

INTRODUCCION

Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) está catalogado como una de las especies que más problemas ocasionan a la agricultura en el mundo. Su alto potencial reproductivo le permite incrementar la población rápidamente, de tal manera que en un corto tiempo puede rebasar el umbral económico si no se toman medidas de control pertinentes (Gould, 1987).

Investigaciones señalan que esta especie es una de las que más casos de resistencia a presentado (Hussey y Parr, citados por Gould, 1987). El problema se complica además por la presencia del fenómeno de hormoligosis (la alteración del comportamiento, ciclo biológico y ciertas funciones vitales de un organismo como respuesta al estímulo de concentraciones subletales de un tóxico), que puede inducir el incremento anormal de las tasas de reproducción de la plaga (Luckey, 1968). Se han desarrollado investigaciones tendientes a conocer los cambios en el comportamiento poblacional de esta especie cuando se le expone a algunos acaricidas. Ahmadi 1983, reporto que al exponer *Gossypium hirsutum* L. a diferentes concentraciones de Dicofol, el tiempo de generación prácticamente no varió entre el testigo y los individuos tratados, sin embargo, se observa una baja en la tasa reproductiva bruta y tasa reproductiva neta. Así mismo, se observa una relación inversa entre la tasa de natalidad y las concentraciones del acaricida. Flores y colaboradores (1992) determinaron que dosis subletales de Dicofol sobre *Eutetranychus banksi* producen un cambio en la proporción sexual de 2.143:1 en una línea susceptible a Dicofol en contraste a la población tolerante la cual presentó una relación de 3.048:1 de hembras y machos respectivamente.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de concentraciones subletales de Dicofol sobre *T. urticae* utilizando como sustrato hojas de frijol (*Phaseolus* spp.).

REVISION DE LITERATURA

El ácaro de dos manchas “arañita” roja ó ácaro de invernaderos, *Tetranychus urticae* Koch formaba parte de un complejo de cerca de 59 sinónimos descritos para diferentes plantas hospederas. Una revisión de la familia Tetranychidae publicada en 1955 (Pritchard y Baker citados por Jeppson *et. al.* , 1975), incluía 43 sinónimos para *T. telarius* (nombre inicial de este complejo). Estos se reportan atacando a más de 150 especies de cultivos de los cuales; Hortalizas(tomate y chile), Ornamentales(rosal). Se sabe que *T. urticae* es un serio problema en frutos deciduos, árboles de sombra y arbustos de climas templados (Jeppson *et. al.*, 1975).

Ubicación taxonómica.

De acuerdo a Krantz (1970) el ácaro *T. urticae* se ubica en los siguientes taxa:

Phyllum Arthropoda

Subphyllum Chelicerata

Clase Acarida

Orden Acariformes

Suborden Prostigmata

Superfamilia Tetranychoidea

Familia Tetranychidae

Subfamilia Tetranychinae

Tribu Tetranychini

Genero *Tetranychus*

Especie *urticae*

Morfología.

Huevo.- En 1949, Cagle (citados por Nelson y Stafford, 1972). Estudio el ciclo de vida de estos ácaros en el laboratorio (además de algunas observaciones de campo) y describió varios estados de vida, características de alimentación y hábitos

de apareamiento. Así mismo, estudió los efectos de la temperatura sobre el período de incubación de los huevecillos, reportando que a 24°C el período de incubación era de tres días, mientras que se necesitaban 21 días a una temperatura de 11°C. El tiempo de desarrollo fue de 5 a 20 días para machos (con un tiempo promedio de vida de 22 días). Los huevecillos de *T. urticae* miden en promedio entre 110 y 150 μ . Son de color traslúcidos a opaco blanquecinos y cambian a color pardo conforme se va desarrollando el embrión. La superficie del corión es lisa con leves irregularidades. En la última etapa del desarrollo embrionario se presenta un cono respiratorio que se proyecta sobre la superficie del huevecillo (Crooker, 1985).

Los huevecillos de *T. urticae* presentan un mecanismo especial de respiración para el intercambio de gases (Dittrich y Streibert, citados por Van de Vrie *et. al.*, 1972). Dos estigmas embrionarios de estructura complicada que penetran la pared del huevo durante la fase contractiva de la banda germinal, están conectados a una parte altamente especializada de la membrana intermedia que cubre el embrión. Esta membrana tiene numerosas perforaciones, las cuales forman un plastrón de aire de 0.2 a 0.3 μ entre la pared del huevecillo y el embrión. Mothes y Seitz (citados por Crooker, 1985), estudiando la capa del huevecillo, han determinado que ésta consiste de una granular exterior, una capa densa media y una capa interna transparente.

Larva.- Las larvas son redondas y poseen tres pares de patas. Al emerger del huevo son blancas y únicamente se les notan las manchas oculares de color carmín. Conforme pasa el tiempo se torna de color verde claro y las manchas dorsales de color gris se empiezan a volver aparentes. Los peritremas tienen forma de bastón y están en posición dorsal al final de las setas propodosomales anteriores (Jeppson *et. al.*, 1975).

Ninfa.- Las protoninfas son ovaladas y poseen cuatro pares de patas. Son de color verde claro con manchas dorsales bien definidas y peritremas en forma de hoz. La deutoninfa es muy similar a la protoninfa de tal forma que resulta difícil

diferenciarlas. Es ligeramente más oscura, de mayor tamaño y ya en esta etapa de desarrollo se les puede reconocer su sexo. Los peritremas son de forma de “V”. El primer tarso tiene cuatro setas táctiles próximas a la seta dúplex, en tanto que la primer tibia tiene nueve setas táctiles y una sensorial. El integumento es rugoso con lóbulos semi-oblongos en el filo de las arrugas (Jeppson *et. al.*, 1975).

Adulto.- El macho adulto es de coloración más pálida y es más pequeño que la hembra. Posee un opistoma puntiagudo y el mismo número de setas. Las manchas dorsales son casi imperceptibles y de color gris. El primer tarso presenta cuatro pares de setas táctiles y dos sensoriales próximas a las dúplex proximales. La primer tibia presenta nueve setas táctiles y cuatro sensoriales. Por su parte la hembra es oblonga, más grande y de color verde olivo (Jeppson *et. al.*, 1975).

