

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS

**"COLECTA E IDENTIFICACION PRELIMINAR DE AGENTES
ENTOMOPATOGENOS EN AREAS HORTICOLAS DE SACATEPEQUEZ Y
CHIMALTENANGO, GUATEMALA"**

TESIS

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

APARICIO DAVID BAMACA LEIVA

**EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO
INGENIERO AGRONOMO**

EN

**SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO**

Guatemala, noviembre de 1996

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRICOLAS

"COLECTA E IDENTIFICACION PRELIMINAR DE AGENTES
ENTOMOPATOGENOS EN AREAS HORTICOLAS DE SACATEPEQUEZ Y
CHIMALTENANGO, GUATEMALA"

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

APARICIO DAVID RAMACA LEIVA
EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO
INGENIERO AGRONOMO
EN
SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIADO

Guatemala, noviembre de 1996

21
(1609)
B

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. JAFETH ERNESTO CABRERA FRANCO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	ING. AGR. JOSE ROLANDO LARA ALECIO
VOCAL PRIMERO:	ING. AGR. JUAN JOSE CASTILLO MONT
VOCAL SEGUNDO:	ING. AGR. WILLIAM ESCOBAR LOPEZ
VOCAL TERCERO:	ING. AGR. CARLOS ROBERTO MOTTA
VOCAL CUARTO:	P. A. HENRY ESTUARDO ESPAÑA MORALES
VOCAL QUINTO:	Br. MYNOR JOAQUIN BARRIOS OCHAETA
SECRETARIO:	ING. AGR. GUILLERMO MENDEZ BETETA

Guatemala, noviembre de 1996

**Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente**

Señores:

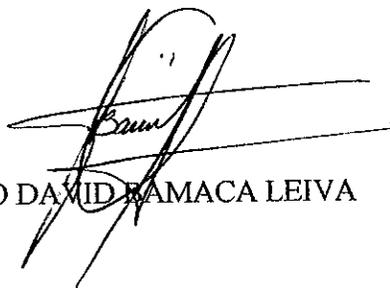
De conformidad con las normas establecidas en la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de presentar a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

**"COLECTA E IDENTIFICACION PRELIMINAR DE AGENTES ENTOMOPATOGENOS EN
AREAS HORTICOLAS DE SACATEPEQUEZ Y CHIMALTENANGO, GUATEMALA"**

Presentado como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Agradeciendo su atención a la presente, sin otro particular me suscribo,

Atentamente,



APARICIO DAVID RAMACA LEIVA

ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS TODOPODEROSO:

Fuente de toda iluminación en el desarrollo de mi vida y que me permitió alcanzar una de mis metas.

MIS PADRES:

Anastacio Leoncio Bámaca Ramos y
Angela Remigia Leiva de Bámaca

Como una muestra de agradecimiento, por haberme dado la vida, el amor y el apoyo moral. Que esto sea el tributo a sus abnegados sacrificios, a sus lágrimas y desvelos, para que alcanzara el éxito en esta fase de mi vida. GRACIAS PADRES.

MIS HERMANOS:

Idalma Patricia, Emilia Verónica, Ingrid Hipólita, Rosa Estelita, Rigoberto Anastacio y Juan José.

Con amor fraterno.

MIS SOBRINOS:

Karen Johana y Roberto Alejandro

MIS ABUELOS:

Aparicio Bámaca Escobar e
Hipólita Ramos Castillo

En memoria de la espiritualidad dada, para alcanzar esta meta.

Carlos Leiva y
Emilia Chávez de Leiva

Por sus sabios consejos.

MIS TIOS Y PRIMOS:

Con cariño.

MIS CUÑADOS:

Byron Oliva y
Miguel Pérez

Con aprecio y respeto.

**MIS AMIGOS Y
COMPAÑEROS DE ESTUDIO:**

Como recuerdo de las experiencias compartidas, muestras de amistad y estímulo para seguir siempre adelante.

□

TESIS QUE DEDICO

A:

MI PATRIA GUATEMALA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

MIS CENTROS DE ESTUDIO, ESCUELA JOSE MIGUEL
VASCONCELOS, INSTITUTO BASICO TECUN UMAN E
INSTITUTO NACIONAL CENTRAL PARA VARONES

TODOS LOS CAMPESINOS DE GUATEMALA

AGRADECIMIENTOS

Quiero hacer patente mi agradecimiento a las personas que colaboraron en el desarrollo de la presente investigación, principalmente:

A:

Mis asesores:

Ing. Agr. Rolando Aguilera Mejía

Ing. Agr. Samuel Córdova Calvillo

Ing. Agr. Edil Rodríguez Quezada

Por la valiosa asesoría e interés puesto en la revisión y ejecución del presente trabajo de tesis.

Ing. Agr. Ronald Estrada, Gerente de Agropecuaria El Sol, por el apoyo proporcionado en la realización de la investigación, especialmente en la etapa de identificación de los agentes entomopatógenos.

Ing. Agr. Francisco Eloiso Cárdenas e Ing. Agr. Efraín Donis y Donis, por su apoyo y colaboración prestada.

Personal técnico de campo e Ingenieros Agrónomos de las agroexportadoras INAPSA, COOPERATIVA CUATRO PINOS, FRUTESA, PLANTERRA y TIERRA FRIA, por el apoyo prestado en la etapa de campo.

Laboratoristas Rigoberto Rosales Cerna, Julio César Peña y César Patzán, de las Areas de Entomología, Fitopatología y Microbiología respectivamente, por su colaboración prestada en la etapa de laboratorio.

Br. Julio Salvador Chinchilla Salazar, por su colaboración prestada en la transcripción computarizada del presente trabajo.

Todas aquellas personas que con su apoyo permitieron la realización y culminación de la presente investigación.

CONTENIDO

1. INTRODUCCION	1
2. DEFINICION DEL PROBLEMA	2
3. MARCO TEORICO	4
3.1 MARCO CONCEPTUAL	4
3.1.1 Efecto de los factores físicos sobre organismos entomopatógenos	4
3.1.2 Enfermedades Bacterianas	6
3.1.3 Enfermedades Virosas	9
3.1.4 Enfermedades causadas por Hongos	13
3.1.5 Enfermedades causadas por Nemátodos	15
3.1.6 Enfermedades causadas por Protozoarios	17
3.2 MARCO REFERENCIAL	19
3.2.1 Importancia del Control Biológico	19
3.2.2 Términos utilizados en Control Biológico	19
3.2.3 Investigaciones realizadas en Guatemala	20
4. OBJETIVOS	23
4.1 OBJETIVO GENERAL	23
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	23
5. METODOLOGIA	24
5.1 LOCALIZACION	24
5.2 CLIMA	24
5.3 ZONA DE VIDA	24
5.4 ACTIVIDADES REALIZADAS EN LA INVESTIGACION	27
5.4.1 Etapa de Planificación	27
5.4.2 Etapa de Campo	27
5.4.3 Etapa de Laboratorio	28
5.5 ADAPTACION Y DESARROLLO DE INSECTOS A NIVEL DE INVERNADERO PARA PRUEBA DE PATOGENICIDAD DE LOS ENTOMOPATOGENOS	29
5.6 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	29
5.7 INTERPRETACION DE RESULTADOS	30
6. RESULTADOS Y DISCUSION	31
6.1 ETAPA DE CAMPO	31
6.2 CARACTERISTICAS DE PATOGENICIDAD OBSERVADAS A NIVEL DE CAMPO	31
6.2.1 PATOGENICIDAD EN <u>Plutella xylostella</u> L.	31
6.2.2 PATOGENICIDAD EN <u>Myzus persicae</u> (Sulzer)	32
6.2.3 PATOGENICIDAD EN <u>Leptophobia aripa</u> (Boisd)	32
6.2.4 PATOGENICIDAD EN <u>Spodoptera sunia</u> (Guen)	33
6.3 ETAPA DE LABORATORIO	33
6.3.1 PRUEBAS EFECTUADAS SOBRE <u>Plutella xylostella</u> L.	33

6.3.2 PRUEBAS EFECTUADAS SOBRE <u>Myzus persicae</u> (Sulzer)	34
6.3.3 PRUEBAS EFECTUADAS SOBRE <u>Leptophobia aripa</u> Boisd.	35
6.3.4 PRUEBAS EFECTUADAS SOBRE <u>Spodoptera sunia</u> (Guen.)	36
6.4 IDENTIFICACION DE LOS AISLAMIENTOS	37
7. CONCLUSIONES.	40
8. RECOMENDACIONES	42
9. BIBLIOGRAFIA	43
10. APENDICES.	46

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Productos Comerciales de <u>Bacillus</u> sp.	8
Cuadro 2	Resumen de los agentes microbianos obtenidos en los muestreos de insectos-plaga a nivel de campo en los departamentos de Sacatepéquez y Chimaltenango, 1993	31
Cuadro 3	Resultados de la inoculación de 23 aislamientos microbianos sobre larvas de palomilla dorso de diamante (<u>Plutella xylostella</u> L.), en 12 días de observación, septiembre de 1994	34
Cuadro 4	Resultados obtenidos de la inoculación de 8 aislamientos microbianos evaluados sobre colonias de áfidos (<u>Myzus persicae</u> Sulzer) en 10 días de observación, Febrero de 1995	35
Cuadro 5	Resultados obtenidos de la inoculación de 4 aislamientos microbianos sobre larvas de mariposa blanca del repollo (<u>Leptophobia aripa</u> Boisd) en 15 días de observación, Agosto de 1994	36
Cuadro 6	Resultados obtenidos de la inoculación de 6 aislamientos microbianos sobre larvas de gusano tigre (<u>Spodoptera sunia</u> Guen) en 15 días de observación, Octubre de 1994	36
Cuadro 7	Identificación de las cepas aisladas en palomilla dorso de diamante (<u>Plutella xylostella</u> L.).	37
Cuadro 8	Identificación de las cepas aisladas en pulgón verde (<u>Myzus persicae</u> Sulzer)	39
Cuadro 9	Identificación de las cepas aisladas en mariposa blanca del repollo <u>Leptophobia aripa</u> Boisd.	39
Cuadro 10	Identificación de las cepas aisladas en gusano tigre <u>Spodoptera sunia</u> (Guen)..	39

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ubicación de las 4 localidades de estudio, del departamento de Sacatepéquez, en la República de Guatemala.	25
Figura 2	Ubicación de las 6 localidades de estudio, del departamento de Chimaltenango, en la República de Guatemala.	26

**"COLECTA E IDENTIFICACION PRELIMINAR DE AGENTES ENTOMOPATOGENOS EN
AREAS HORTICOLAS DE SACATEPEQUEZ Y CHIMALTENANGO, GUATEMALA"**

**"PRELIMINARY SURVEY AND IDENTIFICATION OF ENTOMOPATHOGENS FROM
HORTICULTURAL AREAS LOCATED IN SACATEPEQUEZ AND CHIMALTENANGO,
GUATEMALA"**

RESUMEN

En ciertas regiones de los departamentos de Sacatepéquez y Chimaltenango, la producción de hortalizas constituye una alternativa de inversión para el pequeño y mediano productor, quienes constituyen el recurso humano disponible en el área rural.

Sin embargo, en la fase vegetativa de las plantaciones, los daños causados por la proliferación de plagas y enfermedades, cada día cobra mayor importancia, debido a la utilización de plaguicidas, sin respetar algunas veces el nivel crítico de toxicidad de los mismos, lo que a través del tiempo provoca resistencia en los insectos y problemas de contaminación.

Para contrarrestar en parte la utilización de los plaguicidas, el control biológico ha surgido como una alternativa para el control de plagas específicas, encontrándose actualmente en el mercado productos como Javelin, Dipel (a base de Bacillus thuringiensis var. kurstaki), VPN-86, VPN-82 (a base de virus de poliedrosis nuclear) y otros.

La colecta e identificación de los microorganismos entomopatógenos en insectos plaga de crucíferas, se efectuó en 4 localidades de Sacatepéquez y 6 de Chimaltenango, de mayo de 1993 a marzo de 1994. Para este trabajo, se realizaron muestreos de campo en rastrojos o cultivos abandonados, buscando insectos plaga con infecciones microbianas. En el laboratorio se aislaron y purificaron las bacterias y hongos presentes en los tejidos de los insectos colectados.

