

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

**DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA**



**ENTOMOPATOGENOS UTILIZADOS EN CONTROL
MICROBIAL DE INSECTOS PLAGA.**

POR:

RENE PORFIRIO OLAYO PAREDES

M O N O G R A F Í A

Presentada como Requisito Parcial para

Obtener el título de:



Ingeniero Agrónomo en Parasitología Agrícola

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 1999.

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”

DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA

ENTOMOPATOGENOS UTILIZADOS EN CONTROL
MICROBIAL DE INSECTOS PLAGA.

Por:

RENE PORFIRIO OLAYO PAREDES

M O N O G R A F Í A

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
para Obtener el Título de:
INGENIERO AGRÓNOMO EN PARASITOLOGIA AGRICOLA

APROBADA

Dr. Gabriel Gallegos Morales
Presidente del jurado

Dr. Melchor Cepeda Siller
Sinodal

Dr. Oswaldo García Martínez
Sinodal

Ing. M. C. Reynaldo Alonso V.
Coord. De La Div. De Agronomia

Buenavista, Saltillo, Coahuila; Diciembre de 1999.

EL HOMBRE DE VIDRIO

*Cuando obtienes lo que quieres en tu lucha por el bienestar
y el mundo te hace rey por un día,
sólo se ve al espejo y mírate a ti mismo
y observa qué es lo que el hombre tiene que decir.*

*Pero en esta ocasión no es tu padre o madre o cónyuge
por cuyos juicios sueles pasar,
el compañero que tiene el veredicto que más cuente en ti vida
es aquel que mira en el vidrio.*

*Algunas gentes pueden pensar que eres admirable
y decirte que eres un ser maravilloso,
pero el hombre de vidrio dice que sólo eres un fanfarrón
si ni puedes verlo directo a los ojos.*

*Él es la persona a quien hay que agradar, no importan todos los demás,
él estará contigo claramente hasta el final,
y tú habrás aprobado los exámenes más difíciles y peligrosos
si el hombre del vidrio es tu amigo.*

*Tú podras engañar a todo el mundo durante años
y recibir palamdas en el hombro mientras pasas
pero tu premio al final serán lágrimas y un corazón dolido
si tú le has hecho trampa al hombre de vidrio.*

Anónimo

AGRADECIMIENTOS

A la **UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”** en general, por la oportunidad que recibí al ingresar, hacer uso de sus instalaciones y atenciones como alumno, y en especial a Departamento de Parasitología Agrícola, que me brido su apoyo para poder realizar dicha carrera, la cual desempeñare de la mejor manera para poner en el lugar que se merece nuestra institución.

A mis Maestros:

A todos aquellos Ingenieros, Maestros en Ciencias y Doctores que de alguna manera contribuyeron en mi formación durante mi estancia, y así poder formarme como profesionalista, al trasmitirme sus conocimientos.

A mis Asesores:

Al **Dr. Gabriel Gallegos Morales**, por haberme brindado la oportunidad de realizar dicho trabajo, así como el apoyo, amistad, confianza y orientación brindada durante el desarrollo del presente trabajo.

Al **Dr. Melchor cepeda Siller**, por su valiosa asesoría y participación como sinodal, así como su amistad y consejos como maestro del departamento.

Al **Dr. Oswaldo García Martínez**, por su participación como sinodal y dedicar parte de su tiempo en la revisión de este trabajo, así como su amistad como profesor.

A Todos Mis Compañeros de tronco común (cuarta sección), mis amigos de la Generación LXXXVI, de la especialidad de **Parasitología Agrícola**, por su compañía, compañerismo y amistad brinda durante nuestra estancia.

DEDICATORIAS

A **Dios**, por ser nuestro creador y quien ha permitido realizar uno de mis grandes sueños.

Gracias a su amor, comprensión, consejos, perseverancia y a todo su apoyo ha sido posible conseguir lo que hasta ahora he logrado;

CON TODO MI AMOR Y CARIÑO

A MI FAMILIA

MIS PADRES

BARDOMIANO OLAYO PINEDA

MARIA PAREDES RAMOS

MIS HERMANOS

YOLANDA

JOSE LUIS

Y

JOSE JUAN

Con quienes he compartido momentos inolvidables de mi vida, y quiero tanto.

Y donde quiera que Dios los tenga, mis más sinceros agradecimientos, mis abuelitos maternos:

Beto Paredes (†) y Godeleva Ramos (†)

A mis abuelitos paternos por sus valiosos consejos y motivación para culminar mi carrera;

Juan Olayo García y M^a Trinidad Pineda Meléndez

A mi sobrino; **Daniel**

A mis tíos;

Filomena, Pedro y Rosa, Gaspar y Aurelia, Asunción y María, Toño y Mago, Sotero E Imelda, Crispin y Rafaela y Juan.

A todos ellos, quienes me apoyaron con sus consejos, confianza y que de alguna manera estuvieron siempre conmigo.

A mis primos;

Yuni, Hugo, Indira, Paty, Sandra, Dulce, Laura, Mitzin, Grisel Daniela, Aldo, Oscar, Isabel (Amaury), Pedro, Ariel, Marcos, Arabey, Rosario, Crispin, Blanca, Rosi y Martha.

A ellos que de alguna manera, apoyaron moralmente en mi superación.

A mi novia, **Rocio Lizzet Villalpando G.**, por su amor, comprensión y apoyo.

A mis mejores amigos;

Efrain (enano), Armando (negro), Gabriel (pimpom), Ervin (la cocha), Josefina, Gabriela, Mirna, Rossy, Juan, Carla, Liliana, Laura, C. C.; Mis compañeros de internado (Naty, Memo, Toto, Enrique, Chilango).

Con quienes comparti muchos momentos, quienes nos apoyamos en las buenas y en las malas, con quienes pase momentos de tristeza y de felicidad.

Y a todos aquellos paisanos y compañeros con queines conviví en la Universidad.

A una amiga en especial, quien abrió las puertas de su casa, me brindó su confianza, y supo darme fuerza en muchos momentos con sus consejos, al igual que todo su apoyo desinteresado en toda mi carrera, gracias a;

Etelvina Anabel Magallanes Monrreal

Y,

A la familia Magallanes; Sra. Antonia, Alma, Alfa.

A la Sra. Tita.

A la Familia Rodríguez; Nacho, Paty y su hijo Daniel.

A la Sra. Lupita.

A, Tito.

A todos mis compañeros de la Banda de Guerra, con quienes compartí muchos momentos.

Y a todas aquellas personas, que involuntariamente omití.

INDICE DEL CONTENIDO

	Página
REFLEXION -----	ii
AGRADECIMIENTOS -----	iii
DEDICATORIAS -----	iv
INDICE DEL CONTENIDO -----	vii
INDICE DE FIGURAS -----	xiii
INDICE DE CUADROS -----	xiv
INTRODUCCION -----	1
Conceptos básicos del control microbiano -----	3
Definiciones básicas del control microbiano -----	4
Insecticidas microbiales mayor destrucción contra plagas -----	7
Contaminación ambiental -----	8
Control Biológico tradicional o innovador -----	9
Antecedentes -----	10
Importancia -----	11
Manejo integrado -----	13
MICROORGANISMOS ENTOMOPATOGENOS -----	15
Bacterias -----	16
Clasificación -----	16
<i>Bacillus thuringiensis</i> -----	17
Características generales de la bacteria -----	17
Biología -----	19
Taxonomía -----	20
Importancia a de <i>B. thuringiensis</i> -----	21

Usos	21
Toxinas producidas de <i>B. thuringiensis</i>	21
Espectro de acción	23
Modo de Acción	23
Producción comercial	26
Formulaciones comerciales	26
Transgénicos de <i>B. thuringiensis</i>	28
 <i>Bacillus popilliae</i> Dutky (1940)	 28
Características generales de la bacteria -	28
Biología	28
Taxonomía	29
Modo de acción	30
Requerimientos de <i>B. popilliae</i>	30
Morfología	30
Formulaciones comerciales	31
 <i>Bacillus larvae</i> White (1906)	 32
Generalidades de la bacteria	32
Biología	33
Taxonomía	33
Trasmisión	33
 <i>Bacillus sphaericus</i> Neide (1904)	 34
Características de <i>B. sphaericus</i>	34
Taxonomía	35
Importancia	35
Modo de acción	36
Toxinas de <i>B. sphaericus</i>	37
Análisis químicos	37
Espectro de acción	38

Formulaciones comerciales -----	38
<i>Bacillus moritai</i> -----	38
Características generales -----	38
Taxonomía -----	39
Importancia -----	39
Modo de acción -----	39
Espectro de acción -----	40
Formulaciones comerciales -----	40
Actinomycetos -----	40
Generalidades de los Actinomycetos -----	42
<i>Streptomyces avermectilis</i> -----	43
Características generales de la bacteria -----	43
Morfología -----	44
Taxonomía -----	44
Espectro de acción -----	46
<i>Saccharopolyspora spinosa</i> -----	46
Aspectos generales -----	46
Taxonomía -----	48
Morfología -----	48
Características físicas -----	48
Espectro de acción -----	49
Formulaciones comerciales -----	49
HONGOS ENTOMOPATOGENOS -----	50
¿Por qué conviene usarlos? -----	51
¿Cómo actúan? -----	51
¿Bajo que condiciones son efectivos? -----	52

Modo de acción -----	52
Etapas de infección de los hongos entomopatógenos -----	53
<i>Beauveria bassiana</i> (Balsamo) Vuillemin -----	55
Aspectos generales -----	55
Morfología -----	56
Taxonomía -----	57
Importancia -----	57
Modo de acción -----	58
Espectro de acción -----	59
Formulaciones comerciales -----	59
<i>Metarhiziu anisopliae</i> -----	61
Características generales -----	61
Morfología -----	61
<i>Metarhizium flavoviridae</i> -----	63
Características y morfología -----	63
Taxonomía -----	64
Importancia -----	64
Modo de acción -----	64
Sintomatología -----	65
Espectro de acción -----	66
Producción -----	66
Formulaciones comerciales -----	66
<i>Verticillium lecanii</i> (Zimm) Viegas -----	67
Morfología -----	68
Taxonomía -----	69
Modo de acción -----	69
Espectro de acción -----	69
Formulaciones comerciales -----	70

<i>Paecilomyces spp.</i> -----	70
Descripción del género -----	71
Morfología -----	71
Taxonomía -----	72
Modo de acción -----	73
Espectro de acción -----	73
Formulaciones comerciales -----	74
 <i>Nomuraea rileyi</i> Farlow Samson -----	74
Morfología -----	75
Taxonomía -----	76
Importancia -----	76
Medios en los que se desarrolla -----	77
Espectro de acción -----	77
Formulaciones comerciales -----	77
 <i>Hirsutella sp</i> -----	78
Morfología -----	78
Taxonomía -----	79
Espectro de acción -----	80
Medios en los que se desarrolla <i>Hirsutella sp.</i> -----	80
Formulaciones comerciales -----	80
 <i>Aschersonia aleyrodis</i> -----	81
Morfología -----	81
Taxonomía -----	82
Espectro de acción -----	82
Medios de desarrollo -----	82

OTROS HONGOS ENTOMOPATOGENOS	83
<i>Entomophthora spp.</i>	83
<i>Coelomomyces spp.</i>	83
<i>Massospora spp.</i>	84
NEMATODOS ENTOMOPATOGENOS	84
Desarrollo comercial	86
Producción masiva	86
Control biológico por nemátodos entomopatógenos	87
<i>Romanomermis culicivorax</i>	88
Taxonomía	88
<i>Steinernema</i> y <i>Heterorhabditis</i> de las familias (<i>Steinernematidae</i> y <i>eterorhabditidae</i>)	89
Taxonomía de ambas familias y/o géneros de nemátodos	91
Modo de acción de los nemátodos	91
PROTOZOARIOS ENTOMOPATOGENOS	93
Ciclo de vida	94
<i>Nosema locustae</i> Canning (Microsporidias)	94
Algunos microsporidios	95
Modo de acción y uso de los protozoarios	95
VIRUS ENTOMOPATOGENOS	95
Biología	101
Importancia	102
Modo de acción de los virus	103
Formulaciones de virus	105
Virus iridiscentes	106
LITERATURA CITADA	107

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Esporas y cristales de <i>Bacillus thuringiensis</i> -----	18
Figura 2.- δ -Endotoxina de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Proteína). -----	18
Figura 3.- Células con esporas de <i>Bacillus thuringiensis</i> . -----	19
Figura 4.- Esporas de <i>Bacillus thuringiensis</i> -----	20
Figura 5.- Figura al microscopio compuesto de las esporas (elípticas) y los cristales de δ -Endotoxina (rombos) en un cultivo de <i>Bacillus thuringiensis</i> -----	22
Figura 6.- Ciclo de infección de <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas de Lepidópteros	24
Figura 7.- Esporas y critales de <i>Bacillus popolliae</i> . -----	31
Figura 8.- Estructura de un Actinomyceto, <i>Streptomyces avermectilis</i> . -----	44
Figura 9.- Esporas en cadena de <i>Streptomyces avermectilis</i> -----	45
Figura 10.- Estructura química <i>Saccharopolyspora spinosa</i> -----	47
Figura 11.- Cadena de esporas de <i>Saccharopolyspora spinosa</i> -----	48
Figura 12.- Ciclo y modo de infección de los hongos entomopatógenos. -----	54
Figura 13.- Broca del café (<i>Hypothenemos hampei</i>) infectada con <i>Beauveria bassiana</i> -----	55
Figura 14.- Estructuras del hongo <i>Beauveria bassiana</i> . -----	56
Figura 15.- Larva de Lepidóptero infectada con <i>Beauveria bassiana</i> . -----	58
Figura 16.- Estructura del hongo <i>Metarhizium</i> sp. -----	62
Figura 17.- Sintomatología de una larva infectada por <i>Metarhizium</i> sp. -----	65
Figura 18.- Fotografía de estructuras de <i>Verticillum lecanii</i> -----	68
Figura 19.- Estructuras del hongo <i>Paecilomyces</i> sp. -----	72
Figura 20.- <i>Nomuraea rileyi</i> , conidióforo y conidias -----	75
Figura 21.- Larva infectada por <i>Nomuraea rileyi</i> . -----	77
Figura 22.- Estructuras del hongo <i>Hirsutella</i> sp. -----	79
Figura 23.- Estructuras del hongo <i>Aschersonia</i> sp. -----	81
Figura 24.- Nematodos infectando un insecto. -----	92
Figura 25.- Infección de nematodos en una extremidad de un insecto -----	92
Figura 26.- Poliedros de virus de la Poliedrosis nuclear -----	97
Figura 27.- Componentes estructurales de los baculovirus -----	101
Figura 28.- Ciclo de infección de los nucleopoliedrovirus -----	104

Figura 29.- Larva muerta por virus. -----	105
---	-----

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Serotipos de <i>Bacillus thuringiensis</i> -----	25
Cuadro 2.- Productos comerciales a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> en México -----	27
Cuadro 3.- Productos comerciales a base de <i>Bacillus popilliae</i> -----	31
Cuadro 4.- Productos a base de <i>Bacillus sphaericus</i> -----	38
Cuadro 5.- Productos de <i>Bacillus moritai</i> -----	40
Cuadro 6.- Algunos registros de <i>Beauveria bassiana</i> en el mundo -----	60
Cuadro 7.- Formulaciones comerciales de <i>Metarhizium anisopliae</i> -----	67
Cuadro 8.- Productos a base de <i>Verticillium lecanii</i> en el mundo -----	67
Cuadro 9.- Formulaciones de <i>Paecilomyces sp.</i> -----	74
Cuadro 10.- Producto de <i>Nomuraea rileyi</i> -----	78
Cuadro 11.- Producto de <i>Hirsutella sp.</i> -----	80
Cuadro 12.- Bioinsecticidas a base de baculovirus -----	100

INTRODUCCION

El hombre al cultivar la tierra y domesticar los animales para producir sus alimentos, generó una de las principales causas del desequilibrio ecológico de las especies. Algunos organismos plaga son problema al afectar la cantidad y calidad de los cultivos agrícolas. Con el desarrollo de la agricultura y la ganadería ahunado a la cuantificación de las poblaciones insectiles y el grado de daño que estos insectos ocasionan, en términos económicos, nació el concepto **PLAGA**. Este concepto define a todo organismo que causa pérdidas económicas a los cultivos de importancia agrícola, forestal y agropecuaria basandose el termino a todo organismo no deseado en la agricultura, ganaderia y en las zonas urbanas y suburbanas.

Como plaga se incluyen; insectos, acaros, malezas, hongos, bacterias, virus, protozoarios, micoplasmas, roedores, moluscos, aves etc.,. Actualmente se estima que existen 67,000 especies de plagas de cultivos y de ellos 9,000 son insectos y ácaros, 50,000 son organismos fitopatógenos y 8,000 son especies de malezas. De este solo el 5% son consideradas plagas serias y entre el 30 al 80% se localizan en zonas geográficas bien delimitadas y definidas. Las plagas en su conjunto causan un 35% de perdidas en la producción agropecuaria, no obstante que se realiza la aplicación de producto químicos, de no hacerlo los daños serian muy superiores. Del anterior 35% los insectos causan el 13%, los fitopatógenos el 12% y las malezas el 10% de las perdidas, respectivamente Pimentel, (1995). Como se sabe la protección de cosechas se basa en gran parte en el uso de pesticidas químicos. Dentro de este mercado a nivel mundial se estimó por ejemplo que en 1988 se gastaron \$6 mil millones de dolares en insecticidas, de lo cual solamente 1,6% eran de productos biológicos, sobre todo de *Bacillus thuringiensis*, Richards y Rogers (1990). La búsqueda de estrategias, técnicas y métodos que incrementan la productividad agrícola y mantengan el equilibrio ecológico sin agredir los ecosistemas ni arriesgar la salud humana, constituye hoy en día un gran reto para la agricultura y el desarrollo sustentable de esta.

Los microorganismos son de gran importancia para el hombre, en los ecosistemas naturales y agrícolas algunos son parásitos de plantas y responsables de pérdidas en los cultivos, porque causan enfermedades. Otros pueden ser benéficos ya que aumentan la fertilidad del suelo al liberar nutrientes en forma utilizable por las plantas.

Los primeros síntomas reportados de los insectos enfermos, tales como los de la abeja, *Apis mellifera* L. y el gusano de seda, *Bombyx mori*, L., se reportaron desde tiempos remotos, como en China, 2700 a.c., y en la Grecia clásica. El primer enfoque científico del estudio de una enfermedad concreta de un insecto fue la investigación de la “uva blanca”, enfermedad de los gusanos de seda (conocida en Italia como “calcino”), causada por el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillen. La idea de utilizar agentes microbianos para el control de insectos, se concibió originalmente en el siglo XVIII. La producción masiva de *Metarrhizium anisopliae* (Metch) Sor., se efectuó en un insecto por controlar el gorgojo de la remolacha azucarera, *Cleonus punctiventus* Germ. En Europa al finalizar el siglo XIX, varios investigadores intentaron usar hongos para controlar especies de insectos. En Estados Unidos, se empleo el hongo *Beauveria globulifera* (Speg.) para tratar de controlar la “chinche ojona” *Blissus leucopterus* (Say). El control biológico de fitopatógenos ha avanzado muy lentamente y como parte importante de programas de control integrado, de tal manera de mantener las poblaciones de fitopatógenos en un nivel, en el que económicamente el daño sería menor (Zabaleta, 1994).

Algunos microorganismos benéficos se relacionan con sus hospederos y tienen gran importancia en el desarrollo de plantas. Por ejemplo algunos, hongos micorrizicos y bacterias fijadoras de nitrógeno, etc. Otros son parásitos del hombre y animales domésticos, de mayor o menor importancia. Algunos otros producen sustancias químicas útiles como bioinsecticidas, algunos más, son importantes como productores de antibióticos. Otros atacan insectos, animales e incluso algunos son utilizados por el hombre como controles biológicos de plagas y enfermedades. El presente trabajo constituye un resumen del estado actual del control microbiano de insectos, desde su

nacimiento como Patología de Insectos hasta su aplicación en biotecnología y en la producción agropecuaria.

El control biológico sirve para tratar enfermedades humanas y animales causadas por artrópodos y su empleo data de mucho antes que la medicina moderna, Metodlari, *et. al.*, (1997). Posteriormente se iniciaron sustancias químicas tales como insecticidas y acaricidas que vinieron a retrasar el uso de los métodos de control biológico, pero debido a todas las anormalidades y trastornos del medio ambiente y al desequilibrio entre flora y fauna, el uso de los métodos de control biológico ha regresado.

El control microbiano de insectos se define como la utilización de microorganismos o sus productos para controlar especies de insectos plaga. En entomología, el control microbiano es una herramienta técnica que se emplea en el control biológico de insectos. De lo anterior, surge la necesidad mundialmente de buscar alternativas de control, dentro de ellas y la que es motivo de esta presentación es el control microbiano. Por lo cual detallaremos los conceptos que en esta ciencia del control biológico se ha venido generando a la largo de este siglo.

Conceptos básicos del control microbiano

La PATOLOGIA DE INSECTOS se puede definir como: “El estudio de las enfermedades de los insectos”. En un sentido más estricto la patología estudia las enfermedades, su naturaleza, desarrollo y sus cambios estructurales y funcionales. De otra forma es el estudio de los cambios en las estructuras del cuerpo de un insecto producidas por una enfermedad causada por un microorganismo.

Otros definen PATOLOGIA DE INSECTOS como la “ La ciencia de las enfermedades de los insectos, su etiología, síntomas, y su epizootiología, con sentido a controlarlo cuando ocurren junto con enemigos naturales.

De los conceptos anteriores es necesario comprender que los conceptos de patología de insectos y de control microbiano no son sinónimos. Control microbiano, es

el estudio de las enfermedades con el fin de controlar las poblaciones de insectos dañinos.

Dentro de este contexto, los avances que se han generado en el control microbiano en el mundo, se destacan una gran variedad de especies de microorganismos causando enfermedades en los insectos; 200 especies hongos, 650 de virus y 7 de bacterias, pocas de protozoarios y algunos de nemátodos. De ellos ya se cuenta con varias formulaciones comerciales de algunas especies de estos entomopatógenos (Lezama *et. al.*, 1996).

Definiciones básicas en el control microbiano

- **ANTAGONISTA** : Microorganismos que segregan sustancias capaces de delimitar el crecimiento de otras especies microbianas al desarrollarse en un medio ambiente dado.
- **BACTERIA**: Microorganismo procarionte de diversas formas entre ellas alargadas (bacilos), esféricas (cocos) ó de espiral (spirilos, treponemas).
- **BACTERIOFAGO**: Virus cuyo hospedero es una bacteria.
- **COLONIZACION**: Capacidad de un microorganismo para establecerse en todas las partes del interior del cuerpo de un insecto.
- **CONIDIO**: Esporas del hongo que se separa de la punta de las hifas por constricción
- **CONTROL MICROBIANO**: La utilización de microorganismos (hongos, bacterias, virus, protozoarios y nemátodos) y sus productos útiles para controlar poblaciones de plagas, (hongos, bacterias, nemátodos, protozoarios, virus, insectos, acaros, etc).
- **COSMOPOLITA**: Organismo de distribución mundial.
- **ECTOPARASITO**: Organismo de desarrollo superficial externo de un hospedero.
- **ENDOPARASITO**: Organismo que se desarrolla dentro de su hospedero.
- **ENDOTOXINA**: Toxina microbiana que se sintetiza en el interior del microorganismo y permanece dentro de el hasta que este se autoliza.

- ENFERMEDAD EPIZOOTICA: Brote de una enfermedad en una población animal (insecto), debida a la alta prevalencia de la población de insectos (microorganismos) durante un tiempo y lugar específico.
- ENFERMEDAD: Es la alteración o mal funcionamiento de tejido(s) o cuerpo del hospedante, que resulta de la irritación continua por un agente patógeno o factor ambiental, que lleva al desarrollo de síntomas.
- ENTOMOFAGO: Concepto empleado para designar a cualquier organismo que se alimentan de un insecto o de sus partes.
- ENTOMOGENO Termina que se emplea para designar a todo microorganismo que se desarrolla en el cuerpo de un insecto.
- ENTOMOPATÓGENO: Microorganismo que puede causar una enfermedad en insectos y provocarle la muerte después de un corto período de incubación.
- EXOTOXINA: (Del latín Exo exterior, Toxicum veneno). Veneno de gran potencia secretado por las células bacterianas hacia el medio exterior.
- FITOPATÓGENO : Termina que se aplica a los microorganismos que producen enfermedades en las plantas.
- HIFA: Ramificaciones de un micelio fúngico.
- HIPERPARASITOS : Organismo parásito de otro organismo.
- HONGO: Vegetal halofítico que carece de clorofila y que tiene estructura filamentosa.
- HOSPEDERO: Termina empleado para designar al organismo que alberga a otro en su interior.
- INFECCION MIXTA: Interacción simultáneamente de dos o más especies de microorganismos, para introducirse en un hospedero susceptible.
- INFECCION SECUNDARIA: Dos o más tipos de patógenos que infectan al mismo hospedero ya infectado.
- INFECCION: Introducción de una o más especies de microorganismos al cuerpo de un hospedero susceptible, lo cual no significa necesariamente una enfermedad o síntoma.
- MICELIO: Hifa o masa de hifas que constituyen el soma de un hongo

- NEMATODO: Animal en forma de gusano, generalmente microscópico y que vive como saprofito en el agua o en el suelo o bien como parásito de plantas y/o animales.
- PATOGENO: Concepto usado para designar a los microorganismos capaces de producir una enfermedad en un hospedero susceptible, bajo condiciones normales.
- PROTOZOARIO: Microorganismo unicelular eucariote del reino animal.
- RE – INFECCION: Segunda infección de un hospedero por el mismo hospedero microbiano que causa la infección primaria.
- SAPROFITO: Especie microbiana que se desarrolla en el medio ambiente, en materia orgánica en descomposición, sin afectar otras especies.
- VIRULENCIA: Capacidad de un microorganismo para provocar una infección y generar una enfermedad y distribuirse en una población susceptible. Este término comúnmente es empleado para designar grados de intensidad y rapidez con la que un patógeno causa una enfermedad, se distribuye y mata a su huésped.
- VIRUS: Parásito obligado intracelular y submicroscópico compuesto de ácidos nucleicos y proteínas (Gebhardt, 1970; Green, 1978; Agrios, 1996; Lezama *et. al.*, 1996; Gutiérrez *et. al.*, 1996).

El uso de bioinsecticidas en el control de plagas ha revolucionado por completo los métodos de control de insectos fitófagos. Hoy en día se emplean microorganismos del tipo *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*, nematodos y virus nucleopoliédricos para el combate de insectos nocivos para la agricultura (DeBach, 1985).