Crooker (1985), reporta que Cagle en 1949 observó que el tiempo de desarrollo post-embrionario esta íntimamente asociado con la temperatura, tanto que a 22.8°C el desarrollo del estado larval era de un día, mientras que a 12.5°C tardaba 11 días. El estado de protoninfa según este último autor era de un día a 23.3°C y de 13 días a 9°C. La deutoninfa tardó un día en completar su desarrollo a 23.4°C y el tiempo de desarrollo se prolongó hasta 45 días cuando estas se expusieron a 4.3°C, (tomado de Crooker, 1985), resume en el cuadro 1 el tiempo de desarrollo de *T. urticae* bajo una temperatura de 21°C.

Tiempo de desarrollo.

Cuadro. 1. Tiempo de desarrollo en días para *T. urticae* bajo una temperatura de 21°C (Crooker, 1985).

ESTADO		ACTIVA	QUIESCENTE	TOTAL
Larva	Macho	1.5	1.3	2.8
	Hembra	1.5	1.2	2.7
Protoninfa	Macho	1.0	1.3	2.3
	Hembra	1.3	1.2	2.4
Deutoninfa	Macho	1.0	1.4	2.5
	Hembra	1.5	1.4	2.9

Brandenburg y Kennedy (1981), mencionan que los adultos de *T. urticae* son muy similares a los de *T. cinnabarinus* a tal grado que antiguamente formaban parte del complejo de arañitas rojas. Sin embargo, ya se conocen en la actualidad algunas diferencias morfológicas tales como la forma del edeago en los machos, la coloración de los individuos (verde blanquecino en *T. urticae* y rojo carmín en *T. cinnabarinus*) y diferencias en la densidad del lóbulo integumentario dorsal. Además encontraron bajo microscopía electrónica que el integumento dorsal de *T. urticae* presenta estrías de forma semi-oblonga en un promedio de 6.44 lóbulos por cada 10 μ ; mientras que el integumento de *T. cinnabarinus* presenta una forma de tipo triangular y con un promedio de 7.47 lóbulos por cada 01 μ . Una objeción a esta afirmación la constituye lo reportado por Mollet y Sevacheran (1984), quienes encuentran variaciones en la densidad de los lóbulos como respuesta de la variación de la humedad y temperatura.

Además de la temperatura, la humedad esta también muy relacionada con el desarrollo del ácaro de dos manchas. Boudreaux (1958), estudio el efecto de la humedad relativa en la ovipostura, eclosión y supervivencia de seis especies de arañita roja y encontró que bajo condiciones de baja humedad (0 a 35 por ciento de Humedad Relativa), las hembras de *T. urticae* ponen más huevecillos y viven más. El autor concluye que el fenómeno es debido a que las condiciones anteriores ocasionan que la hembra ingiera alimento en mayor cantidad y este se concentra más en el cuerpo por la razón de que también habrá mayor evaporación a través de la cutícula.

Se ha estudiado ampliamente el desarrollo de las especies de ácaros fitoparásitos utilizando diferentes plantas hospederas y se conoce que de acuerdo a las plantas utilizadas puede haber diferencias en desarrollo, reproducción, longevidad e incremento poblacional. Estas diferencias pueden estar asociadas con factores de tipo alimenticio como textura de las hojas, valor nutricional de la planta, fisiología o condiciones particulares micro-ambientales (Crooker, 1985).

Todos los ácaros de la familia Tetranychidae pasan por las fases inmaduras de larva, protoninfa, deutoninfa y finalmente adulto. Los tres estados inmaduros se alimentan y entre cada uno de ellos hay períodos intermedios de quiescencia llamados protocrisalida, deutocrisalida y teliocrisalida, respectivamente. Durante los periodos de inactividad el ácaro se adhiere al substrato y forma una nueva cutícula (Crooker, 1985). Al igual que muchos artrópodos el patrón de oviposición de los tetraniquidos comprenden un período corto de pre-oviposición, un rápido pico de incremento pocos días después y por último un decremento paulatino. Aún cuando esto puede variar dependiendo de la temperatura con un óptimo para el ácaro de dos manchas de 28-32°C en el cual se presenta un periodo de pre-oviposición de 0.5 días promedio (Bravenboer, citado por Van de Vrie *et. al.*, 1972).

Velasco y Pacheco (1968), mencionan que *T. urticae* presentó un tiempo de desarrollo variable para los estados de huevecillo que fue de 5.6 a 6.4 días; para larva de 1.8 a 2.5 días; para protoninfa de 1.8 a 3.4 días y para deutoninfa de 2.4 a 5 días de duración. El período de oviposición fue de 15 a 20 días y la longevidad de 15 a 20 días en hembras y de 25 a 34 días en machos.

Aspectos biológicos y de comportamiento

T. urticae, se alimenta del contenido celular de las plantas, por lo cuál ocasiona la reducción del contenido de clorofila y daño físico al mesófilo esponjoso y de empalizada; además, se ha determinado que los tejidos afectados, los estomas tienden a permanecer cerrados, lo que disminuye la tasa de transpiración (Sances *et. al.*, 1979).

La mayoría de los ácaros se alimentan del envés de las hojas, cerca de la periferia ocasionan enroscamientos de los bordes, además las hojas se observan cloróticas y en altas infestaciones se observa con mucha claridad hilos de seda que envuelven las hojas, ramitas e impiden que el fruto madure (Vera, *et. al.*, 1990).

Se ha visto que los daños cuando son causados por los ácaros a las plantas debido a sus hábitos alimenticios dependen generalmente, de las condiciones del medio, del estado fisiológico de la planta y de la naturaleza de las sustancias inyectadas (Jeppson, 1975).

Los tetránquidos al alimentarse introducen sus estiletes en los tejidos de las plantas provocando un daño mecánico, el cuál consiste en la remoción del contenido celular. Los cloroplastos desaparecen y se aglutinan pequeñas cantidades de material celular coagulado, originando manchas color ámbar. Este daño es provocado como resultado de los hábitos alimenticios de los ácaros durante un período de tiempo por la actividad de altas poblaciones; sin embargo, también se ha visto que bajas poblaciones llegan a causar daño severo lo que hace suponer que durante el período de alimentación inyecten toxinas o reguladores a la planta (Jeppson, 1975).

