

DISEÑO DE UNA MATRIZ MICROENCAPSULANTE A PARTIR DE COMPUESTOS BIODEGRADABLES PARA LA ELABORACIÓN DE UN BIOINSECTICIDA

Ninfa M. ROSAS-GARCÍA y Erick de Jesús DE LUNA-SANTILLANA

Laboratorio de Biotecnología Ambiental. Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Blvd. del Maestro s/n esq. Elías Piña, Narciso Mendoza, Reynosa 88710 Tamps, México, correo electrónico: nrosas@ipn.mx

(Recibido mayo 2006, aceptado octubre 2006)

Palabras clave: polímeros naturales, ambiente, formulación, insecto-plaga

RESUMEN

Se diseñaron diversas matrices microencapsulantes a partir de compuestos naturales totalmente biodegradables y se evaluó su actividad fagoestimulante contra *Argyrotaenia sp.*, un lepidóptero plaga del aguacate. Las matrices microencapsulantes se prepararon a base de un agente encapsulante de almidón de maíz modificado (Capsul®), adherentes como la goma guar, goma arábica y gelatina y fagoestimulantes como hoja de aguacate en polvo y cáscara de aguacate en polvo. De la combinación de estos ingredientes se obtuvieron nueve mezclas en forma granular que fueron evaluadas mediante bioensayos de preferencia alimenticia con larvas neonatas de *Argyrotaenia sp.* Estas mostraron una mayor preferencia alimenticia hacia las matrices microencapsulantes que contienen fagoestimulantes, siendo más preferida la hoja en polvo que la cáscara en polvo. El adherente más aceptado por las larvas fue la goma arábica ya que no causó ningún efecto negativo en la preferencia hacia la matriz. De acuerdo con el análisis estadístico, las matrices microencapsulantes más preferidas por las larvas son las siguientes: Capsul®/goma arábica/hoja de aguacate en polvo > Capsul®/goma arábica/cáscara de aguacate en polvo > Capsul®/goma guar/hoja de aguacate en polvo. El diseño de estas matrices microencapsulantes contribuye al desarrollo de insecticidas biológicos, como una opción amigable a la conservación del ambiente.

Key words: natural polymers, environment, formulation, insect-pest

ABSTRACT

Several microencapsulating matrices were designed from completely biodegradable natural compounds and their feeding stimulant effect was evaluated in *Argyrotaenia sp.* which is an avocado lepidopteran pest. Microencapsulating matrices were prepared based on a modified corn-starch encapsulating agent (Capsul®) with adherents such as gelatin, guar gum and Arabic gum, and powdered avocado leaves and powdered avocado rind as feeding stimulants. From the combination of these ingredients, nine types of granules were obtained and evaluated in feeding preference bioassays with neonate larvae of *Argyrotaenia sp.* The larvae exhibited a high feeding preference to microencapsulating matrices containing feeding stimulants, being more preferred the powdered leaves than the powdered rind. The most accepted adherent was the Arabic

gum, because no negative effect was observed in the preference to the matrix. According to statistical analysis the most preferred microencapsulating matrices are as follows: Capsul®/Arabic gum/powdered avocado leaves > Capsul®/Arabic gum/ powdered avocado rind > Capsul®/guar gum/ powdered avocado leaves. The design of these microencapsulating matrices contributes to bioinsecticide development and offers an environmental-friendly option.

INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de insecticidas químicos ha provocado serias implicaciones en la salud del hombre y problemas en el ambiente (ICMR 2001), ya que para el control de plagas de insectos se aplican anualmente 2.5 miles de millones de toneladas de productos químicos a nivel mundial (King 1996).

Los daños causados a la salud en el hombre, el desarrollo de la resistencia de las plagas, el surgimiento de plagas secundarias, así como el ataque a organismos no blanco, han llevado al desarrollo de alternativas biológicas para el control de insectos plaga (Potts 1999). Estas han permitido combatirlas sin afectar el ambiente (Rausell *et al.* 2001) a costos menores que los generados por el empleo de plaguicidas químicos (Trujillo 1998). De aquí surge el desarrollo de bioinsecticidas y el uso agrícola de estos productos, cuya importancia radica principalmente en la preservación del ambiente.

