de que Bacillus thuringiensis var. thuringiensis no indican patogenicidad en mamíferos,

(+) Comunicación personal PhD Howard T. Dulmage, noticia recibida al parecer en un congreso internacional de Microbiología celebrado en febrero de 1980.

Incluyendo a el hombre.

En pruebas efectuadas con mamíferos incluyendo ratas, caballos, perros, cerdos de guinea, vacas, puercos y borregos no mostró patogenicidad B. thuringiensis var thuringiensis - - (13) (23) (50) (77) (78)

Se han efectuado extensas pruebas sobre la patogenicidad de Bacillus thuringiensis var thuringiensis sobre el hombre (77) (78), se han llevado a cabo pruebas con 80 personas, las - - cuales han ingerido 3×10^9 esporas por gramo de polvo (de formulaciones aplicados en insectos) diariamente durante 5 - - días y no se ha determinado alteración en las funciones o capacidad del cuerpo de las personas tratadas, paralelamente se han llevado a cabo pruebas de inhalación y han tenido resultados patogénicos negativos en el hombre.

Se han incluido en pruebas aves: patos y gallinas, después de darles a ingerir 0.5 a 1.0 mg. de B. thuringiensis durante 23 meses no se determinó daño alguno.

Además se han llevado a cabo pruebas con peces y hasta - el momento no se ha determinado daño alguno (77).

MATERIALES Y METODOS

La metodología que se cita a continuación se divide en cinco etapas:

- 1.- Muestreo de campo para obtener estadísticas sobre la incidencia de patógenos e insectos parásitos que en forma natural diezman las poblaciones de Spodoptera frugiperá - - - (J. E. Smith) en Marín, N. L.
- 2.- Aislamiento e identificación de bacterias obtenidas en muestras de larvas de S. frugiperda.
- 3.- Bioensayos para determinar la eficiencia de control por bacterias aisladas de larvas infectadas por Pseudomonas sp., -- Klebsiella pneumoniae y Corynebacterium sp.
- 4.- Bioensayos para determinar la eficiencia de control por - - Bacillus thuringiensis (Berlier) aislada de muestras de -- suelo.
- 5.- Estudios de intestino medio de larvas sanas en microscopio fotónico o de luz y microscopio electrónico.

Materiales utilizados.

Cuadro 11. - Cristalería Pyrex

Cantidad	Tipo	Capacidad
250	Tubos de ensaye	130 ml.
4	Matraz	1000 "
6	Matraz	500 "
6	Matraz	250 "
3	vaso de precipitado	1000 "
5	vaso de precipitado	500 "
5	" "	250 "
2	" "	100 "
2	" "	50 "
10	Pipetas	10 "
10	Pipetas	5 "
5	Pipetas	1 "
1	Probeta	1000 "
3	Probeta	500 "
3	"	250 "
3	"	100 "

Cantidad	Tipo	Capacidad
3	Probeta	50 ml.
36	Caja Petri	
15	Caja Spray	

Cuadro 12. - Materiales diversos.

Cantidad	Tipo
10	Gradillas porta tubos de ensayo.
4	Asas microbiológicas.
4	Mecheros Bunsen
4	Telas de asbesto
4	Soportes porta vasos de precipitado.
1	Equipo de disección Fisher Scientific.
100	Pipetas Pasteur, Soda Lime Glass, 14.6 cm de largo.
5	Rollos masking-tape Scotch.

(Continuación)

Cantidad	Tipo
15	Rollos de gasa Johnson -- 91 x 91 cm.
3	Paquetes de algodón de - 500 gr.
29	Medios de cultivo DIFCO (se citan en pruebas bio- químicas).
100	Protaobjetos de 26x76 x 1 mm.
100	Cubre portaobjetos de 22 x 22 mm.
200	viales de 16.75 x 60 mm con tapas.
4	Rollos de papel aluminio Reynolds Wrap 45 cm x 15 mm.
1	Paquete de 100 placas fo- tográficas Kodak Electron Microscope Film 4489.
1	Bolsa revelador Kodak pa-

(Continuación)

Cantidad	Tipo
1	ra placas D-19. Bolsa revelador Kodak -- Dektol.
1	Bolsa fijador Kodak.

Cuadro 13. - Instrumentos.

- Potenciometro Corning mod. 10
- (2) Balanza gravimetrica Ohaus
- Agitador magnético Corning mod. PC 353
- (2) Incubadora Precisión Scientific mod. GSA, 75 -
watts.
- Cámara de transferencia.
- (2) Therm-o-plate, Precisión Scientific
- Estereo 20X, American Optical Co.
- Microscopio Fótico, Carl Zeiss mod. Standard
Junior.
- Electric Print Dryer, Arkay mod. A-25, 120 -
watts.
- (2) Ollas de presión Presto, 20 atmósferas.

(Continuación)

Refrigerador de 270 dm³

Ultramicrotomo Porter-Blum Sorvall mod. MT-1

Microscopio Electrónico, Carl Zeiss mod. - -
EM-9S-2. a

Cámara fotográfica Nikon 35 mm mod, EM

Metodología.

Primera etapa.

Se utilizó para la toma de muestras un lote experimental de 100 x 100 m localizado en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Marín, N.L. Km. 17 Carretera Zuazua-Marín.

En dicho lote experimental se sembró maíz (Zea mays L.) variedad Ranchero, durante el ciclo de tardío, correspondiente a fecha 15 de Julio de 1977.

La preparación del suelo para la siembra se efectuó inicialmente con un barbecho a una profundidad de 30 cm, en segunda instancia se llevó a cabo un rastreo simple con la finalidad de mullir o desmoronar " terrones "; seguido después se efectuó el surcado a una distancia entre surcos de 92 cm. y juntamente -

se efectuó el bordeo.

La siembra fué manualmente o a " golpe " y se llevó a cabo con un riego de pre-siembra. La semilla utilizada posefa un 85 % de semilla pura viable. La densidad de siembra fué de 20 Kg/Ha, la separación entre plantas, era aproximadamente de 30 cm.

Se efectuaron tres riegos: el primero de pre-siembra; el segundo 30 días después de la emergencia de las plántulas; el tercer riego se llevó a cabo a los 35 días posteriores del segundo riego. Utilizándose para estos láminas de riego de 15 cm, - - 15 cm y 10 cm, respectivamente.

Para permitir un mejor desarrollo del cultivo, se llevaron a cabo 2 deshierbes manuales y con azadón, el primero se - - efectuó a los 32 días de emergencia de las plántulas; el segundo deshierbe se llevó a cabo a los 37 días posteriores al primero.

Durante todo el desarrollo del cultivo no se efectuaron aplicaciones de parasiticidas.

El lote a muestrear fué dividido en parcelas de 10 x 10 m, para cada toma de muestras, se procedió anticipadamente a --

sortear 10 parcelas de un total de 100. (75) El tamaño de cada muestra fué de 5 larvas, por lo cual en cada muestreo efectuado se colectaban 50 larvas promedio de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith).

¹ Se realizaron 8 muestreos; los materiales utilizados se citan a continuación: gradilla de madera de 72 x 56 cm, con capacidad para 80 frascos en la cual cada celda contendría a un frasco, las celdas tenían un diámetro de 5 cm. Los frascos utilizados fueron de cristal con unas dimensiones de 4.5 x 3.75 cms, éstos frascos contenían dieta artificial con un volumen de 3 ml. Individualmente cada larva fué tomada de la planta y -- vertida a su frasco correspondiente con isopos esterilizados y éstos a su vez desechados, una vez tomada la larva.

Las larvas que fueron tomadas en los muestreos se llevaron al laboratorio para ser revisadas diariamente durante la mañana de 7:00 a 9:00 A.M. y por la tarde de 5:00 a 7:00 P.M., esto fué en base a sintomatología y cambios morfológicos post-mortem (23), como se puede observar en las figuras 3, 4, 5, 6.

Los componentes de la dieta utilizada se citan en el cuadro 14, la metodología que se siguió para la preparación de la misma es la siguiente: todos los sólidos y líquidos fueron mezcla-

dos en la media total de agua destilada a excepción del Agar- - Agar, éste fué mezclado hasta disolver con calor, con la me-- dia restante de agua destilada. Una vez disuelto el agar y di-- sueltos los componentes en la media de agua destilada, se pro-- cedió a mezclar ambas partes, debiendo tener a una temperatu-- ra de 60°C el agar disuelto en agua destilada, para evitar la -- descomposición de la solución vitamínica a temperaturas mayo-- res y evitar la rápida solidificación a temperaturas menores -- (*).

Efectuada la mezcla se procedió a agitarla manual y cons-- tantemente para evitar la prematura solidificación, posteriormen-- te se vertió la dieta sobre los recipientes que ocuparán cada lar-- va.

Los frascos utilizados fueron previamente esterilizados en - autoclave, así como las tapas de los mismos a una presión de 15 atm. durante 15 minutos.

(*) : Comunicación personal PhD. Aurora Garza Zúñiga Facul-- tad de Agronomía, Depto. de Parasitología, Carretera - Zuazua-Marín, Km. 17 U.A.N.L.

Cuadro. 14.- Dieta de Shōrei modificada, utilizada para la alimentación de larvas de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith).

Agua destilada	3000	ml.
Harina de soya	241.8	gr.
Germen de trigo	108	gr.
Sal Wesson's	36	gr.
Azúcar (morena)	43.8	gr.
Para-metilhidroxibenzoato	5.4	gr.
Acido sórbico	3.24	gr.
Acido ascórbico	14.4	gr.
* Auromicina	0.48	gr.
KOH (22 %)	18	ml.
** Solución vitaminica	12	ml.
Cloruro de colina (15 %)	24.9	ml.
Formaldheido (10 %)	15.0	ml.
Acido acético (25 %)	39.9	ml.
Agar- Agar	34.8	grs.

NOTA: Ingredientes necesarios para preparar 300 copas con 3 ml. c/u de dieta/300 larvas.

* Auromicina grado veterinario

** Contiene las siguientes vitaminas por mililitro de agua: Pantothenato de calcio, 12 mg; niacina, 6 mg; riboflavina, 3 mg; ácido fólico, 3 mg; thiamina HC 1, 1.5 mg; pyridoxina HC 1, 1.5 mg; biotina 0.12 mg; B 12, 0.006 mg.

Se probaron 4 tipos de tapas para los frascos que contenían larvas: papel aluminio (Reynolds), papel secante (hojas sanitarias) doble, papel cartoncillo comercial y papel cartón de 2 mm de espesor, éstas pruebas fueron en base a la evaporación de agua de la dieta y fuga de larvas de los recipientes en los cuales se encontraban, resultando el papel cartón de 2 mm de espesor el que obtuvo mejores resultados.

La identificación de los insectos parásitos de larvas de S. frugiperda se efectuó según Borrór and De Long (9) ver Cuadro 15 Fig. 7 y 8.



Fig. 3 Larva de S. frugiperda presentando el crecimiento micelial externo de un hongo no identificado, dos veces su tamaño.