Se obtuvo un total de 41 entradas microbianas de las cuales 23 pertenecen a Plutella xylostella L., 8 a Myzus persicae (Sulzer); 4 a Leptophobia aripa (Boisd) y 6 a Spodoptera sunia (Guen).

A través de las claves, se determinó que los agentes entomopatógenos que produjeron mortalidad fueron: en Plutella xylostella L., la bacteria Bacillus thuringiensis Berliner y los hongos Fusarium sp., Paecilomyces sp. y Aspergillus sp.; en Myzus persicae (Sulzer) hongo Entomophthora sp. y la bacteria Bacillus thuringiensis Berliner; en Leptophobia aripa (Boisd) el hongo Paecilomyces sp. y en Spodoptera sunia (Guen) la bacteria Bacillus thuringiensis Berliner. Siendo más efectivos los hongos Paecilomyces sp. y Aspergillus sp., así como la bacteria Bacillus thuringiensis Berliner.

1. INTRODUCCION

Desde hace más de una década, la actividad económica de la mayoría de agricultores del altiplano central y principalmente en los departamentos de Sacatepéquez y Chimaltenango, se fue incrementando; dada la sustitución de granos básicos por hortalizas no tradicionales con fines de exportación, en busca de un mejor ingreso monetario.

Así mismo, en los últimos cinco años, el cultivo de arveja china (Pisum sativum L.) así como el de crucíferas (brócoli, repollo, col de bruseles y otras) se ha incrementado día a día con el propósito fundamental de obtener el máximo rendimiento por unidad de área sembrada.

La producción de estas hortalizas ha generado una gran demanda en el mercado de exportación, como el empleo de mano de obra en las plantas procesadoras del producto final, lo que ha hecho que muchos pequeños y medianos agricultores incrementen las áreas de producción. Debido a esto la proliferación de plagas del follaje principalmente larvas del orden lepidoptera han afectando el rendimiento y la calidad del producto final causando su rechazo por las empresas agroexportadoras. Para contrarrestar esta situación, los agricultores hacen uso indiscriminado de plaguicidas, que muchas veces son productos no permitidos por parte de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (E.P.A.), por lo que en los últimos tres años se ha efectuado un control de análisis de residuos tóxicos muy estricto, tal el caso de la arveja china. Esto ha incidido en la búsqueda de alternativas de control fitosanitario ecológicamente más aceptables y con un mínimo de residuos, como por ejemplo el control biológico a base de patógenos de insectos.

La presente investigación se realizó en diez localidades, cuatro de Sacatepéquez y seis de Chimaltenango, con el objetivo de muestrear rastros de cultivos abandonados y poder encontrar mas de algún insecto plaga parasitado con microorganismos entomopatógenos, que posteriormente serían evaluados para establecer métodos de control biológico con los mismos, en insectos plaga de importancia económica en el altiplano central.

2. DEFINICION DEL PROBLEMA

Guatemala, ha sido privilegiada con una serie de factores climáticos que hacen posible la diversificación de cultivos, tales como las hortalizas, que tienen un alto potencial de ser desarrolladas en la agricultura nacional. En tal sentido, muchos productores del Altiplano Central han sustituido en parte, la producción de granos básicos por la de hortalizas no tradicionales para la exportación, a través de empresas que se dedican a esta actividad, con el objeto de obtener mejores ingresos.

Sin embargo, las empresas exportadoras de hortalizas no tradicionales, exigen alta calidad de productos; por lo que se debe evitar que presenten pequeñas raspaduras o manchas causadas por insectos o enfermedades, aún cuando no interfieren en la calidad nutritiva del producto.

En consecuencia, muchos productores de hortalizas emplean plaguicidas sin prever que están regulados por la Agencia de Protección Ambiental (E.P.A. por sus siglas en inglés), quien fija los niveles de tolerancia económica en productos consumidos en los Estados Unidos, provocando que en los puertos importantes se realice una inspección constante para obtener muestras y detectar trazas o residuos en los vegetales.

El problema ha llegado al punto de que en registros proporcionados por la Gremial de exportadores, se tiene que en el año de 1993 y 1994 se registraron 1,755 y 1,056 detenciones por año de productos agrícolas guatemaltecos con niveles altos de residuos de plaguicidas. Se determinó que el producto químico de mayor detención fue a base del componente de Clorotalonil, obteniéndose el 79 % y 83 % por año y principalmente en arveja china.

Aunque los químicos no son la única manera de controlar las plagas de un cultivo, constituyen la vía más sencilla y rápida a corto plazo. Sin embargo, con el tiempo surgen problemas de contaminación, los plaguicidas se tornan menos efectivos para las plagas y enfermedades, las cuales han logrado desarrollar mecanismos de resistencia sobre estos, debido a su constante aplicación.

Por tal motivo, el control biológico de insectos está cobrando gran importancia a nivel de países como Estados Unidos, Costa Rica, Brasil, Colombia y por qué no decirlo, en Guatemala a través del virus de la Poliedrosis Nuclear, utilizado en la Costa Sur como un método alternativo al control químico en el Manejo Integrado de Plagas y con lo cual se busca contribuir a la fitosanidad de los cultivos en el país, sin alterar en forma negativa el ecosistema.

3. MARCO TEORICO

3.1 MARCO CONCEPTUAL

Los registros sobre enfermedades de insectos datan de tiempos inmemoriales; el primer enfoque científico del estudio de una enfermedad concreta de un insecto fue la investigación de la uva blanca, enfermedad de los gusanos de seda, causada por el hongo Beauveria bassiana (Bals) Vuillen (9).

Los famosos trabajos de Pasteur en Francia, acerca de la "Pebrina" también enfermedad del gusano de seda, que es causada por la microspora Nosema bombycis Nageli son bien conocidos. En el año de 1,879, el ruso Metchnikoff, conduce el primer experimento significativo en la destrucción de insectos perjudiciales con microorganismos, por infección de larvas del escarabajo Anisoplia austriaca (F.) con el hongo Metarrhizium anisopliae (Metsch) Sor (2, 9).

Con estos antecedentes, el enfoque de estudio de las enfermedades de los insectos, está proporcionando la clave para solucionar el daño a las plantas. Por lo tanto, los patógenos de insectos se pueden utilizar para el manejo de plagas en tres maneras diferentes por lo menos: 1) Por la utilización máxima de las enfermedades naturales, 2) Por la introducción de los patógenos a las poblaciones de plaga como factores permanentes de mortalidad, y 3) Por la aplicación de los patógenos del tipo insecticidas microbianos que se utilizan para el control temporal de las plagas (9, 21).

3.1.1 Efecto de los factores físicos sobre organismos entomopatógenos

Tanada, citado por De Bach (2), manifiesta que los principales factores físicos que afectan la actividad de los microorganismos entomopatógenos en contra de sus huéspedes en el campo son la temperatura y humedad. Estableciendo que esos factores tienen un efecto directo sobre el patógeno y el progreso de la infección dentro del huésped.

La exitosa utilización de microorganismos en el control de insectos, depende en muchos casos de condiciones favorables de temperatura. Aunque las variaciones de la temperatura parecen no tener una gran influencia sobre la acción de las bacterias patógenas, se sabe que esta tiene un marcado efecto sobre el período de incubación de las infecciones virosas. La incidencia de la infección por bacterias, virus y protozoarios en realidad es mayor en climas fríos que el cálido. El clima templado aumenta la incidencia de las enfermedades originadas por hongos, bacterias, protozoarios y virus. A veces, la alta humedad junto con temperaturas entre 16.6 y 21 °C son necesarias para la invasión decisiva y la muerte por causa de algunos parásitos; estas condiciones particulares también acrecientan la capacidad de algunos nemátodos para sobrevivir e invadir huéspedes. Por ejemplo: En la luz natural sin protección, las esporas del microsporidio (Nosema) tiene una vida menor de 4 horas, la mayoría de las esporas fúngicas, menos de 2 días, y las esporas bacterianas (Bacillus thuringiensis (Berliner) menos de 3 días (9, 13, 21, 30).

La luz solar es el factor destructivo que más afecta la persistencia de los patógenos en el campo, ya que se ha comprobado en forma adecuada que las esporas de Bacillus popilliae (Dutsky) y las células vegetativas de Bacillus thuringiensis (Berliner) se destruyen a la exposición de la luz solar.

Sin embargo las temperaturas que se encuentran en el campo no son tan dañinas para los patógenos como la luz solar directa. Un virus purificado de la granulosis del Pieris brassicae L. se inactivó durante 10 minutos a 70 °C, 60 minutos a 65 °C y 24 hrs. a 60 °C. No se inactivó por completo después de 5 días a 50 °C ó durante 20 días a 40 °C y 6 meses de almacenamiento a -20 °C, no tuvo efectos adversos (9, 30).

Los hongos capaces de infectar a los insectos y que sobreviven por más tiempo en suelos con alto contenido orgánico son: Metarrhizium anisopliae (Metsch) Sor y Beauveria bassiana (Bals) Vuillemin (21).

La humedad relativa, por lo general, no afecta la persistencia de bacterias patógenas o formadoras de esporas, pero sí afecta a ciertos nemátodos, protozoarios y hongos. Los nemátodos Neoaplectana sobreviven mejor a humedades relativas altas (9).

Las esporas (conidias) de la mayoría de los hongos no germinan por debajo de humedades relativas del 90%. La alta humedad permite la germinación de los conidios y la infección subsecuente del hospedero, pero generalmente es desfavorable para la longevidad de la espora (9, 30).

La mayoría de patógenos, como es de esperarse, sobreviven por períodos más prolongados en el suelo que en el follaje de las plantas ya que el suelo protege de la luz solar directa, con temperaturas extremas y la deshidratación. El suelo es el reservorio natural para muchos entomopatógenos. La vida media de algunos virus de insectos en el suelo es mayor de 600 días (21).

Los patógenos a menudo persisten en el ambiente al infectar hospederos vivos. Los insectos infectados con frecuencia hibernan con éxito y son responsables del inicio de la infección en el año siguiente. Esto junto con la persistencia del agente liberado en el suelo, es uno de los más importantes mecanismos de persistencia para muchos insectos patógenos que se presentan año tras año (9, 21).

Por ello, los insectos se infectan con virus, bacterias, protozoarios, hongos, rickettsias y nemátodos. Algunos de estos patógenos pueden ser bastante comunes y son los causantes de la epizootias en las poblaciones naturales de insectos, mientras que otros pueden presentarse ocasionalmente y rara vez se observan (21, 22, 30).

3.1.2 Enfermedades Bacterianas

Las bacterias patógenas de insectos más abundantes son Bacillus popilliae Dutsky y Bacillus thuringiensis var. Kurtsaki esta última comercializada y de gran utilidad en programas de control integrado (4).

A) Bacillus popilliae Dutsky

La enfermedad se transmite oralmente por la ingestión de las esporas, el lapso entre la ingestión de las esporas y la muerte está muy influenciado por el número de esporas ingeridos y la temperatura. Después de la ingestión, estas esporas germinan y penetran al canal alimenticio, probablemente a través de los tubos de

Malpighi. A 30 °C las células vegetativas se pueden encontrar en la sangre del insecto aun 30 horas después de la invasión inicial. A esta temperatura, los bastones vegetativos se reproducen rápidamente y cuando ya son muy numerosos, se produce la esporulación. El número máximo de esporas entre dos mil y cinco mil millones por larva se alcanza entre 7 y 10 días después de la infección inicial (9, 21, 22).

B) Bacillus thuringiensis (Berliner)

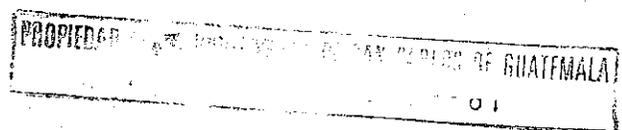
Fue descubierta en 1,902 por el japonés Ishwata, sus pruebas preliminares demostraron su alta capacidad insecticida. En 1,915 el alemán Berliner reaisló esta bacteria a partir de larvas de palomilla de los graneros. Es una bacteria formadora de esporas que produce una proteína cristalina de características tóxicas (endotoxina-delta). Cuando las esporas y los cristales de Bacillus thuringiensis Berliner son ingeridos por un hospedero susceptible, se produce una parálisis general que mata al insecto a las pocas horas o aun después de 4 ó 5 días, dependiendo del serotipo de B. thuringiensis Berliner y la susceptibilidad del insecto (10, 21).