Los agentes de control biológico ofrecen seguridad, selectividad, biodegradabilidad y capacidad infectora hacia un rango estrecho de insectos plaga (Joung y Côté 2000). Deben ser desarrollados de acuerdo con una formulación cuyo objetivo primordial es el de proporcionar estabilidad a los agentes microbianos durante la distribución y el almacenamiento. Así mismo, deben facilitar el manejo y la aplicación del producto y proteger a los agentes de los factores ambientales adversos. Su composición debe ser amigable al ambiente (Rhodes 1993). Estas formulaciones han tenido que ser ampliamente mejoradas debido a que el comportamiento de los insectos es un fenómeno complejo. Se han hecho muchos esfuerzos para aumentar la efectividad en campo de los insecticidas microbianos y estos avances tienden a enfatizar el uso de materiales o métodos específicos para alcanzar un efecto particular deseado. Los adyuvantes son el tipo de sustancias empleadas y sus funciones de atrapamiento, estimulación, atracción, repelencia e inhibición permiten alcanzar en el producto un efecto particular deseado (Dethier *et al.* 1960, Ignoffo *et al.* 1976).

Estos componentes pueden obtenerse fácilmente

a partir de estudios conductuales en la mayoría de los insectos. También de acuerdo al tipo del hábitat en el que se vayan a aplicar (follaje, suelo, agua) y del patógeno a utilizar (tipo, características, mecanismos de reproducción). Así como de la reología de los materiales técnicos (viscosidad, tamaño de partícula, densidad), de las especies de insectos (hábitos alimenticios, nicho de alimentación, ciclo de vida), del modo de acción (oral o por contacto), del modo de aplicación (aéreo o terrestre) y de la tasa de aplicación (l/ha, kg/ha) (Brar *et al.* 2006).

Uno de los agentes adyuvantes más exitosos para la encapsulación de *Bacillus thuringiensis* es el almidón de maíz (Dunkle y Shasha 1988, Bartlet *et al.* 1990, McGuire *et al.* 1990, 1996, McGuire y Shasha 1990, 1992, Gillespie *et al.* 1994, Tamez-Guerra *et al.* 1996), que también se ha utilizado en *Beauveria bassiana* (Rosas-García *et al.* 2001). Se utiliza principalmente como soporte, debido a las ventajas de protección que proporciona al principio activo y de adherencia que presenta sobre otros soportes como las partículas de maíz quebrado, de arcilla o de salvado de trigo (Gillespie *et al.* 1994). Sin embargo, la arcilla ha resultado de gran utilidad en las formulaciones de *B. bassiana* (Studdert y Kaya 1990), al igual que la parafina en este mismo agente (Feng *et al.* 2004). Otros soportes que han demostrado ser efectivos son la harina de maíz (McGuire *et al.* 1996, Tamez-Guerra *et al.* 1996, Ridgway *et al.* 1996), la gelatina y la pectina (Morales-Ramos *et al.* 2000), la quitina y el alginato (Morales-Ramos *et al.* 1998), y la harina de maíz nixtamalizada (Tamez-Guerra *et al.* 1998).

Los estimulantes de la alimentación o fagoestimulantes, permiten el uso de concentraciones reducidas del ingrediente activo en los insecticidas. Estos son factores muy importantes cuando el entomopatógeno tiene que ser ingerido para ser efectivo (Gillespie *et al.* 1994).

Algunos compuestos de origen biológico han sido evaluados para determinar su efecto fagoestimulante en insectos, entre ellos, los aminoácidos, el ácido ascórbico y los glucosinolatos (Allsopp 1992, Bartlet *et al.* 1994, López *et al.* 1994, 1996) han mostrado

efectos positivos. Específicamente, la tirosina, la cisteína, el ácido glutámico y la histidina provocaron un efecto fagoestimulante sobre insectos plaga de la caña de azúcar (Allsopp 1992). Algunos glucosinolatos incrementaron la alimentación de un escarabajo plaga de la col (Bartlett *et al.* 1994). Las cucurbitacinas contenidas en las raíces secas y molidas de la calabaza, indujeron en varios escarabajos del maíz la alimentación sobre cebos envenenados (Metcalf *et al.* 1987). Los extractos frescos y secos provenientes del garbanzo produjeron un efecto fagoestimulante fuerte en la plaga del maíz *Heliothis virescens* (Potter y Watson 1983), al igual que el aceite de maíz en el barrenador europeo del maíz *Ostrinia nubilalis* (Dunkle y Shasha 1988). Este último es utilizado en el desarrollo comercial de un producto natural a base de aceite de algodón registrado como Coax®. Este producto al combinarse con bioinsecticidas incrementa la mortalidad, disminuyendo en 75 % la cantidad de ingrediente activo para controlar una plaga (Bartlett *et al.* 1990).