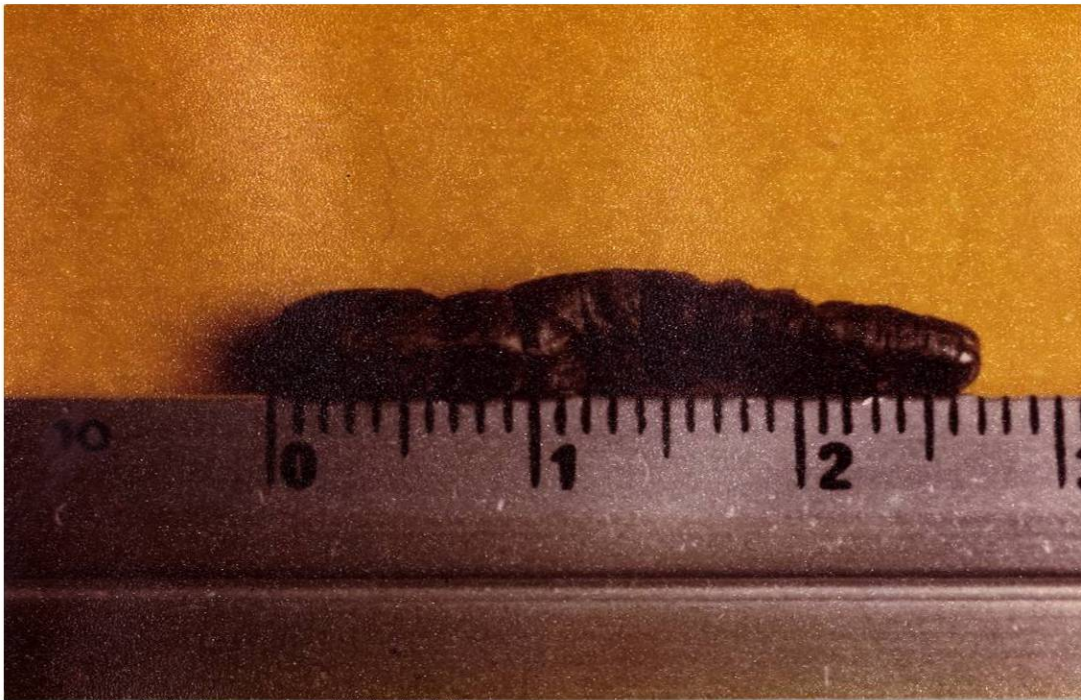


Fig. 4 Larva de S. frugiperda presentando sintomología post-mortem de una infección por virus, 24 hrs después de su muerte, escala 1:10.

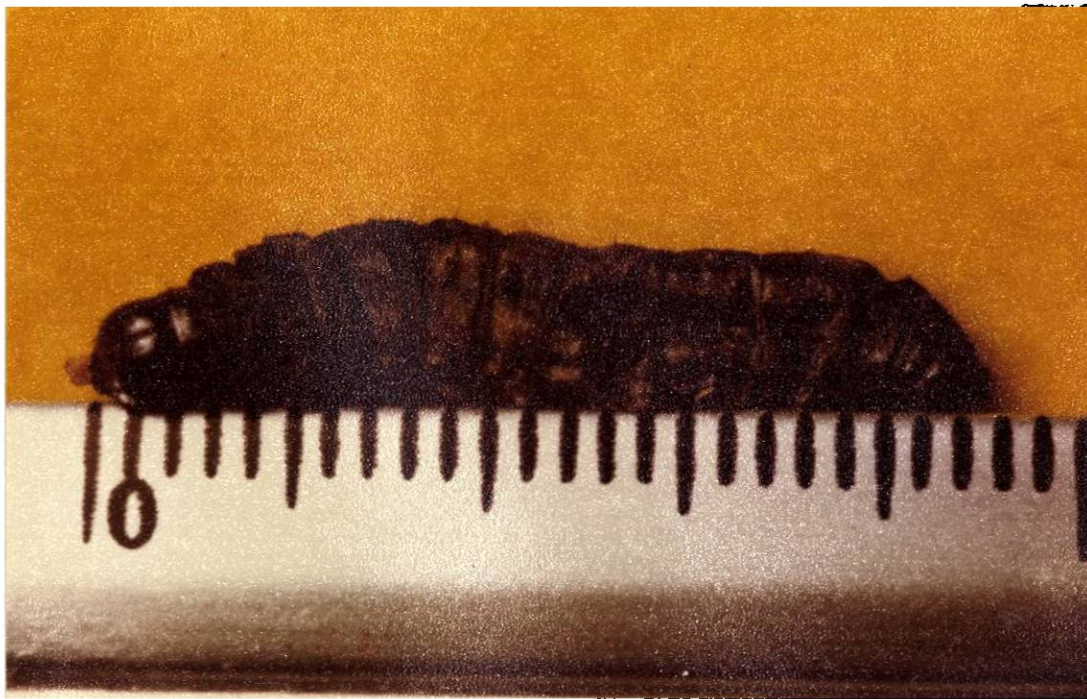


Fig. 5 Larva de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) presentando - sintomatología post-mortem de una infección bacteriana, 24 hrs. después de su muerte, escala 1:20

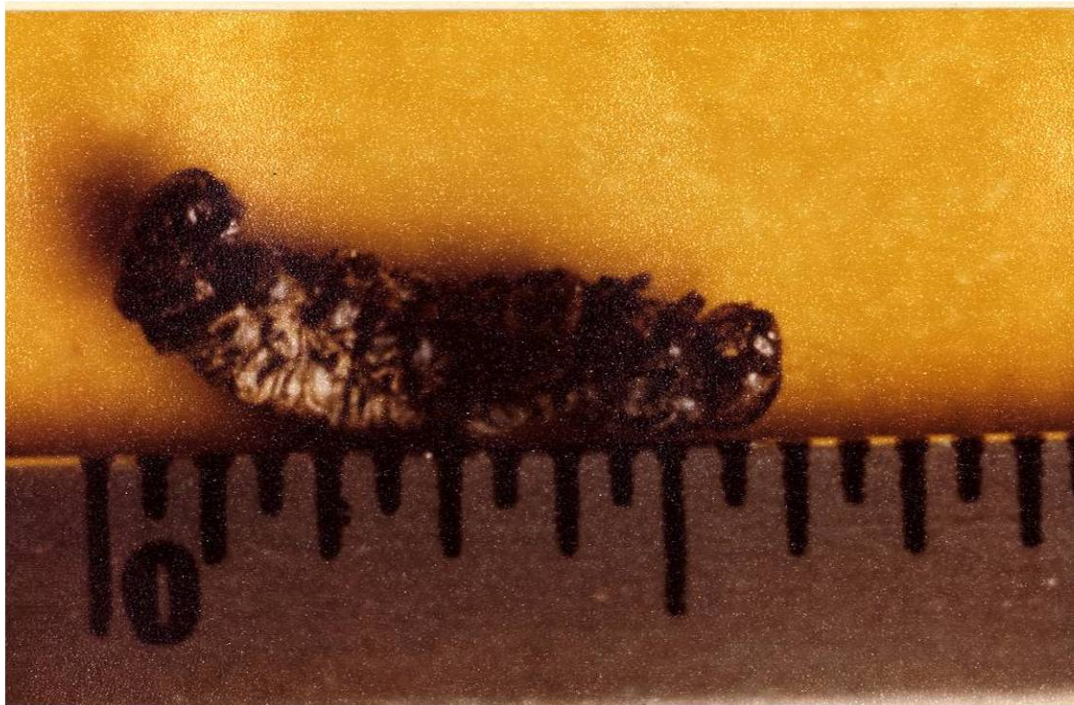


Fig. 6 Larva de S. frugiperda presentando sintomatología post-mortem de una infección bacteriana, 72 hrs después de su muerte, escala 1:40



Fig. 7 Torymido adulto, quien en estado larvario parasitó Larvas de S. frugiperda, escala 1:10.

Cuadro 15. - Porcentaje de patógenos y parásitos en larvas de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) en el cultivo de maíz en el ciclo tardío de 1977.

Patógenos	%	Parásitos	%
Bacterias	8.12	Torymidae	6.9
Hongos	6.59	Tachinidae	3.05
Virus	1.01	otros Díptera	6.59
Total	15.72		16.64



Fig. 8 Arriba: larva de S. frugiperda 12 hrs después de haber -

Las larvas desinfectadas externamente bajo campana de trans -
 emergido larvas de Tachinidae; centro: adulto de Tachinidae; aba -
 ferencia, fueron trituradas en un tubo de 18 x 150 mm que con -
 ajo: pupa de Tachinidae. tres veces su tamaño.

tenfa solución de estéril de alcohol al 5%. Partes medias de lar -
 vas fueron sometidas a pasteurización, con la finalidad de elimi -
 na Segunda etapa.

Se tomaron larvas de S. frugiperda que representaban fiel -
 mente las características repetidas de un síndrome bacteriano
 fastidiosas, Agar Nutritivo, BHA) (Agar-Fucinas-Lactosa, tipo
 (9), (77)
 C.).

Partiendo de las recomendaciones de Eisen y Briggess e Igno -
 Las partes medias restantes de las larvas fueron sembradas
 ffo (13) quienes indican que al tratar de aislar bacterias fa -
 directamente sobre los medios antes descritos (ver diagrama
 cultivas parásitos de insectos, éstos deben de propagarse en
 de flujo).

medios simples, se procedió a emplear una técnica para el ais -

lamiento.

Las larvas fueron sumergidas a una solución de fenol al 5% para desinfectar el integumento de las larvas, impidiendo que la solución penetrara por vía oral, se descartó la penetración de la solución por los espiráculos debido a que las larvas tratadas tenían 2 horas después de su muerte (13) (23), el hecho de esterilizar el integumento de las larvas es con el propósito de eliminar la contaminación por bacterias ajenas a la infección.

Las larvas desinfectadas externamente bajo campana de transferencia, fueron trituradas en un tubo de 18 x 150 mm que contenía solución de estéril ~~de fenol~~ al 5%. Partes medias de larvas fueron sometidas a pasteurización, con la finalidad de eliminar formas vegetativas, tratando de encontrar bacterias esporuladas y después sembradas en E.M.B. (Eosina-Azúl de Metileno), AICC (Agar-infusión-Cerebro-Corazón) para bacterias -- fastidiosas, Agar Nutritivo, ENDO (Agar-Fucsina-Lactosa, tipo C.).

Las partes medias restantes de las larvas fueron sembradas directamente sobre los medios antes descritos (ver diagrama de flujo).