Fuentes (1983), señala que algunas especies de arañas rojas pasan el invierno en estado de huevo y otras en estado de adulto, al resguardo de la corteza de los árboles o cualquier maleza. Al llegar la primavera avivan los huevos o salen los adultos de sus refugios e inician las oviposturas que generalmente, se efectúan en la cara inferior de las hojas que es habitualmente donde viven los adultos. Al cabo de pocos días salen las larvas, que llegan al estado adulto en poco tiempo, para iniciar de nuevo las oviposturas. Cuando el tiempo es seco y caluroso, el ciclo se repite de 15 a 30 días. Esto da idea de lo peligrosa que es ésta plaga, pues pueden llegar a invadir todo el cultivo poco tiempo después de aparecer los primeros ácaros.

Jeppson (1975), señala que los ácaros tetránquidos son encontrados en muchas plantas, usualmente en números pequeños, pero ocasionalmente altas poblaciones pueden dar como resultado defoliaciones severas. Algunas especies tienen hospederos específicos, mientras que otros, que son especies de gran importancia económica como *T. urticae*, *T. cinnabarinus* (Boisduval), infestan a un amplio rango de plantas alimentándose de la superficie de las hojas principalmente.

El primer paso importante para el conocimiento de la biología del grupo de especies de arañitas de dos manchas fue dado a principios de los años 20's cuando se encontró que el macho de éstas especies tenía un número de cromosomas haploide y la hembra diploide (Nelson y Stafford,1972). Actualmente se conoce que ésta especie presenta tres pares de cromosomas. Encontrándosele partenogénesis de tipo arrhenotokia (Helle y Bolland,citados por Helle y Pijjnacker,1985).

Mecanismos de dispersión

Una de las formas de dispersión de los miembros de la familia a la que pertenece la especie *T. urticae* es la de producir una especie de hilo que utilizan en la construcción de telarañas. La forma y característica de la telaraña va de acuerdo a cada especie en particular. En el caso del ácaro de dos manchas una vez iniciada la invasión de las plantas empiezan a construir telarañas de forma muy irregular en la superficie de la hoja. Cuando la población crece considerablemente se presentan en la telaraña numerosos gránulos de excremento, huevecillo y desechos corporales de los individuos muertos. La telaraña se adhiere a la hoja de tal forma que en invasiones severas la envuelve completamente y no la deja desprenderse una vez que esta ha muerto (Saito, 1985). El patrón de comportamiento de las hembras cambia como respuesta al desarrollo de la tela en hojas recién invadidas. Durante el inicio de la invasión las hembras comen activamente y giran sobre el hilo que se ha formado. Una vez que se ha cubierto parte de la hoja con telaraña su actividad se reduce y se esconden bajo la telaraña en donde se alimentan y ovipositan. Esto ocurre después de 6 a 7 horas de invasión según el mismo Saitó. La telaraña además de las funciones ya mencionadas sirve también para dar protección contra factores climáticos adversos, enemigos naturales, acaricidas y puede marcar una especie de territorialidad contra individuos fitoparásitos de otras especies (Gerson, 1985).

Los tetraniquidos han desarrollado algunos mecanismos que le ayudan a dispersarse y colonizar plantas ampliamente separadas y pueden servir también como mecanismos de escape de los enemigos naturales. Para Kennedy y Smitley (1985), este mecanismo es el movimiento de individuos a partir de colonias altamente pobladas, pudiendo ocurrir de las partes infestadas a las no infestadas en una misma planta o bien hacia plantas diferentes. Según Hassey, Parr y Coates (citados por Kennedy y Smitley, 1985), la dispersión entre plantas en algunas especies es el resultado de la tendencia de un grupo de hembras pre-reproductivas a emigrar de las hojas en las cuales ellas se desarrollaron. Una vez que han ovipositado, pocas hembras de *T. urticae* tienen la tendencia a colonizar hojas nuevas o al menos lo hacen en menor grado que las hembras que no han iniciado la oviposición.

Proporción de sexos

La proporción sexual, como lo menciona Overmeer (citado por Helle y Pijnacker, 1985), depende de la cantidad de esperma transferido a la hembra. La determinación del sexo en ácaros de dos manchas (como en muchas otras especies de ácaros) es arrenotoquía (tipo partenogénesis). Esto es, las hembras se desarrollan a partir de huevecillos fertilizados y tienen su juego doble normal de cromosomas (haploide). Hembras que no se cruzan dan lugar a únicamente machos; hembras que se cruzan pueden producir una progenie de hembras o machos. Si durante el apareamiento se interrumpe la copula se produce un número inferior de hijas. En tanto que si se completa habrá una descendencia mayor de ellas, pudiendo considerarse como normal una producción de tres hembras por cada macho.

El fenómeno de arrenotoquia (partenogénesis) es de importancia ya que el macho tiene un juego de cromosomas, una característica genética nueva (Helle y Overmeer, 1973). Por lo tanto, el potencial de desarrollo de resistencia genética a insecticidas y acaricidas en el ácaro de dos manchas es acelerado por este método de reproducción. Debido al alto grado de reproducción y el rápido tiempo de

generaciones y la intensa presión de selección traída por el control químico de esta plaga, la resistencia puede desarrollarse en un tiempo comparativamente corto (Osborne *et. al.*, 1999).

Diapausa

Bajo ciertas condiciones, los ácaros de dos manchas, pueden invernar como hembras (fertilizadas) en diapausa. La diapausa presumiblemente es inducida por el fotoperíodo (días cortos), temperaturas bajas, y en condiciones de alimentación desfavorable (Parr y Hussey, 1966 y Jeppson *et al.*, 1975). Estas hembras en diapausa son de un color amarillento – naranja e invernan en lugares protegidos (aberturas y ranuras). No se alimentan ni se reproducen mientras están en diapausa. La diapausa normalmente termina en la primavera cuando las condiciones ambientales favorables regresan. En Florida, las poblaciones de los ácaros de dos manchas varían durante el año, aunque en ocasiones se reduce el desarrollo durante los meses de invierno. Sin embargo, es posible de que una pequeña porción de la población entre en diapausa durante los meses de invierno.

Control de *Tetranychus urticae*

El combate Químico es una de las formas mas ampliamente utilizadas para controlar a este especie. Velasco y Pacheco (1968) reportan que el primer compuesto químico utilizado en invernadero para el control de las arañitas rojas fue la naftalina y que posteriormente se utilizo el azufre. Jeppson *et. al.*, (1975) menciona que en la década de los 20`s fueron ampliamente utilizados los aceites de petróleo en frutales deciduos y cítricos. A partir de los años 30`s se desarrollaron los primeros acaricidas orgánicos (Dinitrofenoles) que sin embargo, presentaron problemas de fitotóxicidad en las plantas (Jeppson *et. al.*, 1975). Los mismos investigadores reportan una lista de 24 acaricidas utilizados entre 1945 y 1969.

