

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA FLOXINA B CONTRA LA CONCHUELA DEL FRIJOL *EPILACHNA VARIVESTIS* MULSANT (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

SERGIO ERNESTO CONTRERAS CONTRERAS,* JORGE LUIS LEYVA VÁZQUEZ,* JOSÉ CONCEPCIÓN RODRÍGUEZ MACIEL,* DANIEL S. MORENO** Y CELINA LLANDERAL CÁZARES*

*Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Instituto de Fitosanidad, 56230 Montecillo, Estado de México, MEXICO.

**U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, SARC-CQFIR, 2301 South, International Boulevard, Weslaco, TX 78596

RESUMEN. La conchuela del frijol *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) es susceptible a la acción fototóxica de la floxina B, la cual se formuló con Tween-60 1.0%, glicol polietilénico 1.0%, jabón de aceite de soya 0.1%, fructosa 3.0% y agua. Las larvas y los adultos se alimentaron con hojas de frijol tratadas con esta mezcla a diferentes concentraciones de floxina B. Los bioensayos se realizaron "Bajo Umbráculo" y se complementaron a "Cielo Abierto". Bajo umbráculo las CL_{50} para larvas de tercero y cuarto instar, y adultos machos y hembras fueron de 65, 16, 27.5 y 39.7 ppm, respectivamente. En los bioensayos bajo umbráculo la evaluación de la mortalidad se realizó sólo a las 24 horas. A cielo abierto, se realizó además de la evaluación a las 24 horas, otra a las 72. En ambas modalidades la mortalidad se inició una hora después de exponer los insectos a la luz solar. La mortalidad de las larvas en las pruebas a cielo abierto con 50 y 1000 ppm de floxina B fue de 82.0 y 98.0% en 24 horas, y 91.4 y 100% en 72 horas, respectivamente. El análisis de estos resultados no mostró diferencias significativas, lo que indica que la floxina B actúa eficazmente en 24 horas. Durante la realización de los bioensayos a cielo abierto, el mínimo de horas luz fue 5 h 23 min, y el máximo de 9 h 31 min. Cuando se registró el menor número de horas de luz solar se obtuvieron CL_{50} mayores. Las plantas de frijol tratadas con la mezcla y que estuvieron expuestas a la luz mostraron fitotoxicidad en el área de contacto con la floxina B, en poco más de 48 horas. PALABRAS CLAVE: Coccinellidae, Toxicología, Control de plagas, Pigmentos fototóxicos.

ABSTRACT. The Mexican bean beetle *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) was susceptible to the phototoxic action of phloxine B, which was formulated with Tween-60 1.0%, polyethylene glycol 1.0%, soybean oil soap 0.1%, fructose 3.0% and water. Larvae and adults were fed on bean leaves treated with this formulation at different phloxine B concentrations. The bioassays were carried out under shade, and at open sky conditions. Under shade the CL_{50} corresponding to the larvae of the third and fourth instars, and adults males and females, were 65, 16, 27.5 and 39.7 ppm, respectively. In the bioassays under shade, mortality was recorded only 24 h after treatment. In the open sky bioassays, larval mortality was recorded 24 and 72 h after treatment. In both set of experiments mortality began one hour after exposure to sun light. Larval mortality obtained at open sky with 50 and 1000 ppm of phloxine B was 82.0 and 98.0% at 24 hours, and 91.4 and 100% at 72 hours after treatment, respectively. Analysis of these results did not show any significant differences, which indicates that phloxine B acts efficiently 24 hours after treatment. In the open sky bioassays the minimum hours of light registered were 5 h and 23 min and the maximum were 9 h and 31 min. A greater CL_{50} was obtained when there were fewer light hours. The

Contreras et al.: Efectividad de la floxina B

bean plants treated with the dye, which were exposed to the sun light, showed symptoms of phytotoxicity on the phloxine B contact area in ca. 48 hours.

KEY WORDS: Coccinellidae, Toxicology, Pest control, Phototoxic dyes.

La acción fototóxica de algunos colorantes artificiales se ha documentado en 19 especies de insectos (Heitz 1995). Dentro de los colorantes de acción fotodinámica, los más efectivos como insecticidas son los halógenos del xanteno; la floxina B (Sal disódica 2',4',5',7'-tetrabromo-4,5,6,7-tetraclorofluoresceína) es uno de los tres xantenos más eficientes (Heitz 1995).