Hasta el presente se reconocen 19 variedades correspondientes a 14 serotipos diferentes, la mayoría de los cuales tiene actividad primaria contra larvas de lepidópteros , pero el serotipo descubierto más recientemente, el H-14 (Bacillus thuringiensis israelensis), es bastante activo contra larvas de mosquitos y moscas negras (9, 17, 18).

Existen diversas formulaciones comerciales en el mercado mundial, sin embargo estas formulaciones se basan en los serotipos I, III, IV y V, de los cuales el más importante es el III por su mayor virulencia a lepidópteros, tal como se demuestra en el Cuadro 1 (2, 23).

C) Modo de acción de Bacillus thuringiensis

La bacteria penetra al insecto principalmente por ingestión y ocasionalmente por heridas en la cutícula (2). Las larvas susceptibles poseen en el sistema digestivo una combinación de pH, sales y enzimas, necesarias para



descomponer y activar los cristales altamente insolubles del bacilo, el pH alcalino del intestino (mayor de 7.0), causa la disolución de los cristales en componentes tóxicos (2, 11, 23).

Cuadro 1 Productos Comerciales de Bacillus sp.

Especies	Serotipo/Varietad	Nombre Comercial	Insecto
<i>Bacillus moritai</i>		Lavillus M	Dípteros
<i>Bacillus popilliae</i>		Doom, Japidemic Milky spore disease	Larvas de Coleópteros Numerosos lepidópteros
<i>Bacillus thuringiensis</i> (<i>B. thuringiensis</i>)	H3(HD-1)/Kurtsaki H3(HD-1)/Kurtsaki	Dipel Thuricide Certan Bactur	
	H-1 (<i>thuringiensis</i>) H3(HD-1)/Kurtsaki H3(HD-1)/Kurtsaki H3(HD-1)/Kurtsaki H3(HD-1)/Kurtsaki H-1 (<i>thuringiensis</i>)	Bactospeine Plantibac Bugtime Sporeine Biospor Bathurin	
	H-1(HD-1)	Baktuka	
	H-4/ <i>dendrolimus</i> H-5/ <i>gallerise</i> H-1/ <i>insectus</i>	Dendrobacillin Enterobacterin-3 Insektin	
<i>Bacillus thuringiensis</i> (<i>B. thuringiensis</i> exotoxin)	H-1/ <i>thuringiensis</i>	Biotoksybacillin Eksotokin Toxobakterin	<i>Culex</i> sp. <i>Aedes</i> sp. <i>Anopheles</i> sp.
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>israelensis</i> H-14	Bactmos, Vectobac Texnar	

Adaptación de Referencia (23)

El cristal es descompuesto (digerido) en sub-unidades de menor peso molecular que atacan las paredes del intestino medio de la larva, causando la disrupción en el balance osmótico y abrasión en la pared estomacal, permitiendo el escape del contenido alcalino del intestino hacia el hemocele (2).

Las lesiones causadas en la pared intestinal pueden ser lo suficientemente graves como para causar la muerte de la larva, o pueden dar origen a cambios internos que permiten el crecimiento del bacilo y otros organismos, produciendo una septicemia. Los daños en el sistema digestivo de la larva impiden que esta siga

alimentándose y la combinación del escape intestinal, la falta de alimentación y la septicemia generalmente causan la muerte a la larva dentro de uno o dos días, dependiendo de la especie y de las condiciones ambientales (2, 9, 11, 23).

D) Uso de Bacillus thuringiensis Berliner

Actualmente las formulaciones de B. thuringiensis Berliner están basadas en la raza HD-1, tal como se presenta en el Cuadro 1, estando registrada en los Estados Unidos para ser usada en los siguientes cultivos: alfalfa, alcachofa, apio, brócoli, coliflor, lechuga, melón, papa y tomate (8, 10, 23).

En Colombia, se le ha registrado en 12 cultivos para el control de 16 especies de lepidópteros de las familias Brassolidae, Noctuidae, Pieridae y Sphingidae. Su principal uso se confina a programas de control integrado en cultivo de algodón y en menor escala de hortalizas (4, 8).

Creighton y Macfadden en 1975 y McVas et al. en 1977, citados por Bustillo (4) mencionan que B. thuringiensis Berliner se puede usar en mezclas con otros insecticidas químicos y biológicos. Por ejemplo, en los ensayos efectuados para el control de Trichoplusia ni (Hubn.), la aplicación de B. thuringiensis Berliner más Clordimefón fueron superiores a tratamientos químicos convencionales y aplicado en combinación con virus de poliedrosis nuclear del Trichoplusia ni (Hubn.) obteniéndose porcentajes de control superiores a los obtenidos cuando se usaron solo patógenos.

Jaques y Morris citados por Burges (23), manifiestan que los químicos como carbamatos y organofosforados son compatibles con B. thuringiensis Berliner, ya que no afectan la germinación de esporas y multiplicación celular.

3.1.3 Enfermedades Virosas

Los virus que causan enfermedades en insectos juegan un papel muy importante en la regulación de sus poblaciones, tanto en condiciones naturales como en programas de control. Se tienen casi alrededor de 650 virus, los cuales han sido aislados de insectos; 540 han sido obtenidos de lepidópteros, 90 de himenópteros y 20 de ortópteros, coleópteros y dípteros (4, 9, 21).

El primer intento exitoso para producir una enfermedad virosa, que no se encontraba presente previamente en la parte continental de Norteamérica fue hecho por Bird en 1953, quien aplicó un virus poliédrico del tentredínido europeo del pino, el cual se obtuvo de Suecia y lo aplicó en pinos muy infestados en Ontario, Canadá (4, 9).

A) Virus de la Poliedrosis

Desde el punto de vista de las investigaciones básicas, se han realizado estudios recientes sobre el virus poliédrico para controlar el falso medidor, Trichoplusia ni (Hubn.) en los Estados Unidos. Hall citado por De Bach (2), realizó pruebas en 1953 y 1954; asperjando virus sobre la lechuga en California, las larvas que se alimentaron sobre el follaje tratado, contrajeron la enfermedad y murieron. Estos resultados fueron confinados por Mc Ewn y Herdey en 1958 en pruebas realizadas sobre el gusano medidor de la col y brócoli en Nueva York (2, 3, 9).

La poliedrosis se caracteriza por la presencia de cuerpos poliédricos incluidos en los tejidos infectados. Estas inclusiones contienen embebidas en su matriz, las partículas virosas que pueden ser esféricas o de forma de bacilos. Se conocen dos tipos generales de poliedrosis: la poliedrosis nuclear y la poliedrosis citoplásmica, que son de forma más o menos esféricas (4, 21).

B) Virus de la Poliedrosis Nuclear (V.P.N.)

Cerca del 40 % de los virus de insectos corresponden a la Poliedrosis Nuclear (VPNs). La mayoría se han aislado de lepidópteros (86 %), himenópteros (7 %) y dípteros (3 %). En las larvas de los lepidópteros el desarrollo de VPN se hace más pronunciado en el núcleo de las células sanguíneas, la hipodermis, el cuerpo grasoso y el forro epitelial de la tráquea (21).

Las larvas infectadas con el virus de la poliedrosis nuclear, normalmente presentan pocos síntomas distintos hasta unas pocas horas antes de morir. El período de incubación varía en las diferentes especies de hospederos de 5 a 20 días, abarcando un período de cerca de una semana. En algunas especies de insectos, las larvas infectadas pueden cesar de alimentarse, tornándose de un color pálido o amarillento. Se hinchan ligeramente, poniéndose flexibles y flácidos. Poco antes y después de la muerte, el integumento es muy frágil y fácilmente se rompe, dando salida al contenido licuado, compuesto por tejidos desintegrados y poliedros. Las larvas muertas normalmente se encuentran colgando de sus falsas patas abdominales de la planta hospedera. En etapas tempranas de la enfermedad no se observa ningún síntoma; gradualmente el insecto se pone pálido, blanco calizo y muere con el tiempo. El cadáver, algunas veces se seca, presentando un color café oscuro o negro (3, 11, 22, 23).

C) Virus de la Poliedrosis Citoplásmica

La primera poliedrosis citoplásmica fue descubierta por Ishimori en 1934 en el gusano de seda. Observó poliedros en el citoplasma de las células del intestino del insecto y consideró que esto era indicación de una enfermedad diferente a la caracterizada por la presencia de poliedros en el núcleo de las células infestadas. Lotmar en 1941, citado por De Bach (2), observó poliedros semejantes en el citoplasma de las células del intestino de la larva de la palomilla de la ropa (Tineola). Desde entonces se han encontrado 30 especies de insectos susceptibles a la poliedrosis citoplásmica (2, 11).

Las poliedrosis citoplásmicas en general, no son tan fulminantes como la poliedrosis nuclear. En los casos más conocidos, la infección está limitada al epitelio del intestino. La estructura muestra los signos de la infección, ya que toma un color humoso, opaco o amarillento y se vuelve de una consistencia frágil (2, 11).

D) Modo de Acción de los Virus

Los virus, al igual que las bacterias y la mayoría de otros patógenos, deben ser ingeridos para que causen enfermedad y muerte a un huésped susceptible. De acuerdo al grupo, infectan sitios específicos dentro del insecto, destruyendo las células, lo que resulta en enfermedad. Es así como algunos se multiplican de preferencia en tejidos del mesodermo, ectodermo y endodermo, mientras otros afectan el tejido adiposo y la epidermis o las células epiteliales del intestino medio (11, 22, 23).

En el caso del virus de la poliedrosis nuclear, este tipo de virus es transmitido normalmente de un insecto a otro por ingestión de la poliedra. Cuando un insecto susceptible lo ingiere, la poliedra se disuelve liberando las partículas hacia el lumen intestinal; estas penetran a las células del intestino medio, se reproducen y pasan a los tejidos asociados con la infección. El lapso entre la ingestión de la poliedra y la muerte es alrededor de 4 días a 3 semanas y varía con diferentes hospederos, el número de poliedra ingeridos, el estadio y la temperatura del ambiente (21).

El proceso de infección depende de varios factores internos y externos tales como: a) La susceptibilidad del insecto; b) La edad y tamaño del insecto; c) Disponibilidad de alimento, competencia por espacio; d) Virulencia del virus y e) Temperatura (2, 4).

E) Uso de los Virus

Los entomovirus, son los patógenos más populares en los programas de control integrado, que en muchos casos se ha reportado efectos espectaculares en el control de ciertas plagas. El virus de la poliedrosis nuclear (VPN), del Trichoplusia ni (Hubn.) es un típico ejemplo en Colombia, en donde fue introducido desde California en 1,971. Su efecto y dispersión fue tan dramático que Trichoplusia ni (Hubn.) dejó de ser un problema serio en el algodón (4, 11).

Actualmente existen varias formulaciones comerciales de virus; que han pasado todas las regulaciones sobre seguridad humana y contaminación ambiental. Sin embargo, como el VPN del Heliiothis virescens F. no es lo suficientemente virulento, requiere de dosis muy alta y por lo tanto costosa para alcanzar niveles aceptables de control (4).

3.1.4 Enfermedades causadas por Hongos

Las posibilidades de usar hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga fueron considerados por primera vez en la última parte del siglo XIX (2).

Baird el 1,958 citado por De Bach (2), enlista los factores que regulan la efectividad de un hongo, en los intentos de control biológico; estos incluyen: a) las condiciones del clima, b) la densidad de población del huésped, c) el microhabitat del patógeno y el huésped, d) la resistencia del huésped y la virulencia del hongo, e) el punto de saturación del patógeno al medio ambiente, f) la facilidad de propagación artificial y distribución del hongo, g) época de aplicación, h) la habilidad del hongo para sobrevivir y diseminarse en una población de insectos, i) el efecto del patógeno sobre otros agentes biológicos de control y j) el valor económico de tales medidas de control.