En estudios recientes se ha demostrado el empleo potencial que poseen los Actinomicetes en la agricultura, tal es el caso de *Streptomyces hydroscopicus* para la producción de “herbicidas” en el combate de malezas, o bien el de *Streptomyces avermitilis* como organismo productor de “Avermectinas” para el combate de insectos y ácaros de importancia agrícola. Con la innovación de la ingeniería genética y el conocimiento de vehículos moleculares que permiten introducir genes de procariontes en eucariontes, se ha revolucionado por completo las formas de enfrentar las soluciones a los problemas agrícolas que más repercuten en la productividad de los cultivos.

Actualmente se comercializan semillas de plantas transgénicas de tomate, algodón, y maíz que sintetizan su propio insecticida, lo cual fue producto de la introducción de genes de bacterias productoras de bioinsecticidas del tipo de *Bacillus thuringiensis* en células en cultivo de tejidos de la planta anteriormente mencionada, dando como resultado una planta con nuevas propiedades.

El conocimiento y comprensión del papel que juegan los microorganismos en nuestro medio ambiente, ha permitido una mejor explotación de los recursos naturales y un menor impacto en el entorno del equilibrio ecológico de nuestro medio ambiente.

Los plaguicidas biológicos como la bacteria *Bacillus thuringiensis* se emplea contra larvas de lepidópteros, así como los hongos *Beauveria bassiana* (muscardina blanca) y *Metarhizium anisopliae* (muscardina verde) para el combate de más de 200 especies de insectos plaga (González *et. al.*, 1998).

En África del sur, Este de África, el Instituto Internacional para la Agricultura Tropical y GTZ, están trabajando con programas de microinsecticidas para el control de saltamontes y langosta usando microorganismos como *Metarhizium sp.* (Lubillosa, 1998).

Insecticidas microbiales: mayor destrucción contra plagas

Dentro del control biológico se destaca a los insecticidas microbiales ó bioinsecticidas como la tecnología más actual. Muchos científicos opinan que estos productos, hongos, virus o bacterias, son de una manera u otra mortíferos para los insectos. Los microorganismos patógenos ocurren naturalmente, pueden perpetuarse por si mismos prácticamente en todos los cultivos agrícolas sin producir detrimento en el medio ambiente, y sin, destruir los insectos beneficios.

"Hasta hoy no hay pruebas de que los insectos hayan desarrollado resistencia contra los insecticidas microbiales". En costo y eficiencia en general, la mayoría de los insecticidas microbiales todavía no pueden competir con los insecticidas químicos, especialmente contra los piretroides sintéticos (Beegle *et. al.*, 1991).

Gran parte de las nuevas investigaciones en biocontrol han sido realizadas con bacterias, hongos, nematodos y virus que matan a los insectos, en su forma de actuar, los hay de contacto y por ingestión, que provoca la muerte del insecto lentamente.

Contaminación ambiental

A finales de los 50's y principios de los 60's con los reportes de resistencia de insectos a insecticidas, contaminación ambiental y daños a la salud humana de dichos productos, cobra un nuevo impulso el control biológico, incluyendo el uso de bacterias, hongos, nematodos y virus entomopatógenos.

A partir de los 70's se reconoce la necesidad de un mayor entendimiento ecológico, particularmente por el renovado interés en el control microbial y las fallas por inducir epizootias usando patógenos reproducidos en laboratorio, ya que hasta esa época en general, se tendía a ignorar la dinámica natural de los patógenos en campo. En la actualidad los trabajos a nivel mundial se enfocan hacia la interacción de factores climáticos que inducen la formación de epizootias en campo, producción masiva en medio líquido de unidades infectivas de alta calidad y el mejoramiento genético de hongos entomopatógenos (Burges y Hussey, 1971; Hernández y Berlanga, 1996).

El abuso de la dependencia de los plaguicidas orgáno-sintéticos condujo a la problemática actual de contaminación ambiental del campo, problemas de salud en humanos y resistencia de los insectos a los plaguicidas químicos. La práctica de procedimientos de control recomendados hace largo tiempo-como lo es el manejo integrado de plagas se ha convertido en la alternativa más atractiva para reducir el uso de plaguicidas convencionales y preservar el balance ecológico de los agroecosistemas.

El uso continuo de plaguicidas provoca que las plagas adquieran resistencia, misma que se hereda a las generaciones posteriores. Hoy en día se reportan más de 500 especies de insectos con diferentes grados de resistencia hacia uno o varios grupos de insecticidas. Los plaguicidas se acumulan en el ambiente y contaminan el agua, se

depositan en los suelos y mares, causan grandes destrucciones de la flora y fauna, causan destrucción de los insectos útiles, ocasionan intoxicación y muerte de quienes los manejan, o se exponen a consumir residuos tóxicos, que causan desde impotencia sexual, abortos, paros cardiacos, hasta cáncer, entre otras (McClintic, 1995; Alisedo, 1996).

Control biológico tradicional e innovador

Es la regulación de plagas mediante enemigos naturales exóticos (parasitoides, depredadores y patógenos). La plaga clave es una especie clave que alcanza una alta densidad poblacional en un nuevo ambiente, similar a el originario (Rosen, *et. al.* 1994). La introducción de enemigos específicos, autoreproductivos, con alta densidad y capacidad reproductiva, adoptando a la plaga introducida, resulta un control permanente (Caltagirone, 1981). Desde el control de la escama algodonosa de los cítricos *Icerya purchasi*, en California, con la cochinita *Rohdalia cardinalis*, importada de Australia en 1888, desde entonces cientos de proyectos de control biológico, se han hecho en todo el mundo (Luck, 1981).

Dentro del control biológico innovador se requiere la propagación masiva y periódica de enemigos naturales, exóticos o nativos (insectos, bacterias, hongos, nematodos, virus, etc.), que se puedan multiplicar, en una estación, pero que no se convierta en parte permanente del ecosistema Batra, (1982). Este puede realizarse con miras de corto a largo plazo, de acuerdo a la especie a tratar, enemigos naturales y cultivo. En la Unión Soviética, la cría masiva y disseminación de enemigos naturales fue un método muy popular, que movio muchas ideas y organizaciones, donde permitió con éxito la cría masiva y liberación de agentes de control (DeBach, 1977).

Se han creado unos 222 centros de producción de insectos entomófagos y entomopatógenos (CREES) hasta 1994, Rosset y Benjamín (1993). Este ha sido muy efectivo a nivel de costos, tanto es así que se han utilizado los insectos (parasitoides,

depredadores) y entomopatógenos (*Bacillus thuringiensis*, *B. popilliae*, *Beauveria bassiana*, nemátodos y muchos virus, como el de la poliedrosis nuclear) (Dulmage, __).

Antecedentes

Datos de a partir de cuando se conoció el control microbial (natural).

Del control microbial se tienen datos muy antiguos donde se da a conocer que; Los primeros síntomas reportados de los insectos enfermos, tales como los de la abeja, *Apis mellifera* L. y el gusano de seda, *Bombyx mori*, L., se reportaron desde tiempos remotos, como en China, 2700 a.c., y en la Grecia clásica (National Academy of Sciences, 1988).

El conocimiento de las enfermedades de origen bacteriano en insectos data desde el siglo (XIX). Hacia 1870, Louis Pasteur realizó importantes estudios en patología de insectos, describiendo enfermedades en el gusano de seda provocadas por estos microorganismos. *B. thuringiensis* por su parte, es una bacteria de cuya presencia se conoce desde 1901, en que Ishiwata, en Japón, la reporta causando una enfermedad lechosa en larvas de un lepidóptero. No fue, sin embargo, hasta que Berliner, en 1911 en la Cd. de Thuringia, Alemania, en que se realiza la descripción taxonómica y es denominada *B. thuringiensis* (Lira, 1983; Garza, 1996).

Los primeros trabajos sobre el control de insectos plaga mediante la utilización de bacterias se remontan a 1914. Aparentemente, los ensayos no fueron consistentes y el interés en estos entomopatógenos resurge cuando en 1940, se demostró exitosamente el control del escarabajo japonés (*Popillia japonica* Newman) mediante la aplicación de esporas de *Bacillus popilliae* (Dutky) (Casamayor, 1998).

De la misma manera los primeros trabajos experimentales reportados con hongos entomopatógenos se remontan al año 1835 cuando Agostino Bassi demostró por primera vez que una enfermedad de insecto era ocasionada por un hongo. *Beauveria bassiana*, al confirmar en forma experimental que la enfermedad “mal de sotto” o “muscardina

blanca” del gusano de seda, *Bombix mori*, era ocasionada por dicho microorganismo. Posteriormente el potencial de los hongos entomopatógenos producidos masivamente para el control de plagas se inició con los estudios de Metchnikoff (1879) y Krassilstchick (1888), para el control del escarabajo, *Anisoplia austriaca* y el picudo *Cleonus pun* respectivamente (Hé Hernández y Beralnga, 1996; Gallegos-Morales, 1996).

Hasta la fecha Rudolf Glaser encontró el primer método para reproducir nemátodos en medio artificial, los nemátodos también pueden ser reproducidos en insectos vivos. Las larvas de *Galleria mellonella* son comunmente usadas para la reproducción *in vivo*, más tarde encontraron tecnicas para el cultivos de nemátodos monoxenicamente (Bedding, 1981). Actualmente se puede producir eficientemente en fermentadores de 7500 – 80000 litros con capacidad de producción de 100,000 nemátodos por ml (Georgis y Hague, 1991), también se tienen algunas formulaciones de granulados a base de nemátodos (Connick *et. al.*, 1993).

El primer insecticida viral que aparecio en el mercado fue “Elcar”, el cual se basa en un NPV (Virus de la poliedrosis nuclear) aislado por primera vez y desarrollado por Ignoffo. “Elcar” está registrado para controlar el gusano cogollero del tabaco (*Heliothis virescens*) y el gusano de la cápsula del algodón (*Heliothis zea*) en los algodones. Otros insecticidas virosicos aprobados son Gypcheck, Neocheck-S y TM-1 (McClintic, 1995).

Importancia

Debido a las ventajas que presenta el Control Biológico sobre el control químico de plagas, es muy importante la búsqueda, determinación y clasificación de microorganismos entomopatógenos en México, tales como *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Paecilomyces* spp., *Entomophthora* spp., etc., (nematodos) *Heterorhabditis* sp., *Steinernema* sp. y *Xenorhabdus* sp., Nucleopoliedrovirus y Granulovirus. Con el objeto de conocer las serovariedades de estos que se encuentran en forma natural, y así mismo promover la investigación en el desarrollo de estos microorganismos. Los primeros productos de la biotecnología en ser

comercializados para la agricultura fueron los bioplaguicidas. Muchos de estos, basados en *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), una bacteria que produce una proteína tóxica para las larvas de muchas mariposas y palomillas, en uso desde principios de 1960. Los bioplaguicidas, no obstante, representan una pequeña fracción del mercado internacional de los plaguicidas, actualmente dominado por los productos químicos. La Environmental Protection Agency (EPA) ha aprobado más de 600 plaguicidas químicos. Los bioplaguicidas no recombinantes basados en *Bt*, tienen algunas ventajas sobre los plaguicidas químicos: son altamente tóxicos para plagas específicas, dejando al hombre, cultivos, vida silvestre e insectos benéficos ilesos; no persisten en el ambiente y pueden ser producidos mediante procesos de fermentación (Rodríguez *et. al.*, 1991; Beall *et. al.*, 1991; Agrosintesis (I), 1992; Agrosintesis, 1993).

Dentro de los patógenos de insectos, las bacterias son el grupo de microorganismos más empleados en el control de plagas, principalmente de los de tipo *Bacillus* y *Streptomyces*. Actualmente *Bacillus thuringiensis* (o simplemente *Bt*) representa más del 90% de las ventas de los insecticidas microbiales para el control de ciertos gusanos, moscas y escarabajos plaga de la agricultura. El 10% restantes se distribuye entre el mercado de los bioinsecticidas de origen fúngico (hongos), nemátodos y virus (Stockdale, 1986).

El impacto de la biotecnología y particularmente de la ingeniería genética en el mejoramiento y obtención de nuevas cepas con mayor toxicidad selectiva, o bien la obtención de plantas transgénicas de tomate, algodón, tabaco y maíz, que produzcan su propio bioinsecticida, ha comenzado por revolucionar por completo el mercado de los plaguicidas en la agricultura. Se prevé, sin embargo, que los mercados de los países de América Latina se perfilan para ser grandes consumidores de estas semillas en un futuro próximo (Feitelson *et. al.*, 1992).

Manejo integrado

El MIP se define como un método de control de plagas que integra un conjunto de estrategias confiables desde el punto de vista ecológico, económico y toxicológico con énfasis en el empleo de elementos naturales de regulación.

La filosofía del MIP se concentra en la aportación de elementos ecológicos para la supresión de plagas, de una manera tal, y a largo plazo con eficiencia en la protección sanitaria de los cultivos. Reducir el uso de plaguicidas, fomentar el control natural, reducción de costos e incrementar la calidad de vida, son los objetivos del MIP, (Biotecno, 1998).

El objetivo del Manejo Integrado de Plagas es reducir a niveles económicos la población de una plaga (insectos, malezas o fitopatógenos) através de la utilización de diferentes estrategias de control. El Control Microbiano es una de estas herramientas la cual puede ser empleada de forma semejante a la de un insecticida químico, con la finalidad de obtener una reducción poblacional de la plaga en un determinado momento. Sin embargo, los objetivos de este control son más amplios ya que también puede ser interesante introducir un patógeno dentro de un área, en el cual no estaba presente, para lograr su establecimiento y una reducción del insecto más permanente o prolongada en el tiempo. También, se podrían crear los medios para favorecer la ocurrencia de epizootias en el campo o incrementar la densidad de un patógeno ya existente en el hábitat, para aumentar la mortalidad producida naturalmente (Gallegos y Aranda, 1996; Casamayor, 1998).

Como se puede observar, los conocimientos sobre epizootiología juegan un papel vital para poder manejar a los entomopatógenos en el campo. Se analizarán entonces algunas de las diferentes alternativas que ofrecen los microorganismos para ser empleados dentro del Control Microbiano, pensando siempre que éste se encuentra inserto dentro de la filosofía del Manejo Integrado de Plagas. En un sistema del MIP, se

utilizan todos los métodos y técnicas de control de manera compatible, para mantener una población de plagas, con un umbral económico bajo U.E., (Metcalf y Luckman, 1990).

Para esto se requieren ciertos criterios ecológicos, ventajas económicas y riesgo mínimo, basado en ideas centrales (Andrews y Quezada, 1989).

- Agroecosistema
- Control natural
- Biología y ecología de microorganismos
- Cultivo
- Muestreo y niveles críticos
- Integración de disciplinas
- Efectos secundarios de protección.

MICROORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS.

A continuación se enlistan los microorganismos, usados como bioinsecticidas contra insectos plaga de los cultivos;

BACTERIAS:

Bacillus thuringiensis

B. popilliae

B. sphaericus

B. larvae

B. moritai

Actinomicetos

Streptomyces avermectilis.

Saccharopolyspora spinosa

HONGOS:

Beauveria bassiana

Metarhizium anisopliae y *M. flavoviridae.*

Verticillium lecanii

Paecilomyces sp.

Nomuraea rileyi

Hirsutella sp.

Aschersonia aleyrodis

Entomophthora sp.

Coelomomyces sp.

Massospora sp.

NEMATODOS:

Romanomermis culicivorax

Steinernema sp.

Heterorhabditis sp.

VIRUS:

Baculovirus y Granulovirus

Virus de la poliedrosis nuclear (VPN)

Virus de la poliedrosis citoplasmica (VPC)

Bacterias:

Clasificación

La mayoría de las bacterias entomopatógenas pertenecen a las familias Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Streptococcaceae y Bacillaceae.

Según el criterio de Bucher (1960), estas bacterias patógenas pueden pertenecer a tres grupos: potenciales, facultativas y obligatorias:

Los patógenos potenciales, son aquellas bacterias que luego de invadir al hospedante pueden multiplicarse en el hemocele produciendo septicemia letal. Son en general incapaz de desarrollarse en el aparato intestinal, teniendo poca capacidad invasiva. No presentan ningún tipo de especificidad y crecen generalmente bien en medios artificiales. Los insectos son comúnmente resistentes a este tipo de bacterias, pero esa resistencia se pierde bajo condiciones de estrés (climáticas y/o nutricionales) (Agrociencia, 1990; Casamayor, 1998).

Las bacterias patógenas facultativas pueden multiplicarse en el intestino de los hospedantes, producir toxinas y/o enzimas y luego invadir el hemocele. Son habitantes naturales de los suelos, en general aeróbicas y crecen muy fácilmente en medios artificiales. Las bacterias entomopatógenas obligatorias se encuentran en la naturaleza solamente asociadas al hospedante. Son causantes de enfermedades específicas en un muy limitado número de insectos, muy exigentes en sus requerimientos para multiplicarse y en general, no desarrollan bien en medios artificiales. Otros autores agruparon a las bacterias entomopatógenas en sólo dos categorías: las formadoras de esporas y las que no esporulan, siendo esta clasificación la más utilizada en Patología de Insectos y la que será desarrollada en este capítulo (Witton's, 1984; Pelczar, 1984).

***Bacillus thuringiensis* (Berliner).**

Características generales de la bacteria.

Las bacterias que causan enfermedades en insectos, lo hacen generalmente sobre formas larvarias y no en formas adultas de los insectos. *Bacillus thuringiensis*, (Berliner) es sin duda alguna el microorganismo al cual se le han dedicado mayor cantidad de esfuerzos en investigación y desarrollo tecnológico, actualmente es por su nivel de empleo en campañas de control biológico de insectos la de mayor uso en el mundo. Existen otras bacterias, que también tienen esta cualidad; (*Bacillus sphaericus*, *Bacillus popilliae* y *Bacillus lentimorbus*, Dutky), pero solo las dos primeras pueden ser multiplicadas en fermentadores y las otras solo se desarrollan completamente en larvas de coleópteros. En EUA, se tienen productos a base de estas bacterias que han sido registrados y que son obtenidos de la inoculación en larvas vivas de gallina ciega (Stockdale, 1986; Agrosintesis, 1993).

Bacillus thuringiensis, es el nombre de la bacteria y existen diferentes subespecies y patotipos, los cuales tienen un poder de control mucho mayor para ciertas especies de plagas. De estas razas o variedades se obtienen buenos resultados cuando son utilizados en el MIP, son buenos en hortalizas, granos y algunos frutales, por ejemplo; *B.t.* var. Berliner, *B.t.* var. Israeliensis, *B.t.* var. Kurstaky, *B.t.* var. San Diego, y *B.t.* var. aizawi, cada una de estas variedades tiene preferencia en su virulencia hacia diferentes tipos de lepidópteros y otras especies de insectos, (Biotechno, 1998; Arbico, ____).

Las células de las bacterias (*Bt*), al momento de esporular, además de las endoesporas, producen también un cristal en forma de diamante en el esporangio durante el proceso (Figura 1). Este cristal contiene una toxina, denominada delta-endotoxina, capaz de paralizar el intestino de la mayoría de las larvas de lepidópteros. Las larvas susceptibles, después de consumir bacterias (*Bt*), disminuyen en su alimentación y mueren, ó se debilitan, tanto que la bacteria puede invadir el hemocele desde el intestino

y producir una septicemia letal. Los insectos más susceptibles son los que tienen un intestino con pH alcalino (Bustillo, 1989).

Figura 1.- Esporas y cristales de *Bacillus thuringiensis*. (Tomada de Cornell, 1998).

La clasificación de *B. thuringiensis* se basa en las propiedades antigénicas de sus proteínas flagelares complementadas con pruebas bioquímicas para determinar variedades (Figura 2). La capacidad de *Bacillus thuringiensis*, de eliminar a larvas de insectos se conoce desde los comienzos del siglo XX, su potencial como insecticida se maneja desde hace 40 años. Esta bacteria fue descrita por primera vez por Berliner (1915). A partir de ahí se han clasificado 35 variedades pertenecientes a unos 30 serotipos (Rodríguez *et.al.*, 1991).

Figura 2.- δ - Endotoxina de *Bacillus thuringiensis* (Proteína), tomada de Zhang *et. al.*, 1998.

Biología

Bacillus thuringiensis: Es una bacteria aeróbica, esporulante, Gram-positiva, como característica distintiva produce cristales proteicos de diversas formas (rombico, esférico, etc.), donde reside la actividad insecticidas (Cry), que actúan como venenos estomacales de una gran variedad de insectos. Se agrupan dentro del grupo I del género *Bacillus*, perteneciente a la familia **Bacillaceae**, del cual se distingue su cuerpo paraesporal y por sus antígenos flagelares. Las células vegetativas de *B. thuringiensis* tienen forma de bacilo, (Figura 3 y 4), con un tamaño promedio de 2 a 5 μm por 1 μm , poseen flagelos peritricos y se reproducen por fisión binaria. Es de las bacterias más importantes e interesante usada en el control biológico de los insectos, pues son aquellas que cuando esporulan forman cristales de proteína tóxica. El cristal o cuerpo paraesporal es formado por el bacilo al mismo tiempo que la espóra. Generalmente tienen forma de diamante, romboide o cuboide, (Rodríguez *et. al.*, 1991; Agrosintesis (I), 1992, Sosa, 1994).

Figura 3.- Células con esporas de *Bacillus thuringiensis*. Tomada de Dulmage, 1989).

Figura 4.- Esporas de *Bacillus thuringiensis*. (Tomada de Dulmage, 1989).

Taxonomia

REINO----- Procaryote (Monera)
 PHYLUM----- Schizophyta
 DIVISION -----Firmicutes
 CLASE -----Schizomicetes (Firmibacteria)
 ORDEN-----Eubacteriales
 SUB-ORDEN-----Eubacteriineae
 FAMILIA-----Bacilliaceae
 GENERO-----*Bacillus*
 ESPECIE-----*thuringiensis*

(Adaptado de, Bryan, 1974; Stanley, 1974; Green, 1978 y Pelczar, 1984 y Goto, 1992).

Importancia de *Bt*.

Dentro de los patógenos de insectos, las bacterias son el grupo de microorganismos más empleados en el control de plagas, principalmente los del tipo *Bacillus* y *Streptomyces*. Actualmente *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) representa mas del 90% de las ventas de los insecticidas microbiales para el control de ciertos gusanos, moscas y escarabajos plaga de la agricultura. El 10% restantes se distribuye entre el mercado de los bioinsecticidas de origen fúngico (hongos), nemátodos y virus (Gallego-Morales, 1996).

Usos

- Es utilizado en cultivos como, hortalizas, frutales y forestales
- Puede ser aplicado hasta la cosecha. No existe un intervalo entre aplicación y cosecha.
- No presenta período de espera, para el regreso de los cosechadores.
- No daña los cultivos aplicados, ni contamina, si siguen las instrucciones de uso.
- Su actividad no se ve afectada por altas temperaturas
- La resistencia a este no ha sido observada cuando se siguen buenas prácticas agrícolas, por lo que se remota su aparición.

Toxinas producidas de (*Bt.*)

Este bacilo fue primeramente aislado por Ishiwata (1901) en Japón, de larvas de *Bombix mori*, atacadas o infectadas con la "enfermedad sotto", de donde aisló una bacteria a la que Ishiwata denominó al bacilo "Bacillus de la muerte subita". Describió la patología de la enfermedad e incluso sugirió que en la muerte de las larvas, causada por la ingestión del bacilo, podía estar involucrada una toxina. La bacteria fue aislada por Berliner (1911), pero obtenida de larvas enfermas de *Anagasta kuehniella* (Zeller) en Thuringia, Alemania, nombrando al bacilo *Bacillus thuringiensis*, nombre con el que se le conoce actualmente, debido a que Ishiwata no dio a conocer sus trabajos. Más tarde, en 1916, Aoki y Chigasaki trabajaron con el aislado de Ishiwata y reportaron la actividad de una toxina presente en los cultivos esporulados de esta bacteria, la cual no se encuentra presente en cultivos jóvenes no esporulados (Cisneros, 1980; Lawrence, 1983; Andrews *et. al.*, 1987; Faust y Bulla, __).

Mattes en 1927, reaisló el bacilo del mismo insecto que Berliner a *Bt.* y tanto Berliner como Mattes observaron un segundo cuerpo adicional a la espora, al que este último le llamó "Restkoper". En 1953, Hannay trabajando con esta especie, sugirió por primera vez que la patogenicidad podía estar asociada con cuerpos cristalinos o cristales formados en la célula durante la esporulación. Angus (1968) estudiando cepas cristalíferas japonesas de *B. sotto*, demostró que la hipótesis de Hannay era válida. *B.*

thuringiensis o *B.t.* como se lo llama abreviadamente, produce además del cristal, otras toxinas insecticidas (Botjer *et. al.*, 1985; Brousseann y Masson, 1988, citados por Gallegos-Morales, 1996).

El cristal contiene una endotoxina capaz de paralizar el intestino de la mayoría de las larvas de lepidópteros, y es conocida como δ - endotoxina. Además del cristal (Figura 5), otras sustancias tóxicas a insectos pueden ser producidas por *Bt*: (A) una endotoxina termolábil; (B) exotoxina termoestable; (C) antibiótico bacilogénico; (D) lectinasa; (E) proteínas. En el sistema de Krieg la endotoxina termolábil se refiere al cristal paraesporal (Cisneros, 1980; Javelin-WG. __).

Figura 5.- Fotografía al microscopio compuesto de las esporas (elípticas) y los cristales de δ - endotoxina (rombos) de un cultivo de *Bacillus thuringiensis*. (Tomada de Gallegos-Morales, 1996).

Espectro de acción

Actualmente las cepas de *Bacillus thuringiensis* se agrupan según la clase u orden de organismo contra el cual su tóxina es activa, de esta manera se reportan cuatro patotipos; Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera-Diptera y Nematoda. Aunque también se le conoce su amplio espectro, principalmente contra las larvas de lepidópteros, también afecta a los órdenes, Hymenopteros, Orthoptera. Los parasitoides o predadores, en general no son afectados por la acción patogénica de esta bacteria, tampoco se ha detectado efectos tóxicos en vertebrados, siendo segura su manipulación y utilización aún hasta la fecha de la cosecha, lo que hace apropiada las aplicaciones en frutales, hortalizas y otros, (Agro-síntesis (II), 1992; Hoyle, 1992).