Una vez que se ingieren los colorantes, la reacción tóxica depende de la absorción de fotones de la luz visible, con lo cual genera oxígeno en forma excitada. Esta molécula de oxígeno es capaz de oxidar a innumerables componentes celulares y provocar la muerte del insecto (Pimprikar *et al.* 1980). Weaver *et al.* (1976) documentaron la pérdida de volumen de la hemolinfa en *Periplaneta americana* (L.) y *Blatta orientalis* L. (Blattaria: Blattidae) después de que éstas ingirieron este tipo de productos. Pimprikar *et al.* (1979) observaron efectos fisiológicos y morfológicos en larvas de *Culex pipiens quinquefasciatus* Say y *Aedes triseriatus* Say (Diptera: Culicidae) tratados con Rosa de Bengala. Broome *et al.* (1975) observaron efectos que indican que la floxina B y el Rosa de Bengala son altamente eficientes para el control de *Solenopsis richteri* (Forel) (Hymenoptera: Formicidae) y señalaron que la concentración letal del colorante es inversamente proporcional a la intensidad luminosa. David y Heitz (1978) identificaron dos mecanismos de acción letal que la floxina B indujo en *S. richteri*; el primero fue dependiente de la luz y causó mortalidad en pocas horas y el segundo fue independiente de la luz y dependiente del tiempo. Pimprikar *et al.* (1979) observaron que el grado de toxicidad es el resultado del tiempo de exposición a la luz y la concentración del colorante.

Considerando lo anterior, esta investigación tuvo como objetivos evaluar la efectividad biológica de la floxina B contra la conchuela del frijol y observar los síntomas de intoxicación generados por este producto en larvas y adultos de *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae).

MATERIALES Y METODOS

El estudio se efectuó en el invernadero del Programa de Entomología y Acarología del Instituto de Fitosanidad, en el Colegio de Postgraduados en Montecillo, Edo. de México. El estudio se realizó en dos formas: 1) "Bajo Umbráculo", dado que el experimento se realizó bajo tres capas de agromalla de color negro N°50 (con separación entre capas de 0.3-0.5 cm) a un metro sobre el nivel del experimento; y 2) "A Cielo Abierto", cuando las pruebas se realizaron en condiciones similares a las de campo, sin sombra. Se observó en ambos casos, la evolución de la intoxicación

tanto de larvas como de adultos y además, si el colorante provocaba fitotoxicidad. La variable climatológica considerada fue horas de luz solar y fueron medidas con un heliógrafo; las lecturas se tomaron una vez instalada cada repetición hasta transcurrir 24 horas, por lo que sólo se registraron los datos de los días en los que se realizaron las pruebas. Los insectos utilizados fueron criados bajo condiciones ambientales controladas de $25 \pm 3^\circ\text{C}$, $50 \pm 10\%$ H.R. y fotoperíodo de 16:8 h luz:oscuridad. Para la cría de la conchuela se utilizaron plantas de frijol de la variedad Jamapa y en ocasiones, cuando no había suficiente follaje, se proporcionaron vainas frescas de frijol. Para realizar los bioensayos bajo umbráculo se utilizaron larvas de tercero y cuarto estadio y adultos (machos y hembras) con un peso promedio de 9.02, 37.14, 23.13, y 38.21 mg, respectivamente. En la evaluación a cielo abierto únicamente se emplearon larvas de tercero y cuarto estadio. En la realización de los bioensayos se consideró como larva muerta a aquella que se mantenía inmóvil y arqueada ventralmente, o que presentaba regurgitamiento. A los adultos se les consideró muertos cuando por acción de la floxina B presentaban hemolinfa en las membranas articulares de las patas, o endurecimiento del abdomen. Las evaluaciones preliminares se iniciaron con una concentración de 10,000 ppm de floxina B.

Las pruebas se realizaron utilizando la siguiente formulación: floxina B (en diferentes concentraciones), Tween-60 1.0%, glicol polietílico 1.0%, jabón de aceite de soya 0.1%, fructosa 3.0% y agua (Contreras-Contreras 1998).