La persistencia de una formulación, ante la lluvia o la radiación solar es favorecida por el uso de adherentes. La caseína utilizada como adherente brinda resistencia al lavado por la lluvia y proporciona cierta protección contra la degradación inducida por la luz (Behle *et al.* 1996). De la misma manera, las formulaciones a base de *B. thuringiensis* encapsuladas en almidón, tienen una actividad residual mayor, aún en temporada de lluvias. Este hecho es especialmente importante cuando se trata de cultivos de campo (McGuire *et al.* 1994). La harina de maíz pregelatinizada con lignina mejora la actividad residual en estas mismas formulaciones evitando el lavado por la lluvia (Tamez-Guerra *et al.* 2000a, b).

Existen muchos otros aditivos que se han utilizado en las formulaciones con diferentes finalidades. El ácido tánico ha sido aplicado como un aditivo barato que incrementa la eficacia de las concentraciones subletales de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Gibson *et al.* 1995). Los abrillantadores ópticos, el carbón, el polvo de aluminio, la celulosa y algunos colorantes se han utilizado como protectores contra la radiación ultravioleta, en virus (Ignoffo y Batzer 1971) y en bacterias entomopatógenas (Shapiro y Robertson 1992). La cafeína al 0.1 % incrementa la toxicidad del agente y reduce la actividad alimenticia en las larvas de *Mamestra configurata* (Morris *et al.* 1994). Los ácidos fenólicos, como el ácido *p*-cumárico o cinámico incrementan la efectividad de *B. thuringiensis* contra *Homoeosoma electellum* (Brewer y Anderson 1990).

La amplia variedad de sustancias disponibles permite elaborar formulaciones específicamente

dirigidas contra insectos. Así mismo, existe un gran número de especies de insectos susceptibles de ser controladas mediante formulaciones a base de agentes biológicos. Considerando estos hechos, es posible proponer estrategias de control contra diversas plagas agrícolas de importancia económica, como en el caso de *Argyrotaenia sp.* que es un lepidóptero que ataca al cultivo del aguacate. Debido a las ventajas que presentan los bioinsecticidas, por su modo de acción, por su incapacidad para ocasionar daños al ambiente, al humano o a otros organismos vivos y por su alta especificidad, el objetivo del presente estudio fue desarrollar una matriz microencapsulante a base de productos naturales completamente biodegradables, factible de utilizarse en el desarrollo de un insecticida biológico que sea inocuo al ambiente y que proporcione una alternativa eficaz al uso de los plaguicidas químicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El almidón de maíz modificado fue proporcionado por Aranal, S.A. en Monterrey, N.L., México, la goma guar, goma arábica y la gelatina bovina fueron adquiridas en Materias Primas Arreola en Monterrey, N.L. México. Las hojas y las cáscaras de aguacate se obtuvieron de árboles de la variedad criollo en Reynosa, Tamaulipas, México.

Preparación de las matrices microencapsulantes

Los matrices microencapsulantes se prepararon con una base de almidón de maíz modificado (Capsul®), 30 % de adherente (goma guar, goma arábica y gelatina bovina) y 4 % de fagoestimulante (hoja de aguacate en polvo y cáscara de aguacate en polvo). La preparación de los aditivos se realizó de la siguiente manera: las hojas de aguacate se lavaron previamente con agua corriente, se secaron y se colocaron en un horno de tiro forzado a temperatura de 40 °C por 7 días, una vez deshidratadas se pulverizaron en un molino de perlas durante 5 h. El polvo obtenido se guardó en un contenedor hermético hasta su uso. Las cáscaras de aguacate, previa eliminación de la pulpa, se lavaron con agua corriente y se dejaron secar durante 10 días a temperatura ambiente, posteriormente se colocaron en un horno de tiro forzado a 40 °C por 3 días. Después del proceso de deshidratación, las cáscaras se molieron en un molino eléctrico (marca Proctor-Silex Mod. E160B) y el polvo obtenido se guardó en un contenedor hermético.

