

**ALGUNOS ASPECTOS SOBRE EL CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL
TIERRERO O TROZADOR (Agrotis ipsilon (Hfn.), EN CONDICIONES
DE LABORATORIO EN EL ALTIPLANO DE PASTO (N.)**

Por :

JAIME GUERRERO MUÑOZ

LUCIO G. QUINTERO QUINTERO

**Tesis de Grado presentada como requisito
parcial para optar al título de
INGENIERO AGRONOMO**

Presidente de Tesis

BENJAMIN SAÑUDO SOTELO I.A.

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PASTO - COLOMBIA**

1.074

211
31.46
934
1.1

"Las ideas y conclusiones aportadas en la Tesis de Grado,
son de responsabilidad exclusiva de sus autores".

Art. 1o. del Acuerdo No. 324 (Octubre 11) emanado del
Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

UNIVERSIDAD DEL ATLÁNTICO
DEPARTAMENTO DE BIBLIOTECAS
PASTO - COLOMBIA

No.	16856	II	1
Valor	\$900 -	Vol.	
Fecha	VI-13-25	Ed.	X
Fact.	Representación	Conjo	
Librería	Autar	Comp.	

A MI PADRE

A MIS HERMANOS

A MI ESPOSA

A MIS HERMANOS

A MIS TANTOS

A MIS AMIGOS

DEDICO :

JAIME GUERRERO MUÑOZ

DEO 1991

LIBROS, CUSTODIA.

AGRADECIMIENTOS

A LA MEMORIA DE MI PADRE

ESLAABE LARDO SOTELA, I.A.

A MI MADRE

A MI ESPOSA

JORDEN GARCIA J., I.A., M.Sc.

A MIS HERMANOS

MARIO QUINTERO Q., I.A., M.Sc.

A MIS FAMILIARES

A MIS AMIGOS

ARMANDO RAFAEL ORDOZ, I.A.

RODRIGO TORAL, I.A.

ELMER: RENE GAYOSO

DEDICO:

LUCIO G. QUINTERO Q.

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MENCIÓN DE LITERATURA	2
AGRADECIMIENTOS A :	
2.1.1 Impresores de las tachetas	3
2.1.2 Grupos latinos de trabajo	3
BENJAMIN SAÑUDO SOTELO, I.A.	
2.1.3 Antropología	3
JOAQUIN GAMBOA J., I.A., M.Sc.	
2.1.4 Vicio de la cultura	3
VICTOR MONTENEGRO G. I.A., M.Sc.	
2.2 Otras formas de control	3
2.2.1 Por	
ARMANDO RAMOS ORDÓÑEZ, I.A.	
ARCESIO TOVAR, I.A.	
III. MATERIALES Y MÉTODOS	4
3.1 Argumento	4
ESPERANZA RUBIO DE CAYCEDO	
3.2 Participación e identificación de los	4
Indicadores	4
3.3 Selección de temas, temas y subtemas	4
de la "Caja de la Cultura"	4
3.4 Selección de los materiales sobre	4
temas	4
3.4.1 En el área de cultura	4
3.4.2 En el área	4
3.5 Selección de pupas	4
3.6 Selección de los temas	4
3.7 Participación	4
3.8 Participación a la participación	4
la participación	4

CONTENIDO

Pág.

I.	INTRODUCCION	1
II.	REVISION DE LITERATURA	3
2.1	Control bacterial	3
2.1.1	Importancia de las bacterias	3
2.1.2	Géneros bacteriales asociados con insectos	3
2.1.3	Síntomas en larvas	4
2.1.4	Vías de infección	5
2.2	Otras formas de control	5
2.2.1	Por insectos	5
III.	MATERIALES Y METODOS	6
3.1	Aislamiento de bacterias	7
3.2	Purificación e identificación de las bacterias	7
3.3	Obtención de larvas, pupas y adultos de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.)	8
3.4	Efectividad de las bacterias sobre larvas	8
3.4.1	En cajas de petri	8;
3.4.2	En suelo	9
3.5	Efectividad en pupas	10
3.6	Efectividad en adultos	11
3.7	Reaislamientos	11
3.8	Resistencia a temperaturas altas y a la desecación	11

	Pág.
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	13
4.1 Identificación de los géneros de bacterias patógenas	13
4.1.1 Síntomas en larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.).....	23
4.1.2 Reaislamientos	23
4.1.3 Análisis de la efectividad de las bacterias en larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.).....	23
4.1.4 Efectividad bacterial sobre pupas	34
4.1.5 Efectividad de <u>Diplococcus</u> sp. sobre adultos	41
4.1.6 Comportamiento de <u>Diplococcus</u> sp. frente a altas temperaturas y desecación	41
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES...	43
5.1 Conclusiones	43
5.2 Recomendaciones	44
VI. RESUMEN	45
SUMMARY	46
VII. BIBLIOGRAFIA	47
APENDICE	49

ILUSTRACIONES

Pág.

- Fig. No. 1. Larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) de aspecto magullado, muertas por acción de la bacteria A₁A (Sarcina sp.), a las 120 horas después de la inoculación... 16
- Fig. No. 2. Larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) muertas por desinteria total, debido al ataque de bacteria Micro⁺: Micrococcus sp., a las 144 horas después de la inoculación 18
- Fig. No. 3. Larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) muertas por el ataque de la bacteria Labora⁺: Micrococcus sp., a las 168 horas después de la inoculación 19
- Fig. No. 4. Estado final de larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.), después de una desinteria total a las 240 horas después de la inoculación de la bacteria D₄⁺: Bacillus sp..... 20
- Fig. No. 5. Estado final de las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.), después de 13 días de la inoculación de la bacteria Bacilo: Bacillus sp. 22
- Fig. No. 6. Larva y pupa de Agrotis ipsilon (Hfn.) en el tratamiento Testigo 27
- Fig. No. 7. Efectividad de la bacteria Micro⁺: Micrococcus sp., inoculada al suelo para proteger plántulas de maíz, del daño de larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.).... 36
- Fig. No. 8. Baja efectividad de la bacteria A₁A: Sarcina sp., inoculada al suelo para proteger plántulas de maíz del daño de larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.)..... 37

TABLAS

Pág.

Tabla I.	Porcentajes promedios de larvas pequeñas, medianas y grandes de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), que han cesado su hábito alimenticio en diferentes tiempos, después de la inoculación de bacterias entomófagas y de los insecticidas biológicos Thuricide y Viron H.....	24
Tabla II.	Análisis de variancia para la efectividad de las bacterias entomófagas contra larvas pequeñas, medianas y grandes de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), en los diferentes tiempos. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	25
Tabla III.	Porcentajes de hojas de repollo trozadas por <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), después de la inoculación al suelo con bacterias entomófagas y con los insecticidas biológicos Thuricide y Viron H.....	30
Tabla IV.	Análisis de variancia para el porcentaje de hojas de repollo trozadas por larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), después de la inoculación al suelo de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	31
Tabla V.	Porcentajes de plántulas de maíz trozadas por <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.) después de la inoculación al suelo de bacterias entomófagas y de insecticidas biológicos Thuricide y Viron H.....	33
Tabla VI.	Análisis de variancia para el porcentaje de plántulas de maíz trozadas por larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), después de la inoculación al suelo de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	35

Tabla VII.	Porcentajes de pupas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.) muertas por acción de bacterias entomófagas en comparación con los insecticidas biológicos Thuricide y Viron H	39
------------	--	----

Tabla VIII.	Análisis de variancia para los porcentajes de pupas muertas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.) por acción de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	40
-------------	---	----

Tabla III.	Prueba de T-Student para las diferencias de tamaño de las larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.) de la generación de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	3
------------	--	---

Tabla IV.	Prueba de T-Student para la comparación de tamaño de hojas de napa brotadas por larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.) después de la ingestión de la dieta de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	4
-----------	---	---

Tabla V.	Prueba de T-Student para la comparación entre medias de los porcentajes de pupas de napa, brotadas por larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.) después de la ingestión de la dieta de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	5
----------	--	---

Tabla VI.	Prueba de T-Student para la comparación en las medias de los porcentajes de pupas de napa brotadas por larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.) muertas por la acción de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	6
-----------	--	---

APENDICE

Pág.