Efecto de acaricidas en su desarrollo de vida

Los ácaros fitoparásitos, al igual que los insectos, han evolucionado de acuerdo al ambiente físico circundante y a las características de crecimiento y desarrollo de la planta hospedera, manteniendo en esta forma la armonía ecológica necesaria para la supervivencia de las dos especies. Las estrategias de adaptación que los organismos han desarrollado son innumerables. Los ácaros, por ejemplo, han desarrollado algunas estrategias reproductivas para poder mantenerse en equilibrio ecológico con la planta hospedera (Chabousseau, citado por Wrensch, 1985).

Se ha observado que en su desarrollo de vida pueden ser afectados por diversas sustancias. Esta alteración se puede deber a dos formas diferentes: por trofobiosis en el cuál la planta aprovecha al plaguicida para mejorar su situación metabólica, mejorando por consecuencia la calidad de alimento que será aprovechada por la arañita (Chabousseau, citado por Wrensch, 1985). O por hormoligosis, en donde los plaguicidas directamente estimulan el desarrollo y fecundidad de la especie plaga (Luckey, 1968; Flores, 1992).

Neiswander *et. al.*, en 1950, encontraron que había más susceptibilidad de ácaros de dos manchas a acaricidas en plantas de tomate que en plantas de frijol. Patterson *et. al.*, en 1974, demostraron por su parte que la resistencia en especies de *Nicotiana* a *Tetranychus urticae* es debida a la combinación de no preferencia y antibiosis, probablemente debida a la presencia de alcaloides (Wrensch, 1985).

Ibrahim y Knowles (1986), publicaron un estudio sobre la influencia de 105 formamidinas en la producción del ácaro de dos manchas y reportan que los efectos más comunes fueron: inhibición de fecundidad, estimulación de fecundidad, retraso en la oviposición, inhibición en la eclosión de los huevecillos y estimulación y retraso de eclosión. Estas respuestas variaron de acuerdo al compuesto, la concentración y el intervalo de tiempo después del tratamiento.

Generalidades de Dicofol.

El Dicofol; es un sólido cristalino blanco y el técnico es un líquido rojo marrón o viscoso ambarino. El Dicofol, es un DDT oxidado con propiedades acaricidas, o sistémico y con alta actividad insecticida. Fue introducido como acaricida en 1952. En 1986, su uso fue cancelado temporalmente por la EPA, debido a los altos niveles de contaminación. Sin embargo fue reinstalado cuando demostraron que los procesos de fabricación modernos pueden producir dicofol técnico conteniendo menos de 0.1% de DDT (CICOPLAFEST, 1991).

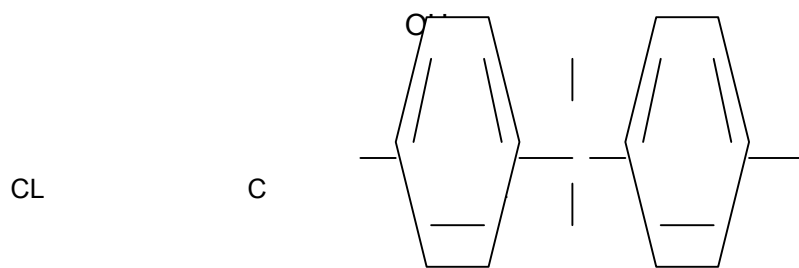
El Dicofol es un acaricida de contacto e ingestión, que controla adultos, larvas y ninfas de arañas en frutales, hortalizas, y ornamentales. Su DL₅₀ oral en ratas es 575 a 960 mg/kg, en conejos, y en ratones es 420 a 675 mg/kg. La DL₅₀ dermal en ratas es de 1000 a 5000mg/kg, y en conejo de 2000 y 5000mg/Kg. Es un acaricida específico, por lo que tiene efecto sobre la fauna benéfica, se considera compatible con la mayoría de los insecticidas y funguicidas excepto con los de fuerte reacción alcalina. En México, solo se puede utilizarse bajo supervisión de personal autorizado y capacitado (CICOPLAFEST, 1991).

Sinónimos y nombres comerciales : Acarin^R; Benzenemethanol; Carbox; Cekudifol; CPCA; Dichlorokelthane; Decofol; DTMC; 23648 ENT; FW293; Hifol^R; EC 18,5 De Hilfol; Kelthane^R; Keltane; Kelthane (PUNTO); Kelthane A; Base Del Polvo De Kelthane; Kelthanethanol; Milbol; Miltigan; NA2761 (PUNTO); Nci-c00486.

Nombre de IUPAC: Etanol 2.2.2-2,2,2-tricloro-1,1-bis(4-clorofenil)-1.1-bis(4-clorofenil)

Nombre Químico: 1, 1,1-tricloro 2,2, bis (p-clorofenil) etanol

Fórmula Molecular: $C_{14}H_9Cl_5O$



CCL3

Figura 1.- Fórmula Estructural del dicofol

Ruta de la absorción: El Dicofol se absorbe extensivamente del aparato gastrointestinal. Las concentraciones más altas fueron encontradas en el tejido fino adiposo seguido por las glándulas, la tiroides y el hígado suprarrenales. Las ratas femeninas tendieron para conservar Dicofol a un mayor grado que varones.

Modo de Acción: Produce el estímulo de la transmisión axonal de señales nerviosas, se cree estar relacionado con la inhibición de ATP's en el sistema nervioso central (SNC). Las muestras de la toxicidad son constantes con la depresión del SNC.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del experimento

La presente investigación se realizó en el Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. Durante el periodo febrero a marzo del 2004. La especie utilizada para el estudio fue *T. urticae* Koch, esta especie se obtuvo de una colonia de laboratorio ubicada en el mismo departamento. Los ácaros en estudio se reprodujeron sobre plantas de frijol variedad lima, con objetivo de obtener el material biológico suficiente para el desarrollo de esta investigación y así poder conocer el grado de susceptibilidad al acaricida Dicofol, así mismo ver el efecto de dosis subletales en el tiempo de desarrollo y fecundidad de *T. urticae*. La colonia se mantuvo bajo condiciones controladas, a temperaturas de $25\pm 2^{\circ}$, 60-65 HR y en condiciones de 12:12 luz-oscuridad respectivamente.