Las mezclas granulares fueron preparadas de

acuerdo al método reportado por Rosas-García *et al.* (2004). Se homogenizaron en seco 50g de Capsul®, 15 g de adherente y 2 g de fagoestimulante, posteriormente se agregaron 25 ml de agua destilada y la mezcla se integró con una espátula para formar sólidos con apariencia de miga. Estos sólidos se colocaron sobre un papel encerado en charolas de aluminio y se deshidrataron en un horno de tiro forzado a una temperatura entre 40 y 45 °C por 24 h. Los sólidos obtenidos se desmoronaron manualmente utilizando guantes de látex y se pasaron a través de un tamiz con malla número 6 para obtener gránulos de tamaño homogéneo. Los gránulos secos se almacenaron en contenedores de plástico herméticos a temperatura ambiente hasta su utilización. La composición de las matrices microencapsulantes se esquematiza en el **cuadro I**.

Insectos

Los ejemplares de estudio fueron proporcionados por el Área de Cría de Insectos del Laboratorio de Biotecnología Ambiental del CBG-IPN. Para todos los bioensayos se utilizaron larvas neonatas de *Argyrotaenia sp.*

Bioensayo de preferencia alimenticia

Para determinar la preferencia alimenticia de las larvas de *Argyrotaenia sp.* se realizaron bioensayos a las matrices microencapsulantes de acuerdo con el método de dos alternativas descrito por Bartlett *et al.* 1990. El fondo de cajas de Petri de 5 cm de diámetro se cubrió con una capa de mezcla de pasta de París y carbón activado en proporción 15:1, la que se dejó secar por 6 horas a temperatura ambiente. Posteriormente la mezcla fue humedecida con agua corriente y se colocaron en ella 0.2 g de cada matriz

microencapsulante formando una pila de gránulos en los polos opuestos de la caja de Petri para su confrontación. Como testigo se utilizaron trozos de 25 mm² de hoja fresca de aguacate. Diez larvas neonatas de *Argyrotaenia sp.* se colocaron en el centro de cada caja de Petri. Las cajas se taparon y sellaron con Parafilm® en los bordes para evitar la pérdida de larvas. Para cada tratamiento se hicieron 5 repeticiones. Los tratamientos fueron incubados a 28 °C por 24 h en oscuridad y finalizado este proceso se sometieron a congelación rápida a -30 °C por 8 h.

Análisis estadístico

El número de larvas sobre cada pila de gránulos fue registrado y los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) (F calculada) y la prueba de comparación de medias de Tukey con una $p \leq 0.05$, en donde se comparó la media del número de larvas sobre cada pila con su error estándar utilizando el programa SPSS versión 10.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluaron un total de 45 combinaciones de pares de matrices microencapsulantes. Todas las matrices se elaboraron a base de almidón de maíz cuya función fue la de servir como soporte y agente encapsulante (McGuire *et al.* 1990, 1996, McGuire y Shasha 1990, 1992, Gillespie *et al.* 1994, Tamez-Guerra *et al.* 1996). Las pruebas de preferencia alimenticia no se realizaron sobre este polímero debido a que el olor o el sabor que presenta son enmascarados por los fagoestimulantes principalmente y por los adherentes. Además se ha documentado que el almidón de maíz como único ingrediente de

CUADRO I. COMPOSICIÓN DE LAS MATRICES MICROENCAPSULANTES

Matriz encapsulante	Soporte	Adherentes			Fagoestimulantes	
	Capsul®	Gelatina bovina	Goma guar	Goma arábica	Hoja de aguacate en polvo	Cáscara de aguacate en polvo
M1	X	X				
M2	X	X			X	
M3	X	X				X
M4	X		X			
M5	X		X		X	
M6	X		X	X		X
M7	X			X		
M8	X			X	X	
M9	X					X

las formulaciones no favorece la alimentación del insecto (Rosas-García *et al.* 2004).

Las matrices microencapsulantes preferidas por las larvas fueron M5, M8 y M9. Este resultado se obtuvo del análisis de varianza que mostró una diferencia muy significativa ($F = 5.72$, $gl = 9$, $p < 0.001$) de estas tres matrices contra el resto. Las matrices M5 y M8 contienen hoja de aguacate en polvo como fagoestimulantes, aunque el adherente es diferente, mientras que la M8 y M9 tienen en común la goma arábica, pero su fagoestimulante es diferente. Esto indica que la combinación óptima es la que contiene hoja de aguacate como fagoestimulante y goma arábica como adherente (**Cuadro II**).