Modo de acción

B. thuringiensis o (*B.t.*), requiere ser ingerido para llevar a cabo su efecto patotóxico. La bacteria sin el cristal no tiene la capacidad de invadir a su hospedero. Al ingerirse el complejo espora-cristal, los cristales se disuelven en el intestino medio debido a su contenido altamente alcalino, una vez disuelto, las proteínas del cristal

sufren proteólisis por las proteasas digestivas del insecto (Figura 6); sin embargo su degradación no es completa quedando intacta una proteína de aproximadamente, 65 KDAL. Esta es la llamada delta-endotoxina, la cual adquiere una conformación tridimensional que le confiere gran especificidad para acoplarse a un componente glicoproteico de la membrana de las células epiteliales, comunmente llamado “receptor” (Lara, 1995). La vía primaria de invasión es la cavidad oral, accediendo al insecto con la alimentación de la larva. Los primeros síntomas observables son alteraciones en la pigmentación de la zona intestinal y posteriormente, la putrefacción de todos los tejidos. Las bacterias son también invasores secundarias, a través de lesiones causadas tanto por parasitoides y predadores u otros entomopatógenos, como los hongos (Dulmage y Aizawa, __; Dulmage, 1981; Thurisav-24, 1997).

También pasa a la hemolinfa hacia el intestino medio, lo que da lugar a que el pH alcalino de está casi se neutralise, y es así como las esporas ingeridas, ya en el medio casi neutro, inician la germinación y proliferación en el individuo paralizado o muerto, pudiendo en algunos casos causar la muerte por septicemia. Se ha demostrado también que la susceptibilidad varía entre las especies de insectos y la respuesta de una especie particular puede ser modificada por factores como: edad, vigor, y la concurrencia de la infección con otros microorganismos. Tomando en cuenta la humedad, temperatura, fuentes de alimento y otros, (Cisneros 1980; Ibarra, 1995; Faust y Bulla, __).

Figura 6.- Ciclo de infección de *Bacillus thuringiensis* sobre larvas de Lepidópteros. (Tomado de Casamayor, 1998).

Cuadro 1.- Serotipos de *Bacillus thuringiensis*.

SEROTIPO	SUBESPECIE	SEROTIPO	SUBESPECIE	SEROTIPO	SUBESPECIE
H – 1	<i>thuringiensis</i>	H-12	<i>thompsoni</i>	H-34	<i>konkukian</i>
H – 2	<i>finitimus</i>	H-13	<i>pakistani</i>	H-35	<i>seoulensis</i>
H-3a3c	<i>alesti</i>	H-14	<i>israeliensis</i>	H-36	<i>malaysiensis</i>
H-3a3b3c	<i>kurstaki</i>	H-15	<i>dakota</i>	H-37	<i>andaluciensis</i>
H-3a3d	<i>sumiyoshiensis</i>	H-16	<i>indiana</i>	H-38	<i>oswaldocruzi</i>

H-3a3d3e	<i>fukuokaensis</i>	H-17	<i>tohokuensis</i>	H-39	<i>brasiliensis</i>
H-4a4b	<i>sotto</i>	H-18	<i>kumamotoensis</i>	H-40	<i>huazhongensis</i>
H-4a4b	<i>dendrolimus</i>	H-19	<i>tochigiensis</i>	H-41	<i>sooncheon</i>
H-4a4c	<i>kenyae</i>	H-20 ^a 20b	<i>yunnanensis</i>	H-42	<i>jinghongensis</i>
H-5a5b	<i>galleriae</i>	H-20 ^a 20c	<i>pondicheriensis</i>	H-43	<i>guiyangensis</i>
H-5a5c	<i>canadensis</i>	H-21	<i>colmeri</i>	H-44	<i>higo</i>
H-6	<i>subtoxicus</i>	H-22	<i>shandongensis</i>	H-45	<i>roskildiensis</i>
H-6	<i>entomocidus</i>	H-23	<i>neoleongiensis</i>	H-46	<i>chanpaisis</i>
H-6a,6c	<i>oyamensis</i>	H-24	<i>japonensis</i>	H-47	<i>wratislaviensis</i>
H-7	<i>aizawi</i>	H-25	<i>coreanensis</i>	H-48	<i>balearica</i>
H-8a8b	<i>morrisoni</i>	H-26	<i>silo</i>	H-49	<i>muju</i>
H-8a8b	<i>tenebrionis</i>	H-27	<i>mexicanensis</i>	H-50	<i>navarrensensis</i>
H-8a8c	<i>ostrinae</i>	H-28	<i>monterrey</i>	H-51	<i>xiaguangiensis</i>
H-8b8d	<i>nigeriensis</i>	H-29	<i>amagiensis</i>	H-52	<i>kim</i>
H-9	<i>tholworthi</i>	H-30	<i>madellin</i>	H-53	<i>asturiensis</i>
H-10	<i>darmstadiensis</i>	H-31	<i>toguchini</i>	H-54	<i>poloniensis</i>
H-11a11b	<i>toumanoffi</i>	H-32	<i>camerounensis</i>	H-55	<i>palmanyolensis</i>
H-11a11c	<i>kyushuensis</i>	H-33	<i>leesi</i>	----	<i>wuhanensis</i>

(Tomado de Gallegos-Morales, 1996, López, 1999).

Produccion comercial

La producción comercial de *Bt* hasta el año de 1970, se basaba en la utilización de la serovariedad *thuringiensis*; sin embargo, con el descubrimiento de la serovariedad *kurstaki* (cepa HD-1, la cual es 16 veces más efectiva contra *Heliothis virescens*), muchas de las compañías productoras decidieron utilizar esta última como ingrediente activo de sus productos (Andrews *et. al.*, 1987; Rowe y Margaritis, 1987). En la

actualidad se han diversificado el número de cepas y serovariedades utilizadas en los productos a base de *Bt*, las cuales presentan mayor toxicidad que las cepas anteriores o han ampliado su rango de hospederos (Lira, 1983).

Formulaciones comerciales

Después de la segunda guerra mundial se intensificó la industria de la fermentación para la producción de bioinsecticidas a partir de *Bacillus thuringiensis*, tomando sus características y propiedades bioinsecticidas como interés en la producción comercial. En USA, en 1957 “Pacific Yeast Products” creó las primeras preparaciones de (*Bt.*), con el nombre de “Thuricide”, en 1959 “Nutrille Products Inc.”, introdujo al mercado a Biotrol, no obstante por su poca efectividad fueron limitados, para 1969, se descubrieron nuevas cepas y laboratorios Abbot entra al mercado con Dipel producto de la cepa HD-1 de Dulmage (Burgess, 1981; Beegle, 1991; Morales *et. al.*, 1997).

Cuadro 2.- Productos comerciales a base de *Bacillus thuringiensis* en México.

INSECTO	MERCADO	SUB-ESPECIE	PRODUCTO	COMPAÑÍA
Lepidóptera (falso medidor, palomilla gitana, dorso diamante, de la harina).	Hortalizas, Bosques, Productos de almacén, Frutales	<i>Kurstaki</i>	Bactospeine Baxil B.T. Biobit Condor* Cutlass* Dipel (Ph, G, Sa)	Duphar Agrofarma Mexican Novo Labs Ecogen Ecogen Abbott Labs Sandoz

Lepidóptera (Palomilla de los apiarios)	colmenares	Toxina de <i>Kurstaki</i> encapsulada <i>aizawai</i>	Javelin Thuricide Larvo Bt MVP ^{&} Agree Certan ^{&}	Sandoz Knoll Labs Mycogen Ciba-Novartis Sandoz
Díptera	Agencias de control de vectores	<i>Israelensis</i>	Skeetal Teknar Vectobac Bactimos	Noco Labs Sandoz Abbott Labs Biochem Mycogen
Coleóptera	Papa y Hortalizas	<i>san diego tenebriosis tenebriosis/ kurstaki</i> Toxina de san diego encapsulada	M-none Trident Foil* M-one Plus ^{&}	

SARH⁴⁷, 1990; Tomada de Lambert y Preferoen, 1992. Bioscience 42: 112-122, citado por, Sosa, (1994); actualizado por Olayo, 1999.

* Mejorado genéticamente, no recombinable

[&] Mejorado por ingeniería Genética, recombinantes muertos. Uso experimental en México.

Transgénicos de (*Bt.*)

El impacto de la biotecnología y particularmente de la ingeniería genética en el mejoramiento y obtención de nuevas cepas con mayor toxicidad selectiva, o bien la obtención de plantas transgénicas de tomate, algodón, tabaco y maíz, que produzcan su propio bioinsecticida, ha comenzado por revolucionar por completo el mercado de los plaguicidas en la agricultura. Se prevé, sin embargo, que los mercados de los países de

América Latina se perfilen para ser grandes consumidores de estas semillas en un futuro próximo (Ibarra, 1995; Deaton, 1996; Vandekar, __).

***Bacillus popilliae* Dutky (1940)**

Características generales dela bacteria.

El interés en los entomopatógenos resurge cuando en 1940, se demostró exitosamente el control del escarabajo japonés (*Popillia japonica*) (Newman) mediante la aplicación de esporas de *Bacillus popilliae* (Dutky) (Casamayor, 1998).

Hampeil (1977), menciona que es uno de lo primeros organismos que fueron usados extensivamente en el campo fue la bacteria que provoca la enfermedad de la leche, *Bacillus popilliae*, aislado y descrito por Dutky (1937, 1940). Dutky (1941) obtuvo la patente en U.S.A., por el descubrimiento del control del escrabajo japonés, (*Popillia japonica*), y más tarde en 1942 una segunda patente para el proceso de propagación de bacterias (Dulmage, 1981; Stockdale, 1986).

Biología

B. popilliae es un bacilo pequeño, gram-positivo, no móvil, el cual se engloba en el momento de la esporulación, además de la formación de la espora, se forma un cuerpo al final del esporangio. El bacilo puede cultivarse en condiciones aeróbicas, pero se desarrolla mejor en ambiente anaeróbico. Las esporas son altamente resistentes a las condiciones adversas del medio ambiente (Agrosintesis, 1993).

El bacilo presenta sus esporas en forma elipsoidal, terminal a central, con una parte inferior gruesa-bordeada refráctil, esporangio hinchado los cuales raramente se encuentran libres. Acompañados con frecuencia por el esporangio con un cuerpo paraesporal refractil. El cuerpo Paraesporal varía en dimensión.

Bacillus popilliae es catalasa –negativa e incapaz de crecer en caldo nutritivo. Dutky (1940) fue el primero que observó el desarrollo de *B. popilliae* y *B. lentimorbus* en el caldo nutritivo (Milner, __).

B. popilliae crece en medios que contienen 2% NaCl no así *B. lentimorbus*. Esta bacteria continua creciendo indefinidamente sobre la transferencia en (cultivos líquido-secundarios o semisólidos medios con agar de 0,1%).

Taxonomía

REINO----- Procaryote (Monera)
 PHYLUM----- Schizophyta
 DIVISION ----- Firmicutes
 CLASE-----Schizomicetos (Firmibacteria)
 ORDEN-----Eubacteriales
 SUB-ORDEN-----Eubacteriineae
 FAMILIA-----Bacilliaceae
 GENERO-----*Bacillus*
 ESPECIE-----*popilliae*

(Adaptada de, Bryan, 1974; Stanley, 1974; Green, 1978 y Pelczar, 1984 y Goto, 1992).

Modo de acción

Es un agente útil para el control del escarabajo japonés (*Popillia japonica*). La infección es efectuada por ingestión de las esporas, estas aún no se pueden producir in-vitro, de cualquier modo, se basa su proximidad experimental en la observación de cultivos que esporulan después de su crecimiento en el hemocele de *P. japonica* por

19 hrs; el bacilo crece progresivamente pero lento en cadenas. Se observa aproximadamente 1% de esporulación después de siete días, la tasa de crecimiento es lenta y en cadenas. La producción exitosa de esporas depende de una combinación nutricional y factores fisico-químicos (Dulmage, __ ; Stockdale, 1986).

Requerimientos de *B. popilliae*.

Para su crecimiento mínimo en un medio sintético, se requiere de 11 aminoácidos, Tiamina y Barbiturina, requiere oxígeno para un buen metabolismo de los carbohidratos, (Dulmage, 1978).

Morfología.

El esporangio maduro, está asociado a una espora y varios cuerpos paraesporales. El tamaño, dimensión y posición de la espora y cuerpos paraesporales son a menudo características para diseminar cepas o subespecies y especies determinadas. De acuerdo con la microscopia, las variedades se ordenan en cuatro subgrupos:

- (i) A₁ - espora grande; cuerpo paraesporal, a menudo pequeño, adheridas, pegado o separado, solapando la espora;
- (ii) A₂ - espora grande; cuerpo paraesporal, a menudo grande, separado de la espora;
- (iii) B₁ - espora central grande; ningún cuerpo paraesporal.
- (iv) B₂ - espora pequeña en un esporangio grande; espora a menudo excéntrica; ningún cuerpo paraesporal.

Las características morfológicas de algunas variedades de *B. popilliae* se dan dentro. Una características importantes de la espora son los cantos longitudinales en la superficie (Figura 7), normalmente los cantos-cruz son cinco o seis, ensamblados cerca del ápice. Los células longitudinales pueden ser ramificados, en la var. *popilliae*, o pueden ser cortos antes del ápice. Las variedades individuales pueden ser distinguidas

por el número de células longitudinales, o por sus dimensiones, (Milner, ___ ; Faust y Bulla, ___ ; Glare *et. al.*, 1993).

Figura 7.- Esporas y cristales de *Bacillus popilliae*, tomada de Milner, ___ .

Formulaciones comerciales

Cuadro 3.- Productos comerciales a base de *B. popilliae*.

Microorganismo	Nombre comercial	Blanco	País	Formulación
<i>Bacillus popilliae</i>	Doom Japidemic (56) Milky Spore	Larvas de coleopteros	USA USA USA	Polvo de esporas listas para su uso. No menos de 100 millones de esporas por gramo de polvo inerte.

Tomado de Khachatourians, (1986); Rodríguez *et. al.*, (1991).

Bacillus larvae, White (1906)

Generalidades de la bacteria:

Foulbrood americano (AFB) es una enfermedad infecciosa causada por las esporas formadas del bacilo en las larvas de las abejas de miel (*Apis mellifera* L.). Es la más extensa y destructiva de las enfermedades de la cría, afectando la reina, el abejorro, y larvas de las obreras. Las abejas adultas, no son afectadas por AFB. Es una de tres bacterias patógenas de insectos con esporangio (globoso hinchado), en común con otros miembros del grupo de la familia *Bacillaceae* esta bacteria es catalasa-negativa y no sobrevive en caldo nutritivo, (Green, 1978; Gebhardt, 1970).

El primer ensayo en medio de crecimiento de esta bacteria melindrosa, fue hecho por White. El Later (1919) reporta que un buen crecimiento se puede obtener en un medio que contenga yema de huevo. *B. larvae*, se ha aislado varias veces de colmenas y abejas de miel infectadas. Aunque se sabe que esta no se puede recuperar de cualquier fuente, se supone que también la bacteria se puede obtener de suelo infectado alrededor

de colmenas de abejas enfermas. Katznelson en 1950 menciona que las esporas permanecen viables e infectivas cuando se mantienen en suelo húmedo por siete meses, (Gordon, 1973 citado por Stanley, 1974).

El bacilo aparece sobre las larvas en dos formas: vegetativa (células bacterianas en forma de barras) y esporas. Solamente la etapa de la espora es infecciosa a las abejas de la miel. Las esporas germinan a la etapa vegetativa después de que entran al intestino larval y continúan multiplicándose hasta la muerte de la larva. Las esporas americanas de *Bacillus larvae* (*B. alvei*) son muy resistentes a la desecación, al calor, y a los desinfectantes químicos. Estas esporas pueden seguir siendo virulentas por más de cuarenta años en cepillos de colmenares y miel (Green, 1978; Faust y Bulla, __).

Biología

Bacillus larvae, tiene medidas de 0.5μ a 0.6μ por 1.5μ a 6μ White (1920^a), gram-positivas, algunas cepas tienen movimiento natural con flagelos peritricos. Esporas elipsoidales de terminales a centrales, borde grueso, fase menos refractil, esporangio globoso hinchado, esporas a menudo libres. Aunque existe la variabilidad en la resistencia de diferentes aislados, de una cepa u otra, sin embargo sobreviven a 90° C por 20 minutos, las que son más resistentes según White 1920^a (Gordon, 1973 citado por Stanley, 1974).

Taxonomía

REINO----- Procaryote (Monera)
 PHYLUM----- Schizophyta
 DIVISION ----- Firmicutes
 CLASE-----Eschizomicetos (Firmibacteria)
 ORDEN-----Eubacteriales
 SUB-ORDEN-----Eubacteriineae

FAMILIA-----Bacillaceae

GENERO-----*Bacillus*ESPECIE----- *larvae*

(Adaptada de, Bryan, 1974; Stanley, 1974; Green, 1978 y Pelczar, 1984 y Goto, 1992).

Transmisión

Las esporas son transmitidas a las larvas jóvenes por abejas enfermas. Después germinan en el intestino de la larva, se multiplican rápidamente, haciendo que la larva muera. Al momento de la muerte de la larva, las nuevas esporas ya formadas son transmitidas a otras abejas. Cuando estas limpian las celdas que contienen larvas muertas, de estas caen esporas que se distribuyen a través de la colmena, infectando más larvas. La miel en una colonia infectada puede contaminarse con las esporas y puede ser una fuente de la infección para cualquier abeja que acceda a ella. El colmenar (colonia) se hace débil y no puede defenderse del ataque de colonias ladronas de miel que son más fuertes; llevándose la miel contaminada a su propia colonia, continuando el ciclo de la infección. El apicultor también puede separar inadvertidamente la enfermedad exponiendo la miel contaminada a otras abejas o por el intercambio del equipo infectado (Lawrence, 1983).

***Bacillus sphaericus*, Neide (1904)**

Características de *B. sphaericus*.

B. sphaericus Neide, es una bacteria aeróbica, con potencial larvicida, contra larvas de mosquitos (Mian y Mulla, 1983).

Esporas generalmente esféricas, esporangio globoso con espora terminal o subterminal al crecer en medio ordinario (agar nutritivo) con pH 6.8 – 8.0; crece en caldo con 4% NaCl; hidroliza la gelatina nutritiva. No fermenta los azúcares y el almidón; no reduce los nitratos a nitritos. El primer aislamiento de cepas de *B.*

sphaericus con actividad larvicida contra mosquitos fue aislado por (Kellen *et. al.*, (1965).

Generalmente miden de 0.6 μ a 1.0 μ por 1.5 μ a 5.0 μ son gram positivo o gram variable. El 40 por ciento de las células de cada una de las cepas de *B. sphaericus* tienen flagelos peritricos; las células restantes, solamente un flagelo polar es visto. Sus temperaturas de crecimiento máxima son de 30 a 40° C; las mínimas de 5 a 15° C. Son catalasa positiva y con reacción alcalina en caldo V-P, (pH 7,4 8,6), crecimiento hasta en 5 por ciento NaCl (Stanley, 1974).

Bacillus sphaericus crece bien en un rango de 25 a 40° C, sin embargo, la síntesis de la esporulación y de la toxina se inhibe a 35° C. Esta bacteria se formula en pelotillas con aceite vegetal parcialmente hidrogenado, talco y un polímero absorbente a base de almidón. Está formulación tiene actividad residual contra larvas de *Culex* sp. en medios ambientes pequeños, incluyendo el agua contaminada, (Yousten, 1984; Lord, 1991).

Taxonomía

REINO----- Procaryote (Monera)
 PHYLUM----- Schizophyta
 DIVISION ----- Firmicutes
 CLASE-----Schizomicetos (Firmibacteria)
 ORDEN-----Eubacteriales
 SUB-ORDEN-----Eubacteriineae
 FAMILIA-----Bacilliaceae
 GENERO-----*Bacillus*
 ESPECIE----- *sphaericus*

(Adaptado de, Bryan, 1974; Stanley, 1974; Green, 1978 y Pelczar, 1984 y Goto, 1992).

Importancia

La identificación de una especie de *B. sphaericus* se realiza en base a su morfología: esporas redondas, terminales, esporangio globoso. Además de reconocer 40 especies de *Bacillus*, en bacteriología sistemática, 8 especies producen esporas similares (solamente con el esporangio no globoso), pero la especie de *B. sphaericus* se puede distinguir por varios caracteres (Claus y Berkeley 1986). *B. sphaericus*, es incapaz utilizar las azúcares como fuente del carbón para el crecimiento, es una bacteria facultativa. Es muy toxica contra varias especies de mosquitos médicamente importantes, aunque no todas las cepas sean insecticidas. La efectividad de una cepa de *B. sphaericus*, varia de acuerdo a la especie de mosquitos (*Aedes spp.*, *Culex spp.*). Sin embargo se reconoce que las cepas controlan a tres especies de *Culex*, cinco de *Aedes* y *Orthopodomya spp.*, también a *Culiseta incidens* (Thomson), *B. sphaericus* es un insecticida de espectro variado hacia las larvas de tres géneros principales de mosquitos, *Culex*, *Anopheles* y *Aedes*, (Singer, 1980; Mulla *et. al.*, 1991).

Actualmente existen más de 300 cepas de *B. sphaericus* que están disponibles en las colecciones que forman parte del centro de la colaboración del WHO, (Organización Mundial de la Salud), de *Bacillus* entomopatógeno. Estas cepas, derivadas de diversas partes del mundo, se agrupan en 48 H- serotipos. Sólo 6 serotipos, (H1a; H2a,2b; H5a,5b; H6; H25, y H26a,26b), contienen la patogenicidad para mosquitos (DeBarjac, 1990).

Mulla *et. al.*, (1991), menciona que en la última década, la investigación sobre el aislamiento, la identificación y el desarrollo de los organismos entomopatógenos para el control del mosquito ha recibido una gran atención. Entre estos patógenos, *B. sphaericus* Neide, para el desarrollo y control de larvas de mosquitos. Las cepas de *B. sphaericus*, producen colonias rosadas y son poco frecuentes.

Modo acción

Aún no se sabe muy bien su forma de acción de *B. sphaericus*, este requiere de ser ingerido por el insecto para actuar, y así desarrollar la infección dentro de las larvas de los mosquitos, su evidencia principal se basa en la histología. Las cepas generalmente

afectan la membrana peritrófica del intestino medio hasta que muere larva. La mayoría de las larvas de mosquito se alimentan normalmente de bacterias y algas. Las cepas específicas del *B. sphaericus* al ser introducidas en medios acuáticos son ingeridas por las larvas. Una vez en el intestino medio, la bacteria comienza a degradar las células de la membrana epitelial. Al mismo tiempo en que la bacteria crece y esporula se produce una toxina que atraviesa la membrana epitelial de las células sensibles que se encuentran en el lumen de la larva y da lugar la intoxicación de la larva. Después de la muerte de la larva las células vegetativas de *B. sphaericus* (junto con la flora normal del intestino) crecen hacia fuera en los tejidos finos de la larva muerta. Consecuentemente, la región posterior del intestino medio aparece inflamada en larvas infectadas, también, manifiestan temblores, lentitud y no pueden mudar (Davidson, 1979; Mian y Mulla, 1983; Arredondo *et. al.*, 1990).

Toxinas de *B. Sphaericus*.

B. sphaericus es semejante a *B. thuringiensis*, sin embargo, no se forma ningún cristal parasporal. Al parecer, la toxina se asocia a la pared vegetativa de la célula y no a la espora, aunque las esporas de *B. sphaericus* matan larvas de mosquitos. La caracterización bioquímica de la toxina de *B. sphaericus*; no esta definida, por lo que su uso en biocontrol se basa en la patogenicidad de sus esporas (Karch y Charles, 1987; Matanmi *et. al.*, 1990).

Dada la asociación de la toxina con la pared de la célula se ha encontrado resistencia al retiro o a la hidrólisis al 8M, varios detergentes y solventes, cloroformo: metanol;enzimas como lysozyme, la peroxidasa y el calor seco a 80° C. La toxicidad se destruye por ebullición y por 0,01N NaOH (Singer, 1980).

Análisis químicos

Usando los métodos bioquímicos clásicos como el de Lowey (Hanson y Phillips, 1981), para la identificación de la toxina es imposible distinguir diferencias

entre las variedades insecticidas y no-insecticidas. No hay prueba simple que distinga o diferencie cepas patógenas de una población inicial de estas bacterias cuando se aíslan por primera vez de larvas muertas. De igual forma no es un procedimiento característico que distinga diferencias potenciales en actividad biológica entre estas cepas (Singer, 1980).

La toxina de mosquitos de *B. sphaericus* difiere en varias maneras importantes de *B. thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*). Aunque ambas toxinas se producen durante esporulación y se concentran en una inclusión parasporal, la toxina principal de *B. sphaericus* es una proteína de 41,9 Kda, mientras las toxinas de *B. thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*), es más grande (Davidson, 1985).

Morfológicamente *B. sphaericus* y *B. thuringiensis* son muy semejantes, sin embargo, difieren uno del otro en las inclusiones paraesporales, *B. thuringiensis* var. *israelensis* produce una inclusión esférica mientras que *B. sphaericus* su inclusión apenas si es perceptible. De igual manera la espora en ambos es diferente, en *B. thuringiensis* es oval y en *B. sphaericus* es esférica o redonda (Dulmage, 1978).

Espectro de acción

Las cepas de *B. sphaericus* que son tóxicas para mosquitos, son específicas del orden Díptera.

Formulaciones comerciales

Cuadro 4.- Productos a base de *Bacillus sphaericus*.

Microorganismo	Nombre comercial	Blanco	Origen
<i>B. sphaericus</i>	Vectolex® BSP – 1 BSP – 2 ABG – 6184 ABG – 6185 2362*	<i>Aedes</i> spp., <i>Culex</i> spp., <i>Anopheles</i> spp.	USA, Laboratorios Abbott. Bélgica

Adaptado de Jones *et. al.*, (1990), Karch *et. al.*, (1990), Matanmi *et. al.*, (1990), Mulla *et. al.*, (1991), Rodríguez *et. al.*, (1991)

Bacillus moritai

Características generales

B. moritai, es una bacteria que forma esporas, (no produce cristales) y patógena para de Dipteros. Fue aislada en 1962 del suelo y se asemeja mucho a *B. cereus* en algunos aspectos. El principio tóxico lo mantienen las células y no se produce fase en el medio de cultivo líquido, la patogenicidad de *B. moritai* contra larvas de moscas parece estar asociado con el buen crecimiento que tiene la bacteria y producir una exotoxina (la lecithinasa, no es producida por *B. moritai*). Cuando la dosis es alta, generalmente las larvas mueren antes de pupar; y cuando la dosis es baja, las larvas logran entrar al estado de pupa, pero al emerger los adultos, aparecen con las alas malformadas (Faust y Bulla, ___).

Taxonomía

REINO----- Procaryote (Monera)
 PHYLUM----- Achizophyta
 DIVISION -----(Firmicutes)
 CLASE-----Schizomicetos (Firmibacteria)
 ORDEN-----Eubacteriales
 SUB-ORDEN-----Eubacteriineae
 FAMILIA-----Bacilliaceae
 GENERO-----*Bacillus*
 ESPECIE----- *moritai*

(Adaptado de, Bryan, 1974; Stanley, 1974; Green, 1978 y Pelczar, 1984 y Goto, 1992).