Evaluación bajo umbráculo. Para aplicar el producto en el follaje se utilizó el método de inmersión de hoja, éste se ha empleado en bioensayos con *E. varivestis* y con insecticidas que actúan por ingestión (Kishaba *et al.* 1962, Kenaga *et al.* 1962, Kenaga *et al.* 1965). El método consistió en sumergir dos hojas de frijol durante 20 segundos en la mezcla con la concentración de floxina B correspondiente; también se incluyeron dos testigos, uno denominado testigo "A", el cual contenía todos los ingredientes excepto la floxina B, y un testigo absoluto al que se le aplicó solamente agua. Las hojas se sumergían en la mezcla antes de cortarlas de la planta para evitar su deshidratación. Una vez que el disolvente se evaporaba, las hojas tratadas se cortaban a la altura del pecíolo y éste se insertaba en tubos de ensaye que contenían agua para mantener la turgencia de las hojas. Posteriormente, se colocaban 15 adultos o 20 larvas sobre cada hoja, según correspondiera al bioensayo. Las hojas estaban fijadas en los tubos de ensaye, de esta forma fue posible fijar los tubos de ensaye en vasos de plástico los que se cerraban con tela organdí, para permitir la ventilación y evitar que los insectos escaparan. Al terminar de aplicar el tratamiento a las hojas y confinar a los insectos, estos se expusieron a la luz bajo el umbráculo.

Para determinar las concentraciones que causaban del cero al 100% de mortalidad se prepararon en serie las siguientes diluciones 0.01, 0.1, 1.0, 10.0, 100.0 y 1 000.0

ppm de floxina B, y después se incluyeron diluciones intermedias para la realización de los bioensayos completos. En total se hicieron cuatro repeticiones en días diferentes. Las concentraciones de floxina B que se evaluaron bajo umbráculo fueron: 1.0, 2.6, 7.0, 19.0, 50.0, 140.0, 370.0, y 1 000.0 ppm. Los registros de la mortalidad se efectuaban 24 h después de iniciado el bioensayo; en cada uno de estos bioensayos también se hicieron cuatro repeticiones.

Evaluación a cielo abierto. En este experimento sólo se evaluó larvas de tercero y cuarto estadios con los tratamientos de 50.0, 140.0, 370.0 y 1000.0 ppm de floxina B, testigo A y testigo absoluto. Cada tratamiento incluyó cuatro repeticiones y se aplicó a 40 plantas de frijol Jamapa en estado fenológico de una hoja verdadera. Estas plantas estaban confinadas en una charola de metal de 45x37x10 cm, y sembradas en suelo fertilizado con 200 g/m² de triple 17, previamente disuelto en agua. Para aplicar el producto sobre las plantas se utilizó un atomizador de 250 mL de capacidad, con una boquilla ultrafina y el gasto promedio de aplicación por las 40 plantas fue de 50 mL. Una vez que las plantas fueron asperjadas con el tratamiento correspondiente, se infestaron con 25 larvas de tercero y cuarto estadio. Para determinar si el consumo del colorante a través del tiempo influía en la mortalidad se realizaron dos muestreos, uno a las 24 horas y el segundo a las 72 horas de la aplicación. En ambos muestreos se determinó el porcentaje de individuos muertos y mediante inspección visual se determinó el grado de fitotoxicidad sobre las plantas de frijol.

Análisis estadístico. En la evaluación bajo umbráculo se utilizó el programa PROBIT (Raymond, 1987) para obtener las líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad y los valores de la CL₅₀ y CL₉₅ para cada bioensayo. En la evaluación a cielo abierto, se usó un diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones; la unidad experimental estuvo conformada por una charola, tomando como parcela útil las 40 plantas. La separación entre charolas fue de 40 cm. En general se evaluaron seis tratamientos con cuatro repeticiones, que dieron un total de 24 unidades experimentales. El análisis estadístico de los resultados de las pruebas a cielo abierto se realizó con el paquete estadístico SAS, aplicando el procedimiento ANOVA (Análisis de varianza) a los datos transformados [arcoseno (raíz cuadrada (% mortalidad/100))] de los porcentajes de mortalidad corregida (Abbot 1925); la separación de medias de los tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