Las infecciones fungosas son muy comunes en insectos y relativamente fáciles de detectar, debido a que generalmente sus cuerpos aparecen cubiertos por micelios o cuerpos fructíferos del hongo. Hasta el momento se han estudiado más de 750 especies de hongos que incluyen cerca de 100 géneros. Sin embargo, sólo unos pocos se han estudiado intensivamente con el fin de usarlos en programas de control microbial. Siendo los géneros: Beauveria, Metarrhizium, Entomophthora, Coelomomyces, Cordyceps, Nomuraea, Aschersonia e Hirsutella (4, 27).

A) Mantenimiento e incremento de la virulencia de hongos entomopatógenos

La virulencia de ciertos hongos entomopatógenos puede ser reducida o perdida por cultivos repetidos en medios artificiales. Con Beauveria bassiana (Bals.) Vuillemin, la reducción en virulencia ocurrió después de 16 transferencias y la producción de toxinas fue reducida después de cultivos repetidos.

En la mayoría de los casos se reduce pero no desaparece totalmente y puede ser restaurada a nivel original inoculándolo sobre el hospedero fuente (22, 23).

B) Desarrollo de la enfermedad causada por hongos entomopatógenos

La enfermedad es inducida por los hongos entomopatógenos como sigue: la unidad infecciosa en la mayoría de los hongos es una espora, usualmente una conidia, que en ocasiones invade a través de la tráquea respiratoria o tracto alimenticio, pero que, usualmente germina en la cutícula y entonces penetra. Están envueltas enzimas y fuerzas mecánicas. Los cuerpos hifales flotan libremente y aparentemente se multiplican en el hemocele. Algunos tipos producen suficientes toxinas en esta etapa para causar la muerte, aunque los órganos mayores no hayan sido invadidos. Cuando ocurre una invasión de órganos, el cuerpo grasoso es casi invariablemente el sitio preferido. En las cepas que son débiles para producir toxinas, después de la muerte o aún antes, el micelio se ramifica a través de órganos internos. Esto continúa hasta que el insecto está virtualmente lleno con hongo y bastante firme al tocarse. Entonces se producen los conidióforos, los cuales salen a través de la cutícula y producen esporas encima y fuera del insecto. Algunas veces todo el cuerpo del insecto está cubierto y en otras ocasiones el hongo aparece solamente en áreas donde la pared del cuerpo es delgada, tales como las membranas intersegmentales (2, 11, 13, 22, 23).

C) Modo de acción de los hongos

Los hongos entomopatógenos pueden causar infección en cualquier estado de desarrollo del insecto. A diferencia de las bacterias y virus, que deben ser ingeridos con el alimento por los insectos, los hongos atacan a través del integumento. Al entrar en contacto con la cutícula del insecto, las esporas inician el proceso de germinación, el cual requiere de condiciones específicas de temperatura y humedad. Durante la germinación

producen enzimas que destruyen la pared celular y permiten que el hongo penetre y llegue a la cavidad hemocélica, donde se reproducen vegetativamente hasta llenar todo el interior del insecto y matarlo; ya sea por el daño mecánico infligido a los diversos órganos, o por la liberación de toxinas resultantes de su metabolismo. Cuando las condiciones ambientales son favorables ocurre la esporulación que normalmente se manifiesta exteriormente en el insecto por los diversos cuerpos fructíferos formados; capacitando al organismo para hacer contacto con nuevos huéspedes. El insecto infectado, generalmente se seca adquiriendo un aspecto momificado, frecuentemente llegan a cubrirse con conidios, y algunas veces contiene esporas en reposo, las que capacitan al hongo para sobrevivir en períodos de condiciones adversas del ambiente o en la ausencia del hospedero (4, 22).

3.1.5 Enfermedades causadas por Nemátodos

Se han hecho muy pocos intentos de campo para utilizar nemátodos entomófagos para el control de insectos. Sin embargo, Tanada citado por De Bach (2); sugiere que los nemátodos pueden eventualmente proporcionar una cantidad significativa de agentes efectivos, debido al gran número de ellos que son parásitos internos de los insectos (4).

A) Hábito de los Nemátodos Entomófagos

Los nemátodos entomófagos son parásitos obligados. Buscan activamente y penetran el cuerpo de larvas, pupas o adultos de insectos. Presentan estiletes que con la ayuda de secreciones enzimáticas de las glándulas esofágicas, son capaces de entrar al cuerpo de insectos en unos pocos minutos. Una vez dentro de la cavidad hemocélica de la larva, el nemátodo obtiene alimento de la hemolinfa por difusión a través de su cutícula. Estos nemátodos utilizan algunos aminoácidos y ésteres que el insecto produce para su nutrición y producción de huevos. Por lo tanto, en insectos parasitados por nemátodos es común la esterilidad o la reducción en la producción de huevos (22).

B) Nemátodos Semiparásitos

Dos de las especies mejor conocidas son: uno que pertenece a la especie de Neoaplectana, Neoaplectana glaseri Steiner, que fue descubierta en larvas del escarabajo japonés Popillia japonica Newm. por Glaser y Fox. Cuando la larva del escarabajo japonés es infectada por el nemátodo, se vuelve menos activa y pierde apetito. Toma un color rojizo moteado o uniforme, o café ocre. Al examinar al microscopio el contenido del cuerpo se ve lleno de nemátodos (2, 15).

El segundo ejemplo de un nemátodo semiparásito es el conocido como nemátodo de Dutky o DD136. Fue observado primero por Dutky en 1,954 en larvas de la palomilla de la manzana. El estado infectivo es el segundo estado larval; el cual busca el hospedero, es ingerido, atraviesa la pared del intestino e inyecta una bacteria gram-negativa en la cavidad del cuerpo. El hospedero usualmente muere a las 24 hrs. de una septicemia causada por una bacteria que no infecta fácilmente a los insectos cuando la ingieren; pero cuando es inducida por el nemátodo dentro de cavidad del huésped se propaga rápidamente y no solo mata al insecto sino también sirve de alimento para el nemátodo (4, 15).

Landazabal et al, citado por Bustillo (4), dice que en Colombia se han llevado a cabo experimentos de campo aplicando suspensiones de N. carpocapsae Mastius en el cogollo del maíz para el control de S. frugiperda. J. E. Smith obteniéndose niveles de control del 70%. El cogollo del maíz mantiene una alta humedad, lo cual facilita la supervivencia del nemátodo en este nicho (4).

La especie Romanomermis culicivora (Reesimermis nielsenii), fue el primer nemátodo desarrollado para su distribución comercial en el control de mosquitos. Bajo el nombre comercial de "Skeeter Doom", se distribuye en los Estados Unidos con el fin de dispersarse en lagos, lagunas y otros lugares, que sirven de multiplicación a los mosquitos. El nemátodo ataca más de 60 especies de larvas de mosquitos (15).

En el género Hexameris, se encuentran muchas especies de interés en el control de plagas agrícolas. H. albicans tiene un amplio rango de huéspedes de lepidópteros y se encuentra en muchas partes del mundo. Entre

los insectos que afectan están: Diatraea sacharalis F. en caña de azúcar, S. frugiperda F. en maíz y el barrenador de las meliáceas, Hypsiphyla grandella L. (1, 4, 13, 15, 17, 23).

C) Uso de nemátodos entomófagos como control microbial en Guatemala

El nemátodo diplogastérido descubierto en Guatemala, se ha evaluado a nivel de invernadero en el control de gallina ciega (Phyllophaga sp.) en trigo; se utilizaron concentraciones de 300 a 500 nemátodos por centímetro cúbico, lográndose un control efectivo (24).

En el cultivo de la caña de azúcar se evaluó el nemátodo diplogastérido para el control de la chinche hedionda (Scaptocoris talpa Champion), con dos insecticidas (Carbofuranol y Terbufós), demostrando el análisis estadístico que no existen diferencias significativas en el efecto de los tratamientos (24).

3.1.6 Enfermedades causadas por Protozoarios

Los protozoarios entomopatógenos son probablemente de mayor importancia de lo que generalmente se cree; ya que juegan un papel importante en la regulación de las poblaciones de algunos insectos. Sin duda, muchas de estas infecciones son benignas y causan pocas morbilidad o mortalidad, pero muchas son severas y altamente fatales. Generalmente las infecciones causadas por protozoarios han recibido una importancia limitada; debido a que generalmente causa infecciones rápidas, crónicas y no agudas, matando al hospedero en poco tiempo. Los insectos infectados por protozoarios pueden presentar pocos o ningún signo externo. Pueden detener su crecimiento, su desarrollo, tener cambios en transparencia y color (usualmente se ponen blancuzcos y opacos por la acumulación de esporas o quistes en los tejidos y fluidos internos). Muchas especies entomógenas que se conocen son sumamente virulentas, sus huéspedes susceptibles a menudo permanecen vivos por largos períodos de tiempo. Sin embargo la reproducción del huésped a menudo se retarda dando por resultado una reducción de la plaga a largo plazo (4, 22, 23).

A) Modo de Acción de los Protozoarios

La ruta primaria de infección de los protozoarios es el tracto alimenticio; para alcanzar esta ruta la mayoría de los protozoarios deben ser ingeridos. Una vez en el intestino penetran a la cavidad hemocélica en donde se multiplican y causan enfermedad en los insectos. Su acción es muy lenta, tomando en muchos casos, varios meses para desarrollar la enfermedad y posteriormente la muerte del insecto. Rara vez alteran rápidamente las funciones del huésped (22, 23)

B) Uso de los Protozoarios

Hasta el momento no existe ninguna formulación comercial basada en protozoarios. Existe mucho interés en desarrollar varias especies, que atacan plagas de granos almacenados, en donde se piensa que puedan jugar un papel decisivo en la regulación de las poblaciones de plagas (4, 22, 23).

3.2 MARCO REFERENCIAL

3.2.1 Importancia del Control Biológico

El control de plagas mediante el uso de microorganismos patógenos ofrece buenas perspectivas para la agricultura, ya que dentro de las ventajas más importantes están:

- a) Son inofensivos para la planta y los animales
- b) Son un medio de control más accesible
- c) Son inocuos de manipular y
- d) No dejan depósitos de residuos tóxicos, ni contribuyen a la contaminación del ambiente.

Existe una serie de definiciones sobre control biológico, considerándose las siguientes como las más apropiadas. El control microbiano se puede definir como la utilización de microorganismos, efectuada por el hombre con objeto de controlar especies. En entomología el control microbiano es una de las técnicas que se emplean en el control biológico de insectos (9).

El control microbial de plagas es parte del control biológico en el que se utilizan los microorganismos o microbios como agentes del control de plagas agrícolas; las plagas, al igual que las personas sufren enfermedades, las cuales pueden ser causadas por nemátodos, hongos, bacterias, protozoos y virus (10).

3.2.2 Términos utilizados en Control Biológico

Es importante conocer el significado de ciertos términos utilizados en control biológico, siendo estos (9):

- A) Entomopatógeno: Palabra que se desglosa de la siguiente manera:

Entomon = insecto

Pathos = enfermedad

Genman = engendrar

Razón por la que el término entomopatógeno significa: engendrar una enfermedad en un insecto o insectos.

- B) **Virulencia:** Es la capacidad relativa de un microorganismo para vencer las defensas corporales del huésped, se debe considerar también la aptitud para invadir al huésped y la capacidad de multiplicarse y matar al mismo.
- C) **Patogenicidad:** Es la capacidad para ocasionar enfermedad (reacción mórbida del huésped), es una calidad fija inherente al microorganismo en relación con cada huésped potencial que se considere.
- D) **Infeciosidad:** Es la aptitud para producir infección - tendencia a propagarse rápidamente de un huésped a otro.
- E) **Patógeno:** Agente que causa la enfermedad.
- F) **Septicemia:** Infección de la sangre causada por la presencia de gérmenes patógenos.
- G) **Momificado:** Cadáver que se seca naturalmente sin pudrirse.

3.2.3 Investigaciones realizadas en Guatemala

En 1976, se realizó una investigación con Bacillus thuringiensis Berliner para controlar el gusano del repollo en el municipio de San Lucas Sacatepéquez; el trabajo consistió en evaluar varios productos comerciales, formulados todos a base de Bacillus thuringiensis var. Kurtsaky. Los mejores resultados en orden descendente se obtuvieron con Thuricide, Dipel y finalmente Thuribac. El mejor número de larvas se obtuvo al aplicar Thuricide a 4 días de intervalo (20).