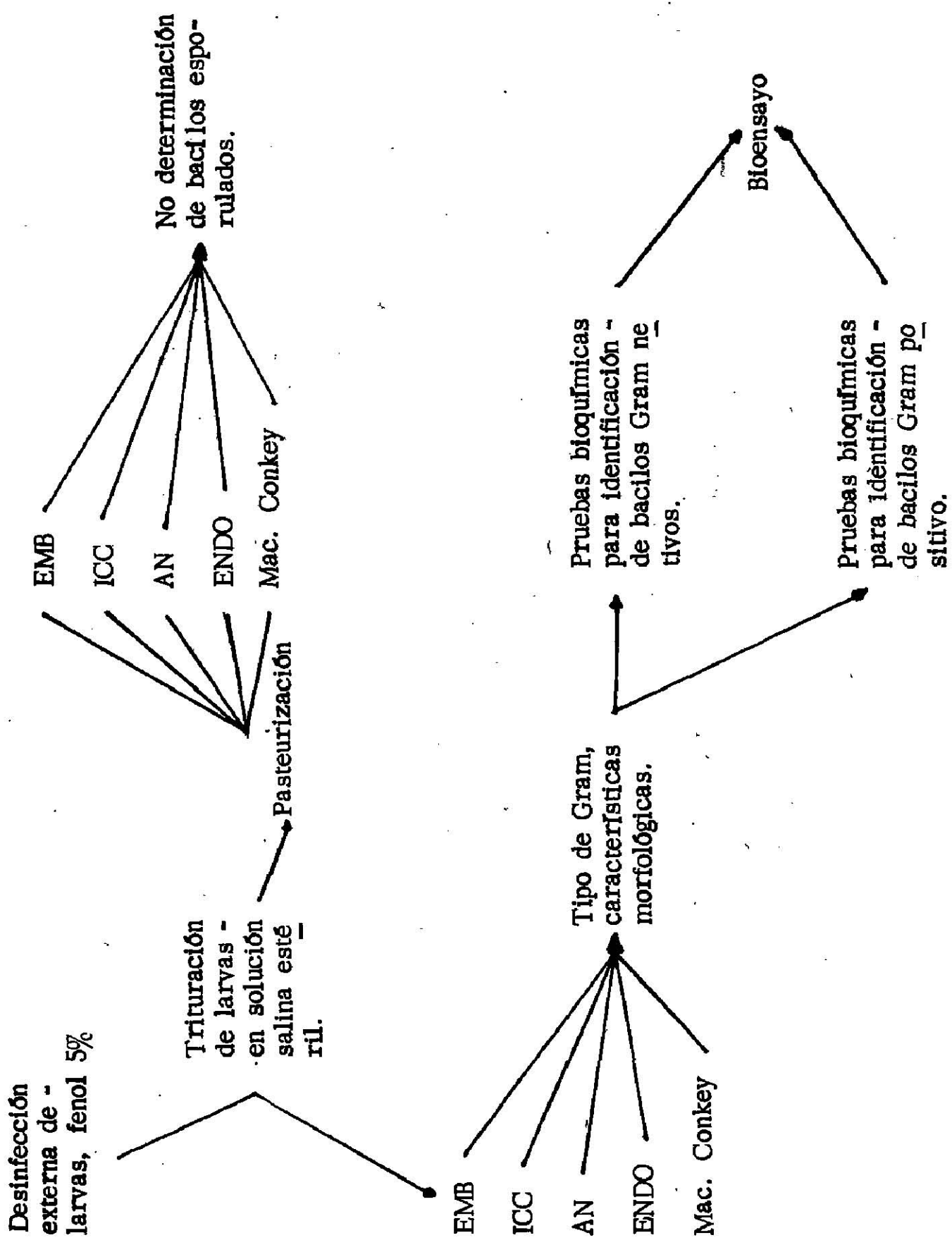


DIAGRAMA DE FLUJO

De acuerdo a los sistemas establecidos de clasificación de Buchanan y Gibbons (11) de Kauffman y Gillies (28) se diseñó la identificación para bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Para las bacterias Gram negativas se realizaron las siguientes pruebas:

Oxidasa, catalasa, reducción de nitratos a nitritos, fermentación de lactosa, sacarosa y dulcitol, utilización de citratos - como única fuente de carbono, rojo de metilo y Vogues-Proskawer, hidrolasa de arginina, producción de ácido sulfídrico, licuefacción de gelatina, hidrólisis de urea, mecanismo de oxidación-fermentación Hugh Leifson para glucosa, producción de pigmentos, crecimiento en condiciones anaeróbicas que contengan como reductores ácido pirogálico e hidróxido de sodio.

Mientras, para la identificación de bacterias Gram positivas se realizaron las siguientes pruebas.

Resistencia y reducción de hemolisinas, reducción de nitratos a nitritos, oxidasa, catalasa e hidrolisis de urea que se llevaron igual que para bacterias Gram negativas.

Todos los medios de cultivo e identificación fueron prepara-

dos e interpretados de acuerdo a las instrucciones de Buchanan y Gibbons (11) y DIFCO (24).

Se realizaron 41 pruebas bioquímicas por triplicado y se de terminaron las siguientes bacterias Pseudomonas sp, Corynebacterium sp y Klasiella pneumoniae (ver cuadros 16, 17, 18, 19. Estas fueron preparadas para las pruebas de sus efectos in vi- tro sobre larvas de S. frugiperda.

Tercera etapa.

Para practicar los bioensayos fué necesario establecer previamente una cría de S. frugiperda en laboratorio, para esto se efectuaron capturas de larvas de 5^o y 6^o estadio en cultivos de maíz, las capturas fueron hechas en frascos de cristal de un galón de capacidad y de " boca ancha " colocandose de 30 a 50 larvas por frasco además de hojas de maíz tierno, picadas. Una vez capturadas eran llevadas al laboratorio en donde se les colocaba individualmente en recipientes de plástico con unas dimensiones de 5 cm de altura, diámetro superior de 5 cm y 4 cm de diámetro de base, en donde se les proporcionaba una dieta natural, consistente en hojas tiernas de maíz picado. Los recipientes eran tapados con papel aluminio de 1.5 mm de es-

Cuadro 16. - Pruebas bioquímicas y morfológicas utilizadas para colocar bacterias aisladas de larvas de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) en el género Corynebacterium.

Pruebas	Resultados
Albert(Granos metacromaticos)	-
Baar	-
Cápsula	-
Reducción de telurito de potasio	+
Reducción de nitratos a nitritos	-
Hemolisis (agar sangre)	-
Acido de Sacarosa	-
Gelatinasa	-
Ureasa	-
Catalasa	+
Oxidasa	-

Cuadro 17.- Pruebas bioquímicas utilizadas para ubicar las --
bacterias aisladas de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) en
el género Klebsiella

Pruebas bioquímicas	Resultados
Catalasa	+
Oxidasa	-
Reducción de nitratos a nitritos	+
Ácido de lactosa	V.
Ácido de sacarosa	+
Citrato	+
Malonato	V.
MR (rojo de metilo)	V.
VP (Voges-Proskauer)	V.
Arginina	-
H ₂ S	-
Ureasa	V.

Cuadro 18. - Pruebas bioquímicas de la bacteria Klebsiella aislada de larvas de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) con relación a Klebsiella pneumoniae.

Pruebas bioquímicas	<u>K. pneumoniae</u>	<u>Klebsiella</u> de <u>S. frugiperda</u>
Glucosa	+	+
Dulcitol	+	+
MR (rojo de metilo	-	-
VP (Voges-Proskauer)	+	+
Indol	-	-
Citratos	+	+
Arginina	-	-
Úrea	+	- (*)

(*): Un porcentaje considerable de cepas, es negativa a esta prueba, según Eichhoff-Steinhauer y Finland (46). Por lo tanto Klebsiella aisladas de larvas de S. frugiperda fué identificada como K. pneumoniae.

Cuadro 19. - Pruebas bioquímicas utilizadas para colocar bacterias aisladas de larvas de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) en el género Pseudomonas.

Pruebas bioquímicas	Resultados
Catalasa	+
Oxidasa	+
Arginina	-
Crecimiento en anaerobiosis	-
Pigmento fluorescente	-
Reducción de nitratos a nitritos	-
Gelatinasa	-
Fermentación en Hugh y Leifson's (glucosa)	-
Oxidación en Hugh y Leifson's (glucosa)	-
Crecimiento a 40°C	+

pesor con perforaciones de 2 mm aproximadamente.

Las hojas picadas de maíz utilizadas como dieta eran cambiadas cada 48 hrs. con la finalidad de proveer a las larvas de alimento fresco.

El objetivo de ofrecer ésta dieta a larvas capturadas y no una dieta artificial es debido a que por observaciones en el laboratorio se pudo detectar que larvas con un desarrollo mayor del cuarto estadio, por lo general no aceptaban la dieta artificial y tendían a pupar, por lo cual algunos no conseguían llegar a adultos.

Se obtuvo un 95 % de pupas de las larvas capturadas, las cuales fueron colocadas en jaulas de 30 x 30 cm. con marquesinas de madera y cubiertas por 3 caras laterales con tela de alambre tipo mosquitero y la cara frontal de vidrio que fungía como puerta, la parte superior de la jaula cubierta con tela de alambre y la base de madera en la cual eran colocadas las pupas de S. frugiperda y cubiertas con " hielo seco " para protección de las pupas.

Previamente al emerger los adultos se colocaba un pliego de papel secante doblado en forma acordeonada en dichas jaulas,

la finalidad que se perseguía era que ovipositasen en él, las hembras de S. frugiperda.

La dieta utilizada para los adultos fué de 80% de agua destilada y 20% de azúcar comercial (morena). La dieta fué colocada en tapas de cajas Petri que contenían algodón y éste a su vez humedecido con la solución alimeticia, teniéndose una oviposición promedio de 80 a 100 huevecillos por masa/hembra aproximadamente.

Por observaciones se notó que al cambiar la dieta alimenticia convencional de adultos por una dieta probada por el autor, el incremento en el número de huevecillos ovipositados fué mayor, alrededor de un 40%, la dieta consistió en un 75% de agua destilada, de un 12 a un 15 % de miel de abeja de azar, de un 5 a un 8% de cápsulas de jalea real y un 5% de solución vitamínica y mineral (jarbe Clusivol).

La primera generación obtenida en laboratorio fué alimentada con dieta artificial (cuadro 14) al completarse el ciclo y al obtener la segunda generación fué utilizado para los bioensayos.

Las suspensiones utilizadas para los bioensayos se hicieron con una concentración aproximada de 900×10^6 de acuerdo a el -

Nefelometro de Mac. Farland. Añadiéndose 0.5 ml de suspensión por 3 ml de dieta (cuadro 14) bajo condiciones acépticas. Se utilizaron 3 suspensiones, correspondientes a Pseudomonas - sp, Klebsiella pneumoniae y Corynebacterium sp.

La dieta utilizada (cuadro 14) se ajustó, superimiéndose la aureomicina, debido a que ésta es un inhibidor en el crecimiento de bacterias, ajustándose además el pH a 7.0 en la dieta, - debido a que a rangos mayores o menores dificultan o inhiben - el desarrollo de las bacterias antes citadas. La inoculación -- con las respectivas suspensiones se llevó a cabo en una cámara de transferencia bajo condiciones acépticas, utilizándose pipetas Pasteur de 1 ml previamente esterilizadas, vertiéndose cada sus- pención en copas que contenían 3 ml de dieta artificial. Se ino- cularon 40 copas por cada suspensión, correspondiendo a 10 co- pas por tratamiento y 10 copas por repetición, inoculándose un total de 120 copas y 40 sin inoculación que correspondían a los testigos. Las copas utilizadas eran de material de plástico, -- con unas dimensiones de 3.2 cms. de altura, diámetro superior de 4.0 cm. y diámetro inferior (base) de 2,7 cm. Se utiliza- ron tapas de cartón de 2 mm de grosor con un diámetro de 3.9 cm.

Una vez inoculadas las copas, se depositaron larvas de pri-

ner estado de S. frugiperda de una segunda generación obtenida en laboratorio. Cada copa contenía una larva. Las larvas fueron colocadas en una repisa en el laboratorio en donde se controlaron la temperatura, humedad relativa y fotoperíodo, utilizándose para esto un acondicionador de aire de 220 watts, calefactor de gas. Para el fotoperíodo se utilizó luz ambiental y cuatro lámparas de gas neón de 75 watts, cada una.

Las condiciones del experimento fueron las siguientes: temperatura máxima 24°C, mínima 22°C, media 23°C, humedad relativa máxima 80%, mínima 70%, media 76%. El fotoperíodo fue de 12 hrs. luz/dfa.

El experimento concluyó a las 120 hrs., contándose éstas, desde que se colocaron las larvas en las copas inoculadas. Las observaciones fueron hechas cada 6 hrs. (ver diagrama de flujo).

Cuarta etapa.

Se efectuó un segundo aislamiento a partir de muestras de suelo buscándose un bacilo esporulado con capacidad de producir un cristal tóxico para insectos, Hannay 1956 (35), encon-

A.

Pseudomonas sp.

Klebsiella pneumoniae

Corynebacterium sp.

Suspensión en solución salina 5 %.

Nefelometro de Mac Farland (tubo No. 3)
(900 x 10⁶ bact/ml)

inoculación

B.

Pseudomonas sp.

Klebsiella pneumoniae

Corynebacterium sp.

Testigo

Colocación de larvas

50

40

50

0

72 hrs.

80

90

90

0

120 hrs.