Importancia

B. moritai es un patógeno de moscas caseras y mosquitos, es fabricado por una industria privada en Japón. *B. moritai* no es patógeno del gusano de seda, abejas, ratas, conejos, pájaros, pescados, cerdos y otros animales; no produce quistes malignos, ni cancerígenos por lo que es inofensivo a los seres humanos. Maehashi (1972), ha demostrado la seguridad de *B. moritai*, en ratones y conejos, con una serie de pruebas, oral agudas y subcutáneas de esporas, donde esto ha resultado inofensivo en efecto sobre los animales y el hombre mismo (Dulmage, 1971; Mendoza, 1996).

Modo de acción

El modo de acción de *B. moritai*, como de *B. sphaericus*, es desconocido, lo que si es evidente es que de alguna forma interfiere una toxina en el desarrollo normal de diversas especies de moscas susceptibles, esta toxina interfiere con el crecimiento y metamorfosis (Fujiyoshi, 1973). Es conocido también que esta toxina reduce la capacidad de fecundidad en adultos que sobreviven (Faust y Bulla, __; Singer, 1974).

Espectro de acción

B. moritai es un patógeno que controla Dipteros, mosca casera (*Musca domestica*), mosca verde de la botella (*Lucilia sp.*), mosca negra [*Ophra leucostoma* (Wildemann)], mosca del establo (*Stomoxys sp.*), gusano del germen de maíz (*Hylemia sp.*) (Dulmage, 1981; Burges, 1981; Starnes *et. al.*, 1993).

Formulaciones comerciales

Cuadro 5.- Productos de *Bacillus moritai*.

Microorganismo	Nombre comercial	Blanco	País
----------------	------------------	--------	------

<i>Bacillus moritai</i>	Lavillus M (Patente No.) UK1113319	Diptera Larvas de Dipteros	Japón (Organización) S. Morita
-------------------------	--	-----------------------------------	--------------------------------------

Adaptado de Khachatourians, (1986) y Stockdale, (1986).

Actinomycetos

Los actinomicetos son un grupo único de microorganismos que han proporcionado una gran variedad de productos farmacéuticos naturales. Son también fuente de pesticidas naturales, como las Avermectinas, que mata ácaros y escarabajos. **Spinosad** es otro producto natural insecticida de un actinomiceto, *Saccharopolyspora spinosa* (AgraQuest, 1999)

Los Actinomycetos son el grupo de bacterias menos conocidas con actividad insecticida, actualmente se destacan en el área de control biológico, además de ser de muy fácil manejo en su aislamiento, existe la posibilidad que dentro de este grupo se detecten cepas eficaces en el control de insectos de importancia agrícola, debido a su habilidad de producir una gran variedad de metabolitos (Fabre *et al.*, 1988 citado por Ortiz, 1992).

La existencia de los actinomicetos se ha reconocido por cientos años, y, se les ha considerado como un grupo exótico de organismos afines a bacterias y hongos. Sin embargo, observaciones de su ultra estructura fina y composición química, confirmaron en los años 50`S, su naturaleza procariótica. Los actinomicetos con frecuencia han sido descritos por su habilidad de formar hifas ramificadas en su desarrollo (Williams, *et al.*, 1983).

Debido a su morfología han sido asignados a dos grupos: Nocardioforme (bacterias que frecuentemente se fragmentan en forma de cocoide o de bastón dando lugar a un nuevo micelio) y Esporoactinomicetes que rodean una gran complejidad

morfológica que incluye la formación de esporas dentro o sobre partes definidas del micelio (Pérez, 1997).

Witton's (1984), mencionan que muchos microorganismos, especialmente las bacterias superiores, filamentosas y fungicas, los actinomicetos, producen sustancias nocivas para otros organismos y microorganismos. La importancia de estos cada día es mayor, debido a la gran variedad de productos que producen, algunos de los cuales se ha demostrado su actividad insecticida o herbicida y son de reciente descubrimiento.

Pisano, *et al.*, (1992) menciona que en una investigación, donde se trabajo con 116 cepas de actinomicetos aislados de sedimentos marinos, 85 mostraron actividad microbial en bacterias gram positiva y gram negativo, y otras cepas, se les detecto compuesto β - lactamicos (indicador de actividad potencial de los actinomicetos marinos). El primer antibiótico obtenido de un actinomiceto fue la Actinomicina con la cual pudo ser valuado el potencial médico y comercial de estos organismos. Los antibióticos comercialmente importantes son producidos por varias clases de organismos incluyendo muchos de los actinomicetos (*Streptomyces*, *Saccharopolyspora*, *Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Micromonospora* y *Nocardia*, etc) bacillos y hongos (Stanley, 1989).

Generalidades de los actinomicetos

Fabre (1988), citado por (Ortíz, 1992) mencionan que la efectividad insecticida de las cepas de actinomicetos se debe a compuestos producidos durante la fermentación, semejantes a pesticidas, avermectinas y valiomicinas. Una fuente importante de material activo, son los actinomicetos y más en común los *Streptomyces* y *Saccharopolyspora*. Estos géneros tienen un alto valor como productores de antibióticos y enzimas inhibidoras del crecimiento. En el año de 1985, se reportaron 7150 antibióticos, donde 64.3% fueron productos de actinomicetos, 18.3% de bacterias diferentes a Actinomicetos y 22.4% corresponden al grupo de hongos (Dulmage, 1978, Strobel y Nakatsukasa, 1993).

De la gran variedad de bacterias, los actinomicetos son microorganismos que poseen pocas características comunes: Son gram positivas, en forma de bacilo o filamento y en general no móviles en su forma vegetativa (aunque se conocen etapas móviles). A menudo ramificados; con una gran diversidad metabólica, aeróbicos facultativos (Brock *et al.* , 1978).

El primer reporte de la actividad insecticida de un Actinomiceto lo constituye un trabajo en el que observaron una mortalidad de 88% en una población de mosca casera (*Musca domestica*) después de ser alimentadas con una solución concentrada de Actimicina A producida por *Streptomyces sp.* Pérez, 1991, encontró que 209 cepas aisladas, solamente seis cepas que pertenecían al género *Streptomyces sp* presentaron actividad contra larvas de tercer estadio de los mosquitos *Culex quinquefasciatus* y *Anopheles albinanus* (Retana *et al.* 1992).

Los géneros más importantes de los actinomicetos que se utilizaron como agentes de control de insectos, son:

Streptomyces avermectilis

Saccharopolyspora spinosa

Streptomyces avermectilis

Características generales de la bacteria.

Se conocen cerca de 500sp, muchas producen antibióticos (Brock, *et al.*, 1987), los *Streptomicetos* son comúnmente de tierra, gram positivo y los esporoactinomicetos que son altamente oxidativos, forman una extensa ramificación en el substrato y un micelio aéreo (Pérez, 1997). Tienen hifas delgadas y ramificadas que carecen de tabiques celulares con un diámetro de 0.5 a 2 µm. Cuando madura el micelio aéreo forma una cadena con mas de tres esporas. En medios de cultivo las colonias son pequeñas (1 a 10mm), con superficie lisa, pero después forman un micelio con aspecto

granular, polvoriento o aterciopelado. Las especies de estas formas y/o producen una gran variedad de pigmentos que dan el color al micelio y substrato, producen uno o mas antibióticos activos contra bacterias, hongos, algas, virus, protozoarios, insectos, etc. El género puede distinguirse con facilidad de los demás géneros de bacterias debido a su micelio bien desarrollado y muy ramificado y a sus cadenas de conidias enrolladas. También las propiedades desconocidas, como su composición química, reacción antigénica, versatilidad nutricional, acción enzimática, patogenicidad, etc. (Agrios, 1996).

La tecnología de clonación de genes en producción de antibióticos por microorganismos está limitada preliminarmente especies de *Streptomyces* (Fayerman, 1986).

Algunos miembros de los actinomicetos producen compuestos antibióticos con propiedades nematocidas. Una nueva clase de hidrocarburos tipo lactona macrocíclicas conocidas como “ Avermectinas “ recientemente aisladas de *Streptomyces avermectilis* probaron su efectividad, de amplio espectro nematocida. Hay formulaciones granuladas y líquidas de avermectinas, que fueron reportadas 10 veces más efectivas que Oxamyl o Aldicarb en el control de *Meloidogyne incognita* en tomate. Las preparaciones comerciales de Avermectinas se presentan en el mercado son para el control de insectos y todavía son para el control de nematodos por lo que su potencial necesita ser investigado todavía (Jatala, 1986).

Los *Streptomicetos* han probado ser una fuente rica en antibióticos, vitaminas, enzimas e inhibidores enzimáticos, millones de cepas de *Streptomyces* han sido aisladas de suelo y sedimentos de todas partes del mundo en busca de metabolitos (Pérez, 1997).

Morfología

Dentro de las bacterias, existen las formas más comunes de los actinomicetos los que representan el género *Streptomyces sp* que es filamentoso. Sus células constan de

filamentos ramificados cenocíticos (no septados), las cuales a menudo tienen forma espiral y producen conidios en cadena sobre hifa aéreas (Figuras 8 y 9) (Agrios, 1996).

Figura 8.- Estructura de un Actinomiceto, *Streptomyces avermitilis*. (Tomada de Satoshi 1992).

Figura 9.- Esporas en cadenas de *Streptomyces avermitilis*. (Tomada de Satoshi, 1992).

Taxonomía

Reino -----Procaryotae
 División -----Firmicutes
 Clase -----Thallobacteria
 Orden -----Actinomycetales
 Familia -----Streptomycetaceae
 Género ----- *Streptomyces*
 Especie ----- *avermictilis*

(Adoptada de Lechevalier and Lechevalier, 1957; Williams, *et. al.*, 1983; Stanley, *et. al.*, 1989).

Espectro de acción

Existe una amplia gama de productos plaguicidas dotados de acción fisiológica contra los insectos. Uno de ellos es la Avermectina, que no deriva de síntesis química sino que se obtiene por fermentación de la bacteria *Streptomyces avermitilis*. Esta sustancia tiene una acción acaricida e insecticida y se emplea en agricultura contra la araña roja, los minadores, psilidos y otras plagas. Los actinomicetos son un grupo importante en la producción de antibióticos. Estos microorganismos se consideran como los mayores productores de antibióticos, que no solamente se utilizan en la medicina humana, veterinaria y no en la agricultura. En investigación como venenos metabólicos también se ha reportado la importancia de este género en la farmacéutica (Pérez, 1997).

Saccharopolyspora spinosa

Aspectos generales

Es un aislado recientemente identificado como, *Saccharopolyspora spinosa*, productora de una gran variedad de compuestos macrocíclicos. *Saccharopolyspora spinosa*, es una nueva especie de actinomicetos que produce varios compuestos de la familia macrolidos que poseen actividad larvicida de mosquitos, acaros y lepidopteros, (Strobel y Nakatsukasa, 1993).

El descubrimiento y caracterización de *S. spinosa*, representa una nueva oportunidad en el desarrollo de herramientas para el control de insectos. El descubrimiento y desarrollo de este organismo, ha provisto al mundo una nueva clase de productos comerciales como Tracer* y Naturalyte*, para el control de insectos. Spinosad es una mezcla de dos metabolitos naturales más activos (Spinosyns A y D), (Figura 10), producidos por *Saccharopolyspora spinosa* (DowElanco, __ ; Thompson *et. al.*, 1999).

Figura 10.- Estructura química de *Saccharopolyspora spinosa*. (Tomada de Thompson *et. al.*, 1999)).

En 1988, este actinomiceto fue identificado como una nueva especie de bacteria, *Saccharopolyspora spinosa*.. Pertenece al orden Actinomycete, de las bacterias que tienen propiedades de hongos. Esta bacteria es responsable de la descomposición de mucho material orgánico del suelo. En 1989, los metabolitos más activos de la fermentación de *Saccharopolyspora spinosa* del caldo fueron identificados como Spinosyns A y D. Desarrollando finalmente en 1994 a Spinosad, una mezcla de Spinosyns A y D. *S. spinosa* es un género raro poco conocida. En Latín, Saccharo, significa “azúcar” y polyspora “ muchas esporas”, por lo tanto, *Saccharopolyspora spinosa*, “Conjunto de esporas que crecen en azúcar”. El nombre de la especie de

spinosa en Latín es “espinoso” y la especie tiene un aspecto espinoso (Dow AgroSciences, 1998; Pérez, __).

Taxonomía

Reino -----Procaryotae
 División ----- Firmicutes
 Clase -----Thallobacteria
 Orden -----Actinimycetales
 Familia -----Anacardeaceae
 Género -----*Saccharopolyspora*
 Especie ----- *spinosa*

(Adaptada de Stanley, *et. al.*, 1989; Goto, 1992).

Morfología

El micelio de esta bacteria desarrolla ramas septadas, fragmentadas, en forma de varas, comúnmente en las partes más viejas de la colonia y raramente cerca de los márgenes de crecimiento. Micelio aéreo, recto o en forma de caracol, segmentos característicos en cadenas de esporas usualmente separadas. Es Gram-positiva, no ácida, aeróbica, colonias delgadas, arrugadas, con apariencia mucoide o gelatinosa, y el aspecto de la especie es como su nombre lo dice (*spinosa*), la especie tiene un aspecto espinoso (Figura 11), (Stanley *et. al.*, 1989; Dow AgroSciences, 1998).

Figura 11.- Cadena de esporas de *Saccharopolyspora spinosa*. (Tomada de Thompson *et. al.*, 1999)).

Características físicas

Spinosa es un metabolito secundario de la fermentación de *Saccharopolyspora spinosa*, produce en medios nutritivos un metabolito secundario tipo metabolito conocido técnicamente como *spinosa*. Este producto se extrae y se procesa para formar

una suspensión acuosa, tiene un pH de 7.74, estable al metal y tiene una vida útil de tres años como material formulado (Gleason, 1994; Thompson *et. al.*, 1999; Larson *et. al.*, 1998).

Descubierta por la compañía Dow-Elanco, en muestras de suelo tomadas de una destilería de ron abandonada en las islas vírgenes en 1982 y estudiada ampliamente en los laboratorios de Dow-Elanco. Se le encontraron atributos a *Spinisad* es efectivo. Spinosad es efectivo sobre de los ordenes: Lepidoptera, Diptera, Thysasnoptera, y en algunos coleoptero e Hymenoptero. Se ha encontrado sobre algodón, árboles frutales, hortalizas y otros (Larson *et al.*, 1998; Thomsom *et. al.*, 1999).

Espectro de acción

Actua contra lepidopteros en algodón, hortalizas y coles, gusanos en chile (Pérez y Avilés, 1997; Avilés y Pérez, 1997).

Formulaciones comerciales

Tracer* es un nuevo producto de DowElanco para el control de insectos de la clase Naturalyte. El ingrediente activo es Spinosad el cual se deriva de la fermentación (Pérez, 1997).

Creados por Dow-Elanco:

- Tracer*
- Naturalyte*

HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Los primero trabajos experimentales reportados con hongos entomopatógenos datan del año 1835 cuando Augustino Bass demostró por primera vez, en forma experimental que la enfermedad “mal del signo” o “muscardina blanca” del gusano de

seda, *Bombix mori*, era ocasionada por un hongo *Beauveria bassiana*. Posteriormente el potencial de los hongos entomopatógenos para el control de plagas se inició con los estudios de Metchnikoff (1879) y Krassilstchick (1888), al usarlos para el control del escarabajo, *Anisoplia austriaca* y el picudo *Cleonus pun* respectivamente. Entre 1888 y 1896, en Kansas E.U.A., se estableció una estación experimental con el propósito de producir *Beauveria bassiana* y distribuirlo para el control de la chinche de los pastos *Blissus leucopterus*. Los primeros reportes fueron favorables, sin embargo, posteriormente la incidencia natural de la enfermedad fue frecuente y efectiva reduciendo la población del insecto, concluyéndose que la distribución artificial del hongo tuvo poco valor por la presencia natural de *B. Bassiana*. Otra acción importante en el control microbiano se desarrolla de 1921 a 1924 en Florida EUA. Con la liberación del hongo *Aschersonia aleyrodes* contra la mosca blanca de los cítricos *Dialeurodes citricola*, considerándose esta acción como éxito (DeBach, 1987; National Academy of Science, 1988; Hernández y Berlanga, 1996).

Los hongos entomopatógenos son un grupo de microorganismos ampliamente estudiados en todo el mundo, existen más de 700 especies reunidas en 100 géneros. Tienen la particularidad de parasitar a diferentes tipos de artrópodos (insectos y ácaros) y de encontrarse en los hábitats más variados, acuático o terrestre y dentro de éstos en cultivos anuales, semiperenes y perennes. Asimismo, los hongos pueden jugar un papel muy importante en la salud humana ya que algunas especies son virulentas para moscas y mosquitos. Finalmente, su característica de penetrar al hospedante vía tegumento no es muy común entre el resto de los entomopatógenos. Actualmente, las especies que están siendo más estudiadas en programas de manejo integrado y en cooperación con la industria son *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces fumoso-roseus* y *Lagenidium giganteum* para el control de plagas de pasturas, suelo, y mosquitos (Berlanga, 1997; Casamayor, 1998).

El uso de enemigos naturales: entomófagos y entomopatógenos han recibido la mayor atención en la última década debido a la concientización de gobiernos, industria, el pueblo en general, sobre los peligros inminentes en el deterioro ambiental,

provocando una presión en el uso de métodos de control más benévolos hacia nuestro entorno, como lo es el control biológico (Alatorre, 1991).

La utilización exitosa de enfermedades para el control de insectos depende de la biología y características tanto de los insectos huéspedes, los microorganismos parásitos, así como el medio ambiente. Los insectos huéspedes deben ocupar habitats adecuados para la introducción de un patógeno y deben tener habitats que faciliten las posibilidades de infección. Dado que la enfermedad es un factor mortalidad del tipo densidad dependiente, como lo ha sido establecido por Bucher (1958), los insectos que viven en agregaciones o forman poblaciones grandes son más susceptibles a las epizootias que los que se presentan a bajas densidades de población. Sin embargo, algunos patógenos han desarrollado la habilidad para controlar insectos plaga en condiciones de muy baja densidad del huésped (Hernández y Berlanga, 1996; Hernandez y Carrillo, 1997).

¿ Porque conviene usarlos?

Los hongos afectan solo a los insectos plaga y no afectan al hombre ni a los animales domésticos por lo que se pueden aplicar sin peligro para proteger los cultivos contra el ataque de plagas.

¿ Cómo actúan?

Los hongos entomopatógenos inician su ataque cuando la espora se pone en contacto con el cuerpo del insecto. Al germinar la espora, ésta emite un tubo germinativo que atraviesa la piel de la plaga e invade su interior, colonizando los diversos órganos, como consecuencia de la infección el insecto muere, su cuerpo se endurece y al cabo de varios días se observa un crecimiento algodonoso que se sale de las articulaciones. Cuando ese tipo de algodón es blanco se puede asumir que es el hongo *Beauveria bassiana* y si es verde se trata de *Metarhizium anisopliae*, además de otros hongos como, *Verticillum lecanii*, *Paecilomyces foveolatus*, *Entomophthora sp.*,

Aschersonia sp. y *Massospora sp.*, atacan también a insectos plaga (Lezama *et. al.*, 1997).

Los insectos muertos por el ataque del hongo infectan por contacto a otros insectos sanos y si el ambiente es favorable para el desarrollo del hongo, la enfermedad se disemina rápidamente a toda la población (Rombach *et. al.*, 1996).

¿Bajo que condiciones son más efectivos?

Los hongos desarrollan la enfermedad en los insectos cuando la humedad relativa es superior al 70% y temperaturas entre 24 a 30°C para el caso de la muscardina verde y entre 22 a 26 ° C para la muscardina blanca.

Es necesario conocer el ciclo biológico de la plaga que se desea combatir y sus hábitos para decidir cuando es el momento oportuno de aplicación del hongo; por ejemplo, se sabe que el picudo de la guayaba emerge al inicio del temporal y afecta frutos de tamaño "canica" que caen en los primeros días de agosto debido a una pseudomaduración y que la larva abandona el fruto para pupar en el suelo. Si se considera que dentro del fruto no se le puede afectar ni con plaguicidas, entonces las etapas más apropiadas para controlar con hongos entomopatógenos son cuando el adulto emerge y cuando la larva se entierra (González *et. al.*, 1998)

Modo de acción

Los hongos entomopatógenos usualmente causan la muerte del hospedero por deficiencia nutricional, invasión y/o digestión de tejidos, y/o liberación de toxinas. Solo unas pocas especies son capaces de invadir a través de las heridas en el integumento (*Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*), las especies entomopatógenas usualmente penetran la cutícula del hospedero y algunas veces invaden un espacio, cavidad bucal o a través de los espiráculos. Las infecciones son usualmente iniciadas por esporas o conidios (*Zygomycotyna*, *Deuteromycotyna*) aunque en *Mastigomycotina* y *Ascomycotina* las zoosporas y ascosporas son las responsables (Barnett y Hunter, 1972; Hernández y Berlanga, 1996).

El desarrollo de la micosis puede ser separado en tres fases;

- 1.- Adhesión y germinación de la espora sobre la cutícula del insecto.
- 2.- Penetración en el hemocele
- 3.- Desarrollo del hongo, lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto.

Los hongos entomopatógenos pueden vivir en el suelo por períodos variables. Los principales Deuteromycetes como *M. anisopliae* y *B. bassiana*, luego de parasitar a los insectos pueden permanecer colonizando al cadáver por un período relativamente largo a la espera de un nuevo hospedante. La mayor parte de sus conidios difícilmente conseguirán sobrevivir por más de tres meses en los diferentes tipos de suelo. Sin embargo, existen algunas estructuras de resistencia que pueden ser responsables por una mayor permanencia en ese medio (DeDach, 1987; Casamayor, 1998).

Etapas de infección de los hongos entomopatógenos

El desarrollo de los hongos entomopatógenos y en particular para los Deuteromycetes, puede ser dividido en diez etapas. De manera general, el desarrollo de una micosis 1) Comienza por la adhesión al tegumento y la 2) Germinación de los conidios o esporas sobre éste, luego 3) Se produce la penetración a través de la cutícula del insecto, 4) La multiplicación del hongo en el hemocele y 5) La producción de toxinas (en ciertos hongos o cepas). 6) Sobreviene entonces la muerte del insecto y 7) El hongo coloniza todo el interior del hospedante. Posteriormente, 8) El micelio sale hacia el exterior pasando a través del tegumento, 9) Esporula sobre la superficie del insecto y finalmente 10) Los propágulos son diseminados al medio. Cada uno de estos pasos son importantes no sólo para provocar la muerte del hospedante sino también, para la posterior diseminación en el hábitat (Figura 12). Decir que uno es más importante que otro sería arriesgado pero sí se puede afirmar que las tres primeras etapas, adhesión, germinación y penetración, son fundamentales para iniciar un proceso patogénico y son las que más influyen sobre la especificidad entre el patógeno y el hospedante. A pesar de esto, han sido poco estudiadas con profundidad en tan sólo algunos hongos y sobre unas

pocas especies de insectos (De la Rosa y López 1998; Hernández y Berlanga, 1997; Casamayor, 1998).

Figura 12.- Ciclo y modo de infección de los hongos entomopatógenos. (Tomado de Casamayor, 1998).

***Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin.**

Aspectos Generales:

Las especies el género *Beauveria* son principalmente parásitos de insectos. Dos especies, *B. bassiana* y *B. tenella*, son las más importantes. La última se ha usado en experimentos de control microbiano en Europa, especialmente contra larvas de *Melolontha*. *B. bassiana* es conocido por su amplio rango de huéspedes y distribución geográfica. Su patogenicidad se ha probado contra más especies de insectos que cualquier otro hongo. En el pasado, este hongo se distribuyó comercialmente con el nombre de “Boverin” para el control del escarabajo colorado de la papa, *Leptinotarsa decemlineata*. *B. bassiana* se ha encontrado atacando a la broca del fruto del café, *Hypothenemus hampei* (Bustillo, 1989; CB-03, 1999).

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, es como una capa de micelio blanco algodonoso al envolver al insecto, (Figura 13) se observa con granulaciones pequeñas del mismo color. Así mismo se describe a este hongo en medio de cultivo, como una colonia blanca de apariencia algodonosa y esponjosa, en la que se denotan pequeñas esferas (como aspecto de nieve) de un color crema pálido, en la parte inferior. Otra característica de estos hongos entomopatógenos, es que pueden ser capaces de iniciar epizootias a densidades altas y bajas del huésped (Campos *et. al.*, 1998; Rosas, 1994).

Figura 13.- Broca del café (*Hypothenemus hampei*) infectada con *Beauveria bassiana*. (Tomada del Bio-Zentla, 1998).

Morfología

Beauveria sp. es un entomopatógeno imperfecto con hifas septadas, las cuales contienen las estructuras reproductivas denominadas conidioforos sobre las cuales se desarrollan conidios (Tanada y Kaya, 1993) *Beauveria sp.* ramifica su micelio para formar conidioforos simples e irregulares que terminan en vértices en forma de racimos,

la base de la célula es globosa o abultada con un adelgazamiento en el área de inserción de los conidios, de 2 a 3 μ ó 2 a 2.5 μ , con esterigmas curvados en forma irregular o dispuestos en forma de zig – zag (Figura 14) (Metasav-11, 1997; CB - 03, 1999).

Beauveria bassiana es un hongo que presenta hifas septadas y conidióforos en densos racimos, esterigmas alternados en zig – zag y alargados en su extremo distal, con conidios globosos o subglobosos (ovales) de 2-3 μ por 2-2.5 μ de diametro, de color blanco cremoso (Rosas, 1994).

Figura 14.- Estructuras del hongo *Beauveria bassiana*, tomada de Barnett y Hunter, 1972.

Taxonomía

Reino-----Mycetae
 División-----Amastigomicotina
 Subdivisión-----Deuteromycotina
 Clase-----Deutermycetes
 Subclase-----Hypomycetes
 Orden-----Moniliales
 Familia-----Moniliaceae
 Géneros-----*Beauveria*
 Especie -----*bassiana*

(Según Alexopoulos y Mims 1979; McCoy *et. al.*, 1988 y Samsom, 1988).

Importancia

Dentro de las prácticas más usuales para el control de insectos plaga de coleopteros es la aplicación de hongos entomopatógenos, y el más conocido es *Beauveria bassiana*. Hoy en día explotado en pruebas de campo en varios países incluyendo

México, donde su efectividad oscila entre cinco y cerca del 100 por ciento del control (García *et. al.*, 1997; De la Rosa y López, 1998).