Bioensayo

En el desarrollo de la investigación, se utilizó el método de bioensayo de técnica de inmersión en hoja (FAO, 1979).

La ubicación de las concentraciones para la realización del bioensayo, se obtuvieron mediante un estudio previo llamado ventana biológica, que nos sirvió para conocer el rango en las concentraciones a evaluar.

Primer bioensayo

Para la realización del primer bioensayo (ventana biológica), se partió de una solución madre de 10000 ppm hasta las 500 ppm. Cada tratamiento se integró por tres repeticiones, cada repetición constaba de un foliolo de frijol infestado de ácaros. Estos fueron expuestos al producto comercial Dicofol® 18.5% y el dispersante Bionex®, las

hojas con al menos 30 ácaros fueron sumergidas en las diferentes concentraciones del acaricida por un lapso de 5 segundos y colocadas en papel estraza para dejar secar el producto a temperatura ambiente, los folíolos en tratamiento se mantenían sobre su envés en charolas provistas de una esponja saturada de agua (técnica hoja-arena, Abou-setta y Chirders, 1988), esto permite que los folíolos se adhieran firmemente a la esponja, logrando que la misma humedad de saturación sirva como barrera para evitar el escape de los ácaros.

Se realizaron observaciones de mortalidad a las 24 y 48 horas, la mortalidad se corrigió mediante la fórmula de Henderson y Tilton, 1936 que a continuación se muestra:

$$M.C.=1 - \frac{(No. _ Ind. _ desp. _ de _ la _ Aplic.)(No. _ Ind _ Tes. _ antes _ Aplic.)}{(No. _ Ind. _ antes _ Aplic.)(No. _ Ind. _ Test. _ dep. _ Aplic)}(100)$$

Figura 2 Fórmula para la Corrección de mortalidad

Segundo bioensayo

Una vez obtenido el rango de respuesta de las diferentes concentraciones a las que fueron sometidas los ácaros de *T. urticae*, se realizó un segundo bioensayo con las dosis de 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 y 3500ppm para obtener la línea de respuesta concentración-mortalidad. El bioensayo se realizó con la metodología antes descrita así como la corrección de la mortalidad.

Análisis estadístico

El análisis del bioensayo se realizó utilizando el paquete PC. Probit (máxima verosimilitud). Con este método se obtuvo la ecuación de predicción, CL₁₅, CL₂₅, CL₃₅ y CL₅₀, la línea de respuesta concentración-mortalidad y los límites fiduciales. Por otra parte se determinó el valor de x^2 y r^2 .

Obtención de huevecillos por madre expuestas a dosis subletales

Basándose en la CL₅₀ (466.9ppm) obtenida, se seleccionaron tres dosis subletales de 130.9, 203.9 y 290.9 ppm, correspondientes a la CL₁₅, CL₂₅, CL₃₅ respectivamente.

Aplicación de dosis subletales

Se procedió a realizar la aplicación de dosis subletales, para poder observar el efecto del producto Dicofol sobre el número de huevecillos puestos por hembra de *T. urticae*. El procedimiento consistió en aplicar las concentraciones subletales (CL₁₅, CL₂₅, CL₃₅) con 5 repeticiones por tratamiento, cada repetición con 20 hembras adultas; los individuos se colocaron en discos de foliolos de frijol de 25mm de diámetro; los cuales se sumergieron en cada una de las concentraciones subletales, después se realizaron conteos de huevecillos cada 24 horas hasta la muerte de la última hembra.

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza (ANVA) con un diseño completamente al azar y comparación de medias por el método de Diferencia Mínima Significativa (DMS), del número de huevecillos de cada uno de los tratamientos.

Determinación del ciclo de desarrollo y proporción sexual en *T. urticae* expuestas a dosis subletales de Dicofol.

Para determinar el efecto de Dicofol sobre el desarrollo del ciclo biológico de ácaros expuestos a tres concentraciones subletales del acaricida. Se colocaron 20 hembras tratadas por cada una de las concentraciones subletales en discos de foliolo de frijol; se observó la oviposición durante 48 horas para poder obtener 50 huevecillos, después se retiraron las hembras, dejando los huevecillos hasta que pasaran al estadio de larva, posteriormente las larvas se colocaron por separado en cada círculo.

Se realizaron observaciones cada 12 hr hasta la muerte de la última larva y con los datos tomados se determinó el ciclo de desarrollo y proporción sexual.

Con los datos obtenidos de la duración en días del ciclo biológico, se realizaron análisis de varianza (ANVA), así como comparación de medias por el método de DMS. Con la finalidad de observar las diferencias en duración de los ácaros sometidos a las diferentes dosis subletales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se describen los resultados obtenidos del Bioensayo realizados en la presente investigación; ordenados de la siguiente manera: Valores de **CL₁₅, 25, 35 y 50**, Valor de coeficiente de correlación, líneas de regresión concentración-mortalidad y los efectos de las concentraciones subletales en el ciclo de desarrollo y proporción sexual de *T. urticae*.

Obtención de la CL₅₀.

Con respecto a la concentración letal media (CL₅₀) sobre ácaros expuestos a las 48hrs. En el cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos. Como se puede observar, se obtuvo una CL₅₀ de 467ppm. Al comparar resultados con reportes existentes de Dicofol para el control de *T. urticae*, Schiffahuer y Mizzell(1988) determinaron una CL₅₀ de 655ppm; así como la CL₅₀ obtenida por Martinson *et. al.*,(1991) fue de 911ppm, también se puede observar las dosis subletales CL_{15, 25, 35 y 50}

Cuadro 2.- CL_{15, 25, 35 y 50} de Dicofol a las 48 hrs. Sobre poblaciones del ácaro *Tetranychus urticae* Koch en foliolos de fríjol, UAAAN (2004).

Producto	CL15	CL25	CL35	CL50
Dicofol	131ppm	204ppm.	291ppm.	467ppm.

Valores de X^2 , r^2 , GL. Y P.

El cuadro 3, se presenta los valores de los coeficientes de determinación (r^2) para las líneas de regresión concentración-mortalidad. donde se puede observar que el valor estimado es .9120; este resultado de acuerdo a Romahn *et. al.*(1994) indica que se obtuvo una correlación alta; el bajo valor de chi-cuadrada obtenida fue de .005 por lo que en esta investigación indica poca separación entre los puntos; Por tal motivo el valor de probabilidad es alto.