Susceptibilidad de los diferentes estados biológicos. Al probar las concentraciones para establecer la ventana biológica se obtuvo 100% de mortalidad con la concentración de 1000 ppm de floxina B, y el cero por ciento con la concentración de 1 ppm. A partir de estos resultados se procedió a evaluar dosis intermedias. La susceptibilidad fue mayor para larvas de cuarto estadio, seguidas por los machos, hembras y las larvas de tercer estadio (Cuadro 1). En la figura 1 se presentan las líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad. Tomando en cuenta el traslape de los límites fiduciales (Cuadro 1), la CL₅₀ del tercer instar y la de las hembras no son estadísticamente diferentes, y tampoco lo son la LC₅₀ del cuarto estadio y la de los machos. Si acaso se considerasen los límites fiduciales de las CL₉₅, no se declararían diferencias significativas entre ninguna de las etapas biológicas probadas, ya que dichos límites se traslapan.

Cuadro 1

Respuesta de *E. varivestis* a la floxina B usando el método de inmersión de hoja

<i>E. varivestis</i>	CL50 (ppm)	Límites Fiduciales al 95%	CL95 (ppm)	Límites Fiduciales al 95%	Ecuación de regresión
3er. estadio	65.0	50.9-83.4	286.4	202.7-519.9	Y=4.97+2.55X
4º estadio	16.0	11.8-21.4	107.5	68.5-223.4	Y=5.03+1.98X
Hembras	39.7	29.4-53.4	187.7	125.7-394.5	Y=5.02+2.43X
Machos	27.5	19.9-38.6	170.5	105.5-423.8	Y=4.92+2.07X

Lagunes y Villanueva (1995) señalaron que el estado biológico en el que se realizan las pruebas es importante para la expresión de la toxicidad de un producto químico, e indicaron que generalmente las larvas tienen más posibilidad de sobrevivencia a un agente tóxico debido a su elevada capacidad metabólica; sin embargo, en el presente trabajo las larvas del último estadio fueron más susceptibles que las del tercer estadio y las hembras, posiblemente debido a que consumieron mayor cantidad de material tratado. Rodríguez (1986) reportó una susceptibilidad similar al evaluar la toxicidad de la permetrina en los seis estadios larvales de *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), ya que registró mayor susceptibilidad en el último estadio. Se considera entonces que los valores de CL están relacionados con el estado biológico, ya que las larvas presentan actividad fisiológica diferencial. Gast (1959) sugirió que el esclerosamiento del integumento, la destoxicación enzimática y el almacenamiento del tóxico en el cuerpo graso, son los responsables de los cambios en la susceptibilidad de las larvas de diferente edad y tamaño.

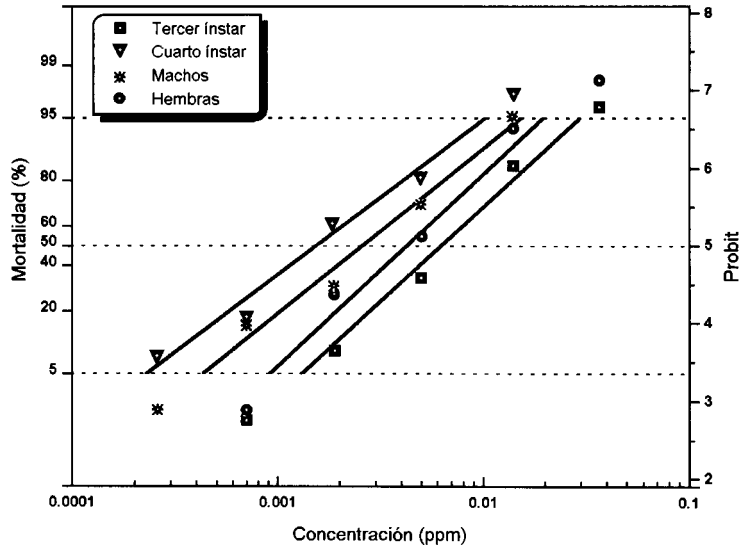


Figura 1. Respuesta de las larvas y los adultos de *E. varivestis* a la floxina B.