En 1980 se realizó un ensayo en el cual se asociaba Bacillus thuringiensis Berliner con piretroides para el control de Pieris monuste L., Trichoplusia ni (Hubn.) y Plutella maculipennis (Curt.) en el cultivo de la coliflor. Los mejores resultados, considerados como tales los que producen un mayor decrecimiento del número de larvas, según el autor, los obtuvo combinando Bacillus thuringiensis Berliner con los piretroides y los piretroides solos, obteniendo ambos una rentabilidad nula. Según observaciones, la efectividad de Bacillus thuringiensis Berliner está entre 4 y 6 días, considerando que las poblaciones de Pieris monuste L. durante periodos se mantuvieron bajas y aumentaron a los 11 días (30).

El hongo Metarrhizium anisopliae (Metsch.) Sor se produce comercialmente para el control de chinche salivosa en ganadería y en caña de azúcar. Se reproduce en arroz y se necesitan 200 g de conidias/Ha o sea 150 g por manzana. En Costa Rica se produce este hongo comercialmente, pero en Brasil, en donde su utilización alcanza gran escala, se tratan cada año más de 1 millón de hectáreas y se producen varias toneladas de esporas cada año en laboratorios de la región cañera (18).

En Guatemala se produce comercialmente el virus de la poliedrosis nuclear desde hace diez años; se utilizan para su reproducción las especies Spodoptera sunia (Guen.), S. exigua (Hubn.) y Trichoplusia ni (Hubn.) las cuales se crían en insectarios con dieta artificial, siendo Guatemala el primer país en América Central que produjo virus para el control de prodenia y soldado (11).

El virus de la poliedrosis nuclear del gusano medidor de la alfalfa (Autographa californica L.) afecta a las especies siguientes: falso medidor del repollo (Trichoplusia ni Hubn.), gusano peludo (Estigmene acre Drury), gusano soldado (Spodoptera exigua Hubn.), palomilla dorso de diamante (Plutella xylostella L.) y falso medidor (Pseudoplusia includens Walker). En Guatemala está registrado y se comercializa con el nombre de VPN-80, habiendo sido encontrado recientemente a nivel experimental en la Escuela Agrícola del Zamorano, Honduras, como el mejor agente de control microbiano para el control de Plutella sp. (1, 10).

El VPN-80 y el VPN-82 son insecticidas microbiales para uso agrícola cuya base es el virus de la poliedrosis nuclear, ambos son producidos en Guatemala. Los virus del VPN son agentes selectivos de control que se encuentran presentes en la naturaleza, causando mortalidad en larvas de lepidópteros susceptibles. El VPN-82 afecta los estadios larvarios de las siguientes especies Spodoptera sunia (Guen.) y Spodoptera exigua (Hubn.) es más virulento que el VPN-80 (1).

Las larvas infectadas, colectadas en el campo se suspenden en agua (pH 6.0 - 8.0) luego se licuan para homogenizar la suspensión. Para aplicarla en el campo, la suspensión se filtra con el fin de separar las partes grandes del insecto. Es conveniente agregar un agente humectante. A esta solución se agrega suficiente agua para establecer una dosis aproximada de 20 larvas infectadas/Ha; la suspensión del virus preparada así, se puede asperjar en el campo con los equipos convencionales. El virus colectado en el campo también se puede almacenar por períodos largos hasta de dos años bajo refrigeración (3).

El Modo de Acción de un insecticida es que al ingerirlo, las larvas de lepidópteros y dependiendo del tamaño, morirán entre 3 a 4 días; al morir se tornarán flácidas, se derriten y escurren sobre las hojas, liberando grandes cantidades de virus que contagiarán a otras larvas (3).

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar preliminarmente microorganismos entomopatógenos que causen infección o muerte en insectos plaga asociados al cultivo de crucíferas del Altiplano Central de Guatemala.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

4.2.1 Colectar, aislar, identificar y evaluar en forma preliminar, cepas de entomopatógenos de los insectos plaga infectados o muertos por los mismos.

5. METODOLOGIA

5.1 LOCALIZACION

Esta investigación se realizó en cuatro localidades del departamento de Sacatepéquez: Sumpango, Santiago Sacatepéquez, San Lucas Sacatepéquez y San Miguel Dueñas (Figura 1); así como en seis localidades del departamento de Chimaltenango: Chimaltenango, San José Poaquil, Tecpán Guatemala, Zaragoza, Patzún y Patzicía (Figura 2), lugares que se encuentran a una altura que oscila entre 1950 msnm.

5.2 CLIMA

En estas localidades se tiene una temperatura promedio máxima de 22 °C y una temperatura promedio mínima de 10.7 °C, con una temperatura promedio anual de 16.5 °C; presentando un patrón de lluvia de 1,053 a 1,588 mm, con una precipitación promedio anual de 1,344 mm. (7).

Según el sistema Thornthwaite (14), en el departamento de Sacatepéquez, el carácter del clima es templado con invierno benigno, semiseco con invierno seco y el del departamento de Chimaltenango es templado con invierno benigno húmedo con invierno seco.

5.3 ZONA DE VIDA

Según el sistema de clasificación a nivel de reconocimiento dado por De la Cruz (7), a los departamentos de Sacatepéquez y Chimaltenango, les corresponde la zona de vida Bosque Húmedo Montano Bajo Subtropical y Bosque Muy Húmedo Montano Bajo Subtropical respectivamente. La vegetación natural típica esta representada por especies de Quercus sp. asociados generalmente con Pinus sp. Su topografía en general es plana a quebrada y está dedicada a cultivos agrícolas, principalmente hortalizas y granos básicos (7).

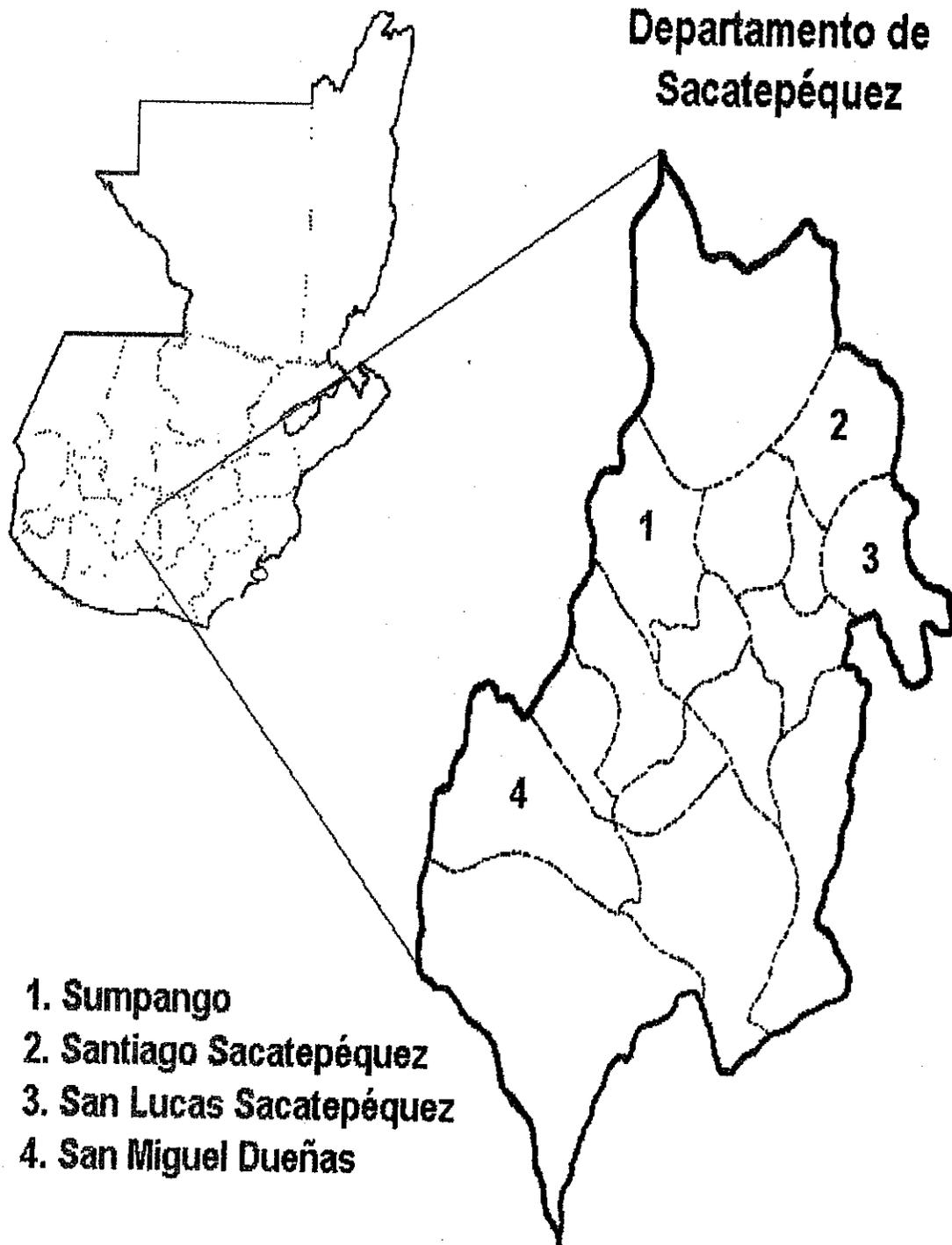


Figura 1 Ubicación de las 4 localidades de estudio, del departamento de Sacatepéquez, en la República de Guatemala.

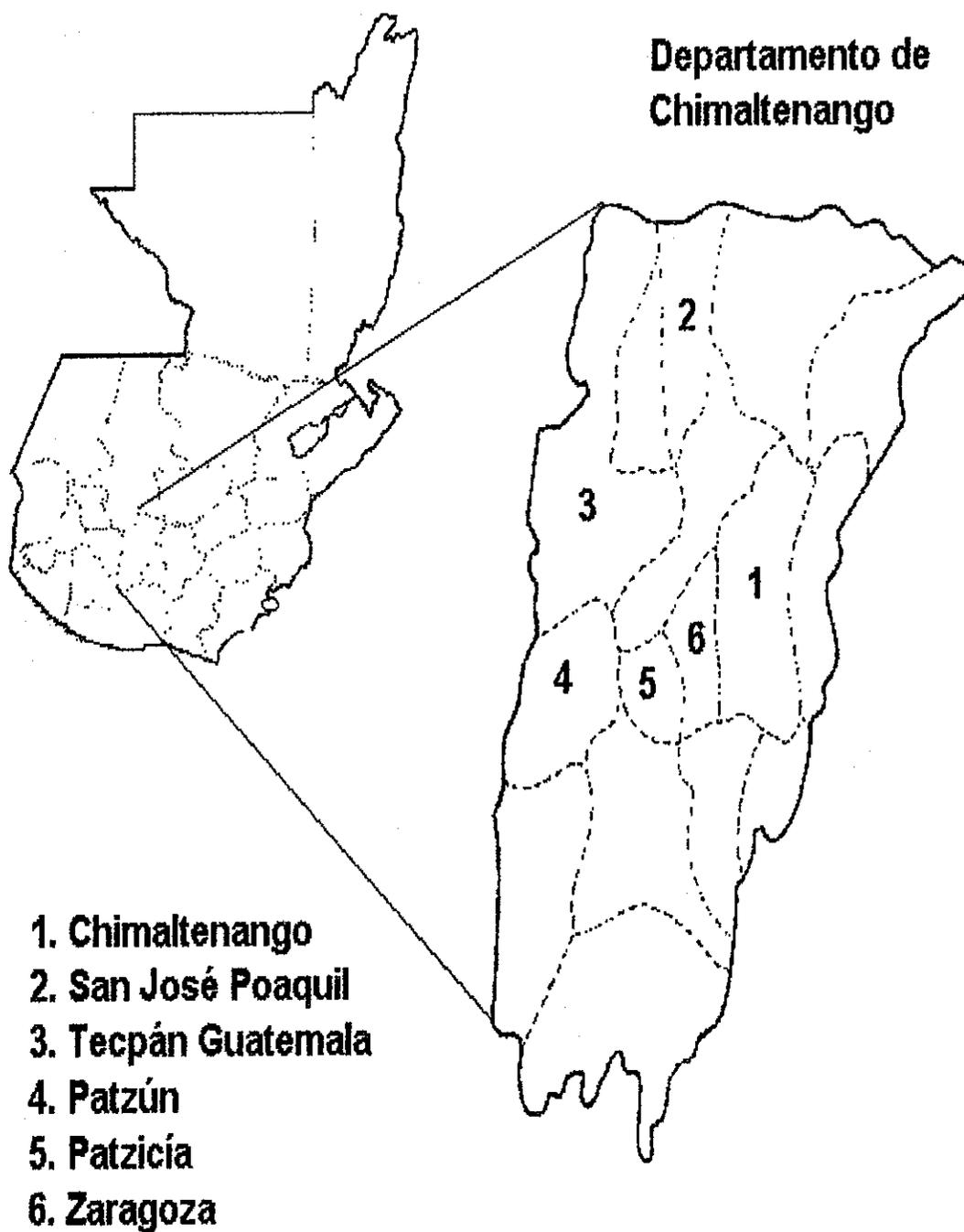


Figura 2 Ubicación de las 6 localidades de estudio, del departamento de Chimaltenango, en la República de Guatemala.