Tabla I.	Prueba de Tukey para la diferencia entre las medias de la efectividad de bacterias entomófagas en el control de larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.). Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	1
Tabla II.	Prueba de Tukey para la diferencia de tamaños de larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.) muertas por ataque bacterial. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	2
Tabla III.	Prueba de Tukey para las diferencias de tiempos de cesación del hábito alimenticio de larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), después de la inoculación de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	3
Tabla IV.	Prueba de Tukey para la comparación de medias de hojas de repollo trozadas por larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), después de la inoculación al suelo de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	4
Tabla V.	Prueba de Tukey para la comparación entre medias de los porcentajes de plántulas de maíz, trozadas por larvas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), después de la inoculación al suelo de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	5
Tabla VI.	Prueba de Tukey para la comparación entre medias de los porcentajes de pupas de <u>Agrotis ipsilon</u> (Hfn.), muertas por la acción de bacterias entomófagas. Datos transformados a Arco Seno $\sqrt{\%}$	6

ALGUNOS ASPECTOS SOBRE EL CONTROL MICROBIOLOGICO DEL TIERRERO O TROZADOR (Agrotis ipsilon) (Hfn.), EN CONDICIONES DE LABORATORIO EN EL ALTIPLANO DE PASTO (N.) (+) .

Por :

JAIME GUERRERO MUÑOZ
LUCIO G. QUINTERO QUINTERO

I. INTRODUCCION

Entre las plagas de mayor importancia económica que afectan los cultivos del Departamento de Nariño, están los "tierreros o trozadores" (Agrotis ipsilon) (Hfn.), por cuanto ocasionan grandes pérdidas en plántulas de semillero y campo, lo cual obliga muchas veces a efectuar replantes, ocasionando costos y maduración desuniforme del producto.

La represión de la plaga, mediante el uso de productos químicos, eleva los costos de producción y el insecto adquiere resistencia a muchos insecticidas, hecho que implica posteriormente las formulaciones de dosis cada vez altas. Por lo tanto es necesario buscar

(+) Tesis de Grado presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo, bajo la presidencia de Benjamín Sañudo Sotelo, I.A.

otros métodos de control, teniendo en cuenta el papel de los insectos y microorganismos en la disminución de las poblaciones de Agrotis ipsilon (Hfn.)

Entre los enemigos naturales, los nemátodos, los hongos y las bacterias, se pueden utilizar para el control de muchas plagas. Entre ellos, las bacterias tienen mayor importancia por su fácil diseminación, adaptación y selectividad de ataque.

El presente trabajo trata de determinar y estudiar en laboratorio, la efectividad de algunas bacterias en el control de Agrotis ipsilon (Hfn.), comparando su efectividad con los insecticidas biológicos Thuricide y Virón H. Igualmente, se trata de identificar las bacterias patógenas y estudiar algunos aspectos, como resistencia térmica y a la desecación, factores fundamentales para la obtención de productos comerciales.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Control bacterial

2.1.1 Importancia de las bacterias

Las bacterias constituyen el grupo de microorganismos más abundantes que se asocian con insectos; esta asociación, puede ser accidental o íntima, en la cual la bacteria, en muchos casos produce enfermedad en los artrópodos (13).

Entre las bacterias que controlan insectos, la especie Bacillus thuringiensis, es la más importante, por su capacidad de producir enfermedades, cuando se aplica debidamente y porque su radio de acción se centraliza principalmente sobre insectos del orden Lepidóptera, en especial durante los primeros estados larvarios, (7).

2.1.2 Géneros bacteriales asociados con insectos

Según Steinhouse (13), los géneros de bacterias patógenas más conocidas son: Coccobacillus, Bacillus, Serratia, Pseudomonas, Vibrio, Clostridium, Salmonella, y Proteus, familia Lactobacteriaceae y bacterias coliformes.

De acuerdo a Donoso (5), el género más importante es Bacillus cuyas especies en general producen la enfermedad lechosa en insectos. Harley, citado por Steinhouse, dice que este nombre se debe a que la sangre de las larvas infectadas por Bacillus popilliae, B. lentimorbus y B. fiburgenis, adquiere la apariencia de leche (13).

Igualmente el género Bacillus, tiene especies como : Bacillus cereus, B. bombycis y B. thuringiensis, denominados bacterias cristalíferas, porque forman cristales tóxicos de proteína al momento de la esporulación, (13).

Burges (8) menciona que con esporas y cristales de Bacillus thuringiensis, se puede preparar un insecticida microbiológico más estable, no tóxico para las plantas, específico contra larvas de lepidóptera y compatible con la mayoría de los pesticidas químicos; anota además, que solo es efectivo para larvas que se alimentan sobre la superficie del suelo.

Afify (1) expresa que las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.), presentan poca susceptibilidad a Bacillus thuringiensis. Raun y Brooks (10), mencionan que Bacillus thuringiensis no es efectivo contra Agrotis ipsilon (Hfn.), sin embargo, se han encontrado bacterias patógenas naturales de larvas del insecto, las cuales contribuyen a disminuir su población.

Los géneros Diplococcus, Streptococcus y Micrococcus, producen pérdida rápida del apetito y una diarrea violenta. Las larvas atacadas por especies de Streptococcus, cuelgan de sus pseudopatas en una forma flácida y puede estirarse antes que se parta la piel. En larvas infectadas por especies de Micrococcus, es característica la aparición de un color negro brillante en las articulaciones de las patas, espiráculos y segmentos dorsal y ventral del cuerpo, (13).

2.1.3 Síntomas en larvas .

En general, las larvas de insectos atacadas por

bacterias, en un comienzo presentan falta de movilidad, disminución del apetito, vómitos orales y rectales. En la mayoría de los casos, la infección bacteriana invade toda la cavidad del cuerpo del insecto, terminando la infección en una verdadera septicemia; después de muerto, el cuerpo se oscurece y se torna blando, quedando más o menos deforme. Usualmente el insecto se diseca, produciéndose encogimien-
to del cuerpo, (7).

2.1.41 Vías de infección

De acuerdo a Loaiza (7), las bacterias pueden penetrar al cuerpo por grietas y heridas en la piel, algunas por las vías respiratorias y otras por la cavidad oral.

2.2 Otras formas de control

2.2.1 Por insectos

Nicolava (8) menciona que los enemigos natura-
les de Agrotis ipsilon (Hfn.), se reducen a dos dípteros y seis hime-
nópteros parásitos de larvas y de pupas; sin embargo, el grado de pa-
rasitismo alcanzó únicamente del 2 al 2.5%. Puttler y Twewke (9),
afirman que el Braconidae Microphitis feltia, es un parásito de larvas
de Agrotis ipsilon (Hfn.)

III. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó entre los meses de Diciembre de 1.973 y Agosto de 1.974, con la recolección de larvas de Agrotis ipsi-
lon (Hfn.) y de otras plagas del suelo con síntomas de ataque bacterial
en diferentes zonas productoras de hortalizas del Altiplano de Pasto,
que indicamos a continuación (+):

Lugar	Precipitación	Temperatura	Formación vegetal Holdridge	Altura msnm
Pasto	700 - 1.000	14°C.	BsMb	2.594
Catambuco	700 - 1.000	12°C.	BsMb	2.710
Obohuco	700 - 1.000	12°C.	BsMb	2.710
Mapachico	700 - 1.000	12°C.	BsMb	2.750
La Laguna	900 - 1.000	12°C.	BsMb	2.750
Cujacal	800 - 1.000	11.5°C.	BsMb	2.780
Jongovito	700 - 1.000	12°C.	BsMb	2.710

Las condiciones del Laboratorio en el cual se trabajó fueron: (*)

	Temperatura	Humedad relativa
Mínima	18.9°C.	85.70%
Media	18.9°C.	78.61%
Máxima	21.4°C.	81.75%

(+) Datos suministrados por Alirio Narváez F., I.A.

(*) Datos suministrados por Silvio Rosero, I.A.

3.1 Aislamiento de bacterias

Se seleccionaron larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) y de otros tierreros, muertas por posible ataque bacterial; cada individuo, se desinfectó durante un minuto con bicloruro de mercurio al 1:1.000 y luego se colocó en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada esterilizada por dos horas, para facilitar la difusión de las bacterias; al cabo de este tiempo, se maceró con una varilla de vidrio para obtener una mayor concentración de las bacterias.

Del tubo con suspensión bacterial, se sacó 1 ml y se llevó a otro tubo con 9 ml de agua destilada esterilizada para obtener una dilución de 1:10. De ésta, se sacó 1 ml y se llevó a otro tubo con 9 ml de agua destilada esterilizada, para obtener una dilución de 1:100, la cual sirvió para la obtención de una dilución de 1:1.000.

De la dilución de 1:1.000, se vertió 1 ml en una caja de Petri esterilizada, a la cual se agregaron 20 ml de Agar nutriente diluido aproximadamente a 41°C; se uniformizó y una vez solidificado el medio, se llevó a la estufa incubadora a 30°C por 48 horas.