Porcentaje de larvas muertas

DIAGRAMA DE FLUJO.- A Inoculación a dietas
B Resultados.

trándose un bacilo esporulado, quien fué aislado e identificado por Luis Galán Wong * y Guadalupe Maldonado Blanco **, utilizando para la identificación del bacilo, pruebas bioquímicas descritas en Bergy's Manual (11), el bacilo aislado fué identificado como *Bacillus thuringiensis* y denominado con la clave G-M-1 (Fig. 9). Se llevaron a cabo extractos de los caldos de fermentación (ver diagrama de flujo), dichos extractos fueron proporcionados por Galán Wong para ser probados en un bioensayo su efectividad contra Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) en dosis de 500 mcg/ml de dieta (cuadro 14). El bioensayo se llevó a cabo con un diseño de bloques completamente al azar. Larvas que fueron utilizadas en el experimento procedían de una segunda generación obtenida en laboratorio, éstas larvas eran de primer estadio y fueron colocadas en recipientes de plástico con una dimensión de 3.2. cm de altura, diámetro de superior de 4.0 cm, diámetro de base 2.7 cm; que contenía cada uno 3 ml de dieta artificial. Las tapas utilizadas para los recipientes que contenían larvas, eran de cartón, con

* Director del Depto. de Microbiología F.C.B.U.A.N.L.

** Auxiliar del laboratorio de Microbiología Industrial

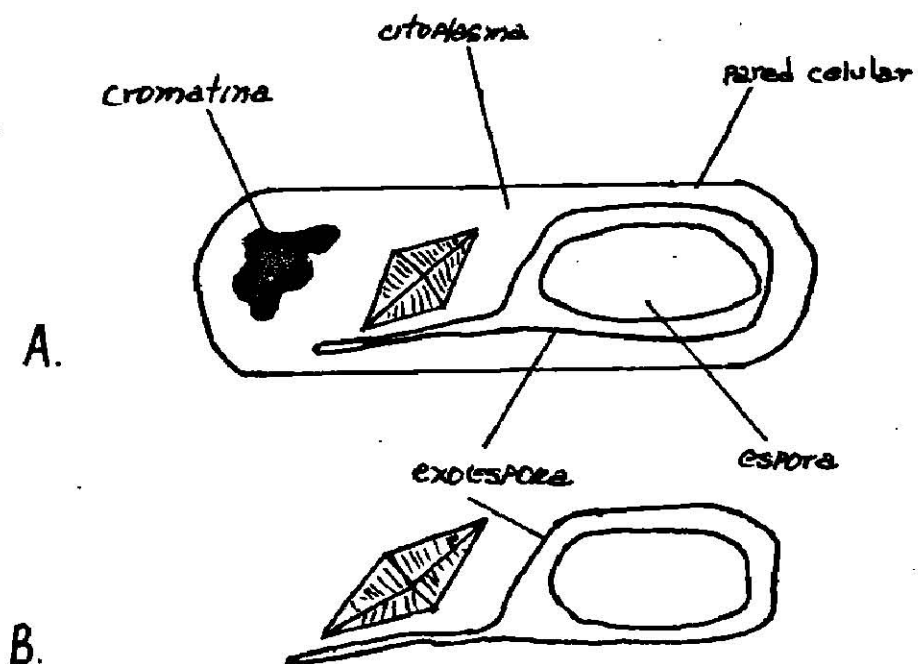


Fig. 9.

A: El dibujo ilustra la posición del cristal y de otras estructuras durante la esporulación.

B: Después de completar la esporulación.

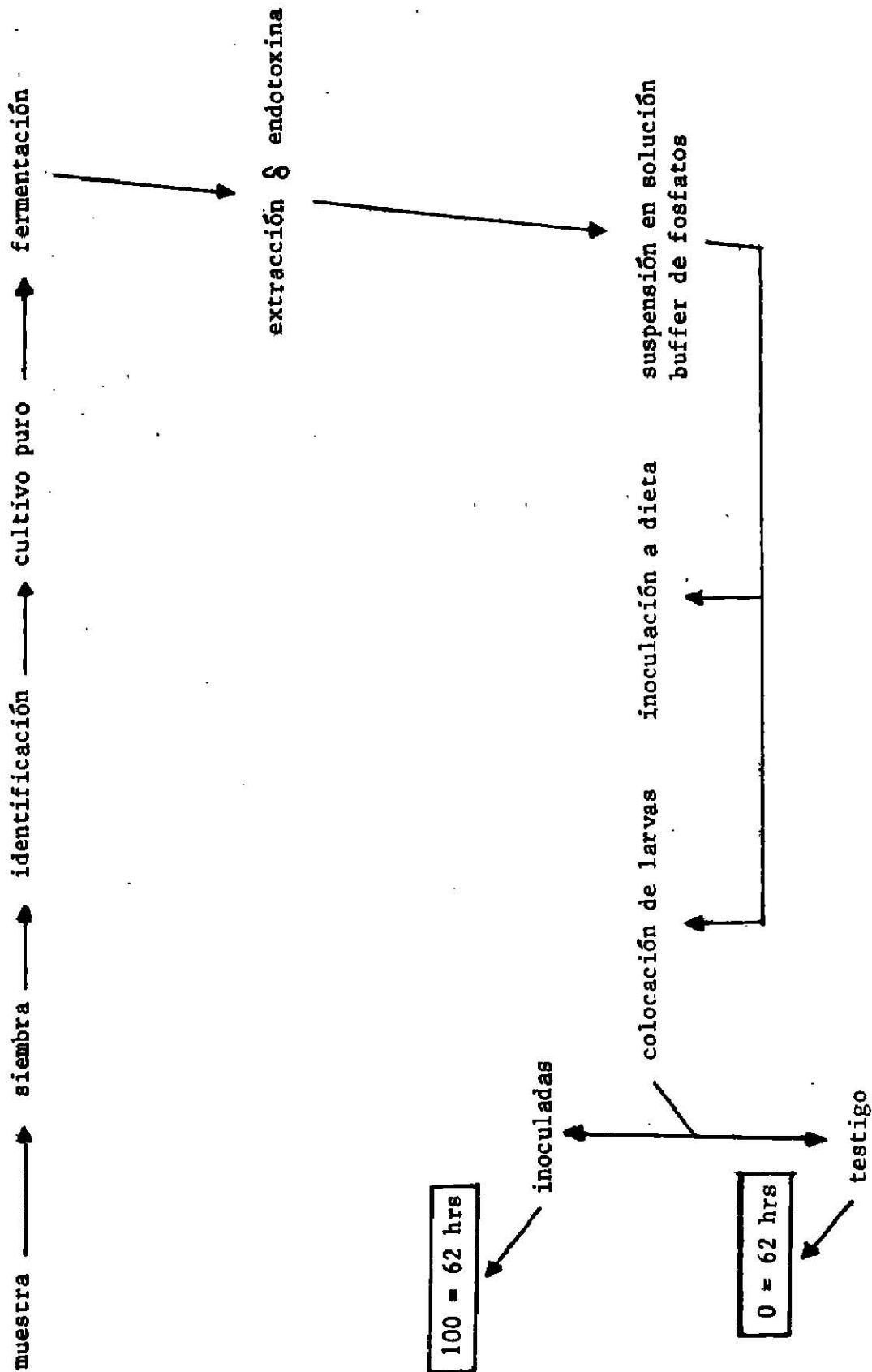
diámetro de 3.9 cm y .2 cm de espesor.

Durante el bioensayo fueron controlados: temperatura, humedad relativa y fotoperíodo. Teniéndose una temperatura máxima de 24°C, mínima de 22°C, media 23°C; la humedad relativa máxima fué de 80%, mínima del 70%, media de 76%; fotoperíodo - de 12 hrs luz/día. Estos factores fueron controlados con un - acondicionador de aire de 220 watts, calefactor de gas natural, el fotoperíodo fué controlado con luz ambiente auxiliado con 2 - lámparas de 75 watts de gas neón, cada una.

El experimento concluyó a las 62 hrs, contándose éstas, - desde que se colocaron las larvas en las copas inoculadas. Las observaciones fueron hechas cada 6 hrs.(ver diagrama de flujo)

Quinta etapa.

.Se han tomado fragmentos de tejido del intestino medio tanto de larvas sanas como aquellas que presentaban síntomas de - bacteriosis. Por ser éste donde se desarrollan los procesos metabólicos más interesantes de la digestión y por ser éste el sitio principal de infección de las bacterias patógenas y es precisamente a nivel de hemocele donde se multiplican rápidamente,



% de larvas muertas

DIAGRAMA DE FLUJO

destruyendo los tejidos e invadiendo totalmente ésta cavidad. Este tipo de infección es llamada septicemia total. (13).

Para la observación de tejidos de intestino medio de S. frugiperda se tomaron larvas del tercero al quinto estadio, las cuales fueron procesadas de dos diferentes formas: (ver diagrama de flujo).

- a) Microscopio fótico
- b) Microscopio electrónico

a) Se tomaron fragmentos del intestino medio de larvas sanas (segunda generación de cría de laboratorio) para su estudio en microscopio de luz (Fig. 10 a 12) bajo la siguiente técnica: fijación en líquido de Bowin por 24 hrs, posteriormente lavado con agua por 2 hrs para quitar el exceso de fijador. La deshidratación en alcohol se llevó a cabo de la siguiente forma:

	% de alcohol etílico	tiempo (hrs)
1	40	3
2	50	3

	% de alcohol etílico	tiempo (hrs)
3	60	3
4	70	3
5	80	3
6	90	3
7	100	3
8	Xilol I (absoluto)	3
9	Xilol II (absoluto)	3

Para la inclusión se utilizó: *parafina I, II y III durante 3 - horas cada una respectivamente. Se cortaron con ultramicrotomo Ranvier y Porter Blum mod. MT-1 y se tiñeron con la técnica de hematoxilina y eosina.

- b) Se tomaron fragmentos del intestino medio de larvas sanas - para su estudio a microscopio electrónico. (ver diagrama - de flujo).

Para la fijación de los fragmentos se utilizó el método de -- Sabatini y Melloning (29). Se incluyeron en epon 812, según - Luft (22), se hicieron cortes semi-finos y finos con un ultra-

microtomo de Ranvier y un Porter Blum mod. MT-1 según Pease (22). Los cortes semi-finos se tiñeron con azul de Toluidina según Bencosme (29) y modificada por José Ruiz Ordoñez. ** Los cortes finos se tiñeron con acetato de uranilo según Watson (29) y citrato de plomo según Reynolds (29). La metodología es la siguiente:

1. - Amortiguador de fosfatos:

Se prepara a partir de una solución stock:

Solución A: compuesta de Na_2HPO_4 (28.0 gr) disuelto en ---
agua destilada (1000 ml)

Solución B: compuesta de Na_2HPO_4 (27.6 gr) disuelto en ---
agua destilada (1000 ml)

La solución a trabajar se prepara a partir de ambas soluciones A y B de la siguiente manera:

Solución A	810 ml
Solución B	<u>190 ml</u>
Solución a trabajar:	1,000 ml

** Q.B.P. José Ruiz Ordoñez, Técnico en microscopia electrónica. Unidad de Microscopia Electrónica. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L.