CUADRO II. PREFERENCIA ALIMENTICIA DE LAS LARVAS DE *Argyrotaenia sp.* HACIA LAS MATRICES MICROENCAPSULANTES

Matriz microencapsulante	Media del número de larvas $\pm$ EE ⁿ
M1	1.89 $\pm$ 0.218 ^a
M2	2.93 $\pm$ 0.245 ^{abc}
M3	2.89 $\pm$ 0.240 ^{abc}
M4	1.89 $\pm$ 0.351 ^a
M5	3.78 $\pm$ 0.439 ^{bc}
M6	2.69 $\pm$ 0.393 ^{ab}
M7	3.20 $\pm$ 0.472 ^{abc}
M8	4.09 $\pm$ 0.464 ^{bc}
M9	3.98 $\pm$ 0.484 ^{bc}
Hoja fresca	4.44 $\pm$ 0.280 ^c

n = 450 (número total de larvas utilizado en el experimento). Las letras a, b, c, en la columna indican diferencia estadística entre tratamientos. Los tratamientos que comparten letras no tienen diferencia estadística significativa. Prueba de Tukey, $p \leq 0.05$. La hoja fresca de aguacate se utilizó como testigo

Los adherentes empleados en este estudio mostraron diferencias en cuanto a la preferencia por parte de las larvas (**Cuadro III**), de acuerdo con el análisis estadístico se observó una diferencia muy significativa ($F = 12.73$, $gl = 3$, $p < 0.001$) de la goma arábica con respecto a la gelatina y a la goma guar, siendo la primera la más aceptada y quedando las dos últimas con la misma preferencia. Si bien los adherentes no son agregados para incrementar la palatabilidad, sino para mejorar la residualidad del producto, su influencia en la preferencia alimenticia es evaluada debido a que proporcionan olor y sabor.

En términos generales, las matrices microencapsulantes que contienen fagoestimulantes fueron preferidas por las larvas que las matrices que carecen de

CUADRO III. EFECTO CAUSADO POR LOS ADHERENTES EN LA PREFERENCIA ALIMENTICIA DE *Argyrotaenia sp.*

Adherente	Media del número de larvas $\pm$ EE ⁿ
Gelatina	1.89 $\pm$ 0.21 ^a
Goma guar	1.89 $\pm$ 0.35 ^a
Goma arábica	3.20 $\pm$ 0.47 ^b
Hoja fresca	4.44 $\pm$ 1.88 ^c

n = 45 (número total de larvas utilizado en el experimento). Las letras a, b, c, en la columna indican diferencia estadística entre tratamientos. Los tratamientos que comparten letras no tienen diferencia estadística significativa. Prueba de Tukey, $p \leq 0.05$. La hoja fresca de aguacate se utilizó como testigo

ellos de acuerdo con el análisis de varianza que indicó una diferencia muy significativa entre ambos tipos de matrices ($F = 14.15$, $gl = 2$, $p < 0.001$) (**Cuadro IV**).

Esta observación indica que tanto la hoja de aguacate en polvo como la cáscara de aguacate en polvo, funcionan eficazmente como estimulantes de la alimentación. Sin embargo, no todos los fagoestimulantes actúan de la misma manera, ya que esto depende de los hábitos alimenticios de los insectos. Por este motivo el análisis de la comparación entre los fagoestimulantes utilizados mostró una alta diferencia significativa ($p = 4.15$, $gl = 2$, $p = 0.017$), en donde la hoja de aguacate en polvo presentó una media más alta en el número de larvas que la cáscara de aguacate en polvo y una media menor que la hoja fresca que es el sustrato natural del insecto, por lo que la hoja en polvo fue seleccionada como el mejor fagoestimulante (**Cuadro V**).