Pruebas de efectividad a cielo abierto. En el Cuadro 2 se muestran los resultados de las pruebas realizadas a cielo abierto. Además, bajo esta modalidad, se observó la evolución de la intoxicación de *E. varivestis* provocada por la ingestión de la floxina B. La acción fototóxica de la floxina B fue evidente en los insectos dos horas después de ingerido el producto.

El análisis estadístico para precisar si en el segundo muestreo (72 h) se registró mayor mortalidad que la observada en el primero (24 h), no mostró diferencias significativas, lo que indica que 24 horas son suficientes para evaluar la respuesta de las larvas a la floxina B (Cuadro 2).

Horas luz. La metodología que se siguió en los bioensayos bajo umbráculo propició la reducción en la incidencia de luz solar. Además, las condiciones meteorológicas que se presentaron cuando se realizaron los bioensayos bajo umbráculo fue medio nublado, mientras que en la evaluación a cielo abierto la luz solar incidía directamente sobre el experimento, bajo un cielo despejado. La cantidad de horas luz que incidieron sobre las larvas de tercer estadio en las pruebas bajo umbráculo fue determinante, ya que estuvieron expuestas a menos horas luz que los demás estados biológicos (Figura 2).

Cuadro 2

Mortalidad de larvas de *E. varivestis* después de ingerir follaje con floxina B en los bioensayos a cielo abierto

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)		Significancia
	24 h	72 h	
1000	98.7 a	100.0 a	ns
370	95.4 ab	96.5 ab	ns
140	93.4 ab	94.4 bc	ns
50	80.9 b	89.8 c	ns
TESTIGO A	0.0 c	0.0 d	ns
T. ABSOLUTO	0.0 c	0.0 d	ns

Los datos en las columnas con la misma letra no son estadísticamente diferentes; ns = no hubo diferencias significativas entre los dos muestreos (hileras) (Tukey $\alpha = 0.05$).

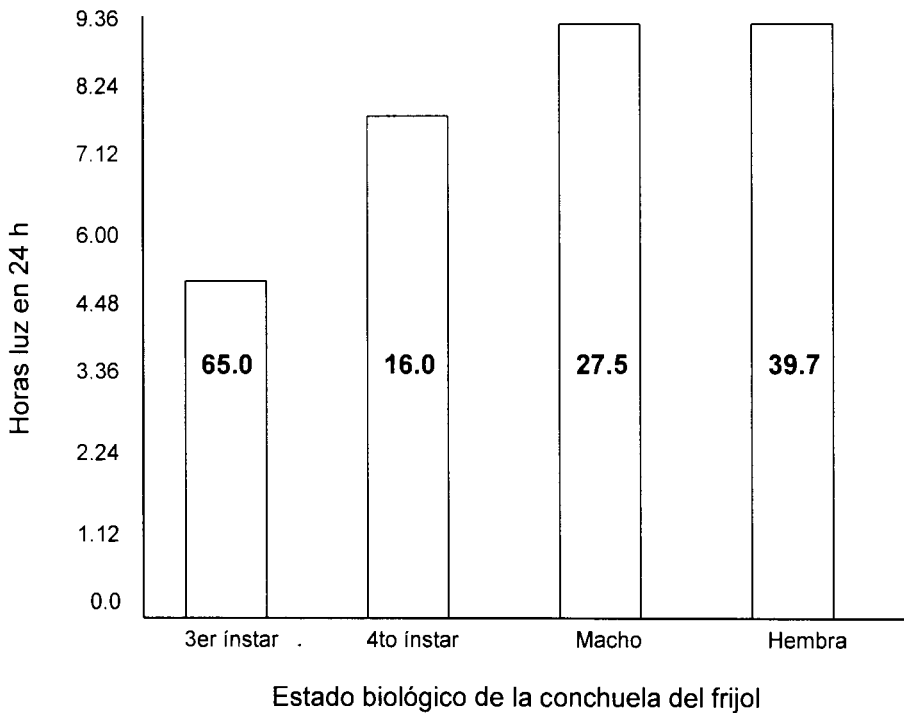


Figura 2. Horas luz registradas durante los bioensayos. En la parte media de la barra se indica la CL50 (expresada en ppm de floxina B) correspondiente a cada estado biológico.