* a punto de fusión de 54°C

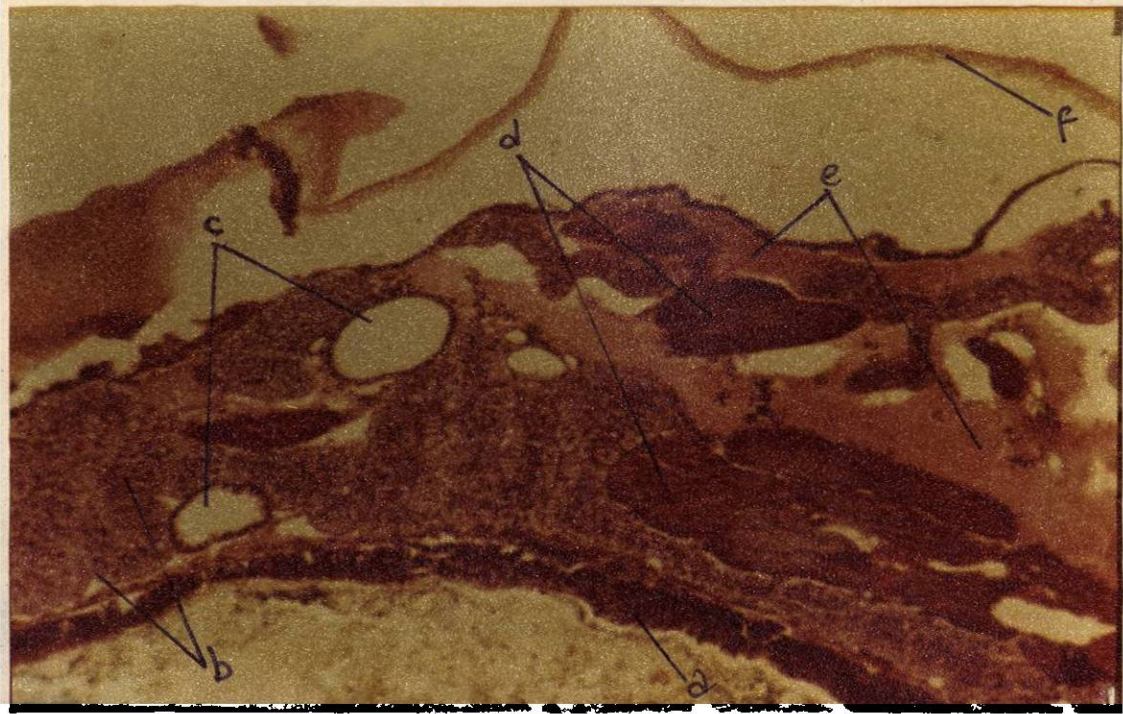


Fig. 10. - Corte transversal del intestino medio, larva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) de tercer estadio (600 x) a: epitelio columnar; b: glándulas de secreción; c: traqueolas; d: tejido muscular; e: tejido conectivo; f: cutícula distendida.



Fig. 11 - Acercamiento de la Fig. 10 (1200 x), en la cual se observa: a: epitelio con microvellocidades o ribete de cepillo; b: células columnares; c: tejido muscular; d: tejido conectivo; e: al parecer hemocitos.

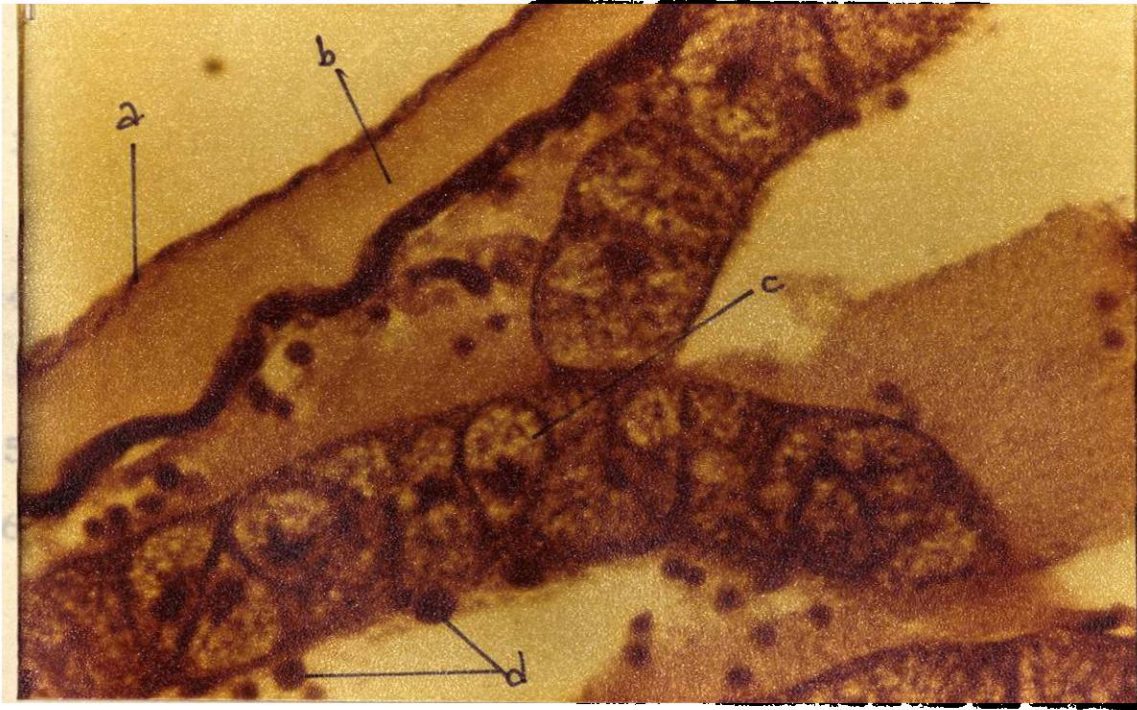


Fig. 12.- Corte transversal de la pared del intestino medio -- (1500 x). a: pared cornificada; b: tejido conectivo; c: glandulas de secreción d: al parecer hemocitos.

Se ajusta el pH a la mezcla de ambas soluciones a 7.4 pH

- 2.- Se prepara glutaraldehido al 2 % en amortiguador de fosfatos.
 - 3.- Se prepara tetroxido de Osmio a 1% en amortiguador de fosfatos.
 - 4.- Se efectuan dilusiones de alcohol etílico al 60, 70, 80, 90 y 100 %.
 - 5.- Para finalizar la fijación agregar oxido de propileno.
 - 6.- Para la mezcla de inclusión se preparan las siguientes soluciones:
 - a) Epon 812 (80 gr) más DDSA (86.6 gr) (Dodecenyl Succinic Anhydride)
 - b) Epon 812 (100 gr) más NMA (72.4 gr) (Nadic Methyl Anhydride)
 - c) DMP-30 (Tri-Dimethyl Amino Methyl-Phenol)
- Para preparar la mezcla de inclusión, añadir 8 gr de la solución a; más 12 gr de la solución b; más 0.28 ml de la solución c.
- 7.- Para la tinción de cortes semi-finos se utilizó azul de - - toluidina al 5% y modificado por José Ruiz Ordoñez al mezclarla en borato de sodio al 4%.

- 8.- Para la tinción de cortes finos se utilizó una solución - - acuosa saturada de acetato de uranilo.
- 9.- Además de la solución de citrato de plomo al 0.3% en -- agua destilada hervida (agregando un mililitro de NaOH - al 10 N y agitar hasta disolver totalmente).

Procedimiento: Se debe de trabajar con una temperatura de 0° a 4°C, salvo indicación precisa.

- a) Fijación.- La muestra debe ser fijada inmediatamente después de obtenerla, seccionándola, en este caso en un mm³ aproximadamente. Volúmenes mayores pueden afectar la penetración del fijador. La fijación se lleva a cabo colocando las muestras en glutaraldehído al 2% durante 2 hrs. y posteriormente lavar con amortiguador de fosfatos.
- b) Post-fijación.- Se efectúa con tetroxido de osmio a el 1% durante una hora. Se lava con amortiguador de fosfatos en 2 ó 3 ocaciones antes de pasar a la deshidratación.
- c) Deshidratación.- Se lleva a cabo al colocar las muestras durante 15 min., en cada una de las siguientes concentraciones de alcohol etílico (a partir de éste punto se trabaja a temperatura ambiente): 70, 80, 90% y absoluto, repitiendo éste último paso. Una vez deshidratadas las muestras se colocan en oxido de propileno, durante 10 min. en dos oca-

siones.

- d) **Pre-Inclusión.** - Se efectuó colocando las muestras en una solución de mezcla de inclusión y oxido de propileno en una proporción de 3:1 durante una hora y una proporción de 1:3 y 1:1 durante una hora (con el recipiente tapado).
- e) **Inclusión.** - Se colocan las muestras sobre los moldes y se vierte la mezcla de inclusión hasta llenar, procurando eliminar las burbujas, se deja polimerizar a 70°C durante 25 hrs.
- f) **Ultramicrotomía.** - Se rebaja el block formado, quitando el exceso de epon polimerizado, para dejar al descubierto la pieza.

Se coloca el block en el ultramicrotomo (Porter Blum Mod. MT-1) y se obtienen secciones semi-finas (.25 u ó 2,500 A) tiñéndose posteriormente con azul de toluidina para observar a microscopio fótico. Una vez seccionado el área de la pieza se obtienen cortes finos (malla 200) y se contrastan primero con solución acuosa saturada de acetato de uranilo y posteriormente con citrato de plomo al 0.3%.
- g) **Microscopia Electrónica.** - Se efectuaron las observaciones de las regillas (malla 200) al microscopio electrónico -- (Carl Zeiss, mod E.M. 9 - 52) cuyo límite de resolu-

ción es de 7.5 Å y su poder de magnificación de 60,000 X. Se seccionaron áreas de tejidos de intestino medio de S. - frugiperda y se fotografiaron, (Fig.13, 14, 15) las placas se procesaron como cualquier negativo (blanco y negro) y se imprimieron en papel para estudio posterior.

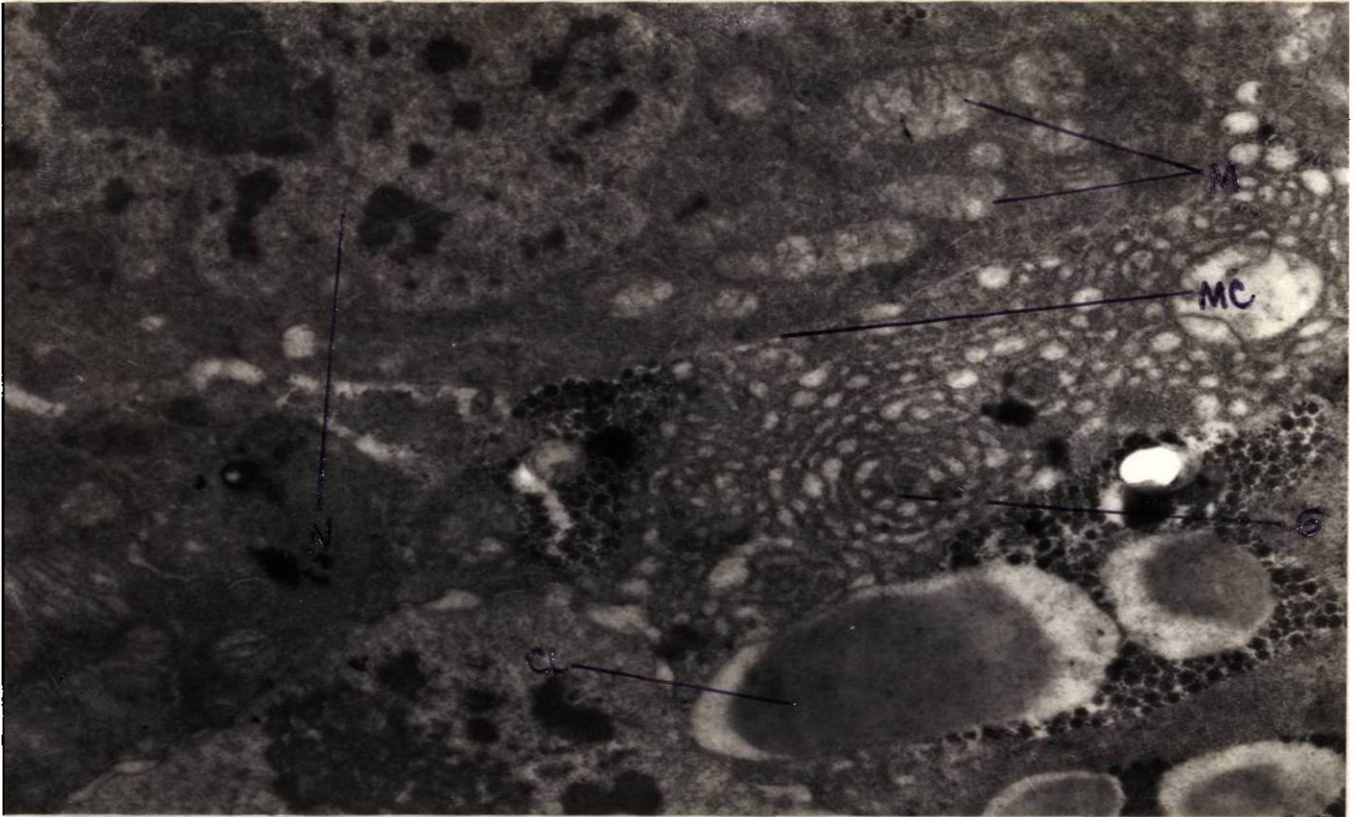


Fig.13.- Corte longitudinal de célula epitelial del intestino medio, larva de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) 10,000 x.
 N: núcleo; M: mitocondrias; G: glogy; CL: citolisosomas; MC: -
 membrana celular (original José Ruiz Ordoñez).