Cuadro 3.- Coeficiente de correlación(r^2) Chi-cuadrada(x^2), grados de libertad(gl) y probabilidad de ocurrencia de dicofol a 48hrs. UAAAN(2004).

Dicofol	r^2	X^2	Prob.
48hrs	.9120	.005	99

Línea de respuesta Concentración- mortalidad y limites fiduciales

En la figura 2 se presenta la línea de respuesta concentración- mortalidad, la ecuación de predicción y limites fiduciales. Presentando una Cl_{50} de 467ppm y limites fiduciales de 327.94 y 589.80, por lo anterior con respecto a la posición de la línea concentración- mortalidad, se puede observar que tiene una tendencia heterogénea.

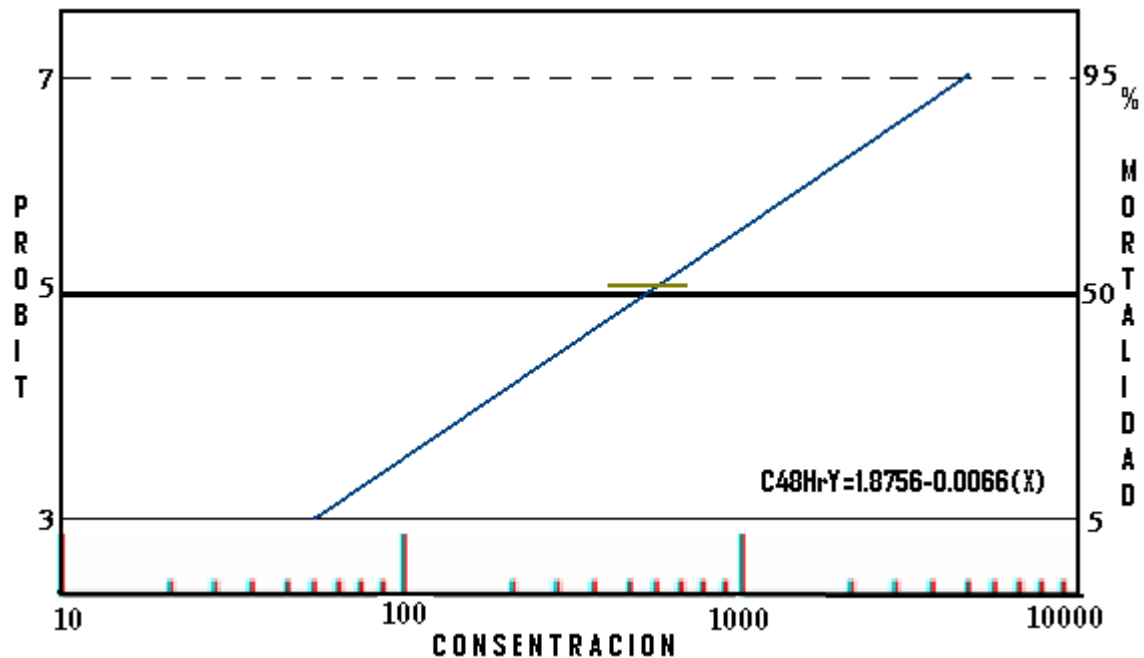


Figura 3. – Ecuación de predicción, línea de respuesta concentración– mortalidad y representación de sus limites fiduciales, de una población de *T. urticae* a las 48 horas de exposición a Dicofol.

Efecto de concentraciones subletales en la oviposición de *T. urticae*.

Con respecto al número de huevecillos obtenidos en la oviposición de hembras expuestas a concentraciones subletales de dicofol; En el cuadro 4 se muestran los resultados obtenidos. Como se puede observar en los diferentes tratamientos existe una diferencia con respecto al testigo, en los tratamiento 131 y 291ppm, el número de huevecillos esta por debajo de la media general de oviposición en comparación con testigo. En el caso del tratamiento 204 ppm, este se encuentra con valores superiores a los del testigo.

Con respecto al ANVA realizado, se encontró que no existía diferencia significativa entre tratamientos, esto quiere decir que a dosis subletales de Dicofol no hay diferencia desde el punto de vista estadístico. Sin embargo, en términos

biológicos, existe una diferencia de incremento del 27% en oviposturas en la concentración de 204 ppm con respecto al testigo.

Cuadro 4. Huevecillos puestos por madre expuestas a concentraciones subletales de Dicofol.

Trat. /Rep	I	II	III	IV	V	Σ	μ
Testigo	28.8	27.3	11.3	39.6	27.6	134.6	26.9
131ppm.	28.3	15.5	11.5	30.1	25.3	110.7	22.1
204ppm.	37.1	32.5	37.4	27.4	50	184.4	36.9
291ppm	21.9	38.0	19.2	23.1	11.0	115.2	23.0

Efecto de concentraciones subletales en el ciclo de desarrollo

Como puede apreciarse en las distintas concentraciones utilizadas, el tiempo de desarrollo son mayores que en el testigo (cuadro 5). Esto podría ser por la razón de que la progenie respondió al efecto del acaricida dando como resultado una alteración a la fisiología del ácaro y de esa manera generar un mayor tiempo de desarrollo. No se descarta algún efecto sobre el tejido de las hojas de frijol, que haya desfavorecido una condición alimenticia para los ácaros y por lo tanto un disminución en el tiempo de desarrollo. Esto podría ser respaldado por van de Vrie et al, (1972), quienes reportan que en algunos casos la planta puede utilizar las moléculas tóxicas de algunos acaricidas para mejorar su actividad metabólica, de tal forma que los ácaros se afectan con esta situación, ya que la planta genera mas sustancias secundarias.

Aunque los datos obtenidos del experimento muestran que el tiempo de desarrollo en los tratamientos difieren muy poco con respecto al del testigo, al realizar los análisis estadísticos (ver cuadro 12, 14, 16 y 18 del Apéndice), muestran que las diferencias son significativas, por lo tanto las concentraciones subletales del acaricida provocan alteraciones al tiempo de desarrollo de los ácaros.

Al realizar la prueba de homogeneidad de varianzas (DMS). Encontramos que las diferentes concentraciones, muestran diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 5. – Tiempo de desarrollo de *T. urticae*.