3.2 Purificación e identificación de las bacterias

Obtenidas las colonias bacteriales, se efectuaron varios repicajes en tubos de ensayo con Agar nutriente inclinado con el objeto de purificar las colonias. Hecho esto y separadas las colonias por sus características culturales, se efectuó la identificación del género bacterial, mediante pruebas de Tinción de Gram, siembras en caldo nutriente, Gelatina nutriente, caldo glucosado, caldo lactosado y agar

almidón y también la prueba de la catalaza, (4).

3.3 Obtención de larvas, pupas y adultos de Agrotis ipsilon (Hfn.)

Se recolectaron larvas sanas de Agrotis ipsilon (Hfn.) y se colocaron individualmente en cajas plásticas con tierra estérilizada y se alimentaron con hojas de repollo y se les mantuvo bajo humedad normal hasta la obtención de adultos, que se identificaron y se colocaron por parejas en jaulas cubiertas con cartulina negra, con alimento diario de agua azucarada. Se determinó el apareamiento y oviposición, teniendo cuidado en el mantenimiento de una humedad ambiental por medio de motas de algodón humedecidas y colocadas en los rincones de las jaulas.

Quando se determinó un cambio de color de los huevos en las jaulas, se colocaron cajas de petri con suelo esterilizado con humedad normal y hojas de repollo lavadas y cambiadas diariamente. Efectuada la eclosión, las larvas se mantuvieron en las cajas antes mencionadas, hasta que tuvieron un tamaño promedio de 10 mm; en este momento, se individualizaron en cajas plásticas con suelo esterilizado y alimento diario de hojas de repollo. Con las larvas pequeñas de 10 mm, medianas de 18 mm y grandes de 26 mm, se hicieron pruebas de inoculación bacterial; igualmente se dejó una gran cantidad de larvas para la obtención de pupas y adultos.

3.4 Efectividad de las bacterias sobre larvas

3.4.1 En cajas de petri

Por cada colonia de las bacterias identificadas

y purificadas, se emplearon 10 cc de agua destilada que se adicionaron a cada tubo para obtener la suspensión bacteriana. Igualmente, se emplearon los insecticidas biológicos Thuricide y Virón H en dosis de 11 gr y 3.45 gr por litro de agua respectivamente. Como testigo se utilizó agua destilada esterilizada.

Con la dilución de las colonias bacteriales e insecticidas biológicos y con el testigo, se empaparon completamente hojas de repollo tierno, que divididas en trozos, se colocaron en cajas de petri con papel filtro humedecido las larvas a alimentar. Se utilizaron, por tratamiento, cuatro repeticiones, cada una de ellas con 10 cajas de petri e igual número de larvas; esto se hizo para larvas pequeñas, medianas y grandes.

Después de la inoculación de las bacterias, por ingestión, se hizo el cambio diario de alimento sin inocular; se efectuaron observaciones diarias sobre los cambios producidos en las larvas hasta su muerte.

Para la interpretación estadística de los resultados, los porcentajes de larvas que cesaron su hábito alimenticio, se pasaron al arco seno $\sqrt{\%}$ y se siguió el análisis de parcelas subdivididas, teniendo como variables, la efectividad de las bacterias, el tiempo de pérdida total del hábito alimenticio y el tamaño de las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) (11, 12).

3.4.2 En suelo

Se seleccionaron plantas de repollo de dos meses de edad, con siete hojas y plántulas de maíz de un mes, sembradas en tarros plásticos con suelo esterilizado y en bloques al azar.

Para el repollo, se emplearon cuatro replicaciones por colonia bacteriana; cerca de la base de cada planta se colocaron dos larvas medianas de Agrotis ipsilon (Hfn.), a las que se asperjaron 5 cc de las suspensiones bacteriales, de los insecticidas biológicos y de agua destilada para el testigo, inoculando además el suelo. Las diferentes materas se colocaron en cámaras de rocío y se hicieron observaciones diarias sobre el número de hojas trozadas en cada planta hasta los quince días. Se sacó el porcentaje de hojas trozadas, se transformó a arco seno $\sqrt{\frac{\%}{100}}$ y se hizo el análisis de bloques al azar (11, 12).

Para el maíz, se utilizaron cuatro plántulas por replicación y se siguió el mismo método anterior, contando al cabo de quince días el número de plantas trozadas, para sacar los porcentajes y transformarlos a arco seno $\sqrt{\frac{\%}{100}}$ con el fin de hacer el análisis estadístico de acuerdo al diseño de bloques al azar (11, 12).

3.5 Efectividad en pupas

Con la suspensión de las colonias bacteriales, los insecticidas biológicos y el agua destilada como testigo, se efectuaron las inoculaciones, colocando gotas de inóculo sobre las pupas, las cuales se mantuvieron en cajas de petri con papel filtro humedecido. Se hicieron observaciones diarias sobre los cambios producidos hasta su descomposición. Se emplearon cuatro replicaciones por tratamiento, cada uno con cuatro pupas y se utilizó un diseño de bloques completamente al azar.

A los ocho días de efectuada la inoculación, se obtuvo los porcentajes de pupas muertas, los cuales se transformaron a arco seno $\sqrt{\frac{\%}{100}}$ se aplicó el análisis de bloques al azar para efectividad de

las bacterias (11, 12).

3.6 Efectividad en adultos

La bacteria más efectiva en las pruebas anteriores, se inoculó seis adultos hembras, colocando 5 gotas de la suspensión bacterial en agua azucarada de la cual se alimentaron y se mantuvieron en cámaras de cría.

3.7 Reaislamientos

Después de efectuadas las pruebas preliminares de inoculación y control a nivel de laboratorio en larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) con las diferentes bacterias, se hicieron reaislamientos, siguiendo las mismas técnicas de los aislamientos. En condiciones de suelo, no se efectuaron reaislamientos de las bacterias ya que las larvas muertas, estuvieron contaminadas con hongos y bacterias saprófitas, que hacían difícil obtener colonias de las bacterias entomófagas utilizadas.

3.8 Resistencia a temperaturas altas y a la desecación

Con la bacteria más efectiva, se hicieron pruebas de resistencia a temperaturas altas, colocando tubos con agar nutritivo inclinado y colonias desarrolladas, en la estufa incubadora a 50°C y 60°C.

Para la resistencia a la desecación, se efectuó la mezcla de una suspensión bacterial con harina y se secó luego al ambiente por 48 horas. Para comprobar las dos pruebas anteriores se rea-

lizaron suspensiones en agua destilada esterilizada, con las cuales se empaparon trozos de hojas jóvenes de repollo, para alimentar larvas pequeñas de Agrotis ipsilon (Hfn.), utilizando cuatro replicaciones por prueba, cada una con tres larvas, individualizadas en cajas de petri, se hizo renovación diaria de alimentos y se observaron los cambios producidos.

Después de este periodo, se efectuaron y produjeron las cultivos bacterianos con las bacterias más comunes: Thiobacillus y Vibrio y posteriormente se efectuaron los siguientes cultivos de larvas y de agua de Agrotis ipsilon (Hfn.), en orden de mayor a menor actividad.

Resultados de la actividad bacteriana

C₁B

A₁C

M₁W⁺

Laboratorio

D₁T

B₁W⁺

B₁W⁺

M₁W⁺

Resultados de la actividad bacteriana

Escherichia sp.

Staphylococcus sp.

Micrococcus sp.

Streptococcus sp.

Bacillus sp.

Streptococcus sp.

Micrococcus sp.

Las caracterizaciones que permitieron la identificación del género bacteriano, de acuerdo a Simoes y otros (4) fueron:

C₁B Escherichia sp.

Los cultivos fueron positivos con un agua destilada presentando un material blanco y ovillo de color blanco generalizado en agua destilada en agua destilada presentando un material blanco.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Identificación de los géneros de bacterias patógenas

Después de aislamientos, identificación y pruebas de inoculación comparativas con los insecticidas biológicos Thuricide y Virón H y reaislamientos, se obtuvo las siguientes bacterias patógenas de larvas y de pupas de Agrotis ipsilon (Hfn.), en orden de mayor a menor efectividad :

<u>Nombre de colonia inoculada</u>	<u>Identificación</u>
C ₁ B	<u>Diplococcus</u> sp.
A ₁ A	<u>Sarcina</u> sp.
Micro ⁺	<u>Micrococcus</u> sp.
Laboratorio	<u>Micrococcus</u> sp.
D ₄ ⁺	<u>Bacillus</u> sp.
Bacilo	<u>Bacillus</u> sp.
Darlab	<u>Streptococcus</u> sp.
Micro	<u>Micrococcus</u> sp.

Las características que permitieron la identificación del género bacterial, de acuerdo a Breed y otros (4) fueron :

C₁B Diplococcus sp.

Son cocos gram positivos que en agar nutriente presentan un material escaso y efuso; dichos cocos generalmente se agrupan en pares; en caldo nutriente presentan crecimiento anaeróbico facultativo.

tivo. No licúa la gelatina; producen reacción negativa de la catalaza y poco ácido a partir del caldo lactosado.