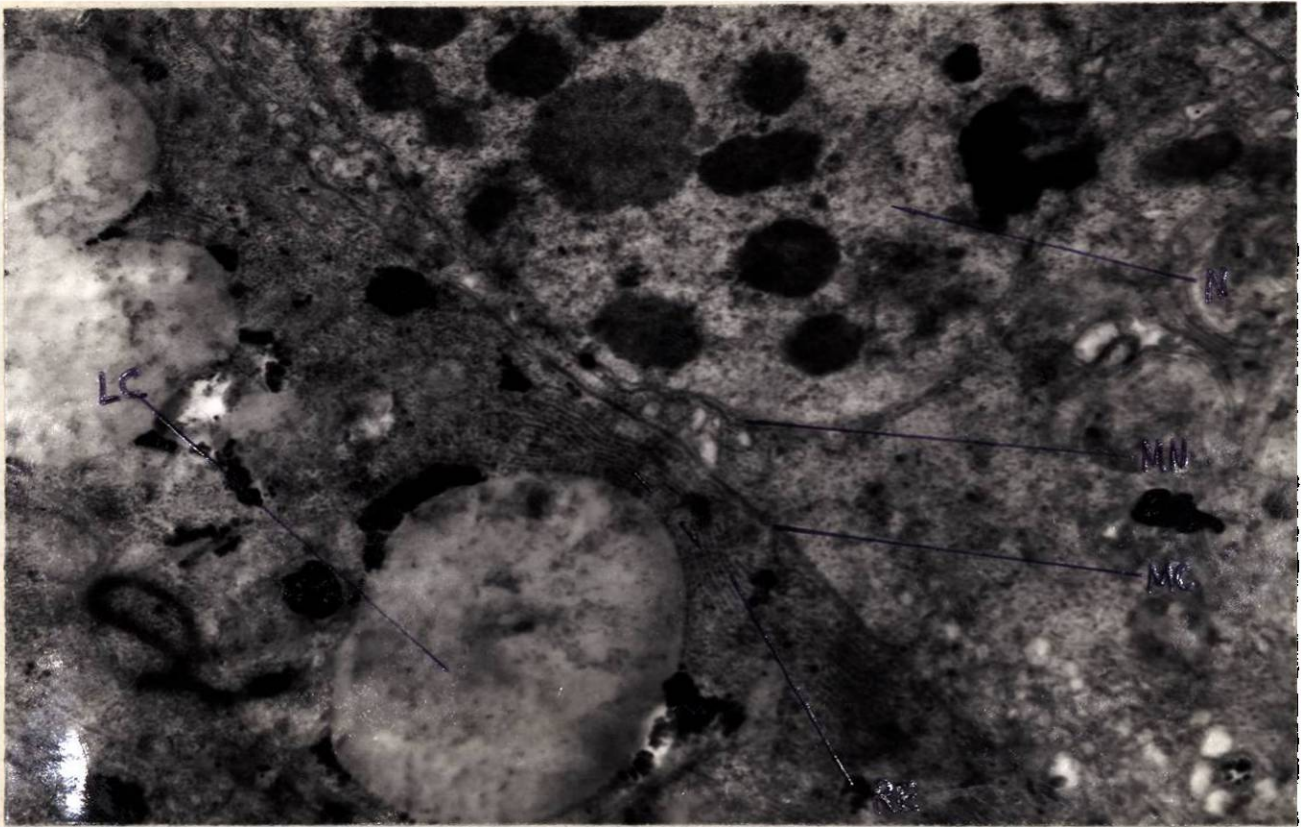


Fig. 14. - Corte longitudinal de célula epitelial del intestino medio, larva de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) 27,000 x. N: núcleo; MN: membrana nuclear; MC: membrana celular; RE: reticulo endoplásmico; LC: citolisosoma (original José Ruiz Ordoñez)

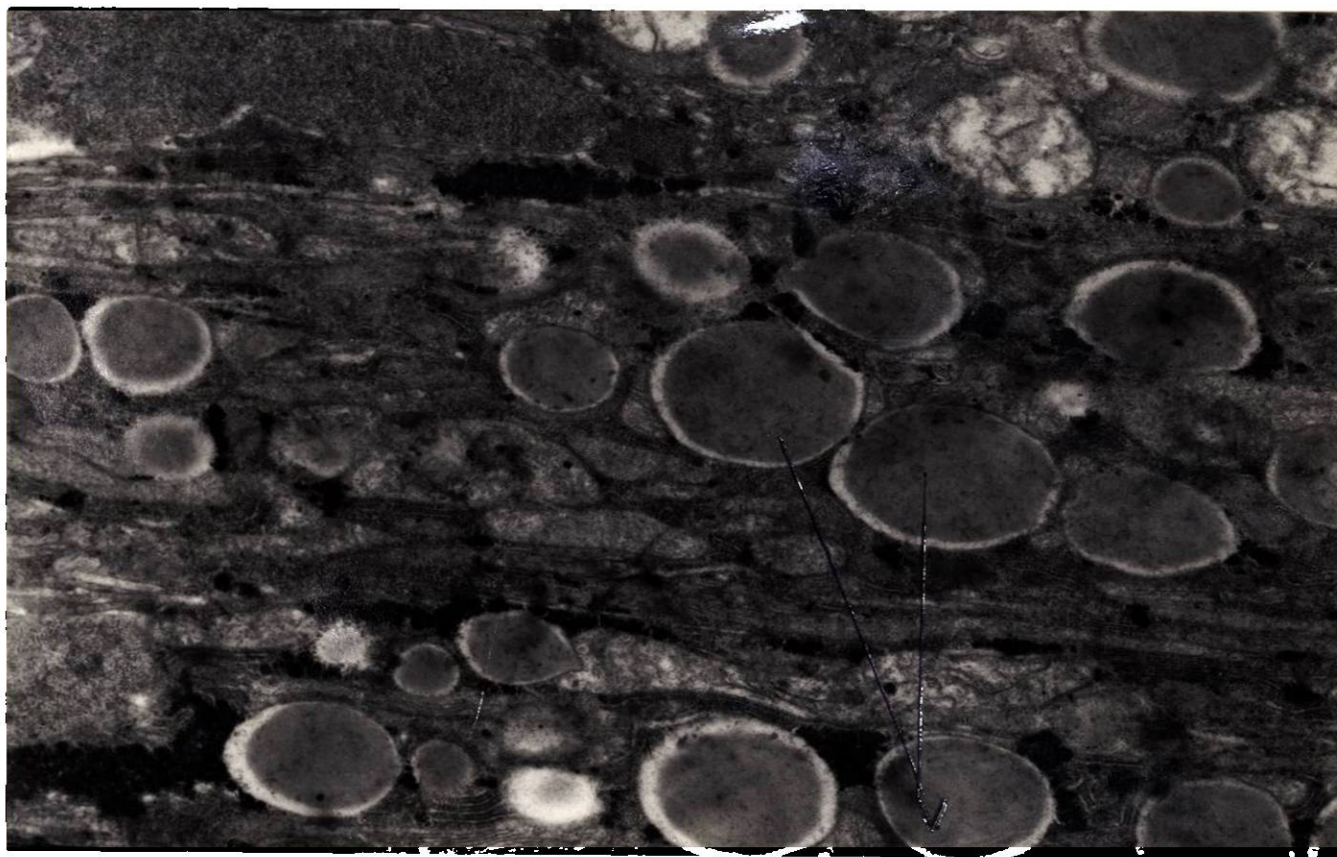


Fig. 15.- Corte longitudinal de la zona basal del intestino medio de S. frugiperda, 25,000 x. V: vacuolas. (original José Ruiz Ordoñez).

1 Muestra recién obtenida
(fragmentos de mesenterum).
Fijar en glutaraldehído al 2%
a 4°C durante cuatro horas

2 Primera Fijación
Lavar con amortiguador de fos-
fatos y fijar con tetroxido -
de osmio a el 1% a 4°C durante
una hora

3 Segunda Fijación
Lavar con amortiguador de fos-
fatos y deshidratar colocando
en etanol al 60, 70, 80 y 90% y
en absoluto en dos ocasiones,
durante 15 min. en cada uno,
a temperatura ambiente.

4 Muestra Deshidratada
Colocar en óxido de propileno
durante 15 min. en dos ocasio-
nes. Enseguida colocar en mez-
cla de inclusión más óxido de
propileno en relación 3:1 du-
rante una hora, 1:1 durante una
hora y 1:3 durante una hora

5 Muestra Pre-incluida (1)
Colocar en mezcla de inclusión.
Eliminar burbujas y dejar reposar
durante 12 hrs.

6 Muestra Pre-incluida (2)
Colocar en los moldes y dejar -
polimerizar a 70°C durante 24 hrs.

7 Muestra Incluida
Efectuar cortes semi-finos al - -
ultramicrotomo, teñir y elegir la
región a estudiar. Hacer cortes -
finos, contrastados y montarlos en
regillas de cobre (malla 200)

8 Cortes para Microscopia Electrónica
Observar al microscopio electrónico
y fotografiar zonas de interés.

9 Estudio e Interpretación de Fotogra-
fías

R E S U M E N

El presente trabajo se trazó con los siguientes objetivos:

- a) Determinar si larvas de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) son parasitadas por insectos y/o microorganismos causantes de enfermedades en forma natural.
- b) Aislamiento e identificación de bacterias patógenas - de muestras de larvas que presentaban sintomatología de una infección por dichos microorganismos.

Por medio de un pre-diagnóstico se determinó que la incidencia de patógenos sobre S. frugiperda en el ciclo de tardío de 1977 fué de 15.72%. De los cuales el 8.12% correspondió a bacterias; el 6.59% a hongos y el 1.01% a virus (23) (77).

Presentándose además un 16.64% de control por parasitismo de insectos, de los cuales la familia Torymidae obtuvo un 6.9% así como la familia Tachinidae un 3.05%. Larvas de Díptera no identificadas a rango de familia 6.59%. Seleccionando larvas que representaban fielmente las características sintomatológicas de una infección por bacterias, fueron aislados tres géne

ros: *Pseudomonas sp; Klebsiella pneumoniae y Corynebacterium sp.

Se realizaron bioensayos para determinar la eficiencia de control, de los cuales Pseudomonas sp efectuó un 50% de control a las 72 hrs. y un 90% de control en 120 hrs.; Corynebacterium sp efectuó un 50% de control a las 72 hrs. y un 90% de control en 120 hrs.; Klebsiella pneumoniae se comportó con un 40% de control a las 72 hrs. y un 90 % de control en 120 hrs.

Debido al no encontrarse bacilos esporulados en muestras de larvas se optó por buscarlos en suelo y de acuerdo a sus características morfológicas señaladas por Dulmage (**) se clasificó como Bacillus thuringiensis (Berlier) este bacilo que tiene una capacidad para producir un cristal tóxico para insectos según Hannay (.77).