Factor/Trat.	Larvas	Protoninfas	Deutoninfas	Adultos.	Tot. de ciclo
Testigo	1.5BC	01A .	98C	7.5	10.98
131ppm	1.6AB	0.93A	1,3A	7.9	11.73
204ppm	1.6A	0.77B	1.2B	8.1	11.67
291ppm.	1.51 C	0.63 C	1.4 A	7.9	11.4

Determinación de la proporción sexual con dosis subletales

En relación con la proporción de sexos en el cuadro 6, se aprecia el número de hembras y machos producidos por cada hembra progenitora, como se puede apreciar en todos los tratamientos represento un mayor número de hembras que de machos. En relación con los promedios obtenidos en los diferentes tratamientos, se puede observar una mayor producción de machos en el tratamiento de 131 ppm, seguido del

tratamiento de 291 y 204 ppm. En comparación con testigo presentan similitud. Este comportamiento posiblemente se deba a la razón de que algunas hembras no alcanzaron a aparearse o al realizar la copula no se paso suficiente esperma. Esto puede ser sustentado bajo lo mencionado por Helle y Pijnacker (1985) mencionando que Tetranychidae puede considerarse como normal una proporción sexual de tres hembras por macho siempre y cuando los huevecillos hayan sido fecundados.

Cuadro 6. - Proporción sexual de la descendencia de hembras de *T. urticae* expuestas a dosis subletales de Dicofol.

	Hembras Progenitoras	Machos	Hembras
	Total	Total	Total
Testigo	41	10	31
131ppm	43	10	33
204ppm,	38	07	31
291ppm	40	09	31

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones que se desarrollo esta investigación podemos concluir:

- 1.- El dicofol Presenta una CL_{50} de 466.9ppm a las 48 hr.
- 2.- Las dosis subletales de 204 ppm en la cual se obtuvo una mayor oviposición con respecto al testigo.
- 3.- El tiempo de desarrollo de *T. urticae* presento un aumento en el ciclo de desarrollo con ácaros expuestos a dosis subletales.
- 4.- La proporción sexual de manera general fue de: 1:3 (macho: hembras).

LITERATURA CITADA

- Barberá C: 1988. Pesticidas Agrícolas. Ed. Omega, pp 101- 116.
- Boudreaux, H. B. 1958. The effect of relative humidity on egg – laying, hatching, and survival in various spider mites. Jour. Insect. Physiol. 2: 65.
- Brandenburg, R. L. y G. G. Kennedy. 1981. Differences in dorsal integumentary lobe densities between *Tetranychus urticae* Koch and *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acarina: Tetranychidae) From northeastern North Carolina. Internat. Jour. Acarol. 7: 231 – 234.
- Carbonaro M. A., D. E. Moreland, V. E. Edge, N. Motoyama, G. C. Rock y W. C.
- CICOPLAFEST. 1997. Catalogo oficial de plaguicidas. Comision Intersecretarial para el Control de roceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Toxicas. SAGAR-483p.
- Crooker A. 1985. Embryonic and Juvenile Development. En, Helle W. y W. M. Sabelis Edits. : Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1^a. Elsevier Sci. Publ. Co. pp 149 – 160.
- Diccionario de Especialidades Agroquímicas. 1998. Ediciones PLM, S. A de C.V.
- FAO(1979), Recommended methods for the detection and Measurement of sistanse of agricultural pest to pesticides. FAO plant Protection Bull. 27:29-32
- Flores, A. E. 1992. Tolerancia y hormoligosis en poblaciones de campo de *Eutetranychus banksi* (Mc Gregor) (Acarida: Tetranychidae) expuestas al acaricida dicofol. Disertación Doctoral ITESM; Monterrey, México.

- Gerson, U. 1985. Webbing. En Helle y Sabelis, edits: Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1^a. Elsevier Sci. Publ. Co. Pp 223.
- Gould, H. J. 1987. Protected crops. Burn A. J., T. H. Croaker y P. C. Jeppson, edits: Integrated Pest Management. Academic. Press. Pp 404 - 405.
- Helle W. y L. P. Pijnacker. 1985. Parthenogenesis, chromosomes y sex. En helle y Sabelis, edits: Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1^a. Elsevier Sci. Publ. Co. Pp. 129 – 138.
- Helle, W., and W.P.J. Overmeer. 1973. Variability in tetranychid mites. Ann. Rev. Entomol. 18:97-120.
- Henderson. C.F.. Tilton, E.N; 1995; Tests with acaricides against the brown wheat mite; Journal entomology; V: 18: 157-161.
- Jeppson, L. R., H. H. Keifer, y E. W. Baker. 1975 Mites Injurious to Economic Plants. University of California Press. 614 pp.
- Kennedy, G. C. y D. R. Smitley. 1985. Dispersal en Helle W. y M. W. Sabelis, edits: Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1^a. Elsevier Science Publishing Company. Pp 233 – 240.
- Krantz, G. W. 1970. A. Manual of Acarology. P 509. Oregon State University. Book Stores Inc.
- Luckey, Y. D. 1968. Insecticide hormoligosis. J. Econ. Entomol. 61: 7 – 12. Mollet J. A. y V. Sevacherian. 1984. Effect of temperature and humidity on dorsal striallobe densities in *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae) Internat. J. Acarol. 10: 159 – 161.

- Mollet, J. A. y V. Sevacherian. 1984. Effect of temperature and humidity on dorsal Striallobe densities in *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae) Internat. J. Acarol. 10: 159 – 16.
- Nelson, R. D. y E. M. Stafford. 1972. Effects of gamma radiation on the biology and population suppression of the two – spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. Hilgardia 41: 229 – 341.
- Osborne L.S., L. E. Ehler, and J. R. Nechols. (1999). Biological Control of the Twospotted Spider Mite in Greenhouses. University of Florida. Bulletin 853.
- Parr, W.J., and N.W. Hussey. 1966. Diapause in the glasshouse red spider mite (*Tetranychus urticae* Koch): a synthesis of present knowledge. Hort. Res. 6:1-21.
- Romanh. C.V.; Ramirez, H.M. y Treviño, J.G. 1994. Dendrometria. Universidad Autonoma Chapingo, México Pp.161-164.
- Saitó, Y. 1985. Life Types of Spider Mites. En Helle W. y M. W. Sabelis (Editores). Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Elviesier Science Publishing Company. 253 – 264. pp.
- Sances, F.V., J.A. Wyman, and I.P. Ting. 1979. Morphological responses of strawberry leaves to infestations of twospotted spider mite). J. Econ. Entomol. 72:710-713.
- Van de Vrie, J. A. McMurtry y C. B. Huffaker. 1972. Biology, ecology, and pest status and host – plants relations of tetranychids en ecology of tetranychid mites and their natural enemies: a review. Hilgardia. Vol. 41: 343 – 432.
- Velasco, H. y F. Pacheco. 1968. Biología, morfología y evaluación tóxica de acaricidas en la araña roja de la fresa *Tetranychus telarius* L. Agrociencia 3:43 – 45.