Naturalmente se conocen cepas de *Beauveria bassiana* (ARSEF 2991 y ATCC 44860), activas contra coleópteros, sus requerimientos nutricionales, para su crecimiento e invasión a su hospedero, y así como su nivel de toxicidad en distintas plagas (Hunt *et. al.*, 1984; Todorova *et. al.*, 1994).

Modo de acción

A diferencia de bacterias y virus, los hongos pueden infectar insectos no sólo a través del intestino, si no también por espiráculos y particularmente en forma directa por penetración; esta propiedad le ofrece la posibilidad de infectar huéspedes independientemente de los hábitos alimenticios del insecto (Ferron, 1977, citado por CB - 03, 1999). La espora del hongo, al ponerse en contacto con el insecto plaga, se pega en la cutícula, facilitando la entrada del hongo en el cuerpo del insecto, emitiendo sobre la superficie del cuerpo un tubo germinativo, que penetra e invade el interior del mismo, colonizando sus órganos. Al desarrollarse el hongo, libera toxinas contra el insecto. La intoxicación, pérdida de nutrientes y daño físico, inducen la muerte del insecto y al cabo de varios días el micelio del hongo brota a través de las articulaciones, cubriendo al insecto con un aspecto blanco y algodonoso (Figura 15) (Bea-sin, __ ; Basisav-11, 1997, y, Agrobionsa, __).

Figura 15.- Larva de Lepidóptero, infectada por *Beauveria basiana*. (Tomada de Cornell, 1998)

Espectro de acción

Espiricueta (1997), menciona que, *Beauveria bassiana*, es un hongo con amplio espectro de acción, que puede atacar a los insectos en estado de huevecillo, larva pupa e imago, donde generalmente son susceptibles a la micosis del mismo, se puede utilizar en hortalizas, frutales y otros. Dentro de los insectos que controla tenemos a; Dípteros, Coleópteros, Lepidópteros, Hemipteros, Homópteros, y algunas plagas del suelo (*Phyllophaga sp.*) (Hajek y Leger, 1994; Bio-Zentla, 1998; CB-03, 1999).

Formulaciones comerciales

Actualmente se produce, formula y comercializa *Beauveria bassiana* en varios países para el control de diversos insectos plaga. En México el interés por este hongo se ha incrementado sustancialmente a partir de las primeras evaluaciones contra plagas de suelo. El desarrollo de productos biológicos como feromonas, bacterias y hongos ha sido tal que se encuentran disponibles en el mercado, los ofrecen las compañías como Ciba, Agrevo, Mycogen, Sandoz, Agrobionsa, CRSVH, URHE, INISAV, CREROB, CNRCB, y otras, tanto nacionales como internacionales (Castillo, 1997: CB-03, 1999).

Cuadro 6.- Algunos registros de *Beauveria bassiana*, en el mundo.

NOMBRE COMERCIAL	PLAGA	PAIS
Boverin	Leptinotarsa decemlineata Cydia pomonela	Ex URSS

Ninguno	Dendrolimus spp. Ostrinia furnacalis	Republica Popular de China
Bassin 1	Cosmopolites sordidus	Cuba
Bassin 2	Diatraea sacharalis	Cuba
Basisav	Coleópteros, Lepidópteros y Hemípteros	Cuba
Boverol	Plagas del suelo, hemípteros	Checoslovaquia
Boverosil	Coleópteros, homópteros	Checoslovaquia
Naturalis L	Mosquitas blancas	EUA
Mycotrol	Mosquitas blancas y trips	EUA
Biotrol FBB	Coleópteros, homópteros	EUA
ABG-6178	Hypothenemus hampei	EUA
Biosep-23Bb	Hypothenemus hampei	México
Fungus*C	Plagas del suelo, lepidópteros y coleópteros	México
Bio-Zentla	Hypothenemus hampei	México
Bea-Sin	Anthonomus grandis A. Eugenii B. Tabaci	México
Beauverina-CP	Coleópteros, Lepidópteros y Hemípteros	México
Bio fung	Chinche café, mosquitas blancas	México
Fito San - F	Gallina ciega	México

(Modificado de Goettel et al., 1990, citado por CB- 03, 1999; Rodríguez *et. al.*, 1991; Basisav-11, 1997; U.R.H.E.-CP, 1998; Modificado por Olayo, 1999).

Metarhizium spp.

Características generales;

El género *Metarhizium spp.* es muy conocido por provocar en los insectos la muscardina verde, llamada así por el color verde olivo de sus esporas, pertenece a la

familia de la Moniliaceae. Steinhaus, 1949, (Guevara, 1977), menciona que el color verde no es característico en todas las especies que ataca, así como tampoco en el tamaño de sus esporas. Durante la germinación de las esporas se forma el tubo germinativo, pudiendo ser dos. El micelio crece formando los esporodóforos, en el transcurso de una semana para la formación de las esporas. El color de las esporas es blanco en un principio, cambiando a un color verde olivo a medida que crece. La formación de las esporas es en cadena, al final de los esporodóforos se forman las esporas, continuando hasta que la cadena de esporas es formada. Las esporas varían en tamaño de 5-7 micras de longitud y 2.3 a 3.7 de ancho. Crece a temperaturas óptimas de 24 a 26 °C y su rango para el desarrollo normal es de 10 a 30 °C. Con un pH para su crecimiento normal de 4.7 a 10, creciendo bien en materia orgánica, aunque el crecimiento y fructificación son afectados por los rayos solares, sus esporas se pueden mantener en condiciones secas hasta tres años (De la Rosa, 1995; CB-08, 1999).

En el género *Metarhizium* existen más de 200 especies que atacan siete órdenes de insectos. La especie *M. anisopliae* es la más difundida geográficamente, por lo cual es la más estudiada, y la especie que la sigue es *M. flavoviridae*. La primer especie ha sido objeto de amplios estudios para desarrollar una preparación comercial que contenga conodias de larga vida, contra Homópteros, Hemípteros y otros insectos plaga. (Bustillo, 1989).

Morfología

Metarhizium spp. Produce conodióforo ramificado, las esporas son alargadas y se forman en cadenas, la conidia más joven es la de la base del conidióforo,. En cada conidióforo se forma una cadena de conidias biseptada, las cuales crecen densas y adheridas, son esporas alargadas (Figura 16). Las conidias son blancas (jóvenes), y color verde oscuro conforme va madurando. El tamaño permite diferenciar las especies del género: *Metarhizium anisopliae* con dos variedades. *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* forma conidias cilíndricas de color verde usualmente truncadas en ambos extremos, ovoides, de tamaño comprendido entre 3.5 y 9.0µm de largo. *Metarhizium*

anisopliae var *major* (Johnston) Produce conidias entre 9.0 y 18.0 μm de largo. La especie *M. flavoviride* Grams y Rozsypal, forma conidias elipsoides de tamaño intermedio entre las dos anteriores (Ferrón, 1981; Hernández y Berlanga, 1997).

Figura 16.- Estructuras del hongo *Metarhizium* sp., (Tomada de Barnett y Hunter, 1972).

Metarhizium anisopliae (Sor.), Este hongo habita en todo el mundo, debido a su alta capacidad de adaptación a las diferentes condiciones ambientales. Causa enfermedad en forma natural a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes (CREROB, __).

El primer intento de control microbiano con esta especie fue realizado por Metschnikoff en 1879 para el control de larvas de Curculiónidos *Cleonus puntiventris* Germ, en remolacha azucarera. En 1884 Krassiltschik continuó con estos estudios obteniendo del 50 a 80 % del control de insectos después de 10 a 15 días de la aplicación (MacCoy *et. al.*, 1988). *Metarhizium anisopliae* forma conidióforos simples o agregados, posee conidias alargadas, ovoides o cilíndricas dispuestas en cadenas, originadas de conidióforos en forma de botella. Las conidias miden de 6 a 8 micras, son verde olivo, por lo que la enfermedad en los insectos se denomina “ Muscardina verde”. Este hongo es considerado cosmopolita (Berlanga *et. al.*, 1997; CB-08, 1999).

Metarhizium flavoviride

Características y morfología.

Inicialmente *M. flavoviride*, fue detectado en Homópteros y evaluado en Filipinas contra insectos del arroz como; *Nilaparvata lugens* Stal. Posteriormente reportado en Australia y las Islas Galápagos y durante el desarrollo del programa de control biológico de langostas y chapulines en África, *M. flavoviride* fue el entomopatógeno más común y con mayor dispersión en poblaciones de acrididos (Goettel, 1984).

M. flavoviride es un Deuteromycete del cual se conoce únicamente su forma asexual. Puede ser fácilmente diferenciado de *M. anisopliae* (Metch.) Sor.. Por la morfología y coloración de sus conidias, estas son elípticas con los extremos redondeados o levemente truncados, en medio de cultivo presentan colonias amarillo grisáceas o verde olivo. *M. flavoviride* se adaptado a zonas tropicales y subtropicales, ya que es frecuentemente aislado de acrididos en estas áreas, mientras que *M. anisopliae* ocurre principalmente en zonas templadas (CB-02, 1999).

Taxonomía

Reino-----Mycetae
 División-----Amastigomicotina
 Subdivisión-----Deuteromycotina
 Clase-----Deutermycetes
 Subclase-----Hypomycetes
 Orden-----Moniliales
 Familia-----Moniliaceae
 Géneros----- *Metarhizium*
 Especie -----*anisopliae*
flavoviridae

(Según Alexopoulos y Mims 1979; McCoy *et. al.*, 1988 y Samsom. 1988).

Importancia

Existe evidencia de que los aislamientos de *Metarhizium spp.* muestran considerable especificidad con virulencia diferencial a insectos taxonómicamente relacionados, segundo, los aislamientos obtenidos en condiciones climáticas adversas podrían tolerarlas mejor, especialmente humedad relativa baja y niveles altos de

temperatura y radiación solar. No existen guías ni protocolos de cuarentena para el movimiento de aislamientos de hongos (Prior, 1992).

Modo de acción

La espora del hongo, al ponerse en contacto con el insecto plaga, se le adhieren a la cutícula. Después las esporas germinan y producen enzimas que perforan la cutícula, facilitando la entrada del hongo en el cuerpo del insecto. Al desarrollarse el hongo se liberan toxinas contra el insecto, las que se producen la muerte rápida. Si las condiciones son favorables el patógeno perfora el tegumento, coloniza la superficie del cuerpo y esporula, de esta manera los cadáveres esporulados propician una fuente de inóculo infeccioso que permite establecer la enfermedad en el campo (Metasav - 11, 1997; Agrobionsa, 1995).

Sintomatología

Los adultos infectados presentan movimientos lentos, no se alimentan, reducen su radio de vuelo y las hembras dejan de efectuar las ovipositoras; las ninfas disminuyen sus movimientos, mueren y se tornan momificadas (Figura 17). Tanto adultos como ninfas presentan inicialmente un crecimiento micelial blanco sobre su cuerpo, seguido por una esporulación abundante y verde; raramente las ninfas presentan esporulación sobre su cuerpo, debido a que las condiciones en que habitan son inadecuadas para el proceso de esporulación del hongo. La fase más sensible del ataque del hongo al insecto es en estado adulto, debido a que se encuentran más frecuentemente micozados, el ciclo total de la enfermedad es de 10 días, tiempo necesario para la germinación, penetración, colonización y esporulación. En condiciones de campo el patógeno necesita HR alta ó que coincida con el período de lluvias, ya que requiere de 60 a 90 % de H.R. temperaturas entre 15 a 32 °C (Contreras y Fragoso, 1997; CB-08, 1999).

Figura 17.- Sintomatología de una larva infetada por *Metarhizium* sp., (Tomada de Biosol, 1998).

Espectro de acción

Metarhizium spp. Es un microorganismo cosmopolita, de gran adaptabilidad, que puede ser utilizado en una gran variedad de cultivos, como son; hortalizas frutales, cítricos, pastizales, caña de azúcar, cultivos básicos, cultivos industriales y otros. Combate una gran variedad de insectos de los órdenes; Coleóptera, Homóptera, Hemíptera, Lepidóptera, Ortóptera, etc. (Metasav - 11, 1997; Méndez y Rosas, 1998; CB-02 y 08, 1999).

Producción

El método utilizado depende generalmente del organismo en cuestión y el producto deseado. Existen tres métodos generales para la producción de hongos; en medios sólidos, semi-sólido y fermentación sumergida, siendo la producción en medio sólido la más simple y en el cual *Metarhizium* spp. se desarrolla fácilmente, (Goettel y Roberts, 1993 citado por, CB-08, 1999).

La producción de conidias de hongos es un elemento clave en la utilización como un insecticida microbial. En general las conidias de hongos entomopatógenos se aplican en rangos de 2×10^9 conidias/ml en 2-3 litros de formulación/ha. La mayoría de hongos deuteromicetos producen blastosporas en cultivos sumergidos; las blastosporas son más susceptibles a las condiciones ambientales adversas y consecuentemente no han sido utilizadas para aplicarlas en campo. La mayoría de los hongos crecen en medio sólido y producen conidias aéreas. El cultivo superficial en medio sólido o semisólido es usualmente el mejor para estos hongos incluyendo la clase Hyphomycete (Ferrón, 1981; CB-02, 1999).

Formulaciones comerciales

En México existe una gran variedad de productos a base de *M. anisopliae*, varias cepas del hongo *Metarhizium* spp. y formulaciones comerciales que se utilizan en el mundo, que se enlistan a continuación (Rosas, *et. al.*, 1977; Li, 1995).

Cuadro 7.- Formulaciones comerciales de *M.anisopliae*.

NOMBRE COMERCIAL	PLAGA	ORIGEN
Metasav	Coleópteros, ortópteros, lepidóptera, homóptera	Cuba
Meta-sin	Coleópteros, homóptera	México
Ecoman	Plagas del suelo, coleopteros	México
Metarrhizin	Coleópteros	URSS
Biotrol-FMA	Homópteros, hemópteros	USA
Metaquino ^c	Hemípteros	Brasil
Fitosan - M	Plagas de suelo	México

Tomado de Khachatourians, 1986; ECONOVA, 1998; Rodríguez *et. al.*, 1991; Agrobionsa, 1995; Bios-Cobi, 1996, Meta-sin, __ ; modificado por Olayo, 1999.

***Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas**

El hypomycete entomopatógeno *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas, ha sido aislado a partir de ninfas (estadios 2° y 3°) de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci*, plaga conocida como "Mosquita blanca", que ataca cultivos de gran importancia económica en todo el país. Se ha demostrado su patogenicidad in vitro reportandose el 92%, 100% de mortalidad en ninfas sanas inoculadas con 0.005 ml de una suspensión de 3.6×10^6 conidios en Tween 80 al 0.01% e incubadas durante 10 días a 26° C en cámara húmeda sobre portaobjetos de vidrio, o conservadas en hojas de frijol de plantas infestadas, respectivamente. Este hongo es potencialmente útil en el control biológico de esta plaga. Respecto al efecto de *Verticillium sp* en la naturaleza, se detecta la micosis a nivel de 48%, pero cuando las aspersiones son dirigidas, hay más mortalidad del insecto blanco (Agro-síntesis, 1992).

Morfología

V. lecanii se caracteriza por presentar conidióforos ramificados o verticilados, en la parte terminal se forman conidios pequeños, redondeados y hialinos (Figura 18). La especie *V. lecanii* es comunmente encontrada en áfidos, escamas y mosca blanca. Es un importante agente microbial para uso en invernaderos. Se reporta como un excelente regulador de poblaciones del pulgon *Coccius hesperidium* llegando a obtenerse mortalidades de hasta un 85% de las poblaciones. En Villa Guerrero Estado de México se realizan evaluaciones con *V. Lecanii* en programas de manejo integrado de mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* en cultivos de calabaza y frijol ejotero (Hernández y Berlanga, 1996; Berlanga, 1997).

Figura 18.- Fotografía de estructuras de *Verticillum lecanii*. (Tomada de Barnett y Hunter, 1972).

Taxonomía

Reino-----Mycetae
 División-----Amastigomicotina
 Subdivisión-----Deuteromycotina
 Clase-----Deutermycetes
 Subclase-----Hypomycetes
 Orden-----Moniliales
 Familia-----Moniliaceae
 Géneros----- *Vericillium*
 Especie -----*lecanii*

(Según Alexopoulos y Mims 1979; McCoy *et. al.*, 1988 y Samsom, 1988).

Modo de acción

Este microorganismo actúa por contacto; los conidios germinan sobre la cutícula del insecto y por un proceso de penetración el germen lleva al insecto la unidad infectiva y sustancias tóxicas que producen la muerte. Si las condiciones son favorables, el patógeno perfora el tegumento por las partes menos quitinizadas del insecto, coloniza la superficie y posteriormente produce la esporulación, lo cual constituye una vía para establecer la enfermedad (Mier *et. al.*, 1997; Vertisav - 57, 1997).

Espectro de acción

Este microorganismo es un hongo patógeno de homópteros y causa la reducción de poblaciones de insectos que atacan las hortalizas y el frijol, y la garrapata en pastos. Así, como hemípteros y otros (Khachatourians, 1986; Vertisav -57, 1997).

Formulaciones comerciales

Cuadro 8.- Productos a base de *Verticillium lecanii*, en el mundo.

NOMBRE COMERCIAL	PLAGA	ORIGEN
Vertelec	Aphidos	Tate and Lylein/UK
Thriptal	Trips	Tate and Lylein/UK
Mycotal	Mosca blanca	Tate and Lylein/UK
Vertelpac		Inglaterra
Mycotol		Inglaterra
Verticillín		Ex URSS
Vertisav-57	Homópteros, hemípteros, acarina	Cuba
Verticón		Checoslovaquia

Tomado de Khachatourians, (1986); Rodríguez *et. al.*, (1991); Vertisav-57, (1997), actualizado por Olayo, (1999).

Paecilomyces spp.

Las mosquitas blancas presentan un elevado número de enemigos naturales incluyendo parasitoides, depredadores y patógenos, Gerling, (1990) y Frasen, (1990), (citados por Garza, 1996). De los patógenos de insectos los hongos son los más comunmente aislados de mosquitas blancas, reportandose más de 20 especies entre los que destacan dos especies de *Aschersonia*, *Verticillum lecanii* (Zimm). Viegas, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Paecilomyces fumosoroseus* (Nize). Dentro de estos *P. fumosoroseus* es uno de los más promisorios en el control microbiano de aleyrodidos, ya que causa elevada mortalidad en períodos de 24 a 28hrs, además de que es capaz de infectar todos los estados de desarrollo del insecto, incluyendo huevecillos. Debido a las características de los agroecosistemas en el cual se desarrollan las mosquitas blancas, *B. tabaci*, *B. argentifolli* y *Trialeurodes vaporariorum*, se considera que la estrategia más adecuada de uso de *Paecilomyces spp* es por incremento inundativo, utilizando aislamientos nativos, que presentan mayor adaptación a las condiciones ambientales, especialmente a la humedad relativa, altas temperaturas y niveles altos de radiación solar. (Smith, 1993; Garza, 1996; Bland *et. al.*, __).

P. fumosoroseu ha sido utilizado como biocontrol de *Bemisia tabaci*, en Chile jalapeño ha teniendo buena efectividad en Quintana Roo, y utilizandose cada vez mas, con el afan de contrarrestar daños a este cultivo. (García y Gutierrez, 1998; Gutierrez y García, 1998).

Descripción del género

Las especies entomopatógenos de *Paecilomyces* fueron formalmente clasificados en los géneros *Isaria* y *Spicaria*. Los estados perfectos están relacionados con *ascomycetes* de los géneros *Byssochlamys*, *Talaromyces*, *Thermoascus* y posiblemente

Torrubiella (Tanada y Kaya, 1993). El género fue descrito por Belnier en 1907 cercanamente a *Penicillium*, difiriendo por la ausencia de colonias verdes y fiálides cilíndricas cortas cuellos largos y delgados, Samson, 1994 (CB- 06, 1999).

Morfología

Se caracteriza por tener colores vistosos como blanco, amarillo, verde palido, rosa, rojo o purpura. Presenta hifas hialinas a amarillentas, septadas y con paredes lisas. La estructura conidiógena es un sinema o monosinema que consiste en hifas compactadas, conidiofóforos verticilados e irregulares con ramificaciones terminales en donde surgen racimos ensanchada en forma de botella, con un con un cuello distintivo en donde nacen las conidias las cuales crecen en cadena en forma basipétala (Figura 19), por una célula, raramente dos, hialina o ligeramente pigmentada con paredes lisas o equinuladas o varias formas, (Berlanga, 1997; Hernandez y Berlanga, 1997; CB- 06, 1999).

Figura 19.- Estructuras de *Paecilomyces sp.*, (Tomada de Barnett y Hunter, 1972).

Taxonomía

Reino-----Mycetae
 División-----Amastigomicotina
 Subdivisión-----Deuteromycotina
 Clase-----Deutermycetes
 Subclase-----Hypomycetes
 Orden-----Moniliales
 Familia-----Moniliaceae
 Géneros----- *Paecilomyces*
 Especie ----- *fumosoroseus*

(Según Alexopoulos y Mims 1979; McCoy *et. al.*, 1988 y Samsom, 1988).

Modo de acción

La espora del hongo, al ponerse en contacto con el insecto plaga, se le adhiere a la cutícula, penetrando directamente después de la germinación de la conidia, durante esta fase se forma el tubo germinativo y puede penetrar la cutícula o por medio de un apresorio y producción de enzimas como proteasas, lipasas y quitinasas. Al desarrollarse el hongo, libera toxinas contra el insecto, que provoca su muerte. *P. fumosoroseus*, se adhiere al dorso del insecto, el tubo germinativo penetra y la hifa está presente en el homocelo del insecto 24 hrs después. *P. farinosus* forma un apresorio al igual que *Aschersonia aleyrodes* Webber, sobre la cutícula de hifas de *B. tabaci* (CB-06, 1999; Agrobionsa, 1995, ECONOVA, 1998).

P. lilacinus, parasita los huevos y hembras de los nematodos, causando deformaciones, destrucción de ovarios y reproducción de la eclosión. En condiciones de pH ligeramente ácido, produce toxinas que afectan además el sistema nervioso de los nematodos. (Paecisav – 1, 1997).

Espectro de acción

Este entomopatógeno ha sido reportado infectando 41 especies de insectos de ocho ordenes, siendo plagas de importancia económica. *Paecilomyces* es un patógeno de amplio espectro en huéspedes y ha sido aislado de insectos de diversas familias de los ordenes (Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Neuroptera, Hymenoptera, Thysanoptera, Hemiptera y Homoptera) en diferentes partes del mundo. *P. fumosoroseus* se ha utilizado especialmente para el control de *Corposina sosakii* (Matsumuram) *Leptinotarsa decemlineata* (San), *Lymantria dispar*(L), *Galleria mellonella* (L), y termitas (Garza, 1992; CB - 06, 1999).

P. lilacinus es un hongo frecuentemente en numerosos tipos de suelo que se desarrolla preferentemente en medios de cultivo comunes como Papa Dextrosa Agar (PDA) y que puede desarrollarse en forma masiva mediante la inoculación directa de un soporte solido como cascarilla de arroz y también por vía fementativa. Sus temperaturas optimas son de 25 – 30°C, su uso es hacia nematodos (Paecisav-1, 1991).

Formulaciones comunes

Cuadro 9.- Formulaciones de *Paecilomyces sp.*

NONBRE COMERCIAL	PLAGAS	PAIS
Pae- sin	Mosquita blanca	México
ECOPAE	Mosquita blanca	México
PAECISAV-1	Nematodoos	Cuba
Peocilomin	Mosquita blanca	Ex URSS

Rodríguez *et. al.*, (1991); ECONOVA, (1998), Paecisav- 1, (1997), Pae- sin, (1995), Modificado por Olayo, (1999).

***Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson.**

El hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, tiene uan distribución mundial, es un importante enemigo natural de especies de Lepidopteros plaga, reportandose sobre *Anticarsia gemmatalis* (Hubner), y otros. Se considera con gran potencial, por su capacidad para formar epizotias naturales al suprimir poblaciones de plagas, antes que los daños exedan los umbrales economicos. Este suceso pueden ser afectado por diversos factores como: Densidad y desarrollo de la población de la plaga, cantidad de conidias, condiciones climaticas, estado fenologico de la planta hospedera y cepa del hongo (Ignoffo, 1981).

Taxonomicamente *N. rileyi* se encuentra ubicado en la clase Deuteromycetes que se caracteriza por presentar estructuras reproductivas en forma de conidias, crece lentamente en medio de cultivo presentando al inicio una colonia verde palido, cambiando conforme maduran sus conidias a verde malaquita o verde olivacea (CB – 09, 1999).

Morfología

Es una especie muy similar al género *Paecilomyces*, forma sinemas o grupos de conidioforos ramificados, presenta fiálides engrosados en la base y terminadas en forma de botella, pero el cuello más corto que en *Paecilomyces*, las esporas crecen en cadenas, con una coloración típica del hongo. Su hifa vegetativa es septada, de pared lisa, hialina o ligeramente pigmentada; su estructura reproductiva es un conidiofóro erecto septado que nace de la hifa formando densos grupos de racimos con 2 o 3 fiálides compactada alrededor del conidioforo (Hernandez y Berlanga, 1996; Berlanga, 1997).

Figura 20 .- *Nomuraea rileyi*, conidióforo y conidias. (Tomada de CB-09, 1999).

Taxonomía

Reino-----Mycetae
 División-----Amastigomicotina
 Subdivisión-----Deuteromycotina
 Clase-----Deuteromycetes
 Subclase-----Hypomycetes
 Orden-----Moniliales
 Familia-----Moniliaceae
 Género----- *Nomuraea*
 Especie ----- *rileyi*

(Según Alexopoulos y Mims 1979; McCoy *et. al.*, 1988 y Samsom, 1988).

Importancia

Nomurea rileyi, constituye un insecticida microbial muy popular el cual ha sido estudiado detalladamente en estados del Sureste de USA, para el control de la oruga terciopelo del frijol (*Anticarsia gemmatalis*), el gusano medidor de la soya (larva de una alevilla de la familia *Geometridae*). Ignoffo y colaboradores (1976b), indican que el suelo es probablemente el reservorio de conidias que inician anualmente epizootias de *N. rileyi* sobre Lepidópteros. Este hongo en temperaturas y humedades relativamente bajas, puede producir tres tipos de estructuras de resistencia morfológicamente distintas; estructuras intrahifales de doble pared celular, clamidiosporas y cuerpos de reposo con grandes cantidades de lípidos localizados en la cavidad del cuerpo del insecto (Figura 20), en donde sobreviven mientras las condiciones ambientales son propicias para una nueva epizootia (Mc Coy *et. al.*, 1988; McClintic, 1995; CB-09, 1999).

Figura 21.- Larva infectada por *Nomuraea rileyi*. (Tomada de McClintic, 1995).

Medios en los que se desarrolla.