Al relacionar los registros de las horas luz con la respuesta de los individuos expuestos a la floxina B, se apreció que ésta influyó en la actividad del compuesto (Yoho *et al.* 1971, Yoho *et al.* 1973, Heitz 1995); lo anterior se confirmó cuando la nubosidad obstaculizó el paso de la luz solar y se apreció que se retardó el proceso de intoxicación en las larvas y los adultos. Para el caso particular de las larvas de cuarto estadio, que recibieron aproximadamente 50% más horas luz en un mismo tiempo de exposición que las larvas de tercer estadio, la respuesta se vió reflejada en la CL_{50} , ya que las larvas de cuarto estadio mostraron aparentemente mayor susceptibilidad a la acción fototóxica de la floxina B; tal efecto se relaciona con la cantidad de luz recibida y, como se dijo antes, con la cantidad de material tratado consumido (Figura 2). La influencia de la luz en la toxicidad de la floxina B coincide con lo documentado por otros investigadores (Yoho *et al.* 1973, Broome *et al.* 1975, Heitz 1995). Sin embargo, cabe mencionar que para los adultos no fue determinante la cantidad de luz recibida, pues tanto machos como hembras se expusieron a una misma cantidad de horas luz, lo que supondría una respuesta muy similar a la floxina B, pero la CL_{50} fue mayor para las hembras que para los machos. Lagunes y Villanueva (1995), en experiencias con insecticidas convencionales, han observado que usualmente los machos son más susceptibles que las hembras. En este estudio, la susceptibilidad diferencial pudo deberse a que el peso de los machos (23.13 mg) fue en promedio 65% menor que el de las hembras (38.21 mg).

En el caso de las pruebas a cielo abierto, se observó fitotoxicidad en la parte aérea de la planta que estuvo en contacto con la floxina B en cualquier concentración, lo que se manifestó como una deshidratación antes de 48 horas bajo la condición de cielo despejado; aunque la fitotoxicidad fue mayor en las concentraciones más altas. En las pruebas realizadas bajo umbráculo no se observó fitotoxicidad, posiblemente porque el tiempo de exposición fue menor al requerido para que se presentaran los síntomas. Otro factor que posiblemente influyó, fue la agromalla que se utilizó para impedir el paso directo de la luz solar a las hojas tratadas con la floxina B.

Intoxicación por la floxina B. La evolución de la intoxicación se manifestó de 1 a 24 horas después de que los individuos se alimentaron con hojas tratadas con el colorante. Cuando el producto se activó, las larvas dejaron de alimentarse, permanecieron en un lugar sin caminar y extendieron el cuerpo de manera horizontal. Otros síntomas fueron elevación del abdomen y separación de las patas anteriores de la superficie de la hoja para extenderlas al frente durante unos minutos, regresándolas a la hoja posteriormente. Antes de morir, las larvas curvaron su cuerpo acercando el abdomen a la superficie de la hoja y, después regurgitaron el bolo alimenticio. Las patas metatorácicas permanecieron adheridas fuertemente a la hoja, quizá por contracción muscular, hasta que murieron. Después de 48 horas, las larvas se

momificaron y cambiaron de color amarillo rosado (dado por el contenido de colorante en el hemocelo) a una coloración café oscura, la que se apreció con mayor intensidad en el intestino. Los adultos pasaron también por un período de inactividad, se sujetaron fuertemente a las hojas y el abdomen se les tornó rígido. Al final ocurrió una hemorragia a través de las articulaciones entre fémur y tibia, proceso que estos insectos presentan como mecanismo de defensa en condiciones normales, pero que en este caso fue mucho más abundante y en ausencia de un estímulo externo.

Tanto las larvas como los adultos dejaron de alimentarse poco después de exponerse a la luz. Este efecto se presentó en días soleados en aproximadamente media hora y en días medio nublados en dos a cinco horas. Cabe mencionar que los valores de las CL₅₀ encontradas no pudieron estar influenciadas por la inanición, dado que el efecto que genera el colorante en concentraciones altas ocurrió al activarse con la luz y en unos minutos u horas provocó la muerte de los insectos.