A₁A: Sarcina sp.

Agrupas cocos gram positivos, generalmente en paquetes o grupos de ocho; en medio de cultivo, dan colonias de color amarillento; son anaeróbicas facultativas en caldo nutriente; forman gas a partir de caldo lactosado pero no producen ácido sino que tienden a alcalinizarlo; licúa lentamente la gelatina.

Micro⁺, Laboratorio, Micro: Micrococcus spp.

Son características similares a Sarcina, con la diferencia de que los cocos se presentan sueltos o agrupados en masas irregulares y licúa violentamente la gelatina; además, en caldo nutriente dan características de respiración aeróbica y en medio de cultivo el crecimiento es abundante y de color blanco brillante; la prueba a la catalaza es negativa.

D₄⁺ Bacilo: Bacillus spp.

Bacilos gram positivos, con formación de endosporas; en agar nutriente dan colonias de color blanco brillante, hidrolizan la gelatina y producen poco ácido y gas en caldo lactoso; son aeróbicas facultativas en caldo nutriente; presentan reacción positiva a la catalaza.

Darlab: Streptococcus sp.

Posee características similares a Diplococcus sp. con la diferencia de que el crecimiento es más abundante en agar nutriente y los cocos se agrupan generalmente en cadenas; en caldo nutriente se comportan como aerobios facultativos.

4.1.1 Síntomas en larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.)

Los síntomas observados durante 168 horas después de la inoculación artificial por ingestión fueron:

C₁B : Diplococcus sp.

Los síntomas que presentaron las larvas fueron notorios; a las 24 horas de efectuada la inoculación, las larvas no manifestaron ningún cambio en su hábito alimenticio, movimiento y estructura corporal; sin embargo, a las 48 horas cesaron dichas funciones y entre 72 y 96 horas, se observaron cambios de hinchamiento temporal y de coloración, presentándose después del último período de observación, una desintería total, por la expulsión de un líquido amarillento que está integrado por tejidos descompuestos y bacterias. Finalmente, después de las 120 horas de observación, las larvas quedaron destruidas, tomando un color negro y se adhirieron al papel filtro; las pseudopatas anteriores tuvieron un color más oscuro que el resto del cuerpo.

A₁A : Sarcina sp.

Después de la ingestión de la bacteria, las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.), comenzaron a perder el hábito alimenticio a partir de las 48 horas y 24 horas después sus movimientos fueron lentos; a las 96 horas, cesó su movimiento y se hincharon, tornándose opacas; 24 horas más tarde comenzaron a tornarse totalmente flácidas y a las 120 horas aproximadamente murieron, quedando como magulladas, sin embargo, no ocurrió desintería apreciable (figura 1).

Micro⁴ : Micrococcus sp. y Laboratorio : Micrococcus sp.

Los dos aislamientos produjeron síntomas similares, sin embargo, la primera cepa fué más virulenta, ya que produjo mayor



Fig. No. 1. Larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) de aspecto magullado, muertas por acción de la bacteria A₁A : Sarcina sp. a las 120 horas después de la inoculación.

Foto: Agor.

mortalidad en menor tiempo, pudiendo ser dos especies estrechamente relacionadas o dos formas de una misma especie. La segunda cepa comenzó su efecto desde las 72 horas, mientras que con la primera, después de las 24 horas las larvas disminuyeron su hábito alimenticio. No obstante con ambas cepas bacteriales, se observó que a partir de las 96 horas, las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) inoculadas, cesaron completamente su movilidad, tornándose igualmente flácidas, luego sucedió una hinchazón temporal.

Las larvas inoculadas con Micro⁺: Micrococcus sp., sufrieron una desintería violenta desde las 96 horas, mientras que las inoculadas con Laboratorio: Micrococcus sp. lo hicieron lentamente a partir de las 144 horas, (figura 2). Las larvas grandes resistieron hasta las 168 horas (figura 3). El estado final corresponde a larvas totalmente oscuras, pero el color de las pseudopatas es completamente negro.

D₄⁺: Bacillus sp.

Las larvas comenzaron a perder su hábito alimenticio a partir de las 72 horas y sus movimientos se tornaron lentos, siendo más notorios estos cambios en las larvas más pequeñas; este cambio continuó hasta las 144 horas, tiempo en que cesó todo movimiento. Después de las 168 horas de efectuada la inoculación, algunas larvas se tornaron oscuras; 48 horas después de hincharon y 24 horas más tarde sufrieron desintería leve, presentándose como magulladas (figura 4).

Bacilo: Bacillus sp.

Los cambios se obtuvieron a las 96, 120 y 168 horas



Fig. No. 2. Larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.)
muertas por desintería total, de-
bido al ataque de la bacteria Mi-
cro⁺: Micrococcus sp. a las 144
horas después de la inoculación.

Foto : Agor.



Fig. No. 3. Larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) muertas por el ataque de la bacteria Laboratorio : Micrococcus sp., a las 168 horas después de la inoculación.

Foto : Agor.



Fig. No. 4. Estado final de larvas de Agrotis ipailon (Hfn.), después de una de sintería total, a las 240 horas de la inoculación de la bacteria D₄⁺: Bacillus sp.

Foto: Agor.

para larvas pequeñas, medianas y grandes respectivamente; a través de la pérdida del hábito alimenticio y movilizadas; sin embargo, aproximadamente a los 10, 12 y 13 días después de efectuada la inoculación, se produjo un hinchamiento, opacidad total y desintería, debido posiblemente a una multiplicación excesiva de las bacterias, más que la producción de toxinas o enzimas digestivas, (figura 5).

Darlab : Streptococcus sp.

Las larvas pequeñas de Agrotis ipsilon (Hfn.), sufrieron cambios por pérdida del hábito alimenticio a las 72 horas, mientras que las medianas y grandes lo hicieron a las 120 y 144 horas, respectivamente. Los cambios posteriores se sucedieron a los 12, 13 y 15 días para los tres tamaños respectivamente, mediante un estado de flacidez, alargamiento y coloración negra de las larvas, las cuales quedaron colgando del papel filtro por medio de las pseudopatas anteriores.

Micro : Micrococcus sp.

Es una bacteria de escasa efectividad para larvas pequeñas de Agrotis ipsilon (Hfn.), pero no para medianas y grandes, debido posiblemente a que la multiplicación de las bacterias en comparación con el tamaño, permite esta selectividad. Los cambios se produjeron a partir de las 144 horas por pérdida del hábito alimenticio, mientras que a los ocho días de efectuada la inoculación, cesó el movimiento. Entre 13 y 16 días se hincharon, perdiendo posteriormente su turgencia debido a la desintería, la cual fué mayor a los 18 días, dicha desintería se caracterizó por la expulsión de un líquido viscoso de color café con gran cantidad de bacterias.



Fig. No. 5. Estado final de las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.), después de 13 días de la inoculación de la bacteria Bacillus sp.

Foto : Agor.

16 856

4.1.2 Reaislamientos

Las bacterias anteriores, se comprobaron como patogénicas debido a que en los reaislamientos, se obtuvo colonias de las bacterias con las características bioquímicas y de tinción determinadas para los géneros aislados inicialmente.

4.1.3 Análisis de la efectividad de las bacterias en larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.)

4.1.3.1 En cajas de petri.

De acuerdo al análisis visual observado en la Tabla I, se determinó la mayor efectividad de las bacterias C₁B : Diplococcus sp., Micro⁺ : Micrococcus sp., A₁A : Sarcina sp. y Laboratorio : Micrococcus sp.

De acuerdo al análisis de variancia, se determinaron diferencias altamente significativas entre : síntomas (efectividad de bacterias), variedades (tamaño de larvas muertas) y densidades (tiempo de pérdida del hábito alimenticio, después de la inoculación) y entre las interacciones: sistemas por variedades y sistemas por densidades (Tabla II). Por estas razones se procedió a realizar la prueba de Tukey para las diferentes variables (Tablas I, II y III del apéndice).

En cuanto a la efectividad de las bacterias, se tuvo que C₁B : Diplococcus sp. fué la mejor para controlar las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) y mostró diferencia al nivel del 99% de probabilidad con respecto al testigo, Virón H, Thuricide, Micro : Micrococcus sp., y al nivel del 5% con respecto a Darlab : Streptococcus sp.; sin embargo, no mostró diferencia con respecto a Bacilo : Bacillus sp.,

PORCENTAJES PROMEDIOS DE LARVAS PEQUEÑAS, MEDIANAS Y GRANDES DE Agrotis ipsilon (Hfn.), QUE HAN CESADO SU HABITO ALIMENTICIO EN DIFERENTES TIEMPOS, DESPUES DE LA INOCULACION DE BACTERIAS ENTOMOFAGAS Y DE LOS INSECTICIDAS BIOLOGICAS THURICIDE Y VIRON H.