Este hongo *Nomuraea rileyi* es un entomopatógeno que ha presentado dificultades para lograr la producción óptima de unidades infectivas con alto grado de patogenicidad. Ignoffo (1981) encontró los requerimientos nutricionales para lograr su producción en medios sólidos y líquidos, determinándose que el hongo se desarrolla mejor en Sabouraud Papa – Dextrosa y Extracto de levadura agar. Comparaciones entre la producción en fermentaciones sumergidas y superficiales indican que después de 21

días a 24°C se obtuvieron de 368mg de conidias /100ml de agua y 575mg de blastosporas /100ml (Hernández y Berlanga, 1997; CB-09, 1999).

Espectro de acción

El género *Nomuraea* (= *Spicaria*) contiene una de las especies más comunes de Centro y Suramérica, *N. rileyi*. Este patógeno afecta plagas de gran interés agrícola como, *A. gemmatilis* en soya, *H. virescens* y *T. ni* en algodón y *S. frugiperda* en maíz, generalmente su ataque es sobre lepidópteros en lugares localizados de alta humedad y puede diezmar rápidamente poblaciones de insectos. También controla al menos dos especies de Coleópteros, *Hypera punctata* (Fabricius) y *Leptinotarsa decemlineata* (Kroatz), reportados como más susceptibles al hongo en forma natural y en laboratorio (Bustillos, 1989).

Formulación comercial

Cuadro 10.- Producto de *Nomuraea rileyi*

NOMBRE COMERCIAL	PLAGA	ORIGEN
EAO	Larvas de Lepidópteros	USA

(Tomado de Khachatourians, 1986).

Hirsutella spp.

Morfología

Presenta un micelio fino y hialino con hifas septadas, las cuales desarrollan generalmente en forma simple excepto para las cepas que producen sinema. Las células de las conidias son oliváceas o gris, la mayoría originadas lateralmente a la hifa. Presenta fialides ensanchadas en la base, las cuales se van estrechando conforme se acerca al ápice. La conidia es esférica con la superficie verrucosa. La especie más conocida es *Hirsutella thompsonii* Fisher, usada en varios países (Figura 21),

(Hernández y Berlanga, 1996, Berlanga, 1997). Este hongo se puede observar, en su período de mayor población en (Septiembre a Enero), con temperaturas de (24.7° C); y la menor población del hongo se presentan en los meses más calientes (Abril a Agosto), con temperaturas de (27.2° C) (Carrillo y Cortazar, 1998).

Figura 22.- Estructuras del hongo *Hirsutella* sp., (Tomada de Barnett y Hunter, 1972).

Taxonomía

Reino-----Mycetae
 División-----Amastigomicotina
 Subdivisión-----Deuteromycotina
 Clase-----Deutermycetes
 Subclase-----Hypomycetes
 Orden-----Moniliales
 Familia-----Moniliaceae
 Géneros----- *Hirsutella*
 Especie ----- *thompsonii*

(Según Alexopoulos y Mims 1979; McCoy *et. al.*, 1988 y Samsom, 1988).

Espectro de acción

El género *Hirsutella* tiene como principal representante la especie de *H. Thompsonii* que afecta al ácaro tostador de los cítricos (*Phyllocoptruta oleivora*), plaga ampliamente distribuida en las zonas tropicales donde se cultivan cítricos. También es patógeno al ácaro de la palma africana, *Retracrus elaeis*, Urueta, 1980 (citado por Bustillo 1989), tiene acción sobre otros ácaros como *Eriophyes guerreronis*, *Tetranychus*

cinnabarinus y *Gutetanichus orientalis*. En México se realizan estudios con *H. Thompsonii* para combatir el ácaro del cocotero *E. guerreronis* en las costas de Guerrero y el vector del amarillamiento letal del cocotero, conocido como chicharrita pálida (*Myndus crudus* Van Duzee) (Hernández y Berlanga, 1997; Carrillo y Cortazar, 1998).

Medios en los que se desarrolla *Hirsutella spp.*

Hirsutella spp. tiene buen crecimiento en extracto de levadura, medios con dextrosa, extracto de malta, para la uniformidad de crecimiento en laboratorios. Pero no crece en medios a base dextrosa con sales, nitrato de potasio, nitrato de amonio. Para una buena efectividad requiere de nitrógeno orgánico (MacLeod², 1959).

Formulaciones comerciales

Cuadro 10.- Producto de *Hirsutella sp.*

NOMBRE COMERCIAL	PLAGA	ORIGEN
Mycar	Acaros, homópteros	Laboratorios, Abbott, USA

(Tomado de Khachatourians, 1986 y Rodríguez *et. al.*, 1991).

Aschersonia aleyrodis

Morfología

Forman un pequeño estroma que consiste en una densa masa de hifas compactadas en la cual se originan picnidios que consisten en loculos con paredes diferenciadas en el interior del estroma dentro de los que se producen las conidias, llamadas también picnidiosporas. Las hifas pueden ser de color variable, amarillo, anaranjado en donde forman los picnidios o cuerpos en forma de pera de o redondos, el

tamaño, forma y coloración de las conidias sirven para la determinación de la especie (Figura 22), (Mains, 1959. Citado por Berlanga, 1997).

Figura 22.- Estructuras del hongo *Aschersonia* sp. (Tomada de Barnett y Hunter, 1972).

Taxonomía

Reino ----- Mycetae

Division ----- Amastigomicotina

Subdivisión ----- Deuteromycotina

Clase ----- Coelomyces ó Coelomycetes

Orden ----- Sphaeropsidales

Familia -----

Género ----- *Aschersonia*

Especie ---- *Aleyrodes*

(Según Alexopoulos y Mins 1979; McCoy *et. al.*, 1988; Samson, 1988); (Robert *et. al.*, 1991, Citado por De la Rosa, 1995); Agrios, (1996).

Espectro de acción

La especie más frecuentemente encontrada en Centro y Suramérica es *A. aleyrodis*. Este hongo se registra comúnmente infestando la mosca prieta de los cítricos, *Aleurocanthus woglumi* (Bustillo, 1970, Quezada *et. al.*, 1974, citados por Bustillo, 1989). Se han observado altos niveles de infección en lugares donde las condiciones de temperatura y humedad le favorecen. También afecta a la escama de nieve de los cítricos, *Unaspis citri*, y la escama articulada *Selenaspidus articulatus*, plagas de importancia económica en cítricos (Andrews y Quezada, 1989).

Medios de desarrollo

Se desarrolla bien en medios artificiales, líquidos y sólidos como medios de laboratorio como el SDA y el PDA (Bustillo, 1989).

OTROS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Entomophthora spp.

Entomophthora spp. Fresenius (1956). Los Ordenes Entomophthorales, Mucorales y Zoopagales son de la clase Zygomycetes, que los caracteriza por la ausencia de esporas flageladas y reproducción sexual con la formación de zygoesporas. Thaxter's (1988), fue el primero en caracterizar a este hongo, incluyendolo en el orden Entomophthorales. Dentro del orden hay gran variación morfológica de *Entomophthora* con otros géneros. A pesar de la frecuencia de cuerpos hifales, existe mal acoplamiento en su crecimiento. Se consideran los cuerpos hifales como un modo de crecimiento vegetativo, de hecho, el desarrollo de muchas especies de entomopatógenos, es exclusivamente de micelio; que nos ayuda a explicar lo insierto de algunas especies que posan en el abdomen. En las especies de *Entomophthora*, la invasión es relativamente por el inicio del desarrollo del micelio que puede ser septado; segmentos multinucleares, a veces separado formando cuerpos hifales característicos (King and Humber, ____).

Se han encontrado más de 100 especies de *Entomophthora* atacando insectos. Entre las especies más conocidas y difundidas están *E. muscae* afectando a la mosca casera y *E. planchoniana* que normalmente ataca áfidos. En cultivos de cítricos en el trópico es frecuente observar este último patógeno sobre las especies *Aphis spiraecola* y *Toxoptera citricidus* (Bustillo, 1989).

Coelomomyces spp.

Descrito primero por Keilin (1929), citado por Couch (1945- 1962), quien reconoció las bondades de los miembros de este género *Coelomomyces* (Clase; Chytridiomycetes, Orden; Blastocladales, Familia; Coelomomycetaceae). Patógeno específico, de larvas de mosquitos, moscas negras, y posiblemente tabanos, las especies de *Coelomomyces* se caracterizan por presentar esporas móviles uniflageladas y gametos, ramas o lobulos, hifas cenocíticas y varios ornamentos. La infección de *Coelomomyces* es más común encontrar en larvas maduras de mosquitos infectadas con este hongo (Bland *et. al.*, ____).

Coelomomyces, es un hongo de la subclase Chytridiomycetes, comprende más de 80 especies; la mayoría parásitos de mosquitos y otros patógenos específicos, para el complejo del mosquito *Anopheles* (____, 1985).

El género *Coelomomyces* pertenece a un grupo de hongos obligados de habitat acuático. Su importancia radica en que pueden constituirse en factores importantes de control contra larvas de mosquitos, especialmente de los géneros *Culex* y *Aedes* (Andrews y Quezada, 1989).

Massospora spp.

El género *Massospora* fue establecido por Peck (1879), con la descripción de *M. cicadina*, infectando chicharras (cicadas), Forber (1888) y Thaxter (1888), agrupan al género *Massospora* en la familia Entomophthoraceae. El hongo del género *Massospora*, es conocido como patógeno de cigarras gregarias. El cultivo de estos hongos no ha sido reportado y su uso en el biocontrol es remoto a pesar de su virulencia en cigarras. La comprensión de la taxonomía y biología de este género se ha hecho por Soper, el que reconoce once especies inicialmente patógenas de cicadas (Soper, 1974).

NEMATODOS ENTOMOPATOGENOS

Los nemátodos son organismos fusiformes, poseen cabeza con un aparato bucal terminal y cola generalmente terminada en punta. El tracto digestivo consiste de un estoma y esofago, que juntos ocupan una tercera parte del cuerpo. En la parte posterior, el intestino ocupa las otras dos terceras partes. Las gonadas de la hembra la constituyen una vulva, vagina y uno de los dos oviductos y ovarios que se extienden anteriormente y posteriormente de donde la vulva se localiza. Los nemátodos juveniles no poseen estructuras genitales externas. El ciclo de vida de los nemátodos consta de tres estados de desarrollo que son; huevo, larva y adulto. Los huevos son microscopicos. Entre huevos y adultos se presentan cuatro mudas, cuyos estados se denominan larvas o juveniles, siendo este último termino más correcto. Los adultos hembras pueden ser identificados por una abertura ventral de la vulva cerca de la mitad del cuerpo o hacia la cola. También puede ser identificada por la presencia de huevos o nemátodos juveniles dentro de su cuerpo. Los adultos machos pueden ser distinguidos por la presencia en espículas de la región de la cola y por la estructura aplanada o hinchada de la cola (Castillo, 1995, Cepeda, 1997).

Algunas razones del uso de nemátodos entomopatógenos en la agricultura es con el interés de incrementar las alternativas de control biológico, al uso intensivo de pesticidas químicos y al cuidado del equilibrio ecológico, (Bedding, 1981; Gónzales, *et al.*, 1997).

Las familias de Heterorhabditidae y Steinernematidae están asociados simbióticamente con la bacteria del género *Xenorhabdus* (Poinar, 1990), además se encuentran dentro de varias categorías;

- 1.- Los nemátodos tienen la capacidad de penetrar y depositar la bacteria dentro de la cavidad del cuerpo del hospedero.
- 2.- Tienen un rango de hospederos que incluye la mayoría de los órdenes y familias de insectos.

3.- Son reproducidos en gran escala en medios líquidos o sólidos en forma artificial (Poinar y Thomas, 1984).

Los nemátodos provocan la muerte de los insectos durante las 48 hrs posteriores a la inoculación de su estado infectivo, tienen la capacidad de durar por largo tiempo almacenado y pueden ser aplicados por métodos convencionales, ya que persisten en el medio ambiente (Poinar, 1990).

Los estadios infectivos penetran a través de la boca, ano y espiráculos del insecto hasta llegar al hemocele del insecto para iniciar su desarrollo una vez librada su bacteria simbiótica donde se alimenta y multiplica dentro del hemocele de los hospederos, pero inicialmente se ve disminuida por la actividad fagocítica del insecto. Los nemátodos *Heterorhabditis*, *Steinernema* y *Romanomermis*, han sido aplicados al control de plagas en el suelo, en habitats ocultos o acuáticos y en follaje. Estos nemátodos entomopatógenos se han obtenidos en diferentes partes del mundo, parasitando más de 200 especies de insectos del orden Coleóptera, Díptera, Lepidóptera, Orthoptera, Odonata, Isóptera, Hymenóptera entre otros (Poinar y Thomas, 1984; Molina *et al.*, 1996).

Desarrollo comercial

Estos patógenos tienen una gran aceptación al grado que ya se tienen formulaciones comerciales de algunos de ellos ya son utilizados en varios miles de hectáreas, en los países como, China, E. U., Brasil y Estados Independientes (Georgis, 1990; Friedman, 1990).

Producción masiva

Hasta la fecha Rudolf Glaser encontro el primer método para reproducir nemátodos en medio artificial, los nemátodos también pueden ser reproducidos en insectos vivos. Las larvas de *Galleria mellonella* son comunmente usadas para la reproducción *in vivo*, más tarde encontraron tecnicas para el cultivos de nemátodos

monoxenicamente (Bedding, 1981). Actualmente se pueden reproducir eficientemente en fermentadores de 7500 – 80000 litros con capacidad de producción de 100,000 nemátodos por ml (Georgis y Hague, 1991), también se tienen algunas formulaciones de granulados a base de nemátodos (Connick *et. al.*, 1993).

Bajo este enfoque, recientemente, Raulston *et. al.*, (1992) determinaron que el parasitismo por una especie de *Steinernema* indígena del área de río Bravo, es un factor principal de la mortalidad natural presentada en las plagas de gusano elotero y cogollero, en el Valle Bajo del Río Grande; concluyen que el nemátodo puede ser un candidato primario para la eliminación de ambas poblaciones de lepidópteros plaga (Jatala, 1986).

Control biológico clásico por nemátodos entomopatógenos

De acuerdo a Pomar (1986), unas pocas especies de nemátodos han sido empleadas en control biológico clásico, y con el interés actual en las especies de steinernematidos y heterorhabditidos, es probable que el número de introducciones aumentará considerablemente, la manipulación directa de un enemigo natural consiste en la producción masiva y la liberación en campo de individuos de una especie dada. Los entomólogos reconocen dos tipos de liberaciones:

1) .- La liberación inoculativa, consiste en la liberación de un número pequeño de individuos, que es diseñada para que la progenie de los individuos liberados proporcione la supresión de la plaga a largo plazo.

Por el contrario;

2) .- La liberación inundativa, es la liberación de un número masivo de individuos con el propósito de obtener la eliminación inmediata de la plaga (Molina *et al.*, 1996).

El manejo de ambas técnicas se ha instaurado en muchas ocasiones y actualmente hay muchos agentes de control biológico disponibles comercialmente para

su uso en la agricultura. Recientemente, Cabanillas y Raulson (1995), reportaron el primer intento significativo para aumentar las poblaciones naturales de nemátodos entomopatógenos, *Steinernema riobravis*, para reducir las poblaciones naturales del gusano elotero, *Helicoverpa zea* Boddie, antes de la emergencia de los adultos de lepidóptero, en este estudio se logro determinar que la aplicación de dicho nemátodo al suelo es capaz de afectar a las poblaciones del insecto plaga bajo condiciones de campo (Molina *et. al.*, 1997).

A continuación se mencionan brevemente los nemátodos más importantes en el control biológico.

Romanomermis culicivorax

Ha contribuido grandemente a el avance de control biológico de mosquitos. Este mermitido puede ser reproducido usando como hospederos vivos a las lavas de *Culex pipiens quinquefasciatus*. El método que se usa para esta cría esta basado sobre el ciclo de vida de este mermitido acuático. Los huevos eclosionan en el agua liberando preparositos infectivos, los cuales penetran en las larvas de mosquitos, desarrollandose en el homocelo. Los nemátodos emergen, matando a su hospedero, generalmente en el último instar larval. Estos post-parositos son colectados al emerger y son colocados en charolas de tierra húmeda donde maduran, se aparean y ponen sus huevos (Castillo, 1995; Pérez *et. al.*, 1998).

Taxonomía

Reino -----Animal
 Phylum -----Nematoda
 Clase ----- Adenophorea
 Orden -----Mermithida
 Suborden -----Mermithina
 Superfamilia -----Mermithoidea
 Familia ----- Mermithidae

Género ----- *Romanomermis*

Especie ----- *culicivorax*

(Tomada de Molina *et. al.*, 1996, Agrios, 1996).

Los nemátodos mermítidos son considerados muy promisorios en el control biológico de insectos plaga. Sus principales características son su inocuidad a otros animales diferentes a insectos, la facilidad de producción masiva y de almacenamiento, perpetuación en el nuevo sitio, donde pueden ocasionar altos niveles de infección a la plaga objeto de control. La especie *Romanomermis culicivorax* (= *Resimermis nielsenii*) es el primer nemátodo desarrollado para la distribución comercial de “Skeeter Domm”, se distribuye en USA, en lagos, lagunas u otros lugares que sirven de multiplicación a los mosquitos. El nemátodo ataca más de 60 especies de larvas de mosquitos (Andrews y Quezada, 1989).

***Steinernema* y *Heterorhabditis* de las familias (Steinernematidae y Heterorhabditidae).**

Durante los últimos años se ha incrementado el interés en el control biológico de insectos utilizando nemátodos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae. Estos nemátodos y su asociación con una bacteria entomopatógena satisfacen los criterios esenciales para el control biológico aumentativo. Los avances obtenidos en su producción masiva, formulación y métodos de aplicación los hace factibles de utilizarse en el control de ciertas plagas. La variedad de especies y cepas geográficas las sitúan como organismos con potencialidad de uso en el control de plagas, especialmente del suelo. Estos podrían substituir a los insecticidas por el amplio número de huéspedes, persistencia, movimiento, seguridad y facilidad de aplicación, y la ausencia de restricciones de registro en algunos países (Goergis y Hague, 1991; Castillo, 1995).

En la nomenclatura de estas familias de nemátodos existen varios sinónimos, como el caso del género *Noeplectana*, la cual algunos autores la mencionan como *Steinernema*. Los nemátodos pertenecientes a las familias *Heterorhabditidae* y *Steinernematidae*, a diferencia de otros que se alimentan de bacterias, tienen un estado juvenil infectivo que protege y transporta una bacteria del género *Xenorhabdus*. El juvenil infectivo se introduce al insecto por sus espiráculos, ano o boca. Los nemátodos del género *Heterorhabditis* poseen un diente dorsal que les da la capacidad de atravesar la cutícula del insecto. Dentro del insecto el juvenil infectivo se mueve hacia el hemocele donde inyecta la bacteria. Una septicemia se presenta en el huésped por la inoculación de esta bacteria, provocando la muerte en aproximadamente 48 horas. El nemátodo se desarrolla y multiplica dentro del insecto, después emergen los nuevos juveniles infectivos para iniciar la búsqueda de otros hospederos. Tienen un ciclo de vida simple, de huevo, cuatro estados juveniles y el adulto. El tercer juvenil es un estado juvenil protegido con la cutícula del segundo, que lo hace resistente a las condiciones ambientales y le confiere mejor capacidad de alcanzar el interior de un insecto. Poseen además reservas alimenticias que permiten su sobrevivencia por largos períodos (Jansson, 1992, citado por Castillo, 1995; Pérez *et. al.*, 1998).

Ambas familias tienen un ciclo de vida muy parecido. Las especies de *Heterorhabditidae* tienen una progenie donde se presentan hembras y machos. Para el caso de las hembras de *Steinernematidae* su progenie siempre está constituida por machos y hembras. Muestran gran variabilidad inter e intraespecífica en la tolerancia a la temperatura, pero de forma general los heterorhabditidos prefieren temperaturas entre 10 ° y 16 °C y los steinernematidos entre 3° y 14°C. El pH a un nivel bajo de 4 limita la infección de la especie *S. kraussei*, mientras que *S. carpocapseae* sobrevivió y mantuvo su infectividad en pH's de 4, 6, 8 y 10. En suelos salinos se presentan problemas con altas concentraciones de iones que afectan su concentración intracelular, mientras que en suelos ácidos los patógenos pueden ser afectados por los altos niveles de aluminio, son eficientes en suelos estériles, además pueden presentar competencia interespecífica por

un huésped cuando se encuentran heterorhabditidos y steinernematidos (Castillo, 1995; Molina *et. al.*, 1997).

Taxonomía de ambas familias y/o géneros de nemátodos

Reino ----- Animalia
 Phylum -----Aschelmyntes (Nematoda)
 Clase ----- Secernentea
 Orden -----Rhabditida
 Suborden -----Rhabditina
 Superfamilia ----Rhabditoidea
 Familias -----Steinernematidae
 Heterorhabditidae
 Géneros -----*Steinernema*
Heterorhabditis
 Especie ----- spp.

(Adaptado de Nason y DeHaan, 1980; Molina *et. al.*, 1996; Agrios, 1996; __, __).

La familia Neoplactanidae, ahora Steinernematidae, contiene el género *Steinernema* (= *Neoplectana*) del cual existen alrededor de 10 especies. La especie *S. carpocapsae* (= *N. dutkyi*) es objeto de investigación en muchas partes del mundo debido a la facilidad de cría del nemátodo (Bustillo, 1976) y quién tiene un amplio rango de huéspedes (Bustillo, 1989).

Modo de acción de los nemátodos

Los nemátodos son parásitos obligados. Buscan activamente y penetran el cuerpo de larvas, pupas o adultos de insectos (Figura 23 y 24). Presentan estiletes, que con la ayuda de secreciones enzimáticas de las glándulas esofágicas, son capaces de entrar al cuerpo de insectos en unos pocos minutos. Una vez dentro de la cavidad hemocélica de la larva, el nemátodo obtiene alimento de la hemolinfa por difusión a través de su cutícula. Estos nemátodos utilizan algunos de los aminoácidos y ésteres que el insecto produce para su nutrición y producción de huevos. Por lo tanto en insectos parasitados por nemátodos es común la esterilidad o la reducción en la producción de huevos (Kaya y Geaugler, 1993).

Figura 24.- Nematodos infectando un insecto. (Tomada de Arbiço, ___).

Figura 25.- Infección de nemátodos por una extremidad del insecto. (Tomada de Burgues, 1981).

PROTOZOOARIOS ENTOMOPATÓGENOS.

La producción de protozoarios patógenos de insectos, se han realizado varios estudios en la multiplicación de parásitos obligados “Microsporidia” en insectos del género *Lambornella* y *Tetrahymena*, así como en cultivo de células de mamíferos en laboratorio. Tienen efectividad para el control de insectos y se pueden cultivar invitro, pero no se ha investigado a fondo. (Stockdale, 1986).

Los microsporidios son parásitos comunes de animales y que ocurren más frecuentemente en invertebrados. Recientemente los protozoarios microsporidios, se agruparon en los Protozoa en un nuevo phylum, Microspora según Sprage (1977). Los microsporidios son parásitos intracelulares, filamentos tubulares polares y sin mitocondria. Los hospederos llegan a ser infectados cuando ingieren sus esporas (Hazard *et. al.*, ___).

Los protozoarios matan cantidades enormes de insectos, ya sea en forma directa a por reducción de la fecundidad de adultos. Sin embargo, se les ha prestando poca atención como agentes de control microbial debido a que requieren mucho tiempo para matar un huésped y por consiguiente no ocasionan efecto inmediato en las poblaciones de las plagas como lo hacen las bacterias y virus. La mayoría de los protozoarios no actúan de manera decisiva, matan lentamente, si acaso lo hacen; prolongan la vida larval del insecto en el campo, exponiéndolo así durante más tiempo a los depredadores y a los parásitos; también reducen la fecundidad de los adultos supervivientes. A menudo se asocian con otros patógenos de los insectos, sobre todo los virus y existen algunas reservas respecto a la proporción de utilizar los protozoarios en el control de insectos. Ciertos microsporidios pueden ocasionar enfermedades en los peces y en los mamíferos, así que cualquier protozoario que se recomienda para diseminación en campo, necesita comprobación rigurosa, para seguridad de estos animales. (Molina *et. al.*, 1997; Andrews y Quezada, 1989).

Ciclo de vida.

Las fases o etapas infectivas (esporas, quistes, etc) de protozoarios patogenicos de insectos, son ingeridos y pasados por el tracto digestivo del hospedero (ocurriendo también por transmisión trausovular). Entra dentro del homocelo supuestamente através de la pared de las chinches, sin embargo muy poco se sabe acerca de los pesos iniciales de la infección. Usualmente el primer signo de la infección está presente en el intestino grueso, cuerpo graso, tubos de Malpighi o hemolinfa. La reproducción puede ocurrir asexualmente por fisión por fisión binaria (flagelos y cilios) o fisión múltiple. La reproducción sexual en los Sporozoarios consiste en la fusión de dos gametos para formar un cigoto, que a sufrir otra división (__ , __).

Se han estudiado protozoarios y virus desde 1961, porque estos dos grupos de patógenos son menos dependientes de las condiciones climáticas. Estos estudios han aportado datos del primer protozoario registrado contra un insecto, actualmente

disponible comercialmente para el control de saltamontes, el parasito microscopico se llama *Nosema locustae* que quiere decir “Enfermedad de saltamontes”. Se han reportado 58 especies de saltamontes, el grillo mormon y una langosta pigmea (*Nosema locustae*), como susceptible a *N. locustae*. Como muchos agentes de control microbial, *Nosema* debe ser comido por el saltamontes para ser infectivo (Henry *et. al.*, 1989).

***Nosema locustae* Canning (Microsporidia)**

Nosema locustae (Canning) es un parásito de langostas que ha sido investigado por su gran potencial como agente de control microbial en un sistema de manejo integrado de plagas. Este protozooario se puede usar con insecticidas químicos en situaciones que requieren reducciones de saltamontes inmediatos. Los insecticidas matan algunas langostas en dos días, mientras *Nosema* se multiplica y persiste su control (Germida *et. al.*, 1987, Henry *et. al.*, 1989).

Algunos microsporidios

Las microsporidias comúnmente se encuentran atacando insectos bajo condiciones naturales. Unos de los géneros encontrados es *Nosema* cuyas especies *N. heliothidis*, *N. locustae* y *N. trichoplusiae*, que afectan respectivamente *H. virescens* y *T. ni*, han recibido considerable atención en los años. La infección de *N. heliothidis* en los adultos interfiere con el proceso reproductivo del insecto (,).