CONCLUSIONES

El colorante floxina B posee características prometedoras para el control de adultos y larvas de *E. varivestis*; el potencial tóxico de la floxina B depende de la cantidad ingerida y de las horas luz a que se expongan los individuos. Para realizar estudios de susceptibilidad a la floxina B se recomienda utilizar las larvas de tercer estadio, pero además es necesario complementar los estudios con los adultos. La luz es determinante para que actúe la floxina B, por lo que las condiciones favorables para el empleo de esta sustancia en campo es cielo despejado a medio nublado, que supere las 5 horas luz en un período de 24 horas después de aplicado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos la relevante labor de los dos árbitros anónimos que mediante sus observaciones y sugerencias permitieron que mejorásemos de manera importante este artículo. Esta investigación fue parcialmente financiada por el CONACYT.

LITERATURA CITADA

ABBOT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.

Contreras et al.: Efectividad de la floxina B

- BROOME, J. R., M. F. CALLAHAN AND J. R. HEITZ. 1975. Xanthene dye-sensitized photooxidation in the black imported fire ant, *Solenopsis richteri*. *Environmental Entomology*, 4: 883-886.
- CONTRERAS-CONTRERAS, S. E. 1998. Efectividad biológica de la Floxina B contra la conchuela del frijol *Epilachna varivestis* Mulsant. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 34 p.
- DAVID, R. M. AND J. R. HEITZ. 1978. Toxicity of an imported fire ant bait based on phloxin B (D+C Red 27). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26: 99-101.
- GAST, T. R. 1959. The relationship of weight of lepidopterous larvae to effectiveness of topically applied insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 52: 1115-1117.
- HEITZ, J. R. 1995. Pesticidal applications of photoactivated molecules, pp.1-16. *En: Light-activated pest control*, J. R. Heitz and K. R. Downum (Eds.) Symposium American Chemical Society Washington, D. C.
- KENAGA, E. E., A. E. DOTY AND J. L. HARDY. 1962. Laboratory insecticidal tests with 4-dimethylamino-3,5-xyllyl methylcarbamate. *Journal of Economic Entomology*, 55: 466-469.
- KENAGA, E. E., W. K. WHITNEY, J. L. HARDY AND A. E. DOTY. 1965. Laboratory tests with dursban insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 58: 1043-1050.
- KISHABA, A. N., D. L. SHANKLAND, R. W. CURTIS AND M. C. WILSON. 1962. Substances inhibitory to insect feeding with insecticidal properties from fungi insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 55: 211-214.
- LAGUNES-TEJEDA, A. Y J.A. VILLANUEVA-JIMÉNEZ, 1995. Toxicología y Manejo de Insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. México. 264 p.
- PIMPRIKAR, G. D., B. R. NORMENT AND J. R. HEITZ. 1979. Toxicity of rose bengal to various instars of *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Aedes triseriatus*. *Environmental Entomology*, 8: 856-859.
- PIMPRIKAR, G. D., B. L. NOE, B. R. NORMENT JR., AND J. R. HEITZ. 1980. Ovicidal, larvicidal, and biotic effects of xanthene derivatives in the house fly, *Musca domestica* L. *Environmental Entomology*, 9: 785-788.
- RAYMOND M. 1987. Probit analysis program, version March. Cah. Orston. *Ser. Ent. Med. et Parasitol.* 22: 117-121.
- RODRÍGUEZ, M. J. C. 1986. Susceptibilidad diferencial a insecticidas entre los instares larvales del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx. 114 p.
- WEAVER, J. E., L. BUTLER AND T. P. YOHO. 1976. Photodynamic action in insects: volumetric changes in the haemolymph and crop contents of dye-treated, light-exposed cockroaches. *Environmental Entomology*, 5: 840-844.
- YOHO, T. P., L. BUTLER AND J. E. WEAVER. 1971. Photodynamic effect of light on dye-fed house flies: preliminary observations of mortality. *Journal of Economic Entomology*, 64: 972-973.
- YOHO, T. P., J. E. WEAVER AND L. BUTLER. 1973. Photodynamic action in insects. 1. Levels of mortality in dye-fed light-exposed house flies. *Environmental Entomology*, 2: 1092-1096.

Recibido: 17 febrero 2000.

Aceptado: 21 agosto 2000.