[illegible]

TABLA II

ANALISIS DE VARIANCA PARA LA EFECTIVIDAD DE LAS BACTERIAS ENTOMOFAGAS CONTRA LARVAS PEQUEÑAS, MEDIANAS Y GRANDES DE Agrotis ipsilon (Hfn.), EN LOS DIFERENTES TIEMPOS. DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SENOS $\sqrt{x}$

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabla 5%	F tabla 1%
BLOQUES	3	32.07	10.69	0.78 N.S.		
SISTENAS	10	30.957.72	3.095.77	225.73**	2.16	2.98
RESIDUAL (a)	30	410.25	13.67			
PARC./PRIN.	43	31.300.04	1.283.45	99.03**	3.15	4.93
VARIETADES	2	2.566.90	47.78	3.68**	1.75	2.20
(V x S)	20	955.71	12.58			
RESIDUAL (b)	67	842.90				
SUB.PARC.	132	35.665.55	2.407.38	19.52**	2.10	2.80
DENSIDADES	6	14.444.29	594.25	4.33**	1.32	1.47
(D x S)	60	32.055.26	107.44	0.87 N.S.		
(D x V)	12	1.289.38	82.20	0.66 N.S.		
(D x V x S)	120	9.864.31	123.27			
RESIDUAL (c)	593	73.102.91				
TOTAL	923	233.387.29				

** Diferencia significativa al nivel del 1% de probabilidad
N.S. No significativo.

Laboratorio : Micrococcus sp., Micro⁺ : Micrococcus sp. y A₁A : Sarcina sp.

Las bacterias A₁A : Sarcina sp. y Micro : Micrococcus sp., tuvieron igual comportamiento; únicamente mostraron diferencias altamente significativas con relación al testigo, Viron H y Thuricide y significativas con relación a Micro : Micrococcus sp.

La bacteria Laboratorio : Micrococcus sp., únicamente se diferenció al nivel del 5% respecto al testigo (figura 6), el cual no tuvo diferencias con relación a D₄⁺ : Bacillus sp., Bacilo : Bacillus sp., Darlab : Streptococcus sp., Micro : Micrococcus sp., Thuricide y Viron H.

Con base en lo anterior, se determinó que las bacterias C₁B : Diplococcus sp., A₁A : Sarcina sp. y Micro⁺ : Micrococcus sp. tuvieron mayor efectividad en el control de larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.), mientras que la de Laboratorio : Micrococcus sp., fué escasa siendo nula la del resto de las bacterias para cesar el hábito alimenticio de las larvas en un tiempo menor de 168. Igualmente se determinó la eficacia de los insecticidas biológicos Thuricide y Viron H, los cuales son preferentemente específicos para determinadas especies.

La mayor efectividad de las bacterias C₁B : Diplococcus sp., A₁A : Sarcina sp. y Micro⁺ : Micrococcus sp., puede deberse a cierta selectividad de ataque frente a Agrotis ipsilon (Hfn.), debido posiblemente al desarrollo de toxinas o enzimas que interfirieron en un menor tiempo el normal funcionamiento fisiológico de las larvas.



TESTIGO

Fig. No. 6. Larva y pupa de Agrotis ipsilon (Hfn.) en el tratamiento Testigo. Compárese con los síntomas observados en las fotografías anteriores.

Foto : Agor.

Las restantes bacterias al ser ingeridas, pueden producir cambios tardíos, debido principalmente a que por multiplicación alta dentro de las larvas, pueden causar su debilitamiento, enfermedad y muerte; sin embargo, estas bacterias no son patógenas específicas.

Después de comparar la cantidad de larvas que suspendieron su hábito alimenticio o murieron en diferentes horas después de la inoculación de las bacterias anotadas, no se encontró diferencias significativas entre los diferentes tiempos. Aunque las bacterias son más violentas que otras, se puede dar dicha efectividad por número de larvas con cambios como cesación del hábito alimenticio y posteriormente la muerte; sin embargo, para algunas bacterias, la efectividad es más rápida y en otras tardía, de ahí que no se observaron diferencias estadísticas. En términos generales se puede indicar que a 120 y 144 horas, el mayor número de larvas cesan su alimentación.

Tampoco se determinaron diferencias estadísticas a los niveles del 1% y 5%, entre los diferentes tamaños de larvas, debido a las razones expuestas para el tiempo; sin embargo, se presenta una mayor rata de muerte en las larvas pequeñas que en larvas medianas y grandes de Agrotis ipsilon (Hfn.), debido a que las bacterias consideradas como efectivas se multiplican y producen sus toxinas en mayor proporción a lo que las larvas de menor tamaño pueden soportar y además las larvas pequeñas, tienen pocas defensas fisiológicas para soportar el ataque bacterial.

4.1.3.2 En condiciones de suelo

4.1.3.2.1 Con repollo

Contabilizadas 7 hojas de planta de repollo,

se hicieron observaciones para determinar el menor o mayor daño debido al trozamiento de hojas por parte de larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.) de tamaño mediano asperjados por las bacterias y en suelo inoculado por las mismas, las cuales además fueron asperjadas sobre las larvas.

En la Tabla III, se puede consignar la efectividad de las bacterias por porcentaje menor de hojas trozadas de repollo. Visualmente, se determinó que para las bacterias Darlab: Streptococcus sp., y Laboratorio: Micrococcus sp., fueron menores los porcentajes de hojas trozadas, se obtuvieron con las bacterias Micro: Micrococcus sp., Bacilo: Bacillus sp., Thuricide, Viron H y Testigo; se encontró igualmente, que las bacterias C₁B: Diplococcus sp., A₁A: Sarcina sp., y Micro⁺: Micrococcus sp.), fueron menos efectivas en condiciones de laboratorio, debido posiblemente, a que su dispersión y multiplicación en el suelo pudo ser menor; además, Darlab: Streptococcus sp. y Laboratorio: Micrococcus sp., presentan, posiblemente una mayor penetración por las aberturas naturales de las larvas, que las demás bacterias.

Al hacer el análisis de variancia, se determinaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Tabla IV). En la Tabla IV del Apéndice, se consignan las diferencias entre medias con las siguientes interpretaciones:

El Viron H fué el más inefectivo, mostrando diferencias altamente significativas con respecto a Darlab: Streptococcus sp. Laboratorio: Micrococcus sp., A₁A: Sarcina sp. y D₄⁺: Bacillus sp., y Testigo; este último se comportó similarmente a Viron H, con

TABLA III

PORCENTAJES DE HOJAS DE REPOLLO TROZADAS POR Agrotis
ipsilon (Hfn.), DESPUES DE LA INOCULACION AL SUELO CON
BACTERIAS ENTOMOFAGAS Y CON LOS INSECTICIDAS BIOLOGI
COS THURICIDE Y VIRON H.

TRATAMIENTOS	REPLICACIONES				$\bar{X}$
	I	II	III	IV	
VIRON H	100.00	100.00	85.70	100.00	96.42
BACILLUS	85.70	85.70	85.70	100.00	89.27
MICRO	100.00	85.70	71.40	85.70	86.70
DARLAB	87.10	42.80	28.50	28.50	39.22
LABORATORIO	28.50	57.10	28.60	42.80	39.22
A ₁ A	57.10	57.10	57.10	42.80	53.52
MICRO ⁺	100.00	85.70	71.40	85.70	85.70
C ₁ B	28.50	57.10	57.10	57.10	49.95
D ₄ ⁺	57.10	71.40	57.10	71.40	64.25
THURICIDE	85.70	85.70	71.40	100.00	85.70
TESTIGO	100.00	85.70	85.70	100.00	92.85

TABLA IV

ANALISIS DE VARIANCIA PARA EL PORCENTAJE DE HOJAS DE REPOLLO TROZADAS POR
LARVAS DE Agrotis ipsilon (Hfn.), DESPUES DE LA INOCULACION AL SUELO DE BACTERIAS
ENTOMOFAGAS. DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SENOS V²

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	F Calculada	F Tabla 5%	1%
BLOQUES	3	495.17	199.99	2.39	N.S.	
TRATAMIENTOS	10	11.713.82	1.171.38	13.77**	2.92	4.51
RESIDUAL	30	2.551.57	85.05			
TOTAL	43					

** Diferencia significativa al nivel del 1% de probabilidad.

N.S. No significativo.

la única diferencia de que difirió al nivel del 5% respecto a D_4^+ : Bacillus sp.

La bacteria Bacilo : Bacillus sp, que mostró diferencias altamente significativas con respecto a Darlab : Streptococcus sp., Laboratorio : Micrococcus sp. y al nivel del 1% respecto a A_1A : Sarcina sp.