5.4 ACTIVIDADES REALIZADAS EN LA INVESTIGACION

Para efectuar la investigación, se desarrollaron 3 actividades fundamentales, siendo las siguientes:

5.4.1 Etapa de Planificación

Esta se realizó en los primeros cuatro meses del año 1993. Durante este período se seleccionaron las áreas de producción hortícola del Altiplano Central, que están bajo la influencia de las agroexportadoras INAPSA, COOPERATIVA CUATRO PINOS, FRUTESA, PLANTERRA y TIERRA FRIA. En coordinación con los técnicos de campo de estas empresas, se establecieron planes de recorrido a las localidades productivas establecidas para facilitar el ingreso a las fincas, la observación y colecta de microorganismos. Se tomó como criterio de selección para los muestreos, aquellas plantaciones de hortalizas abandonadas por períodos de 8 a 15 días; considerando que en ellas, la factibilidad de encontrar poblaciones de insectos plaga era más alta, así como la presencia de enemigos naturales.

5.4.2 Etapa de Campo

Esta se efectuó en un lapso de once meses, a partir del mes de mayo de 1993 a marzo de 1994. En las fincas seleccionadas para el muestreo, se buscó en plantaciones de brócoli (Brassica oleracea Var. Italica), repollo (Brassica oleracea Var. Capitata), coliflor (Brassica oleracea Var. Botritis), tomate (Lycopersicum esculentum L.), y arveja china (Pisum sativum L.), insectos plaga muertos o enfermos, los cuales conforme fueron encontrados se depositaron en frascos previamente esterilizados, asignándoles un número correlativo para su estudio a nivel de laboratorio. En esta etapa se realizó una pre-identificación del posible agente infectante, tomándose como base la clave (21, 22) que se presenta en el Apéndice 1.

5.4.3 Etapa de Laboratorio

El procedimiento para el aislamiento y purificación de los agentes entomopatógenos se llevó a cabo de la siguiente manera:

A) En bacterias

Se efectuaron diluciones sucesivas del cuerpo del insecto infectado (desde $1 * 10^{-1}$ hasta $1 * 10^{-5}$); para ello, en un vidrio de reloj con 10 ml de agua esterilizada, se maceraron los insectos muertos (dilución $1 * 10^{-1}$, el macerado se trasladó a un frasco con tapón de rosca que contenía 90 ml de agua previamente esterilizada (dilución $1 * 10^{-3}$), de este frasco, se extrajo un mililitro de suspensión microbial, el cual se agregó a otro frasco de rosca con 99 ml (dilución $1 * 10^{-5}$).

De las diluciones $1 * 10^{-3}$ a $1 * 10^{-5}$, se efectuaron siembras en triplicado en cajas de petri que contenían 20 ml de bactoagar nutritivo. Este trabajo se realizó en una cámara de flujo laminar.

Efectuada la siembra de la bacteria, se selló el borde de la caja de petri con papel parafilm, para evitar la contaminación exterior, trasladándose la misma a una incubadora a 25 °C.

B) En Hongos

Con insectos-plaga infectados o muertos por hongos, se procedió a realizar lo siguiente: se prepararon cajas de petri conteniendo aproximadamente 20 ml del medio Papa-dextrosa-agar (PDA). Seguidamente se procedió a depositar en un vidrio de reloj esterilizado, al insecto infectado y con una aguja de disección esterilizada, se aisló del cuerpo del insecto 4 porciones de micelio, las cuales se colocaron sobre el medio de cultivo en forma de cruz. Cada aislamiento se replicó 3 veces. Las cajas de petri se colocaron con la tapadera hacia abajo en una incubadora a 25 °C.

5.5 ADAPTACION Y DESARROLLO DE INSECTOS A NIVEL DE INVERNADERO PARA PRUEBA DE PATOGENICIDAD DE LOS ENTOMOPATOGENOS

Para realizar las pruebas, se sembraron macetas con plántulas de brócoli y repollo, cuando las plántulas tenían 2 meses y medio de desarrollo, se colectaron en el campo insectos plaga sanos de: palomilla de dorso de diamante (Plutella xylostella L.) mariposa blanca del repollo (Leptophobia aripa Boisd) áfidos (Myzus persicae Sulzer) y gusano soldado (Spodoptera sunia Guen.), los cuales en forma separada se colocaron sobre las plántulas. Este procedimiento permitió tener un buen pie de cría para las pruebas de patogenicidad.

5.6 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Para efectuar este trabajo, se procedió a preparar inóculo de cada microorganismo purificado; para ello se efectuó el siguiente procedimiento:

- a) Se esterilizaron 41 frascos con tapón de rosca que contenían 100 cc de agua destilada.
- b) Se tomó una caja de petri de cada microorganismo aislado, a la cual se agregó aproximadamente 12 cc de agua estéril y con una asa bacteriológica se suspendió cada microorganismo, el cual fue trasladado a cada uno de los frascos con agua estéril.
- c) Se desinfectaron atomizadores de 300 cc, utilizando una solución de bicloruro de mercurio al 0.1 % y cuatro lavados sucesivos de agua estéril.
- d) Para cada evaluación el procedimiento fue diferente:

Para P. xylostella L. y L. aripa (Boisd.) se usó un lote de 10 larvas por inoculante, las cuales fueron colocadas en hojas frescas de brócoli y repollo respectivamente. Las larvas con su alimento se colocaron en cajas de petri esterilizadas y sobre ellas se asperjó el inóculo a evaluar.

En Myzus persicae (Sulzer), hicieron aspersiones directas a las plantas en el invernadero, este método no permitió medir el efecto de la inoculación, por lo que se trasladaron al laboratorio hojas infectadas con el

insecto, las mismas se colocaron con el pedúnculo en un frasco conteniendo algodón humedecido en agua, procediendo luego a asperjar cada microorganismo. Este método permitió evaluar el efecto de cada microorganismo sobre una área de 3.5 cm² (área aproximada de las hojas infestadas con áfidos).

Referente a Spodoptera sunia (Guen.) se usó un lote de 45 larvas del segundo y tercer ínstar por cada microorganismo a evaluar. Las larvas fueron colocadas dentro de cajas de petri esterilizadas con hojas frescas de brócoli y repollo; y sobre ella se aplicó el inóculo a evaluar.

5.7 INTERPRETACION DE RESULTADOS

Para evaluar los resultados obtenidos, se realizaron conteos de insectos vivos, muertos y/o enfermos en cualquiera de sus estados de desarrollo. Para estandarizar el efecto de la dilución sobre las poblaciones evaluadas, se utilizó la fórmula de Abbott (19), para evitar el efecto de la mortalidad asociada a otro factor diferente al entomopatógeno evaluado. Con esta fórmula, se obtuvo la mortalidad corregida, siendo esta:

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

Donde:

A = % de Sobrevivientes en el Testigo

B = % de Sobrevivientes en cada Tratamiento

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 ETAPA DE CAMPO

A través de los muestreos realizados a nivel de campo, se determinó que existen microorganismos que afectan a los insectos-plaga, tal como se muestra en el Cuadro 2. En la palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella* L.) se aislaron 23 agentes microbianos, de los cuales 12 fueron hongos y 11 bacterias. En áfidos (*Myzus persicae* Sulzer), la cantidad de agentes microbianos aislados fue de 8, de los cuales 3 fueron hongos y 5 bacterias. Respecto a la mariposa blanca del repollo (*Leptophobia aripa* Boisd), se aislaron 4 agentes entomopatógenos, 3 hongos y 1 bacteria. Por último en el gusano soldado (*Spodoptera sunia* Guen.) se encontraron 6 agentes microbianos, los cuales todos fueron bacterias.

Cuadro 2 Resumen de los agentes microbianos obtenidos en los muestreos de insectos-plaga a nivel de campo en los departamentos de Sacatepéquez y Chimaltenango, 1993

Insecto-Plaga infectado	Nombre científico	No. de agentes entomo-patógenos encontrados		TOTAL
		HONGOS	BACTERIAS	
Palomilla dorso de diamante	<i>Plutella xylostella</i> L.	12	11	23
Afidos o pulgones	<i>Myzus persicae</i> (Sulzer)	3	5	8
Mariposa blanca del repollo	<i>Leptophobia aripa</i> (Boisd)	3	1	4
Gusano tigre	<i>Spodoptera sunia</i> (Guen)	0	6	6
TOTAL		18	23	41

6.2 CARACTERISTICAS DE PATOGENICIDAD OBSERVADAS A NIVEL DE CAMPO

6.2.1 PATOGENICIDAD EN *Plutella xylostella* L.

En palomilla dorso de diamante (*P. xylostella* L.), las larvas infectadas por bacterias se encontraron adheridas al tallo y envés de las hojas de brócoli, sostenidas de su parte posterior hacia abajo, presentando a

partir del tercer y cuarto segmento de su cuerpo, una coloración café oscuro a negro, las cuales con el tiempo se tornaron negras en su totalidad, además presentaron consistencia flácida y en algunos casos momificada. Algunas larvas presentaron una coloración café oscuro a negro en su totalidad.

Así mismo, se localizaron en el envés de las hojas, larvas que ya no se desarrollaron, es decir, no se dió el cambio de larva a pupa, encontrándose la misma dentro de la cápsula de seda, con una coloración de café claro a negra, momificada y otras flácidas de color marrón. La parte media de su cuerpo presentó una concavidad, producto de la deshidratación que produce la bacteria en la larva, (21, 22).

Las larvas infectadas por hongos, presentaron una proliferación de micelio de color blanquecino en la totalidad de su cuerpo. Así mismo, se encontraron larvas que en el proceso de cambio de larva a pupa, ya no se desarrollaron, existiendo en el interior de la "pupa" una proliferación de micelio de color café.

6.2.2 PATOGENICIDAD EN Myzus persicae (Sulzer)

En áfidos, Myzus persicae (Sulzer), se determinó que, de las colonias establecidas, algunos presentaron una coloración amarillenta a negra, misma que al realizar la siembra en un medio de cultivo, resultó ser causada por bacterias. También existieron áfidos adheridos a las cabezas de brócoli, atacados por un hongo de color blanquecino, que surgía de las partes laterales del cuerpo, cubriéndolo parcial o totalmente.

6.2.3 PATOGENICIDAD EN Leptophobia aripa (Boisd)

En mariposa blanca del repollo (Leptophobia aripa Boisd) tanto las larvas como pupas se encontraron adheridas al envés de hojas de brócoli y repollo, presentando diversa sintomatología: unas larvas mostraron consistencia flácida o momificada de color marrón. Otras, una reducción en el largo de su cuerpo y un ensanchamiento del mismo. Las demás presentaron una flacidez extrema, color negro, y descomposición.

Así mismo, existieron larvas infectadas por hongos, presentando una coloración blanca, que cubrió la totalidad de su cuerpo; observándose en sus dos primeros y últimos segmentos, una esporulación del hongo de color verde.