Este bacilo fué utilizado en bioensayos para determinar su eficiencia de control en larvas de S. frugiperda, de mostrando un control

* Pseudomonas cepacia ó P. marginata

** Comunicación personal PhD Howard T. Dulmage. Cotton Insect Research, Laboratory, AR.S., U.S.D.A. Brownsville Texas 78520 U.S.A.

efectivo en corto plazo y una alta toxicidad para larvas de S. frugiperda.

La cepa más virulenta contra S. frugiperda es reportada -- por Dulmage (**) como la HD-412, la cual tiene una eficiencia de control del 70% en 72 hrs. Demostrando que la * GM-1 se comportó con una eficiencia de control de el 100% antes de 62 hrs. Lo cual se puede interpretar como un valioso hallazgo para el control de S. frugiperda.

El análisis de varianza para el primer experimento demostró que las medias de los tratamientos son diferentes, esto es debido a que los testigos no murieron. Se acepta que no existe diferencia significativa entre los bloques.

* GM-1: Cepa aislada e identificada por Q.B.P. Luis Galan -- Wong Director del Depto. de Microbiología FCBUANL y Q.B.P. Guadalupe Maldonado Blanco, auxiliar del laboratorio de Microbiología F.C.B. U.A.N.L.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo fueron satisfactorios, debido a que se cumplió con los objetivos establecidos, además, una extensión de los mismos, la cual consistió en bioensayos para determinar la eficiencia de control en larvas de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) por medio de bacterias aisladas en dichas larvas que presentaban sintomatología de una infección bacteriana. Además se efectuó un bioensayo con Bacillus thuringiensis (Berlier) clave GM-1 para determinar su efectividad de control en larvas de S frugiperda.

Primer experimento.

Para determinar la eficiencia de control de Klebsiella pneumoniae, Corynebacterium sp y Pseudomonas sp, se utilizó un diseño de bloques completamente al azar, bajo el siguiente modelo (88):

$$Y_{ij} = \mu_j + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Proponiendo:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$$

A continuación se presenta el análisis de varianza:

Cuadro 20. - Análisis de varianza del primer experimento.

Factor de varianza	Suma de cuadrados	grados de libertad	cuadrados medios	F. calculada	F teórica	
					.01	.05
Factor A (tratamientos)	60.75	3	20.25	62.88	27.23	8.78
Factor B (repeticiones)	1	3	0.33	1		
error	3	10	0.33			

Por lo tanto:

Se rechaza H_0 , ya que las medias de los tratamientos son diferentes, esto es debido a que el tratamiento testigo no presentó larvas muertas. Empero se acepta que no existe diferencia significativa entre los bloques (tratamientos)

Segundo experimento:

Para determinar la eficiencia de control de bacterias ais-

ladas en muestras de suelo, que fueron identificadas como Bacillus thuringiensis clave GM-1, se llevaron a cabo dos tratamientos con cuatro repeticiones, el análisis estadístico no se llevó a cabo, ya que los resultados son determinantes, los cuales se citan a continuación.

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
T ₁	10	10	10	10
T ₂	0	0	0	0

T₁: Larvas inoculadas con una dosis de 500 mcg/ml de dieta de Bacillus thuringiensis clave GM-1.

T₂ : Testigo.

Duración del experimento 62 hrs., cada repetición constó de 10 larvas de primer estadio.

CONCLUSIONES

Comparando los resultados obtenidos en ambos experimentos se puede concluir.

- a) El primer experimento demostró, que Klebsiella pneumoniae, Corynebacterium sp y Pseudomonas sp causaron un porcentaje alto de muertes en larvas de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith), empero la dosis empleada de cada una de estas bacterias fué muy elevada (900×10^6). Dando como conclusión que no es un control factible, desde el punto de vista económico.
- b) El segundo experimento resultó ser más efectivo, esto es, causó un mayor número de muertes en larvas de S. frugiperda, así como una acción tóxica en un menor tiempo. La dosis utilizada fué relativamente alta (500 mcg/ml dieta), pero falta aún determinar la LD50, que no fué determinada, debido a la falta de materiales. El control con Bacillus thuringiensis (Berlier) sobre diversos insectos perjudiciales, ha resultado económicamente costable en pa-

íses como: E.U.A., Francia, Canada, Nigeria, China, Ru
sia y otros.

RECOMENDACIONES

Ante la experiencia obtenida en la metodología del presente trabajo es recomendable mencionar:

Aislamiento de bacterias a partir de muestras obtenidas en larvas:

Para el aislamiento de bacterias que causen infecciones en larvas, se deben buscar en primer instancia bacterias esporuladas, de no encontrar estas, se debe determinar si dicha infección es producida por bacterias no esporuladas. Es necesario hacer notar que resulta más efectivo un control microbiológico con bacterias esporuladas comparado con bacterias no esporuladas.

Microscopía óptica y electrónica:

Para realizar estudios semejantes a este trabajo, es necesario auxiliarse en el estudio a nivel de microscopía óptica, - así como en microscopía electrónica, ya que se debe de reconocer la estructura celular, en especial la del intestino medio,

ya que es ahí en donde se desarrollan la mayoría de las bacterias que causan infecciones en insectos.

Cría masiva:

Es necesario establecer una cría masiva de insectos, para efectuar bioensayos en los cuales se determine la patogenicidad de un microorganismo aislado, este punto es esencial. Para -- llevar a cabo tal efecto, es necesario probar diferentes dietas -- recomendadas y utilizar aquellas que mejores resultados se obtengan.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, deben ser considerados como parte de un programa de control integrado -- de plagas de maíz, además de otros cultivos de importancia en México, ya que el control microbiológico es importante para -- reducir a un nivel mínimo de significancia económica a insectos perjudiciales en los cultivos.

La producción industrial de microorganismos, en especial bacterias, es llevada a cabo actualmente, en algunos países -- del mundo. Las bacterias no esporuladas han sido producidas en pequeña escala, ya que estas tienen altos costos de producu

ción, no siendo así, las bacterias esporuladas en especial Bacillus thuringiensis (Berlier).

Debido a la gran cantidad de insectos dañinos, susceptibles a ser infectados por B. thuringiensis, debe ser tomado como un factor importante, para el establecimiento de un control microbiológico a largo plazo en México.

BIBLIOGRAFIA

1. - Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos. 1978. - Control de plagas de plantas y animales Vol. 3 Manejo y control de plagas de insectos. Ed. LIMUSA, México p 129-136; 138-140; 190-216; 231-253; 266-299; 461-474.
2. - Ajibola Taylor T. October 1974. Evaluation of Dipel for Control of Lepidopterus Pests of Okra. Journal of Economic Entomology Vol. 67, No. 5 pp 690, 691.
3. - Anonimo. 1963. Clinical Handbook on Economic Poisons. Atlanta Communicable Disease Center U.S. Department of Health, Education and Welfare. Bulletin No. 476. 83 P.
4. - Beament L.W.J, et al ed. 1971. Advances in Insect Physiology. Academic Press, London and New York. Vol. 8 pp 200-324.
5. - Beegle C.C, et al October 1973. Field Effectiveness of the Granulosis Virus of the Green Clover worm as Compared with Bacillus thuringiensis and Selected Chemical Insecticides on Soybean. Journal of Economic Entomology Vol. 66,

No. 5 pp 1137, 1138.

6. - Biochem Products Ltd. Bactospeine, Technical Leaflet. - -
Brussels-Belgium. 16 P.
7. - Bishop J. E, et al. June 1973. Control of Bagworm with Ba-
cillus thuringiensis. Journal of Economic Entomology. Vol.
66, No. 1 pp 249-251.
8. - Bland Roger G; Jaques H. E, 1978. How to know the Insec-
ts. Third edition. Iowa. USA. the Pictured key Nature Se--
ries, Wm. C. Brown Company Publishers. pp 268; 297-299.
9. - Borror Donald J., De Long and Tripleton. 1976. An Intro-
duction to Study of Insects. fourth edition. New York. Holt
Rinehart and Winston. pp 487-488; 514-517; 603-605; 662, -
663.
10. - Brock T.D, 1973. Biología de los Microorganismos. Edicio-
nes Omega S.A. España. pp 545-554.
11. - Buchanan E.R. and Gibbons E.N. 1974. Beryey's manual -
of Determinative Bacteriology. Eighth edition. The Williams
and Wilkins Co. pp 271-233; 244, 251, 268; 322-324; 341,
346, 349, 350, 357, 370, 438, 439, 482; 529-540; 544, --

- 546; 602-611; 617, 620.
12. - Burgerjon A. and Dulmage T.H. 1977. Industrial and International Standardization of Microbial Pesticides-I Bacillus thuringiensis. Entomophaga. Vol. 22, No. 2 pp 121-129.
 13. - Burges H.D. and Hussey N.W. ed. 1973. Microbial Control of Insects and Mites. Second printing. Academic Press. pp 1-90; 205-213; 229-353; 407-462; 469-473; 491-538; 581-668.
 14. - Centro de Investigaciones Agrícolas del Noreste, SAG, -- 1974. Sorgo para grano en la región de Delicias. Chihuahua. Circular CIANE, No. 65. pp 6,7.
 15. - Chapman F.R. 1971. the Insects, Structure and Function. Elsevier, New York. pp 38-82.
 16. - Charpentier J.L, et al February 1973. Sugarcane Borer: Control by Delta-Endotoxin of Bacillus thuringiensis, HD-1 in Field Tests. Journal of Economic Entomology. Vol. 66, No. 1 pp 249-251.
 17. - Chen Ker-Sang et al. August 1974. Effects of Certain -- Organophosphate and Carbamate Insecticides on Bacillus thuringiensis. Journal of Economic Entomology Vol. 67,

- No. 4. pp 471-473.
18. - Chu H. F. PhD. . 1949. the Inmature Insects. Iowa. W.M. C. Brown Co. Publishers. pp 165, 234.
19. - Comite de Control Integrado de plagas del algodouero 1974. Gufa de Control Integrado de plagas del algodouero para - 1974. Managua, Nicaragua. pp 9-12.
20. - Coopel C.H. and Mertins W.J. 1977. Biological Insect Pest Suppresion. Springer-Verlang, Berlin Heidelberg New-York pp 14-32; 105-110; 130-158.
21. - Coronado P. R y Marquez D.A. 1977. Introduccion a la - Entomologia, Ed. LIMUSA, S.A. Méx. pp 170-171.
22. - Dawes C.J. 1971. Biological Techniques in Electron Microscopy. Ed. Barnes and Nobles pp 68-97.
23. - De Bach Paul. 1975. Control Biológico de las plagas de - Insectos y malas Hierbas. 3a. Ed. CECOSA. pp 607-633; 643-676; 679-693; 711-736.
24. - DIFCO Laboratories Inc., Detroit Mich. U.S.A.
25. - Dulmage T.H. et al. December 1971. Field Test with -

- the H-D-1 Formulation of the Gamma-Endotoxin of Bacillus thuringiensis Against the Cabbage Looper on Cabbage. Journal of Economic Entomology Vol. 64, No. 6 pp 1421-1422.
- 26.- Dulmage T.H. et al. 1971. A. Proposed Standardized Bioassay for Formulations of Bacillus thuringiensis Based on the International Unit. Journal of Invertebrate Pathology No. 18. pp 240-245.
- 27.- García, N.C. 1974. Fitofilo No. 69. Secretaría de Agricultura y Ganadería, Dirección General de Sanidad Vegetal. - pp 122, 123; 169-176.
- 28.- Gibbs, B.M. and F.A. Skinner. Identification Methods for Microbiologist. Academic Press. London New York. pp - 21-30.
- 29.- González, S.R. 1969. Técnicas de Microscopía Electrónica. Ed. Aguilar pp. 38, 554, 592, 599.
- 30.- Hall I.M. 1955. The use of Bacillus thuringiensis (Ber--lier) to Control the Western Grapeleaf Skeletonizer. Journal of Economic Entomology Vol. 48 pp 675-677.
- 31.- Ham W.A. 1975. Tratado de Histología. Ed. Interameri-

cana. 920 P.