La bacteria Micro : Micrococcus sp. y Thuricide, presentaron diferencias altamente significativas respecto a Darlab : Streptococcus sp., Laboratorio : Micrococcus sp. y significativas con relación a C_1B : Diplococcus sp., $Micro^+$: Micrococcus sp. y A_1A : Sarcina sp.

Por lo anterior, se puede dar la efectividad en condiciones de suelo en el siguiente orden : Darlab : Streptococcus sp., Laboratorio : Micrococcus sp., C_1B : Diplococcus sp., $Micro^+$: Micrococcus sp., A_1A : Sarcina sp. y D_4^+ : Bacillus sp.

Estas bacterias posiblemente poseen de mayor a menor capacidad para penetrar en las larvas a través de las aberturas, difundirse en el suelo y multiplicarse en los residuos de materia orgánica presente en el suelo.

Los insecticidas biológicos Viron H y Thuricide, fueron inefectivos al igual que las bacterias Bacilo : Bacillus sp. y Micro : Micrococcus sp.

4.1.3.2 Con maíz

Al examinar la efectividad de las bacterias por el menor porcentaje de plántulas de maíz trozadas, (Tabla V), se

TABLA V

PORCENTAJES DE PLANTULAS DE MAIZ TROZADAS POR Agrotis
ipilon (Hfn.), DESPUES DE LA INOCULACION AL SUELO DE BAC-
TERIAS ENTOMOFAGAS Y DE INSECTICIDAS BIOLOGICOS THURI-
CIDE Y VIRON H.

TRATAMIENTOS	REPLICACIONES				$\bar{x}$
	I	II	III	IV	
VIRON H	100.00	75.00	100.00	100.00	71.25
BACILO	75.00	75.00	75.00	75.00	75.00
MICRO	75.00	100.00	75.00	75.00	81.25
DARLAB	25.00	25.00	25.00	50.00	31.25
LABORATORIO	100.00	75.00	75.00	75.00	81.25
A ₁ A	50.00	50.00	50.00	75.00	56.25
MICRO ⁺	25.00	25.00	50.00	25.00	31.25
C ₁ B	50.00	25.00	50.00	50.00	43.75
D ₄ ⁺	75.00	75.00	75.00	75.00	75.00
THURICIDE	75.00	100.00	100.00	100.00	93.75
TESTIGO	75.00	100.00	75.00	100.00	87.50

determinó que fueron más efectivas las bacterias Darlab : Streptococcus sp., Micro⁺ : Micrococcus sp. y C₁B : Diplococcus sp., mientras que con Thuricide, Laboratorio : Micrococcus sp., Viron H y Testigo se presentó un mayor porcentaje de plántulas muertas. Se cumple, con algunas variaciones, lo observado para el repollo, las cuales pueden deberse a un menor consumo inicial o final de maíz por parte de las larvas, debido a que prefieren más el repollo.

De acuerdo al análisis de variancia, se determinaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, (Tabla VI), por lo cual fue preciso realizar la Prueba de Tukey.

En la Tabla V del Apéndice, se consignan las diferencias entre medias con las siguientes interpretaciones : los insecticidas Thuricide y Viron H y el Testigo, mostraron diferencias altamente significativas respecto a Micro⁺ : Micrococcus sp. y Darlab : Streptococcus sp., que fueron los más efectivos (figura 7); entre los tratamientos restantes, no se presentaron diferencias, debido, posiblemente, a que las larvas tienen diferencias en cuanto a apetencia y que únicamente van a trozar una plántula y no varias hojas como en el caso del repollo, (figura 8); sin embargo, se observó que Micro⁺ : Micrococcus sp. y Darlab : Streptococcus sp., ejercieron una acción patógena más rápida, por su mayor difusión en el suelo, su capacidad de multiplicación y su posible penetración a través de las aberturas naturales de las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.)

4.1.4

Efectividad bacterial sobre pupas

En esta prueba se determinó la capacidad de la bacteria para penetrar a las pupas, debido posiblemente a la acción

TABLA VI

ANALISIS DE VARIANCIA PARA EL PORCENTAJE DE PLANTULAS DE MAIZ TROZADAS POR
LARVAS DE Agrotis ipsilon (Hfn.), DESPUES DE LA INOCULACION AL SUELO DE BACTERIAS

ENTOMOFAGAS. DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SEN V %

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F Tabla	
					5%	1%
BLOQUES	3	184.09	61.36	0.44	N.S.	
TRATAMIENTOS	10	12.804.55	1.280.45	9.39**	2.92	4.51
RESIDUAL	30	4.090.91	136.36			
TOTAL	43					

** Diferencia altamente significativa al nivel del 1%

N.S. No significativo.



Fig. No. 7. Efectividad de la bacteria Micro⁺ : Micrococcus sp. inoculada al suelo para proteger plántulas de maíz, del daño de larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.).

Foto : Agor.



Fig. No. 8. Baja efectividad de la bacteria A₁A : Sarcina sp., inoculada al suelo, para proteger plántulas de maíz del daño de larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.)

Foto : Agor.

de toxinas o enzimas digestivas. Los síntomas producidos en las pupas fueron muy similares para todas las bacterias, ya que alrededor del punto de inoculación, la pared de la pupa se tornó negra y más tarde adquirió completamente este color y se volvió blanda; al partirla, el interior se encontró totalmente descompuesto por una pudrición húmeda de color blanco amarillento.

En la Tabla VII, se consignan los porcentajes de pupas muertas, donde visualmente se determinó que C_1B : Diplococcus sp., Darlab : Streptococcus sp., A_1A : Sarcina sp. y $Micro^+$: Micrococcus sp., fueron las bacterias más efectivas en comparación con $Micro$: Micrococcus sp., Bacilo : Bacillus sp., Thuricide y Viron H, donde el porcentaje de pupas muertas fué bajo y nulo en el testigo.

De acuerdo al análisis de variancia, se presentaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, (Tabla VIII). En la Tabla VI del Apéndice, se observan las diferencias entre medias con la siguiente interpretación : la bacteria C_1B : Diplococcus sp., se comportó como la más efectiva, ya que presentó diferencias altamente significativas con relación al testigo, Thuricide, Viron H, Bacilo : Bacillus sp. y Laboratorio : Micrococcus sp., pero no difirió con $Micro^+$: Micrococcus sp., A_1A : Sarcina sp., y Darlab : Streptococcus sp. Las dos últimas bacterias únicamente se diferenciaron de Diplococcus sp. porque presentaron diferencias al nivel del 5%, con relación a Laboratorio : Micrococcus sp. y $Micro^+$: Micrococcus sp.

Se observa que C_1B : Diplococcus sp., Darlab : Streptococcus sp., A_1A : Sarcina sp. y $Micro^+$: Micrococcus sp., son más efectivas por su especificidad hacia Agrotis ipsilon (Hfn.), por su mayor capacidad de reproducción de enzimas digestivas que favorecen la

TA BLA VII

PORCENTAJES DE PUPAS DE Agrotis ipsilon (Hfn.), MUERTAS POR ACCION DE BACTERIAS ENTOMOFAGAS EN COMPARACION CON LOS INSECTICIDAS BIOLOGICOS THURICIDE Y VIRON H.

TRATAMIENTOS	REPLICACIONES				$\bar{x}$
	I	II	III	IV	
VIRON H	0.00	10.00	0.00	0.00	2.50
BACILO	0.00	10.00	10.00	10.00	7.50
MICRO	10.00	10.00	20.00	10.00	12.50
DARLAB	80.00	10.00	50.00	70.00	67.50
LABORATORIO	40.00	70.00	40.00	40.00	37.50
A ₁ A	70.00	30.00	50.00	70.00	65.00
MICRO ⁺	70.00	70.00	60.00	70.00	62.50
C ₁ B	70.00	50.00	50.00	80.00	70.00
D ₄ ⁺	30.00	80.00	20.00	30.00	27.50
THURICIDE	0.00	30.00	0.00	0.00	2.50
TESTIGO	0.00	10.00	0.00	0.00	0.00

TABLA VIII

ANÁLISIS DE VARIANCIAS PARA LOS PORCENTAJES DE PUPAS MUERTAS DE Agrotis ipsilon
(Hfn.), POR ACCIÓN DE BACTERIAS ENTOMOFAGAS. DATOS TRANSFORMADOS A
ARCO SENSO $\sqrt{\%}$

Fuente de variación	Grados de libertad.	Suma de los cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F Tabla 5%	1%
BLOQUES	3	206.25	68.75	1.68 N.S.		
TRATAMIENTOS	10	19.908.88	1.990.88	48.73**	2.92	4.51
RESIDUAL	30	1.225.61	40.85			
TOTAL	43	21.940.72				

** Diferencia significativa al nivel del 1% de probabilidad.

N.S. No significativo.

penetración en la pupa.