El uso de estos ingredientes asegura que las formulaciones insecticidas sean efectivamente ingeridas por el insecto y debido a que provienen de fuentes naturales, los peligros de contaminación por su liberación al ambiente son mínimos o nulos. De

CUADRO IV. EFECTO CAUSADO POR LOS FAGOSTIMULANTES EN LA PREFERENCIA ALIMENTICIA DE *Argyrotaenia sp.*

Matriz microencapsulante	n	Media del número de larvas $\pm$ EE
Sin fagoestimulante	270	2.33 $\pm$ 0.21 ^a
Con fagoestimulante	135	3.39 $\pm$ 0.16 ^b
Hoja fresca	45	4.44 $\pm$ 0.28 ^c

n = número de larvas utilizadas en el experimento. Las letras a, b, c, en la columna indican diferencia estadística entre tratamientos. Los tratamientos que comparten letras no tienen diferencia estadística significativa. Prueba de Tukey, $p \leq 0.05$. La hoja fresca de aguacate se utilizó como testigo

CUADRO V. EFECTO DE CADA FAGOESTIMULANTE SOBRE LA PREFERENCIA ALIMENTICIA DE LARVAS DE *Argyrotaenia* sp.

Tipo de fagoestimulante	n	Media del número de larvas $\pm$ EE
Cáscara de aguacate en polvo	135	3.19 $\pm$ 0.23 ^a
Hoja de aguacate en polvo	135	3.60 $\pm$ 0.23 ^{ab}
Hoja fresca	45	3.60 $\pm$ 0.23 ^{ab}

n = número de larvas utilizadas en el experimento. Las letras a, b, en la columna indican diferencia estadística entre tratamientos. Los tratamientos que comparten letras no tienen diferencia estadística significativa. Prueba de Tukey, $p \leq 0.05$. La hoja fresca de aguacate se utilizó como testigo

hecho, las hojas o cáscaras o algunos otros residuos derivados de la industria alimenticia, pueden ser ampliamente utilizados en el desarrollo de estos productos, evitando de esta manera la acumulación de residuos en el ambiente.

CONCLUSIONES

El proceso de encapsular las formulaciones bioinsecticidas es un avance reciente de la biotecnología que proporciona protección de las condiciones ambientales extremas (radiación UV, lluvia, viento, etc.) al ingrediente activo y aumentan su estabilidad residual. Las encapsulaciones fueron parte de los insecticidas químicos e involucraron la adición de matrices como polivinil propileno, alcohol polivinílico, arcilla, etc., lo que finalmente condujo a la explotación de biopolímeros para hacer productos más amigables al ambiente (Brar *et al.* 2006). El uso actual de biopolímeros y de materiales de origen vegetal, permite diseñar matrices microencapsulantes más específicas para la plaga que desea combatirse, éstas reducen las posibilidades de que un insecto no blanco la ingiera y se vuelven muy efectivas para el control de insectos en presencia de un ingrediente activo, además al ser completamente biodegradables se reduce en gran medida el impacto ambiental adverso (Morales-Ramos *et al.* 2000, De Luna-Santillana, 2002, Rosas-García *et al.* 2004).

La matriz microencapsulante diseñada en este estudio para el futuro desarrollo de insecticidas biológicos contra *Argyrotaenia* sp. es Capsul®/goma arábica/hoja de aguacate en polvo, mezcla que demostró ser similarmente apetecible al sustrato natural del insecto, que es la hoja fresca.

Las matrices microencapsulantes desarrolladas a base de productos 100 % biodegradables confieren

propiedades ecológicamente benéficas, como la especificidad hacia un insecto plaga, la nula o baja residualidad y la inocuidad para el hombre y los animales. La producción de matrices microencapsulantes específicamente diseñadas para una plaga de insectos resulta atractiva como alternativa al uso de los plaguicidas químicos, que en muchas ocasiones pueden considerarse como una amenaza contra el ambiente y la salud humana (Harris y Dent 2000).

Una selección adecuada de ingredientes marcará la pauta para la producción exitosa de insecticidas biológicos que controlen a los individuos de una población de insectos plaga y a la vez sean amigables con el ambiente y el ecosistema.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Fondo Mixto del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Gobierno del Estado de Nayarit el apoyo financiero recibido mediante el proyecto No. 9452 para la realización del presente estudio y a Aranal, S.A. de C.V. por la donación del Capsul®.