Wrensch D. L. 1985. Reproductive parameters. En Hell W. y M. W. Sabelis (editores)
Spider Mites Biology, Natural Enimies and Control. Vol 1^a. Elsevier Sci. Publ. Co.
Pp 165 – 168.

Zar, J. H. 1974. Biostatistical Analysis. Prentice – Hall. Englewood cliffs, N. J. 620 p.

APÉNDICE

Cuadro 7.- Respuesta de *T. urticae* a diferentes concentraciones de Dicofol, para la Determinación de la ventana Biológica.

Trat.	Conteo previo	24 hrs.muertos	48 hrs. muertos
Testigo	31	0	2
500ppm.	58	15	19
1000ppm	42	19	21
3000ppm.	86	77	83
5000ppm.	54	53	54
7000ppm.	40	40	----
10000ppm	35	35	----

Cuadro 8.-Respuesta de *T. Urticae* a diferentes concentraciones de Dicofol, para la Determinación de la CL50.

Trat.	Conteo previo	24 hrs. Muertos	48 hrs. Muertos
Testigo	53	3	5
500ppm.	38	16	25
1000ppm.	41	25	30
1500ppm.	46	30	35
2000ppm.	39	35	36
2500ppm.	32	29	30
3000ppm.	33	31	32
3500ppm	36	----	----

Cuadro 9.- % de eficiencia del Dicofol en *T. urticae*

Dosis / Tiempo	% en 24hrs.	% en 48hrs.
500ppm.	31.6	59
1000ppm.	53	68
1500ppm.	60	72
2000ppm.	89	92
2500ppm.	90.2	94
3000ppm.	92	96
3500ppm	100	100

Cuadro 10.-Análisis Varianza para obtención de huevecillos en etapa de oviposición.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	700.8	233.6	2.8	0.07
Error	16	1343.01	83.9		
Total	19	2043.8			

C.V. = 33.75 %

* No hay diferencia significativa entre tratamientos

Cuadro 11. – Análisis de Varianza del Tiempo de Desarrollo de larvas de *T. urticae* expuestas a diferentes concentraciones de Dicofol.

FV	GL	SC	CM	F _{CAL.}	P>F
Tratamientos	3	0.36	0.123	2.84	0.038
Error	172	7.44	0.0432		
Total	175	7.81			

C. V. = 13.31

Cuadro 12. – Comparaciones de medias del Tiempo de Desarrollo de larvas de *T. urticae* a diferentes concentraciones de Dicofol.

Tratamiento	Media	
3	1.6136	A
2	1.6023	AB
1	1.5227	BC
4	1.5114	C

Nivel de Significancia = 0.05

Símbolos: 1 = Testigo, 2 = 131ppm, 3 = 204ppm, 4 = 291ppm.

VALORES DE DMS

dms(3 2) = 0.0869
 dms(3 1) = 0.0869
 dms(3 4) = 0.0869
 dms(2 3) = 0.0869
 dms(2 1) = 0.0869
 dms(2 4) = 0.0869
 dms(1 3) = 0.0869
 dms(1 2) = 0.0869
 dms(1 4) = 0.0869
 dms(4 3) = 0.0869
 dms(4 2) = 0.0869
 dms(4 1) = 0.0869

Cuadro 13. – Análisis de Varianza del Tiempo de Desarrollo de Protoninfas de *T. urticae* expuestas a diferentes concentraciones de Dicofol.

FV	GL	SC	CM	F _{CAL.}	P>F
Tratamientos	3	2.89	0.964	14.63	0.00
Error	128	8.439	0.0659		
Total	131	11.333			

C.V. = 30.81 %

Cuadro 14. – Comparaciones de medias del Tiempo de Desarrollo de Protoninfas de *T. urticae* a diferentes concentraciones de Dicofol.

Tratamiento	Media	
1	1.0000	A
2	0.9394	A
3	0.7727	B
4	0.6212	C

Nivel de Significancia = 0.05

VALORES DE DMS

dms(1 2) = 0.1239
dms(1 3) = 0.1239
dms(1 4) = 0.1239
dms(2 1) = 0.1239
dms(2 3) = 0.1239
dms(2 4) = 0.1239
dms(3 1) = 0.1239
dms(3 2) = 0.1239
dms(3 4) = 0.1239
dms(4 1) = 0.1239
dms(4 2) = 0.1239
dms(4 3) = 0.1239

Cuadro 15. – Análisis de Varianza del Tiempo de Desarrollo de Deutoninfas de *T. urticae* expuestas a diferentes concentraciones de Dicofol.

FV	GL	SC	CM	F _{CAL.}	P>F
Tratamientos	3	3.288	1.096	19.32	0.00
Error	100	5.673	0.056		
Total	103	8.961			

C.V. = 19.35 %

Cuadro 16. – Comparaciones de medias del Tiempo de Desarrollo de Deutoninfas de *T. urticae* a diferentes concentraciones de Dicofol

Tratamiento	Media	
4	1.4423	A
2	1.3462	A
3	1.1538	B
1	0.9808	C

Nivel de Significancia = 0.05

VALORES DE DMS

dms(4 2) = 0.1306
 dms(4 3) = 0.1306
 dms(4 1) = 0.1306
 dms(2 4) = 0.1306
 dms(2 3) = 0.1306
 dms(2 1) = 0.1306
 dms(3 4) = 0.1306
 dms(3 2) = 0.1306
 dms(3 1) = 0.1306
 dms(1 4) = 0.1306
 dms(1 2) = 0.1306
 dms(1 3) = 0.1306

Cuadro 17. – Análisis de Varianza del Tiempo de Desarrollo de Adultos de *T. urticae* expuestas a diferentes concentraciones de Dicofol.

FV	GL	SC	CM	F _{CAL.}	P>F
Tratamientos	3	2.618	0.872	1.263	0.301
Error	36	24.875	0.690		
Total	39	27.493			

C.V. = 10.57 %

*No se hace la comparación de medias porque no hay diferencia significativa entre tratamientos