La bacteria Laboratorio : Micrococcus sp. siguió en efectividad porque mostró diferencias altamente significativas respecto al Testigo, Thuricide, Viron H, Bacilo : Bacillus sp. y significativas con respecto a Micro⁺ : Micrococcus sp.; la bacteria Micro : Micrococcus sp. mostró diferencias al nivel del 1% únicamente con el Testigo,

Se observó la ineffectividad del Viron H y el Thuricide y las bacterias Bacilo : Bacillus sp., y Micro : Micrococcus sp. las cuales posiblemente pueden ser patógenas accidentales por multiplicación excesiva en larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.), pero no tienen ninguna propensión para penetrar por la pared puparia y descomponer el interior.

4.1.5 Efectividad de Diplococcus sp. sobre adultos

Se observó este efecto únicamente con Diplococcus sp. empleando seis adultos hembras poco después de la copulación; cuatro individuos murieron a los 2 días sin alcanzar a ovipositar; dos ovipositaron, pero los huevos no tuvieron ningún cambio y obtenida la eclosión de las larvas, éstas no presentaron síntomas de ataque bacterial. Es probable que todos los adultos sean susceptibles a la bacteria; sin embargo, los individuos que permanecieron vivos, posiblemente, no consumieron alimento contaminado con las bacterias.

4.1.6 Comportamiento de Diplococcus sp., frente a altas temperaturas y desecación

Después de mantener a Diplococcus sp. a temperaturas de 50 y 60°C en un medio seco y efectuar la inoculación a lar-

vas pequeñas de Agrotis ipsilon (Hfn.), los resultados fueron negativos, debido a que la bacteria carece de la capacidad de producción de endosporas resistentes a condiciones adversas. Esta esporulación hace que Bacillus thuringiensis pueda incorporar a polvos insecticidas; sin embargo, se podría separar caldos nutritivos con la bacteria Diplococcus sp., para preparar suspensiones en agua, con las cuales se efectúen aspersiones al suelo y cerca a las plantas, con el objeto de lograr una mayor diseminación del microorganismo, el cual en condiciones naturales pueda ejercer un control biológico de las larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.). En esta condición es posible su supervivencia ya que la bacteria puede vivir como saprófita en los residuos del suelo.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.

1) A partir de larvas muertas de Agrotis ipsilon (Hfn.) se aislaron las bacterias C_1B : Diplococcus sp., A_1A : Sarcina sp., Darlab : Streptococcus sp., tres especies de Micrococcus : Micro⁺ : Micrococcus sp., Laboratorio : Micrococcus sp., Micro : Micrococcus sp. y dos especies de Bacillus : D_4^+ : Bacillus sp. y Bacilo : Bacillus sp.

2) En larvas de Agrotis ipsilon (Hfn.), la más efectiva para su control fué la bacteria C_1B : Diplococcus sp., siguiendo en efectividad A_1A : Sarcina sp. y la especie Micro⁺ : Micrococcus sp.

3) En condiciones del suelo y utilizando como plantas hospederas de la plaga, repollo y maíz, y mediante análisis estadístico, se determinó la mayor efectividad de las bacterias Darlab : Streptococcus sp., C_1B : Diplococcus sp., A_1A : Sarcina sp. y la especie Micro⁺ : Micrococcus sp.

4) Para el control de pupas de Agrotis ipsilon (Hfn.) las bacterias más efectivas fueron : C_1B : Diplococcus sp., Darlab : Streptococcus sp., A_1A : Sarcina sp. y la especie de Micro⁺ : Micrococcus sp.

5) La diferencia de patogenicidad de las cepas de Micrococcus sp., dan a entender que se trata de tres especies diferentes.

6) Se comprobó la ineffectividad de los insecticidas

biológicos Thuricide y Viron H en el control de larvas y pupas de Agrotis ipsilon (Hfn.)

7) La bacteria C₁B : Diplococcus sp., puede causar la muerte de adultos hembras de Agrotis ipsilon (Hfn.). Dicha bacteria no presentó resistencia a las temperaturas altas y a la desecación.

5.2 Recomendaciones .

- 1) Ensayar con las bacterias más efectivas, la preparación de caldos nutritivos sembrados con dichos microorganismos los cuales pueden ser suspendidos en agua para aplicaciones a nivel de campo.
- 2) Observar en el campo la efectividad de las bacterias, mediante siembras sucesivas de cultivos hospederos de Agrotis ipsilon (Hfn.) y de otras plagas en suelo inoculado con dichos microorganismos.
- 3) Determinar la supervivencia de las bacterias mediante aislamientos periódicos a partir del suelo.
- 4) Comparar la efectividad de las bacterias con el uso de productos químicos.
- 5) Estudiar la eficiencia de otros enemigos naturales de Agrotis ipsilon (Hfn.), como insectos, nemátodos y hongos.
- 6) Fomentar el control biológico de plagas en el Departamento de Nariño.

VI. RESUMEN

El presente trabajo se realizó entre Diciembre de 1.973 y Agosto de 1.974, en la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño, para observar el efecto de diferentes bacterias entomófagas en el control del "tierrero o trozador" (Agrotis ipsilon (Hfn.)), plaga de importancia agrícola en el Departamento de Nariño.

Se aislaron las bacterias Diplococcus sp., Streptococcus sp., Sarcina sp., tres especies de Micrococcus sp., y dos especies de Bacillus sp. Con dichos microorganismos y los insecticidas biológicos Thuricide y Viron H., se efectuaron inoculaciones en larvas y pupas de Agrotis ipsilon (Hfn.), determinándose que las bacterias más efectivas fueron: Diplococcus sp., Streptococcus sp., Sarcina sp., y una especie de Micrococcus p., mientras que Thuricide y Viron H. fueron ineficaces.

Después de realizar con Diplococcus sp. pruebas de inoculación en adultos hembras de Agrotis ipsilon (Hfn.), y hacer pruebas de resistencia a temperaturas de 50 y 60°C. y la desecación, la bacteria fué patógena de adultos pero no resistió a las condiciones anotadas.

SUMMARY

The present work was made between December of 1973 and August of 1974 in the Faculty of Agricultural Sciences at the University of Narifio, to see the effect of different entomophagous bacteria for the "tierrero o trozador", control (Agrotis ipsilon Hfn.), plague of agricultural importance in the Department of Narifio.

The following bacteria were isolated, Diplococcus sp., Streptococcus sp., Sarcina sp., three species of Micrococcus sp., and two Bacillus sp., with such microorganisms and biological insecticide, Thuricide and Viron H. The inoculation was effected for larvae and pupules of Agrotis ipsilon (Hfn.), it was determined that the more effective bacteria were: Diplococcus sp., Streptococcus sp., Sarcina sp., meanwhile Thuricide and Viron H, were ineffective.

After to realize with Diplococcus sp., inoculation test for female adults of Agrotis ipsilon (Hfn.), and to make test of resistance to temperatures of 50 and 60°C. and dissection too, the bacteria was pathogenic for adults species, but it was no resistance to the above conditions.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. AFIFY, A.M., HAPEZ, M. and MERDAN, A.I. Temperature and humidity as factors influencing the response of some Egyptian cotton worms to "Biospore 2802". Z. angew. Ent. 63 (2): 180-183. (Resumen analítico en : The Review of Applied Entomology 59 (9): 652. 1971).
2. BURGESS, D.D. Control of insects by Bacillus thuringiensis. En : Proceedings of the Fifth British Insecticide and Fungicide Conference, 17 th. to 20 th November, 1969, Brighton (England). pp. 405-411. (Resumen analítico en : The Review of Applied Entomology 59 (3): 202. 1971).
3. BREED, R.S. et al. Bergeis manual of determinative bacteriology. 7a. ed. Baltimore, Williams, 1957. 1094 p.
4. DONOSO, J.G. Conferencias de control biológico de plagas agrícolas. Universidad de Nariño. Instituto Tecnológico Agrícola, Pasto, Colombia, Publicación No. 9. 1968. 68 p.
5. LOAIZA, V.M. Biología y pruebas preliminares en el combate de Ephestia cautella Walk. con el Bacillus thuringiensis Ber. Fitosia, XV (34): 30-44 pp. 1962).
6. NICOLOVA, V. Data on the bionomics of Agrotis ipsilon Rott. (Feltia Rhyacla ipsilon Rott.) and test for its control. Izv. Tsent. Nauch Inst. Zacht. Rost. 1:83-100. 1961) Resumen analítico en : The Review of Applied Entomology 50 (1): 346-347. 1962).