REFERENCIAS

- Allsopp P.G. (1992). Sugars, amino acids, and ascorbic acid as phagostimulants of larvae of *Antitrogonus parvulus* and *Lepidota negatoria* (Coleoptera: Scarabaeidae). J. Econ. Entomol. 85, 106-111.
- Bartlett R.J., McGuire M.R. y Black D.A. (1990). Feeding stimulants for the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae): Additives to a starch-based formulation for *Bacillus thuringiensis*. Environ. Entomol. 19, 182-189.
- Bartlett E., Parsons D., Williams I.W.H., y Clark S.J. (1994). The influence of glucosinolates and sugars on feeding by the cabbage stem flea beetle, *Psylliodes chrysocephala*. Entomol. Exp. Appl. 73, 77-83.
- Behle R.W., McGuire M.R. y Shasha B.S. (1996). Extending the residual toxicity of *Bacillus thuringiensis* with casein-based formulations. J. Econ. Entomol. 89, 1399-1405.
- Brar S.K., Verma M., Tyagi R.D. y Valéro J.R. (2006). Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. Process Biochem. 41, 323-342.
- Brewer G.J. y Anderson M.D. (1990). Modification of the effect of *Bacillus thuringiensis* on sunflower moth (Lepidoptera:Pyralidae) by dietary phenols. J. Econ. Entomol. 83, 2219-2224.

- De Luna-Santillana E. (2002). Desarrollo de formulaciones de *Bacillus thuringiensis* a partir de gelatina y/o pectina y evaluación tóxica contra el gusano barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis*. Tesis de Maestría en Ciencias con esp. en Microbiología. FCB. División de Estudios de Postgrado, UANL. Monterrey, N. L. México.
- Dunkle R.L. y Shasha B.S. (1988). Starch encapsulated *Bacillus thuringiensis*: a potential new method for increasing environmental stability of entomopathogens. *Environ. Entomol.* 17, 120-126.
- Dethier V.G., Browne L.B. y Smith C.N. (1960). The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. *J. Econ. Entomol.* 53, 134-136.
- Feng M.G., Pu X.P., Ying S.H. y Wang Y.G. (2004). Field trials of an oil-based emulsifiable formulation of *Beauveria bassiana* conidia and low application rates of imidacloprid for control of false-eye leafhopper *Empoasca vitis* on tea in southern China. *Crop Protect.* 23, 489-496.
- Gibson D.M., Gallo L.G., Krasnoff S.B. y Ketchum R.E. B. (1995). Increased efficacy of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in combination with tannic acid. *J. Econ. Entomol.* 8, 270-277.
- Gillespie R.L., McGuire M.R. y Shasha B.S. (1994). Palatability of flour granular formulations to European corn borer larvae (Lepidoptera:Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* 87, 452-457.
- Harris J. y Dent D. (2000). Priorities in biopesticide research and development in developing countries. CABI Publishing, pp. 1-35.
- ICMR Bulletin (2001). Pesticide pollution: trends and perspective. Indian Council of Medical Research. India.
- Ignoffo C.M. y Batzer O.F. (1971). Microencapsulation and ultraviolet protectants to increase sunlight stability of an insect virus. *J. Econ. Entomol.* 64, 850-853.
- Ignoffo C.M., Hostetter D.L. y Smith D.B. (1976). Gustatory stimulant, sunlight protectant, evaporation retardant: three characteristics of a microbial insecticidal adjuvant. *J. Econ. Entomol.* 69, 207- 210.
- Joung K.B. y Côté J.C. (2000). A review of environmental impacts of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. Horticultural R&D Centre. Technical Bulletin No. 29.
- King E.G. (1996). Avances recientes en la biotecnología en *Bacillus thuringiensis*: control de insectos y ácaros. 1ª ed. U.A.N.L., pp. 13-19.
- Lopez J.D., Shaver T.N. y Lingren P.D. (1994). Evaluation of feeding stimulants for adult *Helicoverpa zea*. En: *Proceedings, Beltwide Cotton Production and Research Conferences*, National Cotton Council, Memphis, TN. 19, pp. 920-924.
- Lopez J.D., Bull D.L. y Lingren P.D. (1996). Feeding of adult *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on dry sucrose. *J. Econ. Entomol.* 89, 119-123.
- McGuire M.R. y Shasha B.S. (1990). Sprayable self-encapsulating starch formulations for *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 83, 1813-1817.
- McGuire M.R., Shasha B.S., Lewis L.C., Bartlet R.J. y Kinney K. (1990). Field evaluation of granular starch formulations of *Bacillus thuringiensis* against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera:Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* 83, 2207-2210.
- McGuire M.R. y Shasha B.S. (1992). Adherent starch granules for encapsulation of insect control agents. *J. Econ. Entomol.* 85, 1425-1433.
- McGuire M.R., Shasha B.S., Lewis L.C. y Nelsen T.C. (1994). Residual activity of granular starch-encapsulated *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 87, 631-637.
- McGuire M.R., Shasha B.S., Eastman C.E. y Oloumi-Sadeghi H. (1996). Starch- and flour-based sprayable formulations: effect on rainfastness and solar stability of *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 89, 863-869.
- Metcalfe R.L., Ferguson J.E., Lampman R. y Andersen J.F. (1987). Dry cucurbitacin-containing baits for controlling diabroticite beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 80, 870-875.
- Morales-Ramos L.H., McGuire M.R. y Galán-Wong L.J. (1998). Utilization of several biopolymers of granular formulations of *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 91, 1109-1113.
- Morales-Ramos L.H., McGuire M.R., Galán-Wong L. J. y Franco-Castro R. (2000). Evaluation of pectin, gelatin, and starch granular formulations of *Bacillus thuringiensis*. *Southwest. Entomol.* 25, 59- 67.
- Morris O.N., Trottier M., McLaughlin N.B. y Converse V. (1994). Interaction of caffeine and related compounds with *Bacillus thuringiensis* spp. *kurstaki* in bertha armyworm (Lepidoptera:Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 87, 610-617.
- Potts L. (1999). *Feeding stimulants and semiochemicals as pest management tools*. Consultado el 28 de febrero de 2006. http://www.colostate.edu/Depts/Entomology/courses/en507/papers_1999/potts.htm.
- Potter M.F. y Watson T.F. (1983). Garbanzo bean as a potential feeding stimulant for use with a nuclear polyhedrosis virus of the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 76, 449-451.
- Rausell C., Martínez-Ramírez A.C., García-Robles I. y Real M.D. (2001). *Bacillus thuringiensis* en el control de lepidópteros que constituyen plagas forestales. En: *Bioinsecticidas: fundamentos y aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el control integrado de plagas*. (P. Caballero y J. Ferré, Eds.) M. V. Phytoma-España, S. L., España, pp. 233-269.