Modo de acción y uso de los protozoarios

La ruta primaria de infección de los protozoarios es el tracto alimenticio; para alcanzar esta ruta la mayoría de los protozoarios deben ser ingeridos. Una vez en el intestino penetran hacia la cavidad hemocélica en donde se multiplican y causan

enfermedad en los insectos. Su acción es muy lenta tomando en muchos casos varios meses para desarrollar la enfermedad y posterior muerte del insecto. Rara vez alteran rápidamente las funciones vitales del huésped (Bustillo, 1989).

VIRUS ENTOMOPATOGENOS

Los insecticidas microbianos en general, y los baculovirus en particular, poseen un gran potencial para utilizarse como agentes de control de plagas insectiles. Los baculovirus son virus entomopatógenos altamente específicos hacia los insectos, aunque algunos atacan a crustáceos y arácnidos. Existen más de 600 especies de baculovirus, Vlack (1993), las cuales han aislado en su mayoría de Lepidópteros, Dípteros e Himenópteros y en muchos casos pueden causar epizootias naturales. (Del Rincon e Ibarra, 1995).

Los humanos han estado informados de las enfermedades causadas por baculovirus desde hace 2000 años. De los hechos más recientes e históricos son los originados por la descripción de la enfermedad del gusano de seda “*Bombix mori*“, que ahora sabemos es causada por el virus de la poliedrosis nuclear (Federic, 1997).

Muchas infecciones virales de invertebrados son aparentes; son enmascaradas o latentes. Al igual que todos los virus, los virus de son parásitos intra celulares obligados. No pueden reproducirse fuera de la célula. Aunque sencillos estructuralmente, los virus han desarrollado formas complejas de manipulación del huésped para lograr su replicación, explotar los recursos hospederos al máximo, y provocar los cambios en el comportamiento del mismo para aumentar la posibilidad de transmisión (Morris, 1992; Williams, 1995).

La nomenclatura de los virus de los insectos se encuentran aún en investigación. Sin embargo, existe un agrupamiento natural de los virus de insectos que se basa en:

- a).- La presencia o ausencia d una cubierta protectora alrededor de las particulas virales que se conoce como cuerpo de inclusión.
- b).- La morfología de este cuerpo de inclusión y,
- c).- La zona de la célula huesped donde se desarrolla el virus.

Figura 26.- Poliedros del virus de la **Poliedrosis Nuclear**. (Tomada de Del Rincón e Ibarra, 1995).

Los virus que causan enfermedades en insectos juegan un papel muy importante en la regulación de sus poblaciones tanto en condiciones naturales como cuando se les

usa en programas de control. Los virus, a diferencia de las bacterias son generalmente más específicos e infecciosos y no se pueden propagar in vitro ni medios artificiales . Estos se han aislado de insectos, principalmente de los órdenes Lépidoptera e Hymenoptera y en menor número de Diptéra, Coleoptera, Hortoptera, Hemiptera, Neuroptera y Trichoptera. Los virus se clasifican de acuerdo al criterio establecido para otros virus de animales. Donde incluyen , tipos de ácidos nucleico dentro del viri3n o partícula infecciosa del virus, monología del viri3n, tamaño y grado de resistencia a

ciertos químicos. Inicialmente la clasificación se basó en características no muy estables, como el huésped del que fue aislado, lugar de infección y signos en el huésped. La clasificación más aceptada es la propuesta por Wildy (1971), la cual divide los virus en dos grandes grupos de acuerdo a la composición del ácido nucleico (ADN o ARN) (Bustillos, 1989).

Para fines prácticos, los entomovirus se dividen en cinco grupos;

1. Baculovirus
2. Virus citoplásmicos
3. Entomopoxvirus
4. Virus desnucleados
5. Virus iridiscentes

La clasificación de los baculovirus ha sido un proceso un tanto complejo y sujeto a muchas revisiones. Los cuales se han clasificado de acuerdo a la especie de su insecto hospedero, de tal manera que la nomenclatura binominal tradicional no es utilizada para designar estos agentes. De tal manera que para designar una categoría se toman características estructurales comunes al resto de los virus, como presencia o ausencia del cuerpo de oclusión (CO), morfología, simetría de la partícula viral, así como tipo de material genético (RNA ó DNA) (Pionar y Thomas, 1984).

Un gran número de virus se han reportado que ocurren naturalmente como patógenos de insectos. Tales virus, junto con otros agentes de control biológico. Actualmente existen en el mercado productos con base de virus como, Elcar, Orzan, Gemstar y Spod-x (Martínez, 1996).

El primer insecticida viral producido comercialmente se le denominó Elcar y se obtuvo a partir de una cepa de VPN aislada de *Heliothis virescens*. Esta bioinsecticida se utilizó con mucho éxito en la época de los 70 para el control de plagas del complejo

Heliothis. Sin embargo, con la utilización de piretroides en la misma década contra la misma plaga, hubo una disminución de este bioinsecticida, hasta que se dejó de producir. En la actualidad existen más de 20 productos de baculovirus (Cuadro12), de los cuales algunos ya han sido comercializados y otros han sido registrados por los países que lo producen (McClintic, 1995; Lara, 1995).

Cuadro 12 .- Bioinsecticidas a base de baculovirus.

VIRUS	PRODUCTO	COMPAÑÍA	ORIGEN
-------	----------	----------	--------

VPN	Elcar	Sandoz	E. U.
	Gypchek	Serv. Forestal	E. U.
	Virin-ENSh	Gobierno	Ex - URSS
	Virin-Diprion	Gobierno	Ex - URSS
	Virin-KSH	Gobierno	Ex - URSS
	Virin-LS	Gobierno	Ex - URSS
	Mamestrin	Calliope	Francia
	Monisarmio-virus	Kemira Oy	Finlandia
	Tm-Biocontrol - 1	Serv. Forestal	E.U.
	Virox	Oxford virol.	Inglaterra
	Preserve	Microgenesys	E.U.
	Spodopterin	Calliope	Francia
	Neocheck S	Serv. Forestal	E.U.
	Virtuss	Serv. Forestal	Canadá
	Lecontvirus	Serv. Forestal	Canadá
	Multigen	Agrogen	Brasil
	VPN80	Agric. El Sol	Guatemala
	VPN82	Agric. El Sol	Guatemala
	SAN 404	Sandoz	E.U.
	VG	Decyde	Microgenesys
Hifantrin		Gobierno	Bulgaria
Virin-ABB		Gobierno	Ex - URSS
Virin-GYAP		Gobierno	Ex - URSS
Carpovirusine		Solvay	Francia
Biotrol- VHZ		Nutrile products.	E. U.
Virion-Diprion		Gobierno	ExURRS
NPV		Kemira Oy Co.	Finlandia
CPV			Japon

(Citado de Khachatourians, 1986; Rodríguez *et. al.*, 1991, y Lara, 1995).

Las asociaciones entre insectos y virus se han reportado para unas 1250 especies relacionadas en 10 ordenes de insectos y unas cuantas en otros artrópodos, entre los cuales están los acaros, las arañas, los cangrejos y algunos camarones. Por las características que tienen los virus que parasitan artrópodos, se han clasificado en varias

familias. Es sin embargo la familia Baculoviridae es la que más representantes tiene agrupados en tres géneros, (Virus de la poliedrosis nuclear, Granulovirus y virus no incluidos (Tinsley y Kelly, 1985).

Biología

Los baculovirus son virus de DNA de doble cadena. La nucleocápside o partícula viral tiene forma de bastón o de varilla y se rodean por una envoltura de lipoproteína denominada cuerpo de oclusión (CO), los CO's están formados por una proteína conocida como polihedrina. Dentro de los baculovirus se encuentran los virus de la, *Nucleopoliedrosis* (NPV), y los virus de la *Granulosis* (GV) (Del Rincón e Ibarra, 1998).

Figura 27.- Componentes estructurales de los baculovirus. (Tomada de Lara, 1995).

- Los virus de la poliedrosis nuclear, se caracterizan por tener una o más nucleocápsides de forma cilíndrica encerrados en una membrana y esta a su vez está protegida por una masa de proteínas denominadas poliedrinas, las cuales al ser ingeridas por el insecto se disuelven en el intestino del insecto y liberan las nucleocápsidas y estas a su vez a los viriones.
- Los granulovirus, sin matriz proteica pero si con cubierta que penetra hasta las células intestinales del insecto donde se fusionan con las microvelocidades y penetra las células hasta que el material genético se libera en el núcleo de la célula.
- Virus no incluidos, los que no tienen matriz proteica ni cubierta como los granulovirus (Allen e Ignoffo, 1969).

Importancia

El baculovirus de la poliedrosis nuclear (NPV) del gusano medidor del apio, fueron aislados por el USDA, y se reporto como virulento para más insectos que los demás vaculovirus naturales y manipulados genéticamente conocidos hasta entonces. En los ultimos años existen grandes avances en la producción comercial de insecticidas a base de virus gracias a técnicas como el cultivo de tejidos del hospedero y a formulaciones adecuadas que han permitido reducir costos y eficientar su efecto biológico (Velasco, 1997).

El principal componente de los CI (Cuerpos de Inclusión), es una proteína que va de 27,600 a 37,800 daltones (dependiendo de la especie viral). Esta proteína es codificada por el virus), ha recibido el nombre de “poliedrina” para el caso de VPN y “granulina” para los VG (Tanada y Kaya, 1993).

Modo de acción de los virus

En forma general los baculovirus son altamente patogénicos e inducen infecciones letales de sus hospederos, Aún cuando las pupas y los estados adultos de algunas especies puedan ser infectados, se considera que estado más susceptible es la larva (Lara, 1995).

Los virus, al igual que las bacterias y la mayoría de otros patógenos deben ser ingeridos para que causen enfermedad y muerte a un huésped susceptible. De acuerdo al grupo, afectan sitios específicos dentro del insecto, destruyendo las células, lo que resulta en enfermedad. Es así, como algunos se multiplican en el mesodermo, ectodermo y endodermo, mientras otros afectan el tejido adiposo y la epidermis. El proceso de infección depende de varios factores internos y externos como: a) Susceptibilidad del insecto, b) Edad y tamaño (como disponibilidad del alimento), c) Competencia por espacio; virulencia del virus y d) Temperatura (Del Rincón, 1997).

Muy poco se sabe sobre infecciones virales latentes. Se cree que los virus pueden sobrevivir en una población de insectos por varias generaciones sin causar síntomas visibles (virus ocultos). Pero cuando los insectos son sometidos a condiciones desfavorables, las infecciones virales surgen causando en muchos casos epizootias de grandes proporciones en las poblaciones de insectos. Las infecciones se caracterizan por la pérdida del apetito, cuerpo flácido, movimiento hacia la parte superior de la planta, posiciones colgantes y el fluido que escapa del integumento (Figura 25), (Bustillos, 1989, Lara, 1995).

Figura 28.- Ciclo de infección de los nucleopoliedrovirus. (Tomada de Bonning y Hammock, 1996).

Figura 29.- Larva muerta por virus. (Tomada de McClintic, 1995).

Los virus ingresan al insecto por diversas vías, entre ellas:

- Oral, espiráculos, transovum, transmisión transovariana y transmisión por parasitoides.

Formulaciones de virus.

Es posible que en 5-6 años el mercado de los bioinsecticidas este inundado por virus. Dado que ciertas compañías químico-farmacéuticas que incluyen a American Cyanamide y Dupont han patentado tecnología y están trabajando para producir en masa los virus entomopatógenos naturales y recombinantes. Los baculovirus son virus que han tenido una gran aceptación en programas de manejo de plagas y la Organización

Mundial de la Salud los autoriza al igual que la FAO. En México no existen productos formulados a base de virus que hayan sido aprobados para su uso en el control de plagas agrícolas, pero en USA, se cuenta ya con registros de insecticidas virales autorizados por la EPA (Hernández, 1996; Shieh, 1989).

VIRUS IRIDISCENTES

Los virus iridiscentes (*Iridovirus* y *Chloriridovirus*), infectan a artrópodos en forma natural, especialmente insectos en hábitats húmedos o acuáticos. Actualmente se investiga su papel como entomopatógenos de mosquitos y simúlidos, vectores de gran importancia médica en México y en el mundo. La persistencia de los virus iridiscentes fuera de las células del hospedero ha sido poco estudiado aunque se ha especulado que la membrana interna de lípidos juega un papel muy importante en la estabilidad física del virus. Se menciona que los virus iridiscentes son bastante estables en ambientes acuáticos debido a la presencia de una cubierta interna de lípidos. Existe gran perspectiva de uso de estos patógenos en el control biológico de mosquitos y/o simúlidos, aunque su perspectiva en la naturaleza sea menor por la luz ultravioleta y la acción degradativa de bacterias (Hernández *et. al.*, 1997; Williams *et. al.*, 1998; Marina *et. al.*, 1998).

LITERATURA CITADA

- ____. 1985. Biological control of vectors. UNDP / World bank / WHO. A. Barthelemy Avignon, France. pp. 10/2 – 10/10.
- AgraQuest, 1999. Donde AgraQuest encuentra sus microbios.
<http://www.agraquest.com/wereltom.html>
- Agrios, N. G. 1996. Fitopatología. 2ª. Edición. Editorial LIMUSA, S. A. de C.V. Grupo Noriega Editores UTEHA. México. pp. 838.
- Agobionsa, ____ . Boletín técnico. Alternativas de control biológico para el agricultor amigo del medio ambiente. Agrobiológicos del Noroeste, S. A. de C. V., Culiacan , Sin.
- Anónimo, 1990. Serie Protección vegetal. Persistencia de *Bacillus thuringensis* sobre brocolí (*Brassica oleracea* var. *Italica*). Agrosintesis 1 (2); 21 – 22.
- Anónimo, 1992. Patología insectil. Agrosintesis. A Abril. pp. 46-53.
- Anónimo, 1992. Patología insectil (II) Sanidad Vegetal. M. Mayo. pp. 49-58.
- Anónimo, 1993. Bioplaguicidas, plantas transgénicas y alimentos fermentados.(7); 48-53.
- Alatorre, R. R. 1991. Control microbiano de plagas insectiles. Memoria II Congreso Nacional de Control Biológico. UAAAN. Saltillo, Coah. pp. 55-59.
- Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims. 1979. Introductory Micology. 3ª Ed. John Wiley and Sons. Nueva York.
- Alisedo, M. A. 1996. Programa de Control Biológico. Productores de Hortalizas. México. Mayo. 20-21
- Allen, G. E. and C. M. Ignoffo. 1969. The nucleopolyedrosis virus of *Heliothis*: Quantitative in vivo. Estimates of virulence. Journal of invertebrate Pathology (13); 378-381.

- Andrew, K. L y J. R. Quezada. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura (Estado Actual y Futuro). Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras, pp 623.
- Andrews, R. E., R. N. Faust, H. Wabiko, K. C. Raymond. 1987. The biotechnology of *Bacillus thuringiensis*. *Crin Biotechnology* (2); 163-224
- Arbico, _____. Beneficial Nematodes. Tucson, Arizona, U.S.A. pp. 8-9.
- Arbico, _____. Choose *Bt*. The Most effective agent for controlling pest naturally Tucson, Arizona. pp; 6-9.
- Arredondo, J. J. I., T. Lopez, M. H. Rodríguez and N. Bown. 1990. Small Scale Field Trials Of *Bacillus sphaericus* (Strain 2362) Against Anopheline culicine mosquito larvae in Southern México. *J.Amer. Mosq. Control Assoc.* 6. (2); 300 – 305.
- Avilés, M. L y J. G. Pérez. 1997. *Spinosad* un nuevo agente de control de insectos de la clase *Naturalyte* para el control de gusano soldado *Spodoptera exigua* (H) en el cultivo de chile. Memoria. XX Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad de Guadalajara. pp. 13 y14.
- Barnett, H. and B. B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi Burgess Publishing Co. Minnesota, USA. pp. 90-97.
- Basisav-1, 1997. Boletín técnico. Insecticida biológica granulada. INISAV. La Habana, Cuba.
- Beall, G. A., C. M. Bruhn, A. L. Craigmill, C. K. Winter. 1991. Pesticides and your food: How safe if “sefe”? . *California Agriculture*. 45. (4); 4 – 11.
- Bea-Sin, _____. Boletín técnico. *Beauveria bassiana*. Agrobiológicos del Noroeste, S.A de C.V. Culiacan Sinaloa. México.
- Bedding, R. 1981. Low cost in vitro wass production of *Neoplectana* and *Heterorhaloditis* species (Nematoda) for field control of insect pests *Nematologica* 27; 109 – 114.
- Beegle, C., R. I. Rose y Y. Zimin. 1991. Mass production of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* for microbial control of insect pests. In: K. Moramorosch (Ed.) *Biotechnology for Biological control pests and Vectors*. CRC. Press. Inc. USA. pp. 195-216.

- Berlanga, P. A. M^a. 1997. Aislamiento, identificación y conservación de hongos entomopatógenos. Memoria del II Curso Taller de Producción de Agentes de Control Biológico. Tecoman, Col. Abril. pp. 18-30.
- Berlanga, P. A. M^a., V. V. M. Hernández, y G. E. Garza. 1997. *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor. Para el control microbiano de mosca pinta. Memorias. XX. Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad de Guadalajara. pp. 50-52 .
- Bios-Cobi, Inc. 1996. Boletín técnico. Sistema de Control biológico integrado. Centro de producción. Xalapa, Veracruz. México.
- Biosol, 1998. Boletín técnico. Producción de Hongos Entomopatógenos. Biosol de México, S.A DE C.V. Culiacán, Sinaloa. México.
- Biotechno, 1998. Boletín técnico. Experiencias en manejo integrado de plagas. Biosystems, Inc Vuetura Ca. Chihuahua, Chih. México.
- Bio-Zentla, 1998. Boletín técnico. Bb (*Beauveria bassiana*). Laboratorio de Reproducción de Hongos entomopatógenos de Zentla. Huatusco, Veracruz. México.
- Bland, C. E., J. N. Couch and Neweell S. Y. ____ . Identification of *Paecilomyces saprolegniales* and *lagenidiales*. 129-158.
- Bonning, B. C. Y B. D. Hammock. 1996. Development of recombinant baculoviruses for insect control. Ann. Rev. Entomol. 41;191-210.
- Brock, D.T. 1978. Biología de los microorganismos, Segunda Edición, Ediciones Omega, Barcelona España. pp. 774.
- Bryan, A. H. 1974. Bacteriología, 2da imp, Ed. Continental. México. pp 595.
- Burges, H. D. 1981. Microbial control of pests and plant diseases. 1^a Ed. Academic Press. Inc London pp. 193 .
- Burges, H. D. and N. W. Hussey. 1971. Microbial Control of Insects and Mites. Published by Academic Press, Inc. New York.
- Bustillo, A. E. 1989. Utilización de Agentes Microbiológicos. (Manejo integrado de plagas insectiles en la Agricultura (Estado actual y futuro) Escuela de Agricultura Panamericana. El Zamorano , Honduras pp. 211 – 228.

- Caltagirone, C. E. 1981. Landa mark example in classical biological control Ann. Rev. Entomology 26; 213 –232
- Campos, W. B., I. J. F. Gonzalez, J. Z. J. Hernández, R. M^a. L. Mánica. 1998. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Moniliales: Moniliaceae), para el control de la broca del café *Hypotenemus hampei* (Ferr) (Coleoptera: Scolytidae). Memorias. XXI Congreso Nacional de Control Biológico SMCB. pp. 247-248.
- Carrillo, R. H y Cortazar, 1998. *Hirsutella spp.* patógeno del vector del amarillamiento letal del cocotero (*Cocos nucifera L.*) en la península de Yucatán. Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. Chetumal Q. Roo. pp. 249-251.
- Casamayor, A. 1998. Control Microbiológico de las Plagas. Instituto Albert Einstein. Venezuela. [Http://www.lacapitalnet.com.or/agustinc/feria.htm](http://www.lacapitalnet.com.or/agustinc/feria.htm).
- Castillo, P. G. 1997. Validación de la efectividad de cepas semi-comerciales de *Beauveria bassiana* para el control de *Hypothenemus hampei*. Memoria. XX Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad de Guadalajara. pp. 39-44.
- Castillo, V. A. 1995. Nematodos parásitos de insectos. Memorias. VI Curso de control Biológico. Tapachula, Chis. pp 81-88.
- CB – 02, 1999. Ficha técnica. Potencial de *Metarhizium flavoviridae* Gams & Rosypal para el control de acrididos en México. CNRCB. SAGAR, México.
- CB - 03, 1999. Ficha técnica. Uso de *Beauveria bassiana* como insecticida microbial. Dirección General de Sanidad Vegetal CNRCB y CNRF, SAGAR, México.
- CB – 06, 1999. Ficha técnica. *Paecilomyces spp.* Enemigo natural de mosquitas blancas. CNRCB. SAGAR, México.
- CB – 08, 1999. Ficha técnica. Control microbial de mosca pinta *Aenolamia spp.*, con *Metarhizium anisopliae*. CNRCB. SAGAR, México.
- CB - 09, 1999. Ficha técnica. *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, en el control microbiano de Lepidópteros plaga. CNRCB. SAGAR, México.

- Cepeda, S. M. 1997. El control biológico como una alternativa en el manejo de poblaciones de nematodos. Memoria. XX. Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad de Guadalajara. pp. 195-197.
- Cisneros, F. B. A. 1980. Evaluación de un insecticida biológico a base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner). En maíz dulce para control del gusano elotero (*Heliothis zea* Boddie) Apodaca, Nuevo León. Tesis. ITESM, Monterrey. N. L. México.
- Connick, W. J., W. R. Nickle y B. T. Vinyerd. 1993. Pests New granular formulatins for *Steinernema carpocapsae*. J. Nematel. 25: 198 – 203
- Contreras, H. C. y F. L. Fragoso. 1997. Efectividad de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en plagas del cultivo del maíz. Memoria. XX. Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad de Guadalajara. pp. 210-211.
- Cornell, P. 1998. Bacillus. Profiles insects.
<http://www.pnep.cce.cornell.edu/profiles/insect-mit...insect-mite/abamectin-bufencarb/bacillus-popilliae/index.html>
- CREROB. _____.Boletín Técnico Centro Regional de Estudios y Reproducción de Organismos Benéficos Universidad de Guadalajara. México.
- Davidson, E. W. 1979. Ultrastructure of midgut events in the pathogenesis of *Bacillus sphaericus* strain SSII-I infections of *Culex pipiens quinquefasciatus* larvae. Can. J. Microbiol., 25: 178-184.
- Davidson, E. W. 1985. *Bacillus sphaericus* as a microbial control agent for mosquito larvae. Department of Zoology. Arizona State University. Tempe, Arizona 85287. USA.
- De Bach, P. 1985. Control Biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. 12a Impresión. CIA Editorial Continental, México. pp. 616 – 734.
- De Bach, P. 1977. Lucha biológica contra los enemigos de las plantas. Ediciones mundi – prensa Ed. Continental. México. pp. 94-98.
- De Bach, 1987. Control microbiológico de las plagas de insectos y malas hierbas, 13a reimprección, Editorial Continental, México. pp. 608-614, 616-619.

- De Barjac, H. S. J. 1990. Bacterial Control of Mosquitoes y Blackflies Ed. Rutgers University Press New Brunswick.
- De la Rosa, R. M. 1995. Hongos entomopatógenos. Memorias. VI Curso de Control Biológico. Tapachula. Chis. 100-109.
- De la Rosa, R. W. y M. M^a. López. 1998. Producción de unidades infectivas de *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) en medios líquidos y determinación de parámetros de control de calidad de productos biológicos. Memoria. XXI. Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. Tapachula Chis. pp. 244-246.
- Deaton, R. 1996. Boletín técnico. Bollgard ® Gen de Mansato. Mansato comercial S. A. de C. V. México.
- Del Rincón, C. M^a. C. y J. E. Ibarra. 1995. Caracterización de cepas silvestres de virus de poliedros nuclear aisladas de *Trichoplusia ni* (Lepidóptera:Noctuidae) en el centro de México. *Vedalia* 2: 7-15.
- Del Rincón, C. M^a. C y J. E. Ibarra. 1998. Baculovirus recombinantes con virulencia incrementada hacia el falso medidor de la col. Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. CNRCB. CINVESTAV– IPN. Gto. pp. 214-215.
- Del Rincón, C. M^a. C. 1997. Producción, calidad y uso de virus entomopatógenos. Memoria. II Curso – Taller de Producción Masiva de Agentes de Control Microbiano. pp. 68-72.
- Dow AgroScience. 1998. Información técnica (*Spinosad*) . Insect Management Products (1-4). http://www.donagro.com/tvrf/insect_management/v...inosad_tech.htm.
- DowElanco, ____ . Boletín técnico. New Insecticide offered. http://www.ipmnt.org/IPMnet_NEWS/news47.html
- Dulmage, H. T. and R. A. Rhodes. 1971. Production of Pathogens in Artificial Media. Chapter 24; 507-540.
- Dulmage, H.T., 1978. Interactions between the tabbaco Budworm, *Heliothis virescens*, and the δ - endotoxin produced by the HD-1 isolate of *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki: relationship between length of exposure to the toxin and survival. *J. Inverteb Patholo.*32: 40-50.