7. PUTTLER, B. y THEWEKE, S.E. Biology of Microphitis feltia (Hymenoptera : Braconidae), a parasite of the black cutworm, Agrotis ipsilon. Annals of the Entomological Society of America 63 (3): 645-648. 1970. (Resumen analítico en : The Review of Applied Entomology 59 (2): 94. 1971).
8. RAUN, E.S. y BROOKS, D.L. Bacterial pathogens in Iowa corn insects. J. Insect Path. (U.S.A.) 5 (1): 66-71. 1963. (Resumen analítico en The Review of Applied Entomology 51 (1): 590. 1963).
9. SOLA, E. Guía práctica para la planificación, análisis e interpretación de los diseños experimentales más comunes. Paraná. I.N.T.A., Estación Experimental Agropecuaria, Argentina, 144 p. s.f.
10. SNEDECOR, G.W. Métodos estadísticos. México, Continental. 1970. 703p.
11. STENHAUS, E. Principles of insect pathology. New York, McGraw-Hill, 1949. 757 p.

TABLA I

PRUEBA DE TUKEY PARA LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS DE LA EFECTIVIDAD DE BACTERIAS ENTOMOFAGAS EN EL CONTROL DE LARVAS DE Agrotis ipsilon (Hfn.). DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SENO $\sqrt{\%}$

Tratamientos	Testigo	Viron	Thuricide	Micro ⁺	Darlab	Bacilo	D ₄ ⁺	Laboratorio	Micro	A ₁ A
C ₁ B	16.16**	15.95**	15.21**	14.48**	11.64*	10.16	7.15	5.19	2.28	2.18
A ₁ A	13.98**	13.77**	13.03**	12.30*	9.46	7.98	4.97	3.01	0.10	
MICRO	13.88**	13.67**	12.93**	12.20*	9.36	7.88	4.97	2.91		
LABORATORIO	10.97*	10.76	10.02	9.29	6.45	4.97	1.96			
D ₄ ⁺	9.01	8.80	8.06	7.33	4.49	3.01				
BACILO	6.00	5.79	5.05	4.32	1.48					
DARLAB	4.52	4.31	3.57	2.84						
MICRO ⁺	1.68	1.47	0.73							
THURICIDE	0.95	0.74								
VIRON	0.21									

* Diferencias significativas al nivel del 5% de probabilidad

** Diferencias significativas al nivel del 1% de probabilidad

Valor de Tukey al 5% : 10.87

Valor de Tukey al 1% : 12.92

TABLA II

PRUEBA DE TUKEY PARA LA DIFERENCIA DE TAMAÑOS DE LARVAS DE Agrotis ipsilon (Hfn.), MUERTAS POR ATAQUE BACTERIAL. DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SEN $\sqrt{\%}$

TAMAÑOS	GRANDES	PEQUEÑAS	MEDIANAS
PEQUEÑAS	4.05	2.51	0.00
MEDIANAS	1.54	0.00	
GRANDES	0.00		

Valor de Tukey al 5% : 5.61

Valor de Tukey al 1% : 7.06

No se presentaron diferencias significativas.

TABLA III

PRUEBA DE TUKEY PARA LAS DIFERENCIAS DE TIEMPOS DE
CESACION DEL HABITO ALIMENTICIO DE LARVAS DE Agrotis
ipsilon (Hfn.), DESPUES DE LA INOCULACION DE BACTERIAS
ENTOMOFAGAS. DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SEN $\sqrt{\%}$

HORAS	24	48	72	168	96	120
144	10.83	8.92	6.29	3.71	1.71	0.22
120	10.61	8.70	6.07	3.49	1.49	
96	9.12	7.21	4.58	2.00		
168	7.12	5.21	2.58			
72	4.54	2.63				
48	1.91					

Valor de Tukey al 5% : 98.20

Valor de Tukey al 1% : 114.92

No se presentaron diferencias significativas.

TABLA IV

PRUEBA DE TUKEY PARA LA COMPARACION DE MEDIAS DE HOJAS DE REPOLLO TROZADAS
POR LARVAS DE Agrotis ipsilon (Hfn.), DESPUES DE LA INOCULACION AL SUELO DE BACTERIAS
ENTOMOFAGAS. DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SENO V %

Tratamientos	Labona- torio	Darlab	C ₁ B	Micro ⁺	A ₁ A	D ₄ ⁺	Thuricide	Micro	Bacilo	Testigo
VIRON	45.82**	45.82**	39.57**	39.47**	37.42**	37.07**	13.64	13.64	11.11	5.55
TESTIGO	40.27**	40.27**	34.02**	33.92**	31.87**	25.52*	8.09	8.09	5.55	
BACILO	34.71**	34.71**	28.46**	28.36**	26.31*	19.96	2.53	2.53		
MICRO	32.18**	32.18**	25.93*	25.83*	23.78	17.43	0.00			
THURICIDE	32.18**	32.18**	25.93*	25.83*	23.78	17.43				
D ₄ ⁺	14.75	14.75	8.50	8.40	6.35					
A ₁ A	8.40	8.40	2.15	2.05						
MICRO ⁺	6.35	6.35	0.10							
C ₁ B	6.25	6.25								
DARLAB	0.00									

Valor de Tukey al 5% : 22.68

Valor de Tukey al 1% : 26.96

* Diferencia significativa al nivel del 5% de probabilidad

** Diferencia significativa al nivel del 1% de probabilidad.

TABLA V

PRUEBA DE TUKEY PARA LA COMPARACION ENTRE MEDIAS DE LOS PORCENTAJES DE PLANTULAS DE MAIZ, TROZADAS POR LARVAS DE Agrotis ipsilon (Hfn.), DESPUES DE LA INOCULACION AL SUELO DE BACTERIAS ENTOMOFAGAS. DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SENSO $V\%$

Tratamientos	Micro ⁺	Darlab	C ₁ B	A ₁ A	D ₄ ⁺	Bacilo	Laboratorio	Micro	Testigo	Thuricide
VIRON	48.75**	48.75**	41.25**	33.75*	22.50	22.50	15.00	7.50	0.00	0.00
THURICIDE	48.75**	48.75**	41.25**	33.75*	22.50	22.50	15.00	7.50	0.00	
TESTIGO	41.25**	41.21**	33.75*	26.25	15.00	15.00	7.50	0.00		
MICRO	33.75*	33.75*	26.25	18.75	7.50	7.50	0.00			
LABORATORIO	33.75*	33.75*	26.25	18.75	7.50	7.50				
BACILO	26.25	26.25	18.75	11.75	0.00					
D ₄ ⁺	26.25	26.25	18.75	11.75						
A ₁ A	15.00	15.00	7.50							
C ₁ B	7.50	7.50								
DARLAB	0.00									

Valor de Tukey al 5% : 28.68

Valor de Tukey al 1% : 34.10

* Diferencias significativas al nivel del 5% de probabilidad

** Diferencias significativas al nivel del 1% de probabilidad.

PRUEBA DE TUKEY PARA LA COMPARACION ENTRE MEDIAS DE LOS PORCENTAJES DE PUPAS DE Agrotis ipsilon (Hfn.), MUERTAS POR LA ACCION DE BACTERIAS ENTOMOFAGAS. DATOS TRANSFORMADOS A ARCO SENO V^{-1} %

Tratamientos	Testigo	Thuricide	Viron	Bacilo	Micro	D ₄ ⁺	Laboratorio	Micro ⁺	A ₁ A	Darlab
C ₁ B	59.59**	52.13**	52.13**	43.19**	36.69**	25.62**	19.44**	4.83	3.32	1.66
DARLAB	54.93**	50.57**	50.47**	41.53**	35.03**	23.96**	17.78*	3.17	1.66	0
A ₁ A	53.27**	48.81**	48.81**	39.87**	33.37**	22.30**	16.12*	1.51		1
MICRO ⁺	51.76**	47.30**	47.30**	38.36**	31.86**	20.79**	14.61			
LABORATORIO	37.17**	32.69**	32.69**	23.75**	17.21*	6.18				
D ₄ ⁺	30.97**	26.51**	25.51**	17.57*	11.07					
MICRO	19.90**	15.44	15.44	6.50						
BACILO	13.40	8.94	8.94							
VIRON	4.46	0.00								
THURICIDE	4.46									

Valor de Tukey al 5% : 15.49

Valor de Tukey al 1% : 18.42

* Diferencias significativas al nivel del 5% de probabilidad

** Diferencia significativas al nivel del 1% de probabilidad.

T	
AN	
631.46	16856
G934	
Ej.1	Guerrero Muñoz, Jaime
Algunos aspectos sobre el control microbiológico del tierrero...	
NOMBRE	Ordoñez Ibarra S. 226
Nº del Carnet	
NOMBRE	Martha Irene Arz
Nº del Carnet	45031202

AN
T
631.46
G934
Ej.1.

16856

16856