- Rhodes D. (1993). Formulation of biological control agents. *En Exploitation of microorganisms* (D.G. Jones, Ed.) Chapman and Hall. Londres, pp.411-439
- Ridgway R.L., Illum V.L., Farrar R.R.Jr., Calvin D.D., Fleischer S.J. e Inscoe M.N. (1996). Granular matrix formulation of *Bacillus thuringiensis* for control of the European corn borer (Lepidoptera:Pyralidae). *J. Econ Entomol.* 89, 1088-1094.
- Rosas-García N.M., Arévalo-Niño K., Galán-Wong L.J. y Morales-Ramos L.H. (2004). Evaluation of feeding stimulants combined with polymers to develop formulations against *Diatraea saccharalis*. *Southwest. Entomol.* 29, 153-158.
- Shapiro M. y Robertson J.L. (1992). Enhancement of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) *Baculovirus* activity by optical brighteners. *J. Econ. Entomol.* 85, 1120-1124.
- Studdert J.P. y Kaya H.K. (1990). Water potential, temperature, and clay-coating of *Beauveria bassiana* conidia: effect on *Spodoptera exigua* pupal mortality in two soil types. *J. Invertebr. Pathol.* 56, 327-336.
- Tamez-Guerra P., McGuire M.R., Medrano-Roldán H., Galán-Wong L.J., Shasha B.S. y Vega F.E. (1996). Sprayable granule formulations for *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 89, 1424-1430.
- Tamez-Guerra P., Castro-Franco R., Medrano-Roldán H., McGuire M.R., Galán-Wong L.J. y Luna-Olvera H.A. (1998). Laboratory and field comparisons of strains of *Bacillus thuringiensis* for activity against noctuid larvae using granular formulations (Lepidoptera). *J. Econ. Entomol.* 91, 86-93.
- Tamez-Guerra P., McGuire M.R., Behle R.W., Hamm J.J., Sumner H.R. y Shasha B.S. (2000a). Sunlight persistence and rainfastness of spray-dried formulations of baculovirus isolated from *Anagrapha falcifera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 93, 210-218.
- Tamez-Guerra P., McGuire M.R., Behle R.W., Shasha B.S. y Galán-Wong L.J. (2000b). Assessment of microencapsulated formulations for improved residual activity of *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 93, 219-225.
- Trujillo A.J. (1998). Control biológico e inocuidad alimentaria. Ed. Sistema Mexicano de Control Biológico. Vedralia. 5, 1-2.