- Dulmage, H. T. 1989. Production and use de *Bacillus thuringiensis* – perspective from 1989. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, vol. 84, Supl. III. pp 113 – 122.
- Dulmage, H. T. and Aizawa, K. _____. Distribution of *Bacillus thuringiensis* in nature. U.S Department of Agriculture Brownsville, texas. Chapter (4) 209-234.
- Dulmage, H. T. and cooperators. 1981. Insecticidal activity of isolates of *Bacillus thuringiensis* on their potential for Pest control. Primera Edición. Academic Press Inc. London, pp. 193 – 222.
- ECONOVA, 1998. Boletín técnico. ECOMAN. Plaguicida biológico. Servicios integrales para la agricultura orgánica. Xalapa, Ver, México.
- Espiricueta, M. P. 1997. Efecto de aplicaciones conidiales de *Beauveria bassiana* (Bal.) Vuill. Sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) y *Helicoverpa zea* (Boddie), y su relación con el rendimiento de Maíz en Buenavista Saltillo, Coah. Tesis, Maestría. UAAAN. México.
- Fausto, R. M. _____. Bacteria and their toxins as insecticides. U.S. Department of Agriculture Beltsville, Maryland. (3) pp 75-192.
- Fayerman, J. T. 1986. New developments in gene cloning in antibiotic producing microorganisms. Bio/Tecnology. 4. 785-788.
- Federic, B. A. 1997. Baculovirus Pathogenesis. Thee Baculoviruses. Edited by Lois K. Miller. Plenum Press. New York. pp 33-57.
- Feitelson, J. S., J. Payne y L. Kim. 1992. *Bacillus thuringiensis*: Insects and Beyond. Biotechnology. 10. Pp. 271-275.
- Ferron, P. 1981. Pest control by the fungus *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, In microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. Burges, H.D. (Ed) Academic Press. pp. 3-13.
- Friedman, M. J. 1990. Commercial production and development. pp. 153-172. En: R. Gaugler and H.K. Kaya, eds. Entomopathogenic nematodes in biological control Boca Raton FL. CRC. Press.
- Gallegos-Morales. G. 1996. Desarrollo y evaluación toxicológica de un bioinsecticida a base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner), utilizando larvas de primeros

- estadios de *Trichoplusia ni* (Lepidóptera: Noctuidae). Tesis de Doctorado en Ciencias del ITESM. Campus Monterrey, Mty., N. L. México. pp. 58.
- Gallegos, M. G. y A. E. Aranda. 1996. Los bioplaguicidas agrícolas: Oportunidad “Verde” para el mercado del combate de insectos plaga en la agricultura. Transferencia. pp. 26-27.
- García, G. C, V. V. Hernández, V. Segovia y R. H. Medrano. 1997. Producción de conidia-espora de *Beauveria bassiana* en medio líquido y su evaluación en larvas de *Epilachna varivestis*. Memoria XX Congreso Nacional de Control Biológico. Durango; (37-38)
- García, S. J. A., B. A. O. Gutiérrez. 1998. Impacto de *Paecilomyces fumosoroseus* contra la mosca blanca *Bemisia tabaci* en Quintana Roo. Memoria . XXI Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. Chetumal. Q. Roo. pp. 193-195.
- Garza, G. E. 1992. Control microbiológico de mosquita blanca. Métodos de control de mosquita blanca en hortalizas. Dirección General de Sanidad Vegetal. CNRCB. SARH. Universidad Autónoma de California, Mexicali, B. J. pp. 99-110.
- Garza, G. E. 1996. Control microbiano de plagas agrícolas en México. Memoria. II Curso-Taller de producción masiva de agentes de control microbiano. SMCB. Tecoman, Colima. pp.1-5.
- Gebhardt, P. Louis. 1970. Microbiología, 4ª Ed. Nueva Ed. Interamericana. México p. 3.
- Georgis, R. 1990. Formulation and application technology.. En R, Gaugler and H.K.Kaya. Eds. Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton, FL: CRC. Press. pp. 173-191
- Georgis, y R. Hague. 1991. Vertical migration of Heterorhathodifidae in sandy loam soil. J. Nematol, 15: 682-654
- Germida, J. J., E. E. Onofiechuk and B. Ewen.. 1987. Effect of *Nosema locustae* Canning (Microsporidia) and thre chemical insecticides on Microbial activity in soil. Can. J. Soil Sci. 67: 631-637.
- Gleason, M. L. 1998. News and Reviews. Departament of plant pathology. Midlwest Biological Control News. II. (3);1-3.

[Http://www.misc.edu/entomology/mbcn/bcindex.html](http://www.misc.edu/entomology/mbcn/bcindex.html).

- Glare, T. R., T. A. Jackson and G. Z. Zimmermann. 1993. Occurrence of *Bacillus popilliae* and two nematode pathogens in populations of *Amphimallon solstitialis* (Col.: Scarabaeidae) near Darmstadt, Germany. *Entomophaga* 38. (4), 441-450.
- Goettel, M. S. 1984. A simple method for mass culturing entomopathogenic; hypomyces fungi In: *Rev. Of Ann. Entomol. USA. Series A.* 73 (8): 668.
- González, G. E., M. L. Reyes, E. F. J. Robles. 1998. Control Microbiano de Plagas Agrícolas con Hongos. INIFAP. CREROB. Fundación PRODUCE. Aguascalientes, Ags., México.
- González, R. H., O. J. Molina, G. R. Lezama. 1997. Biología de nematodos entomopatógenos y limitación de aplicación. Memoria. II Curso-Taller de producción masiva de Agentes de control microbiano. SMCB. Tecoman, Colima. pp. 60-64.
- Goto, M. 1992. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. Primera Edición. Editorial Academic Press, Inc. USA. p. 342.
- Green, S. 1978. *Biologia*. 1ra Edición, Ediciones Offsert Universal. México. pp 751.
- Guevara, M. M^a. M. 1977. Bioensayos Preliminares de la “Muscardina Verde” *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor. Para determinar su eficiencia contra el Complejo Mosca Pinta. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autonoma de Nuevo León. pp. 3-10.
- Gutiérrez, L. R., O. J. Molina, R. M. González. 1996. Conceptos Básicos de Control Microbiano de insectos. Memoria. II Curso de Actualización en control Biológico. Tecoman, Col. pp. 88- 93.
- Gutiérrez, B. A. O., S. J. A. García. 1998. Efecto de *Paecilomyces fumosoroseus* contra mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en chile jalapeño. Memoria . XXI Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. Chetumal, Q. Roo. pp. 193-195.
- Hajek, A. E. and J. S. Leger. 1994. Interactins between fungal pathogens and insect hosts. *Ann. Rev. Entomology*. 34: 17-52.
- Hazard, E. L., E. E. Ann And D. J. Joslyn. __ . Identification of Microsporidia. Chapter 9. *Jornal of Nematology*. pp. (171 – 233).

- Henry, J. E., J. A. Onsager, W. P. Kemp and D. A. Strett and J. S. Berry. 1989. Tiny parasite taking on grasshopper Horoles. Agriculture Research. July. pp.12– 14.
- Hernández, S. O., G. Maldonado, C. F. Marina, J. M. Feliciano, J. T. Cisneros, T. Whilliam. 1997. Estudios sobre los virus iridiscentes patógenos de insectos vectores de importancia medica. Memoria. XX Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad de Guadalajara. pp. 181-183.
- Hernandez, V. M. y P. A. M. Berlanga. 1997. Susceptibilidad de ninfas de *Schistocerca piceifrons* Walker a hongos entomopatógenos. Memoria. XX Congreso Nacional de Control Biológico. pp. 88-90.
- Hernández, V. V. M. y A. M. Carrillo. 1997. Producción Masiva en Sustrato Sólido y Formulación de Hongos entomopatógenos. Memoria. II Curso Taller de Producción Masiva de Agentes de Control Biológico. Tecoman. pp. 31 – 40.
- Hernández, V. V. M., P. A. M^a. Berlanga. 1996. Control Microbiano con Hongos Entomopatógenos. Memoria. II Curso de Actualización en Control Biológico. Tecoman, Colima. Mayo. pp. 94-106.
- Hoyle, R. 1992. Small step for biopesticides. Biotech. 10.
- Hunt, D. W., J. H. Borden, and J. E. Rahe. 1984. Nutrient– Mediated Germination of *Beauveria bossiana* Conidia on the integument of the beetle *Dendroctonus ponderosae* (Coleopteras; Scolytidae). Inver. Pathol. 44; 304 – 314.
- Ibarra, J. E. 1995. Bacterias entomopatógenos. Memoria VI Curso de Control Biológico. CINEVESTAC-IPN, Irapuato. pp. 90-97.
- Ignoffo, C. M. 1981. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide En: Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Burgues. H. D (ed.) Academic Press, NY. pp. 541-580.
- Javelin- WG, ____ . Boletín técnico. Insecticida Biológico. *Bacillus thuringiensis*. Sandoz de México.
- Jatala, P. 1986. Biological control of the plant-parasitic nematodes Ann. Rev. Phytopathol. 24; 453-89.
- Jones, W. J., A. A. Weathersbee, E. P. Fird and M. V. Meisch. 1990. Evaluación of *Bacillus sphaericus* 2362. Against *Culex quinquefasciatus* in septic ditches. J. Amer. Mosquito Control Asoc. 6; 496 – 499.

- Karch, S. and J. F. Charles. 1987. Toxicity, Viability and Ultrastructure of *Bacillus sphaericus* 2362 spore/crystal complex used in the field. *Ann Inst. Pasteur/ Microbiol.* pp. 485 – 492.
- Karch, S., N. Monteny, L. J. Jullien, G. Singer and J. Coz. 1990. Control of *Culex pipiens* by *Bacillus sphaericus* and role of nontarget arthropods in its recycling. *J. Amer. Mosquito Control Assoc.* 6 (1); 47 – 57.
- Kaya, H. and R. Geaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomol* 38;181-206.
- Kellen, R, Clark, B. T. Lindegren, and Rogoff, H. M. Singer. 1965. *Bacillus sphaericus* Neide as a pathogen of mosquitoes. *J. Inverteb. pathol.* 7; 442-448.
- Khachatourians, G. G. 1986. Production and use of biological pest control agents. *Tibtech. Mayo.* pp. 120-123.
- King, D. S. y R. A. Humber. _____. Identification of the Entomophthorales. Boyce Thompson. Institute for plant research tower road, Ithaca, New York, USA.
- Larson, L. L., Sparks y G. D. Thompson. 1999. Boletín técnico. *Spinosyns*, nuevos agentes de control de insectos, aislados de *Saccharopolyspora spinosad*. *Simposium.* No. 223.
<http://www.ent.iastate.edu/entsoc/ncb99/prog/abs/223.html>.
- Lara, R. J. 1995. Similaridades potológicas entre un virus de poliedrosis nuclear simple y un virus simple de granulosis de *Trichoplusia ni* (Lepidóptera: Noctuidae). Tesis de Postgrado del Centro de investigación y de estudios avanzados del Instituto Politecnico Nacional, Unidad Irapuato. Irapuato, Gto. México. 118.
- Lawrence, A. L. 1983. Larvicidal activity of *Bacillus* pathogens against *Toxorhynchite* mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 20, (6); 620 – 624.
- Lechevalier, M. P., H. Lechevalier. 1957. A new genus of the Actinomycetes *Waksmania* gen. Nov. *J. gen. Microbiol.* 6;104-111
- Lefebvre, C. L. 1931. Prelmyary observations on two species of *Beauveria bassiana* attacking the corn borer *Pyrauster nubilalia* Humber, *Phytopathol.* 21; 1115-1128.

- Lezama, G. R. y O. J. Molina. 1997. Epizootiología de agentes Microbiales. Memoria. II Curso-Taller de producción masiva de Agentes de control microbiano. SMCB. Tecoman, Colima. pp. 10-16.
- Lezama, G. R., O. J. Molina y D. O. Rebolledo. 1997. Evaluación de hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga de importancia agrícola. Memoria XX Congreso Nacional de Control Biológico. pp. 220-226.
- Lezama, G. R., O. J. Molina, R. M. González. 1996. Conceptos básicos de Control Microbiano de insectos. Memoria. II Curso de Actualización en Control Biológico. Tecoman, Colima. Marzo. pp. 88-93.
- Li, D. P. and D. G. Holdom. 1995. Effects of nutrients on colony formation , growth, and sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). J. inverteb. Pathol. 65; 253-260.
- Lira, V. L. 1983. Producción y toxicidad de la endotoxina de *Bacillus thuriensis* GM – 1 y GM-2 a partir de medios de cultivo con melazas o subproductos cítricos. Tesis Licenciatura Químico Bacteriólogo parasitólogo. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N. L., México.
- López, M. J. E. 1999. Bacterias entomopatógenas. Memoria. X Curso Nacional de Control Biológico. pp. 111-126.
- Lord, J. C. 1991. Sustained release pellets for control of *Culex* larvae with *Bacillus sphaericus*. J. Amer. Mosq. control Assoc. 7 (4); 560-564.
- Lubilosa, 1998. Boletín técnico. The Newsletter of phase 3 of the LUBILOSA programe. The biological control of locuste & grasshoppers. No. 6. pp. 1-4.
- Luck, R. F. 1981. Parasitic insects introduced as biological control agents for arthropod pest, In Pimentel D. (Ed) Hand Book of pest managemet in agriculture 11. Boca Ratón, Florida CRC. Press.
- Marina, C. F., J. J. I. Arredondo, A. Castillo y T. Williams. 1998. Replicación y efectos subletales en virus iridiscentes en mosquitos. Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. Tapachula, Chis. pp. 219-221.
- Martínez, C. J. 1996. Sección especial de control biológico. Productores de Hortalizas. México. Febrero, pp. 15-18.

- Matanmi, B. A, F. A. Brian and S. Mulla. 1990. Fate and persistence of *Bacillus sphaericus* used as a mosquito larvicide in dairy wastewater lagoons J. Amar. Mosq. Control Assoc. 6 (6);384 – 389.
- McClintic, D. 1995. Insecticidas microbiales: mayor destrucción contra plagas. El surco. 1;4-6.
- McCoy, R. A., Samson and D. G Boucias. 1988. Entomogenous fungi. In: CRC Handbook of natural pesticides. V Microbial insecticides Part a entomogenous, protozoa and fungi. C. M. Ignoffo (Ed.). CRC, Press. Inc. Boca Raton, Fl. pp. 151-236.
- McLeod, D. M. 1959. Nutritional studies on the genus *Hirsutella*. Tan. J. Botany. 37; 695-713.
- Méndez, M. P. y S. G. H. Rosas. 1998. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* como una alternativa de control de termitas. Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. Río Bravo, Tamaulipas.
- Mendoza, H. J. L. 1996. Bacterias y virus entomopatógenos. Memorias. II Concurso de Actualización de Control Biológico, Tecoman, Colima (1-3).
- Meta- Sin, ____ . Boletín técnico. *Metarhizium anisopliae*. Insecticida Biológico, Agrobiológicos del Noroeste, S. A de C. V., Culiacan, Sin., México.
- Metasav-11, 1997. Boletín técnico. Insecticida Biológico. Instituto de Investigación de Sanidad Vegetal. La Habana, Cuba.
- Metcalf, y R. L, W. H. Lauckman. 1990. Introducción al manejo de plagas e insectos. 1ª Ed. Ed. Limusa. pp. 710.
- Mian, S. L. And S. M. Mulla. 1993. Factors influencing activity of the microbial agent *Bacillus sphaericus* against mosquito larvae Bull. Soc. Vector Ecol., 8(2);128-134.
- Mier, T., M. García, C. Ramírez y F. Rivera. 1997. Control de *Treialeurodes vaporariorum*, por *Verticillium lecanii*, en un cultivo de *Phasiolus vulgaris* bajo condiciones de campo. Memoria. II Curso-Taller de producción masiva de Agentes de control microbiano. SMCB. Tecoman, Colima. pp. 176.
- Milner, R. J. __. Identification of *Bacillus popilliae* group of insect pathogens. CSIRO. Division of Entomology, Armidale. N.S.W. Australia.

- Molina, O. J., G. R. Lezama y R. M. González. 1996. Los nematodos entomopatógenos como alternativa de control biológico. Memoria. II Congreso de actualización de Control Biológico. Tecoman Colima. pp. 111-116.
- Molina, O. J., R. M. González, G. R. Lezama. 1997. Producción, formulación, comercialización y perspectiva de los nematodos entomopatógenos. Memoria. II Curso-Taller de producción masiva de Agentes de control microbiano. SMCB. Tecoman, Colima. pp. 60-64.
- Morales, R. L., M. McGuire, W. L. J. Galán y N. K. Arevalo. 1997. Evaluación de formulaciones granulares de *Bacillus thuringiensis* a base de gelatina, pectina y almidón. Memoria. XX Congreso de Control Biológico. Universidad de Guadalajara. pp. 173-175.
- Morris, O. N. 1992. Entomopathogenic viruses: strategies for use in forest insect pest management. Can. Ent. 112; 573-584.
- Mulla, S. M., N. Singh and A. Darwazd. 1991. Delayed mortality and morphogenetic anomalies induced in *Culex quinquefasciatus* by the microbial control agent *Bacillus sphaericus*. 7, (3); 412 – 419.
- Nason, A. 1980. El mundo biológico. 1ra. Ed. Ed. Limusa. México. pp. 841.
- National Academy of Sciences. 1992. Control de plagas de plantas y animales. 3ª reimpresión. Ed. Limusa. México. (5);189 – 217.
- Ortiz, C. M., R. R. Alatorre. 1998. Efectividad biológica de hongos contra mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. (Homoptera: Aleyrodidae). Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. CP- México. pp. 196-198.
- Ortiz, T. Mª. I . 1992. Selección de Actinomicetos con propiedades insecticidas para lepidópteros plaga de importancia agrícola. Tesis de Licenciatura. UANL. Monterrey, N. L. p. 50.
- Paecisav-1, 1997. Boletín técnico. Nematicida Biológico. INISAV. La Habana, Cuba.
- Pae-sin, __ . Boletín técnico. *Paecilomyces fumosoroseus*. Agrobiológicos del Noroeste, S. A. de C. V., Culiacan, Sin., México.
- Pelczar, M.J. 1984. Elementos de Microbiología. 1ra. Ed., Editorial McGraw- Hill. México, pp. 744.

- Pérez, C. J. G. _____. Boletín técnico. Entrevista traer*. Boletín Técnico. Investigación y desarrollo. DowElanco de México.
- Pérez, C. J. G. 1997. Tracer* Un nuevo agente de control de insectos de la clase *Naturalite*. Memoria XX. Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad Guadalajara. pp. 73.
- Pérez, P. R. y V. A. Pérez. 1997. Evaluación de la eficacia del bioinsecticida a base de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. En el control de *Acanthoscelides obtectus* (Say) en condiciones de laboratorio en Chapingo México. Memoria. XX Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad de Guadalajara.
- Pérez, C. J. G. y Aviles, M. L. 1997. Tracer* para el control de plagas de lepidópteros en algodónero en México. XX Congreso Nacional de Control Biológico. Universidad de Guadalajara. pp. 73.
- Pérez, P. R., T. S. Martínez, H. C. Rodríguez, A. G. Flores, A. I. Rodríguez, O. I. García. 1998. Planta de producción masiva de nematodos *Romanormis spp.* (Mermithidae) parasitos de larvas de mosquitos. Memoria XXI Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. CP. pp. 110-112.
- Pérez, P. R., T. S. Martínez, H. C. Rodríguez, A. G. Flores, A. I. Rodríguez y O. I. García. 1998. Aplicación del control biológico de mosquitos vectores del paludismo, con nematodos parásito *Romanormis iyengarisi* (Mermithide), en Oaxaca, México. Memoria. XXI Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB-CP. pp. 261-263.
- Poinar, G. O. 1975. Description and biology of a new insect parasitic rhabditidae, *Heterorhabditis bacteriophara* n. Gen. n. sp (Rahabditidae: Heterorhabditidae. N. Fam.) Nematologia. 21; 463.
- Poinar, G. O. and G. M. Thomas. 1984. Laboratory Guide to insect Pathogens and Parasites. Plenum Press. New York. p. 6.
- Poinar, G. O. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. En: R, Gaugler and H. K. Kaya eds. Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton FL. CRC. Press. pp. 23-61.
- Pisano, M. A., M. J. Somnier and L. Taras. 1992. Bioactivity of chitinolytic actinomycetes of morine origin. Appl. Microbiol. Biotechnol. 36: 553 – 555.

- Prior, C. 1992. Discovery and characterization of fungal pathogens for locust and grasshopper. Ed. C. J. Lomer and C Prior. Cab International . pp. 159-180
- Retana, R. A. M., V. Y. Ruiz, M. G. Gallegos, R. J. E. Pinedo, L. L. A. Marrufo. 1992. Potencial bioinsecticida y persistencia de las cepas (NGMG-84 Y MT7-63) de Actinomyceto *Streptomyces spp.* en larvas del mosquito *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). Memoria XV Congreso Nacional de Control Biológico SMCB. Acapulco, Gro. México.
- Rodríguez, M. M., M. M. De la Torre, N. E. Urquijo. 1991. *Bacillus thuringiensis* características biológicas y perspectivas de producción. Rev. Lat- amer. Microbiol. 33:279-292.
- Rombach, M. C., R. M. Aguda, B. M. Shepard and D. W. Roberts. 1996. Entomopatogenic fungi (Deuteromicotina) in the control of the black bug of the rice *Scotinophara coartata* (Hemipterta; Pentatomidae) J. Invert. Pathol. pp. (9);174-179.
- Rosas, S. G, P. .M. P. Méndez, S. Rodríguez, F. M. A. Gómez. 1977. *Zea maiz*. Un sustrato para la producción de *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor. Memoria XX. Congreso Nacional de Control Biológico Universidad de Guadalajara. 82-84.
- Rosas, S. G. 1994. Sensibilidad y Rápidez de Mortalidad de *Oebalus mexicana* (Sailer) En cuatro Estados Biológicos, contra 11 aislamientos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hiphomicetes: Moniliales). Tesis de Licenciatura Fitotecnia Instituto de Ciencias Agrícolas Irapuato, Universidad de Guanajuato. pp. 3- 13.
- Rosen, S. F., D. Bennett y T. L. Capinera. 1994. Pest management in the tropics: Biological control a Florida perspective. Intercep. Andover. p. 737.
- Sansom, R. A. 1988. Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. Academic Press. Cap. 6. pp. 194-222.
- Satoshi, O. 1992. Sacanning electron micrograf of spore chains of *Streptomyces avermitilis* . SIM. News. 42(1).
- Shieh, T. R. 1989. Industrial production of viral pesticides. Sandoz crop protection corporation. Adv.Virus Res.36;315-343.

- Singer, S. 1974. Entomogenous *Bacilli* against mosquito larvae. In; Developaments in Industrial Microbiology, Vol. 15, Ed. Murray and Aw Bourquin, Cap. 18. Goramand Pride Mork Press, Baltimore, M.D. pp. 187-194.
- Singer, S. 1980. *Bacillus sphaericus* for the control of mosquitoes. Departament of biological sciences, Westrn Illinois University, Macomb, Illinois 61455. Biotechnol. and Bioeng. XXII;1335-1355.
- Smith, P. 1993. Increased infectivity of oil and emulsifiable oil formulations of *Paecilomyces fumosoroseus* conidia to *Bemicia tabaci*. Dep. Biology, Imperial College of Science, Silwood Park. p. 82.
- Soper, S. R. 1974. The Genus *Massospora*, entomopathogenic for cicadas, part 1 Taxonomy of the genus Mycotaxon 1(1);13–40.
- Sosa, F. S. 1994. Nuevas alternativas de control biológico en plagas y enfermedades. Agronegocios en México. pp. 13-16.
- Stanley, B. R. 1974. Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology. 8^a Ed. Ed. Williams & Wilkins, Baltimore. Md. USA.
- Stanley, T. W., M. E. Sharpe, J. G. Holf. 1989. Bergey`s Manual[®] of Systematic Bacteriology; Lacey J.; Genus *Saccharopolyspora* Lacey and Goodfellow 1975, 77^{AL}). 1^a Ed. Edi. Williams & Wilkins. USA. pp. 2382—2391.
- Stanley, T.W., M. Goodfellow and G. Alderson. 1989. Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici, 1943, 339^{AL}. Bergey`s Manual[®] of Systematic Bacteriology. 1^a Ed. Edi. Williams & Wilkins. USA. pp. 2452—2505.
- Starnes, R. L., Chi Li Liu and P. G. Marrone. 1993. History, use, and future of microbial insecticides. Amer. Entomol. USA. 39 (2): 83-91 .
- Stockdale, H. 1986. Microbial insecticides. Industrial Chemiscals. In “comprehensive Biotechnology”. Murray Moo Young. (Ed.) Pergamon Press. Okford, England. pp. 949-963.
- Strobel, R. J. and W. M. Nakatsukasa. 1993. Response surface methods for optimizing *Saccharopolyspora spinosa* a novel macrolide producer. J.Ind.Microbiol. 11; 121-127.
- Tanada, y H. K. Kaya, 1993. Insect Pathology. San Diego, Academic Press. San Diego Ca. p. 666.

- Thompson, G. D., S. H. Hutchins and T. C. Sparks. 1999. Boletín técnico. Development of *Spinosad* and attributes of a new class of insect control products. Dow Agro Sciences. LLC. pp. 1-13.
[Http://ipmworld.umn.edu/chapters/hutchins2.htm](http://ipmworld.umn.edu/chapters/hutchins2.htm).
- Thurisav-24, 1997. Boletín técnico. Insecticida Biológico. Instituto de investigación de Sanidad Vegetal. La Habana, Cuba.
- Tinsley, T. W and D. C, Kelly. 1985 Taxonomy and Nomenclature of insect Pathogenic viruses In; K Maramorosh and K. E Sherman (Eds) Viral Insecticides for Biological Control. Academic Press. Orlando, Florida. pp. 3 –25.
- Todorova, S. L., J. C. Corre, D. Coderre. 1994. Heterogeneity of two *Beauveria bassiana* strains revealed by biochemical tests, protein profiles and bio- assays on *Leptinotarsa decemlineata* (Coleóptera: Chrysomelidae) and *Coleomegilla maculata* Lengi (Coleóptera: Coccinellidae) larvae. Entomophaga. 39 (2); 159-169.
- United States Department of Agriculture. 1973. The genus *Bacillus*. Agriculture Handbook. Agricultural Research Service. Washintong. D.C. pp. 283.
- U.R.H.T, CP. ____ . Boletín técnico *Beauveria* – CP. Insecticida Biológico. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Campus Cordoba Ver.
- Vandekar, M. ____ . Guide lines for production of *Bacillus thuringiensis* H- 14. 1982. UNDP/ World/ Bank/Who Genova Switzerland.
- Velasco, R. 1997. Virus para controlar lepidópteros en crucíferas. Hortalizas, Frutos y Flores. Sección especial. México. 16.
- Vertisav-57, 1997. Boletín técnico. Insecticida biológico. INISAV. La Habana, Cuba.
- Villalobos, F. J. 1992. The potential of entomopathogens for the control of white grub pest of corn in Mexico. pp. 253-260. In Jackson T.A & T.R Glare (eds.) Use of pathogens in scarab pest management intercep. 1ª Ed. London, Gran Bretaña. p. 258.
- Williams, S. T., M. Goodfellow, G. Alderson, E. M. H. Wellington, P. H. A. Sneath y M. J. Sackin. 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related Genera. J. Microbiol. 129;1743—1813.

- Williams, T. 1995. Virus entomopatógenos. Memorias. VI Curso de Control Biológico. pp. 112-120.
- Williams, T., J. M. Feliciano, J. Y. Valle, C. F. Marina. 1998. Persistencia de los virus iridiscentes en entomopatógenos de insectos vectores de importancia medica. Memoria XXI. Congreso Nacional de Control Biológico. SMCB. Tapachula, Chis. pp. 216-218.
- Witton`s, and Y. G. Gray. 1984. Microbiología. 10ª Imp. Ed. Continental. México, D. F. pp. 352.
- Yousten, A. A, N. Madhckar and D. A. Wallis. 1984. Fermentation conditions affecting growth, sporulation and mosquito larva toxin formation by *Bacillus sphaericus*. 25. Develop.Ind. Microbiol. 25;757 – 762.
- Zabaleta, M. E. 1994. Control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo y sus perspectivas. Rev. Mex. Fitopatol. 12 (1);90.
- Zhang, 1998. Investigación de los ácidos nicleicos.
http://www.oup.co.uk/nar/volume_26/Issue_05/gkb238_glm.abs.html