6.2.4 PATOGENICIDAD EN Spodoptera sunia (Guen)

Las larvas del gusano soldado (Spodoptera sunia Guen), presentaron infección por bacterias, observándose a partir de los dos primeros segmentos, una coloración oscura de consistencia flácida; dichas larvas se encontraron en posición inversa y adheridas a las hojas. También se observaron larvas que a partir del tercer segmento hacia atrás, presentaron una mancha negra y un ensanchamiento de la región infectada y en posición horizontal; otras presentaron una decoloración total, blanquecina, muy flácida y con un hundimiento abdominal extremo.

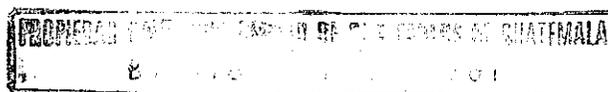
6.3 ETAPA DE LABORATORIO

6.3.1 PRUEBAS EFECTUADAS SOBRE Plutella xylostella L.

Los resultados de la evaluación de los entomopatógenos aislados se presentan en el Cuadro 3. Durante los 12 días de observación en larvas de Plutella xylostella L. inoculadas con los 23 aislamientos microbianos, se determinó que 8 de los mismos provocaron un 75 al 100 % de mortalidad en las larvas, entre estas la cepa bacteriana CB-49-L causó una mortalidad del 100 % sobre el insecto en su estado larvario, en un período de 5 días. Mientras que la cepa CB-53-L y CB-75-L causaron el 29 y 50 % de mortalidad respectivamente, en el estado larvario; así como el 71 y 50 % de mortalidad en el estado de pupa, en un período de 6 días.

Las cepas CB-51-L y CB-74-L, causaron una mortalidad del 71 % en el estado larvario y un 14 % en el estado de pupa, equivalente al 75 % de mortalidad sobre la población establecida.

De las cepas fungosas evaluadas sobre la población de larvas de Plutella xylostella L. la cepa CH-60-L, produjo una mortalidad del 100 % en un período de 7 días. Así mismo, las cepas CH-91-L y CH-61-L produjeron



una mortalidad del 71 % y 27 % en el estado larvario respectivamente y un 29 y 73 % de mortalidad en el estado de pupa, representando ambas cepas el 100 % de mortalidad sobre la población evaluada en 8 días de observación. Estas dos últimas cepas pueden constituirse en una alternativa para el control de Plutella xylostella L. a que actuaron en ambos estados metamórficos del insecto.

Cuadro 3 Resultados de la inoculación de 23 aislamientos microbianos sobre larvas de palomilla dorso de diamante (Plutella xylostella L.), en 12 días de observación, septiembre de 1994

CEPAS	TIPO DE MICROBIO	% DE ADULTOS DESARROLLADOS	% DE INDIVIDUOS MUERTOS			% DE MORTALIDAD CORREGIDA
			LARVAS	PUPAS	TOTAL	
CB-48-L	Bacteria	29	0	71	71	48.21
CB-49-L	Bacteria	0	100	0	100	100.00
CB-50-L	Bacteria	50	50	0	50	10.70
CB-51-L	Bacteria	14	72	14	86	75.00
CB-52-L	Bacteria	44	23	33	56	21.41
CB-53-L	Bacteria	0	29	71	100	100.00
CB-54-L	Bacteria	25	25	50	75	55.36
CH-55-L	Hongo	38	25	37	62	32.14
CH-56-L	Hongo	33	0	67	67	41.10
CH-60-L	Hongo	0	100	0	100	100.00
CH-61-L	Hongo	0	27	73	100	100.00
CH-62-L	Hongo	40	60	0	60	28.60
CH-63-L	Hongo	40	20	40	60	28.60
CB-74-L	Bacteria	14	72	14	86	75.00
CB-75-L	Bacteria	0	50	50	100	100.00
CB-85-P	Bacteria	50	17	33	50	10.71
CH-86-P	Hongo	38	0	62	62	32.14
CH-88-P	Hongo	50	23	27	50	10.71
CH-89-L	Hongo	29	42	29	71	48.21
CB-90-L	Bacteria	22	34	44	78	60.71
CH-91-L	Hongo	0	71	29	100	100.00
CH-93-L	Hongo	30	0	70	70	46.43
CH-94-L	Hongo	43	14	43	57	23.21
TESTIGO		56	0	44	44	0.00

6.3.2 PRUEBAS EFECTUADAS SOBRE Myzus persicae (Sulzer)

Respecto a Myzus persicae (Sulzer), en el Cuadro 4 se presentan los resultados obtenidos de la inoculación de 8 cepas microbianas durante 10 días de observación. La cepa CH-36-A produjo a los seis días el 97.7 % de mortalidad, encontrándose proliferación de micelio sobre el cuerpo, tanto en estado adulto como de ninfa.

Respecto a las bacterias, la cepa CB-42-A resultó ser la más efectiva de las 5 evaluadas, produciendo a los cuatro días la muerte de toda la población, que representa el 100 % de la mortalidad corregida. El comportamiento de la cepa bacteriana CB-66-A provocó una mortalidad del 98.9 %; pero con un tiempo más prolongado para su efecto, siendo este a los 6 días. La característica observada en los áfidos afectados, fue que presentaron una coloración de amarilla a café oscura y de consistencia blanda. Otros presentaron una coloración negra.

Cuadro 4 Resultados obtenidos de la inoculación de 8 aislamientos microbianos evaluados sobre colonias de áfidos (*Myzus persicae* Sulzer) en 10 días de observación, Febrero de 1995

CEPAS	TIPO DE MICROBIO	No. de áfidos muertos/cm ² por lectura cada dos días					% de mortalidad corregida por lectura cada dos días				
		0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	0-2	2-4	4-6	6-8	8-10
CH-36-A	Hongo	5.2	4.1	2.9	3.3	0.0	80.0	64.0	97.7	100.0	0.0
CH-37-A	Hongo	7.4	6.4	1.8	1.3	1.7	80.0	78.6	85.7	86.5	94.6
CH-38-A	Hongo	7.5	5.8	6.8	2.5	0.7	57.1	72.6	96.1	98.9	91.9
CB-39-A	Bacteria	7.5	7.4	3.8	2.0	0.7	64.7	76.9	69.7	88.2	100.0
CB-41-A	Bacteria	17.9	19.1	4.2	2.9	1.5	83.5	89.0	87.4	95.5	100.0
CB-42-A	Bacteria	24.2	16.4	0.0	0.0	0.0	98.9	100.0	100.0	0.0	0.0
CB-44-A	Bacteria	4.6	4.7	1.6	0.8	0.3	92.4	76.9	86.8	70.2	100.0
CB-66-A	Bacteria	4.4	4.8	0.3	0.2	0.3	96.5	96.3	98.9	91.6	100.0
TESTIGO		0.0	0.5	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

6.3.3 PRUEBAS EFECTUADAS SOBRE *Leptophobia aripa* Boisd

Con respecto a la evaluación realizada en mariposa blanca del repollo (*Leptophobia aripa* Boisd), el Cuadro 5 presenta los resultados de la inoculación de 4 aislamientos microbianos sobre larvas en 15 días de observación. De los 4 aislamientos evaluados, el hongo identificado como CH-103-L produjo un 50 % de mortalidad sobre el estado de larva y un 30 % de mortalidad sobre el estado de pupa, representando el 73.33 %

de mortalidad, considerándose superior sobre los aislamientos de hongos CH-32-L y CH-104-L, ya que no superaron más del 46.67 % de mortalidad sobre la población evaluada. En las larvas de L. aripa (Boisd) se observó proliferación de micelio.

Cuadro 5 Resultados obtenidos de la inoculación de 4 aislamientos microbianos sobre larvas de mariposa blanca del repollo (Leptophobia aripa Boisd) en 15 días de observación, Agosto de 1994

CEPAS	TIPO DE MICROBIO	% DE ADULTOS DESARROLLADOS	% DE INDIVIDUOS MUERTOS			% DE MORTALIDAD CORREGIDA
			LARVAS	PUPAS	TOTAL	
CB-30-L	Bacteria	73	0	27.50	27	2.67
CH-32-L	Hongo	60	40	0.00	40	20.00
CH-103-L	Hongo	20	50	30.00	80	73.33
CB-104-L	Hongo	40	32	28.00	60	46.67
TESTIGO	---	75	0	25.00	25	0.00

6.3.4 PRUEBAS EFECTUADAS SOBRE Spodoptera sunia (Guen.)

De los aislamientos evaluados, las cepas bacterianas CB-23-L, CB-25-L y CB-26-L3 fueron las que mejor resultado produjeron. Se destaca dentro de las 3, la cepa CB-25-L ya que a las 48 horas después de su aplicación produjo el 100 % de mortalidad; mientras que las otras dos produjeron el 100 % de mortalidad a los 5 días después de su aplicación.

El aislamiento bacteriano CB-84-L produjo el 58.54 % de mortalidad, pero con el inconveniente de que esta fue a los 8 días de aplicación.

Cuadro 6 Resultados obtenidos de la inoculación de 6 aislamientos microbianos sobre larvas de gusano tigre (Spodoptera sunia Guen) en 15 días de observación, Octubre de 1994

CEPAS	TIPO DE MICROBIO	% DE ADULTOS DESARROLLADOS	% DE INDIVIDUOS MUERTOS			% DE MORTALIDAD CORREGIDA
			(0-5)	(5-10)	(10-15)	
CB-23-L	Bacteria	---	100.0	---	---	100.00
CB-24-L	Bacteria	---	31.0	64.0	5.0	24.40
CB-25-L	Bacteria	---	100.0	---	---	100.00
CB-26-L	Bacteria	---	100.0	---	---	100.00
CB-76-L	Bacteria	---	22.0	62.0	16.0	15.00
CB-84-L	Bacteria	---	62.0	38.0	---	58.54
TESTIGO	---	89	9.0	2.0	---	---

6.4 IDENTIFICACION DE LOS AISLAMIENTOS

En los cuadros del 7 al 10 que se presentan a continuación, se detalla la identificación del agente entomopatógeno determinado en cada insecto plaga encontrado, esto basado en el Manual para Patólogos Vegetales (17) y las claves establecidas en los Apéndices 1 al 5, llegándose a determinar que los géneros de hongos entomopatógenos fueron: Fusarium sp., Penicillium sp., Aspergillus sp., Paecilomyces sp. y Entomophthora sp., y respecto a la bacteria determinada Bacillus thuringiensis Berliner, se efectuó a través de la solución de Coomasi (50 % de etanol, 7 % de ácido acético, 0.25 % de Coomasi y 42.75 % de agua destilada) (10).

Cuadro 7 Identificación de las cepas aisladas en palomilla dorso de diamante (Plutella xylostella L.)

CEPA	NOMBRE DEL AGENTE CAUSAL
CB-48-L	No se identificó
CB-49-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CB-50-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CB-51-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CB-52-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CB-53-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CB-54-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CH-55-L	<i>Aspergillus</i> sp.
CH-56-L	<i>Penicillium</i> sp.
CH-60-L	<i>Fusarium</i> sp.
CH-61-L	<i>Paecilomyces</i> sp.
CH-62-L	<i>Aspergillus</i> sp.
CH-63-L	<i>Aspergillus</i> sp.
CB-74-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CB-75-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CB-85-P	No se identificó
CH-86-P	<i>Fusarium</i> sp.
CH-88-P	<i>Paecilomyces</i> sp.
CH-89-L	<i>Verticilium</i> sp.
CB-90-L	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner
CH-91-L	<i>Aspergillus</i> sp.
CH-93-L	<i>Entomophthora</i> sp.
CH-94-L	<i>Verticilium</i> sp.

Cuadro 8 Identificación de las cepas aisladas en pulgón verde (*Myzus persicae* Sulzer)

CEPA	NOMBRE DEL AGENTE CAUSAL
CH-36-A	<i>Entomophthora sp.</i>
CH-37-A	<i>Fusarium sp.</i>
CH-38-A	<i>Fusarium sp.</i>
CB-39-A	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-41-A	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-42-A	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-44-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-66-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>

Cuadro 9 Identificación de las cepas aisladas en mariposa blanca del repollo *Leptophobia aripa* Boisd

CEPA	NOMBRE DEL AGENTE CAUSAL
CB- 30-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CH- 32-L	<i>Fusarium sp.</i>
CH-103-L	<i>Paecilomyces sp.</i>
CH-104-L	<i>Fusarium sp.</i>

Cuadro 10 Identificación de las cepas aisladas en gusano tigre *Spodoptera sunia* (Guen).