32. - Harper D.J. and abrahamson P.L. 1979. Forest Tent Caterpillar Control with Aerially Applied Formulations of Bacillus thuringiensis and Dimilin. Journal of Economic Entomology. Vol 72, No. 1. pp. 74-77
33. - Hoffman A.R. and Gringrich E.R. 1968. Dust Containing Bacillus thuringiensis for Control of Chicken Body, Shaft and Wing Lice. Journal of Economic Entomology. Vol 61, No. 1 pp 85-88.
34. - Hudson M. 1963. Further Field Experiments on the use of Bacillus thuringiensis and Chemical Insecticides for the Control of the European Corn Borer, Ostrinia nubilalis, on Sweet Corn in Southwestern Quebec. Journal of Economic Entomology. Vol 56, No. 6, pp 804-808.
35. - Ignoffo C.M, et al. 1978. Evaluation of an Entomopathogenic Bacterium, Fungus, and Virus for Control of Heliothis zea on Soybeans, Journal of Economic Entomology, Vol. 71 No. 2 pp 165-168.
36. - Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.G. -- 1974. Circular CIAMEC No. 60, Campo Agrícola Experimental Zacatepec. p 27.

- 37.- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.G. --
1974. Recomendaciones para los cultivos principales de --
Guerrero. Circular CIAMEC No. 59. Campo Agrícola - -
Experimental Iguala. p. 20.
- 38.- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.G. --
1973. Recomendaciones para los principales cultivos del -
Estado de Guerrero. Circular CIAMEC. No. 43, Campo -
Experimental Iguala. p 7.
- 39.- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, SARH, --
1978. El cultivo de la Cebolla, Circular CIAMEC, No. 78
Campo Agrícola Experimental Zacatepec, Méx. pp 1,2.
- 40.- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.G. --
1973. Los Cultivos de Maíz y Sorgo en el área de influenu
cia del CIAMEC. Circular CIAMEC. No. 40. Centro de -
Investigaciones Agrícolas de la Mesa Central. p. 26.
- 41.- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, SARH, --
1977. Guía para el control de las principales plagas en -
los cultivos del Estado de Guerrero Circular CIAMEC, -
No. 90. Campo Agrícola Experimental Iguala. pp 3,4.
- 42.- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.G. -

1974. Principales cultivos de la región de Pabellon, Aguascalientes, Circular CIAB No. 56. Campo Agrícola Experimental del Pabellon, Aguascalientes. P 37.
43. - Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, SARH. - -
1977. Plagas del Sorgo y su control en México. Folleto de divulgación No. 57. pp 3, 4; 7-9.
44. - Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, SARH, - -
1978. Clave de campo para identificaciones de plagas del maíz y su combate. Circular CIAGON No. 6 pp 20-25.
45. - Jaques H.E. 1947. The Insects. W.M.C. Brown Co. Publishers. pp 137, 205.
46. - Joklink K. W. and Smith T.D. 1972. Zinsser Microbiology 15 TH. Edition Apleton-Century Crofts N.Y. pp 532-533.
47. - Kaya K.H. 1974. Laboratory and Field Evaluation of Bacillus thuringiensis var. alesti for Control of the Oranges--triped Oakworm. Journal of Economic Entomology, Vol.67 No. 3. pp 390-392.
48. - Landazabal A. J. et al 1973. Control Biológico de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) con el nemátodo Neoplect-

- tana carpocapsae en el maíz (Zea mays). Acta Agronómica Vol. 23, No. 3, 4 Facultad de Ciencias de Palmira, Colombia. pp 41-69.
49. - Larson V.L. and Ignoffo M.C. 1971. Activity of Bacillus thuringiensis varities thuringiensis and galleriae Against - Fall Cankeerworm. Journal of Economic Entomology. Vol. 64, No. 6 pp 1567-1569.
50. - Lemoigne et al 1956. Essais d' utilization of Bacillus thuringiensis (Berlier) contre Pieris brassicae L. Entomophaga No. 1 pp 19-34.
51. - Leuck B.D. et al 1968. Resistance in Bermudagrass to - the fall Armyworm. Journal of Economic Entomology. Vol. 61, No. 5 pp 1321-1322.
52. - Lewis B.F. et al 1974. Gypsy Moth: Efficacy of Aerial-- Applied Bacillus thuringiensis. Journal of Economic Entomology. Vol. 67, No. 3, pp 351-354.
53. - Litte V.A. 1972. General and applied Entomology third - edition. Harper and Row, Publishers. New York. pp 292, 293.

54. - Lynch E.R. et al. 1980. Application Efficacy and Field -- Persistence of Bacillus thuringiensis when applied to Corn for European Corn Borer Control. Journal of Economic Entomology. Vol 73, No. 1 pp 4-7
55. - Machain L.M. et al. 1974. Principales plagas de los cultivos del Valle de Mexicali y sus enemigos naturales. Folleto Técnico No. 57 Instituto Nacional de Investigaciones -- Agrícolas. SAG. pp 29-39.
56. - Matsumura. F. 1975. Toxicology of Insecticides. Plenum -- Press, New York and London. U.S.A. pp 1-10; 17-43; -- 355-396; 403-469.
57. - Mc Gaughey Wm. H. 1978. Effects of Larval Age on the Suceptibility of Almond Moths and Indianmeal Moths to -- Bacillus thuringiensis. Journal of Economic Entomology. -- Vol 71, No. 6 pp 923-925.
58. - Mc Gaughey Wm. 1978. Moth Control in Stored Grain: -- Efficacy of Bacillus thuringiensis on Corn and method of Evaluation Using Small Bins. Journal of Economic Ento-- mology. Vol 71, No. 5 pp 835-839.
59. - Mc Gaughey Wm. H. and Kinsinger A.R. 1978. Suscepti-

- bility of Angoumois Grain Moths to Bacillus thuringiensis. -
Journal of Economic Entomology. Vol 71, No. 3 pp 435, -
436.
60. - Metcalf C.L. y Flint W.P. 1976. Insectos destructivos e -
insectos útiles sus costumbres y su control. Octava edi- -
ción, México. Ed. C.E.C.S.A. pp 532, 533, 534.
61. - Neisess J. 1980. Effect of pH Chlorine Concentración on -
Activity of Bacillus thuringiensis Tank mixes. Journal of -
Economic Entomology, Vol 73, No. 2 pp 186-188.
62. - Petar P. PhD y Reines A.M. 1975. Estudios de daños oca-
cionados por el gusano Spodoptera frugiperda (Smith Abot.
J.) sobre el maíz (Zea mayz). Ciencias No. 11 Univer-
sidad de la Habana, Cuba pp 3-16.
63. - Peterson Alvah. 1962. Larvae of Insects an Introduction to
Nearctic Species. Michigan. Edwards Brothers. Inc. Michi-
gan . Vol 1 Lepidoptera and Hymenoptera. pp 65, 66, 97.
64. - Rings W.R. and Musick G.J. 1976. A pictorial Field key
to the Armyworms and Cutworms, Attacking Corn in the -
North Central States. Ohio Agricultural Research and - -
Development Center U.S. 250 and Ohio 83 Wooster. Re--

- search and Development Center U.S. 250 and Ohio 83 - -
South Wooster. Research circular 221 pp 26, 27.
- 65.- Rizzo F.H. y Losada D.A. 1975. Insectos encontrados en cultivos de Soya (Glycine max L.) en la zona de Yraizoz (provincia de Buenos Aires, Argentina). Fitotecnia Latinoamericana Vol 11, No. 1 p 5.
- 66.- Robles Sánchez R. 1976. Producción de granos y forrajes Ed. LIMUSA, S.A. México, pp 40-121.
- 67.- Rockstein M. ed. 1974. The Insects, Structure and Function. Elsevier, New York. pp 38-82.
- 68.- Secretaría de Programación y Presupuesto. 1979. Boletín Mensual de información económica, México Vol. 3, No. 6 pp 3-6; 114, 115, 122, 123.
- 69.- Sekul A.A. and Sparks A.N. 1967. Sex Pheromone of the Fall Armyworm moth: Isolation, Identification and Synthesis. Journal of Economic Entomology Vol. 60, No. 5. pp 1271, 1272.
- 70.- Shell. 1978. Manual de Recomendaciones de Productos - - Agroquímicos Shell pp 1-33.

71. - Sifuentes J.A. 1967. Oviposición de patomias de cogollero y daños de larvas en plántulas de maíz y sorgo en invernadero. Agricultura Técnica, México. Vol 2, No. 7 p-22.
72. - Sifuentes J.A. 1978. Plagas del maíz en México, algunas consideraciones sobre su control. Folleto de divulgación No. 58 Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas pp-16-21.
73. - Sifuentes J.A. 1978. Plagas del Algodonero en México. Folleto de divulgación No. 67. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. pp 1-3; 40.
74. - Smith et al. 1980. Laboratory Formulation Comparisons for a Bacterial (Bacillus thuringiensis) and a Viral (Baculovirus heliothis) Insecticide. Journal of Economic Entomology Vol 73, No. 1, pp 18-21.
75. - Snedecor W.G. y Cochran G. W. 1971. Estadística. Ed. C.E.C.S.A. pp 657-660.
76. - Snodgrass R.E. 1935. Principles of Insects Morphology. - Mc. Graw-Hill Book Co. New York and London pp 280-387; 389-420.

- 77.- Steinhaus A.E. ed. 1963. Insect Pathology an Advanced --
Treatise. Academic Press. New York and London Vol. 1
pp 1-53; 133-154; 215-240; Vol 2. pp 1-143; 393-619.
- 78.- _____ 1951. Possible use of Bacillus thu
ringiensis Berlier as an aid in the biological control of --
the alfalfa caterpillar. Hilgardia No. 20. pp 359-381.
- 79.- _____ 1951. Report on Diagnoses of Diseas
ed Insects 1944-1950. Hilgardia. Vol 20, No. 22. pp --
629-676.
- 80.- _____ 1954. The effects of disease on in
sect populations. Hylgardia No. 23. pp 197-261.
- 81.- Stern M.V. et al 1968. Effect of Naled, Trichlorfon, and
Bacillus thuringiensis on three Species of Lepidopterus --
Larvae Attacking Alfalfa in California. Journal of Econo--
mic Entomology. Vol 61, No. 5 pp 1324-1327.
- 82.- Sutter R.G. 1971. Compatibility of Bacillus thuringiensis
var. thuringiensis and Chemical Insecticides 1. Effect of -
Insecticides Doses on Bacterial Replication Rate. Journal
of Economic Entomology. Vol 64, No. 6 pp 1348-1350.

83. - Teran B.J. 1977. Suplemento de lista preliminar de Dípteros en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía. - Maracay Venezuela. p 128.
84. - Wendell S.J. et al 1972. Sterilización of Adult Fall Armyworm by Gamma Irradiation and Its Effect on Competitives. Journal of Economic Entomology Vol 65, No. 5 pp 1431- - 1433.
85. - Wiggles worth B. W. 1972. The Principles of Insect Physiology. Chapman and Hall, London. pp 476-532.
86. - Yendol G.W. and Miller M.E. 1967. Susceptibility of the Face Fly to Comercial Preparations of Bacillus thuringiensis. Journal of Economic Entomology. Vol 60, No. 3 pp - 860-864.
87. - Yendol G.W. et al 1973. Evaluation of Bacillus thuringiensis for Gypsy Moth Suppression. Journal of Economic Entomology Vol 66, No. 1 pp 183-186.
88. - Zar H.J. 1974. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Inc. pp 163-168.