CEPA	NOMBRE DEL AGENTE CAUSAL
CB-23-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-24-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-25-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-26-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-76-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>
CB-84-L	<i>Bacillus thuringiensis Berliner</i>

7. CONCLUSIONES

- 7.1 Los microorganismos aislados de los insectos-plaga fueron un total de 41, los que son específicos para Plutella xylostella L., Myzus persicae (Sulzer), Leptophobia arisa (Boisd) y Spodoptera sunia (Guen).
- 7.2 En la evaluación realizada a Plutella xylostella L., la cepa CB-49-L (Bacillus thuringiensis Berliner) produjo el 100 % de mortalidad corregida en un período de 5 días, mientras que las cepas CB-53-L y CB-75-L (Bacillus thuringiensis Berliner las dos), produjeron el 100 % de mortalidad en un periodo de 6 días, actuando ambas en las dos fases metamórficas del insecto.
- 7.3 Respecto a las cepas fungosas evaluadas en Plutella xylostella L., la CH-60-L (Fusarium sp.) produjo el 100 % de mortalidad sobre la población a los 7 días de su aplicación. Las cepas CH-91-L y CH-61-L (Aspergillus sp. y Paecilomyces sp. respectivamente) produjeron el 100 % de mortalidad a los 8 días de su aplicación, actuando en las dos fases metamórficas del insecto.
- 7.4 En Myzus persicae (Sulzer), la cepa fungosa CH-36-A (Entomophthora sp.) produjo una mortalidad corregida del 97.7 %, en término de 6 días. La cepa bacteriana CB-42-A (Bacillus thuringiensis Berliner), resultó ser más efectiva, ya que a los 4 días de su aplicación, produjo el 100 % de mortalidad.

- 7.5 En Lepthophobia aripa Boisd, la cepa fungosa CH-103-L (Paecilomyces sp.) produjo el 73.3 % de mortalidad sobre la población evaluada, actuando de la siguiente manera: 50 % en estado de larva y 30 % en estado de pupa.
- 7.6 En la evaluación realizada en Spodoptera sunia (Guen.) la cepa CB-25-L (Bacillus thuringiensis Berliner) fue efectiva a los 2 días, produciendo el 100 % de mortalidad de la población evaluada; las dos cepas restantes, CB-25-L y CB-26-L (Bacillus thuringiensis Berliner las dos), causaron el 100 % de mortalidad sobre la población evaluada.
- 7.7 Se determinó que los géneros de agentes entomopatógenos identificados fueron los hongos: Fusarium sp., Penicillium sp., Aspergillus sp., Paecilomyces sp. y Entomophthora sp.; y la bacteria Bacillus thuringiensis Berliner.

8. RECOMENDACIONES

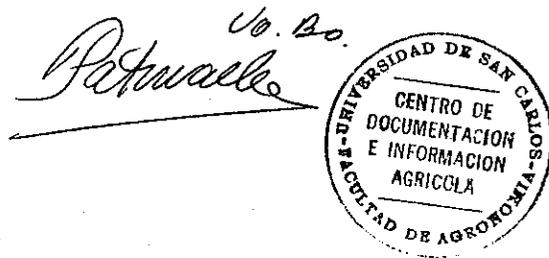
- 8.1 Evaluar a nivel campo las cepas bacterianas y fungosas que causaron una mortalidad entre el 75 al 100 % sobre los insectos-plaga evaluados.

9. BIBLIOGRAFIA

- 1.- AGRICOLA EL SOL (Gua.) 1992. Insecticida biológico VPN-82. Guatemala. Boletín técnico. s. p.
- 2.- BACH, P. DE. 1984. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Trad. por Carlos Manuel Castaño. México, CECSA. p. 607-645.
- 3.- BARRIOS MENDEZ, E.E. 1984. Inducción de epizootia a diferentes dosis de virus de poliedrosis nuclear de Autographa californica en el falso medidor (Trichoplusia ni) en el cultivo del algodón (Gossypium hirsutum). Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. p. 4-18.
- 4.- BUSTILLO P., A.E. 1987. Uso de entomopatógenos. Manejo Integrado de Plagas (C.R.). no. 3:32-55.
- 5.- CHARNLEY, A.K. 1989. Mechanisms of fungal pathogenesis in insects. In Symposium of the British Mycological Society Heal of the University of Sussex. (1988, E.E.U.U.). Biotechnology of fungi for improving plant growth. Ed. by Whipps, J.M. and Lumsden, E.D. Australia, British Mycological Society. p. 85-177.
- 6.- CHONAY CHONAY, M.F. 1988. Determinación de la patogenicidad del entomopatógeno Beauveria bassiana (Bals) Vuill en 20 especies de insectos plaga en condiciones de laboratorio y su efecto a nivel de campo en Pieris sp. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 48 p.
- 7.- CRUZ S., J.R. DE LA. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. p. 25-29.
- 8.- DIPEL; INSECTICIDA biológico. 1989. Chicago, Estados Unidos, Abbott Laboratories. 14 p.
- 9.- ESTADOS UNIDOS. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1982. Manejo y control de plagas de insectos. Trad. Modesto Rodríguez de la Torre. 2 ed. México D.F., Limusa. V.3, p. 189-219.
- 10.- ESTRADA, H.R. 1991. Control microbiano. In Seminario Manejo y Uso de Plaguicidas Agrícolas (1989, Santa Cruz Verapaz, Guatemala). Memoria. Guatemala, Cooperación Guatemalteca-Alemana Alimentos por Trabajo. p. 118-125.
- 11.- FERNANDEZ DE LA VEGA, C.A. 1979. Ensayo de uso de virus de la poliedrosis nuclear en la lucha biológica contra el gusano soldado (Spodoptera exigua) (Hubner) en plantaciones de algodón (Gossypium hirsutum) en Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 48 p.
- 12.- FLORES L., M. s.f. Bacillus thuringiensis como alternativa biológica para el control de plagas. México, Sandoz. 14 p.

- 13.- GILLESPIE, A.T.; MOORHOUSE, E. R. 1989. The use of fungi to control pests of agricultural and horticultural importance. In Symposium of the British Mycological Society Heald of th University of Sussex. (1988, E.E.U.U.). Biotechnology of fungi for improving plant growth. Ed. by Whipps, J.M. and Lumsden, E.D. Australia, British Mycological Society. p. 55-77.
- 14.- GUATEMALA. INSTITUTO NACIONAL FORESTAL. 1975. Mapa climatológico preliminar de la República de Guatemala, según sistema Thornthwaite. Guatemala, Instituto Geográfico Militar. Esc. 1:1000.000.
- 15.- KERRY, B.R. 1989. Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes. In Symposium of the British Mycological Society Heald of th University of Sussex. (1988, E.E.U.U.). Biotechnology of fungi for improving plant growth. Ed. by Whipps, J.M. and Lumsden, E.D. Australia, British Mycological Society. p. 153-167.
- 16.- LEON ROBLES, J.A. DE. 1985. Evaluación de medios de cultivos, influencia de la luz, temperatura y determinación del rango de hospedantes del hongo Entomophthora sp. in vitro. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 25 p.
- 17.- MANUAL PARA patólogos vegetales. 1985. Santiago, Chile, FAO. 438 p.
- 18.- MARROQUIN V., C.A. 1984. Evaluación del rango de hospedantes, medios de cultivos, luz y temperatura para la reproducción de Metarrhizium in vitro. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 35 p.
- 19.- MATSUMURA, F. 1975. Toxicology of insecticides. 2 ed. New York, E.E.U.U., Plenum Press. p. 17-43.
- 20.- MAZARIEGOS E., M.V. 1982. Efectividad de Bacillus thuringiensis en el control del gusano enrollador (Psaraperiusalis) en el cultivo del tomate (Lycopersicum sculentum). Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. p. 9-25.
- 21.- METCALF, R.L.; LUCKMAN, W.H. 1990. Introducción al manejo de plagas de insectos. Trad. por Antonio García Trejo y Ramón Elizandro Mata. México D.F., Limusa. p. 223-263.
- 22.- MICROBIAL CONTROL of insects and mites. 1971. London, Academic Press. 825 p.
- 23.- MICROBIAL CONTROL of pests and diseases 1970-1980. 1981. London, Academic Press. 915 p.
- 24.- MONTERROSO M., A.C. 1991. Evaluación de la patogenicidad de tres nemátodos entomófagos y tres cepas de hongos entomopatógenos en el control de la cochinilla de las raíces del café (Geococcus coffeae Green) y (Rhizoctenus nemoralis Hambleton) a nivel de laboratorio. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 60 p.

- 25.- MORALES M., V.M. 1990. Evaluación de seis substratos para la reproducción de cinco cepas de hongos entomopatógenos y estudio de su patogenicidad en cuatro especies de insectos plaga. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 60 p.
- 26.- RODAS C., E.A. 1982. Evaluación de medios de cultivos para la producción masiva del entomopatógeno Beauveria bassiana (Bals) Vuill. Tesis Ing. Agr. Quetzaltenango, Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, CUNOC, Facultad de Agronomía. 60 p.
- 27.- RODRIGUEZ D., C.E. 1983. Sensibilidad del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana (Bals) Vuill a 7 fungicidas bajo condiciones de laboratorio. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 53 p.
- 28.- ROMERO LEIVA, E.R. 1992. Control biológico y químico de Plutella xylostella en el cultivo del brócoli (Brassica oleracea var Italica) en dos mini-riegos del departamento de El Quiché. Tesis Ing. Agr. Quetzaltenango, Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, CUNOC, Facultad de Agronomía. 55 p.
- 29.- RUCUCH L., R. 1985. Efectividad de Paecilomyces lilacinus para el control biológico del nemátodo agallador Meloidogyne sp. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 49 p.
- 30.- TEMPLETON, G.E.; HSINY, D.K. 1989. Improvement of fungi to enhance mycoherbicide potential. In Symposium of the British Mycological Society Held at the University of Sussex. (1988, E.E.U.U.). Biotechnology of fungi for improving plant growth. Ed. by Whipps, J.M. and Lumsden, E.D. Australia, British Mycological Society. p. 127-147.



10. APENDICES

APENDICE 1

CLAVE PARA LA DETERMINACION DE SINTOMAS Y SIGNOS DE ENFERMEDAD EN INSECTOS A NIVEL DE CAMPO

- 1. Terrestres, acuáticos muchos y huésped de forma aérea 2
 Solo huéspedes acuáticos 10
- 2. Muertos 3
 Moribundos 8
- 3. Fijo en una superficie de una planta u otro objeto 4
 No fijo en la superficie de una planta 5
- 4. Insecto recto o en pie, crecimiento de micelio e hifas cubriendo la cutícula INFECCION POR HONGO
 Insecto situado encima o suspendido de la hoja o en la superficie de la planta, no estructura filamentosa en la cutícula INFECCION POR VIRUS
- 5. Gris o blanco 6
 Café, rojo o negro 7
- 6. Cuerpo blando y frágil, o cuerpo irritado, o como escama seca en agua, flexible con una masa lechosa PROTOZOO, BACTERIA O VIRUS
 Cuerpo duro, parecido a queso, no desintegrado en agua INFECCION POR HONGO
- 7. Insecto marrón, interior vacío o hueco HONGO, Tarichium, Entomophthora o INSECTOS ENTOMOFAGOS
 Insecto negro, hueco, desintegrado como un polvo negro en agua HONGO, Tarichium
 Insecto rojo ladrillo HONGO, Synglocladium (Sorospora), Tarichium

- 8. Movimientos irregulares, temblorosos, "Knock-Down", no ennegrecido
 ENVENENAMIENTO POR INSECTICIDAS
 Insecto de vez en cuando obscuro, o falta de movimientos irregulares
 9

- 9. Gran número de manchas negras o marrones
 HERIDAS POR ACAROS
 Unas cuantas áreas negras, diseminándose encima del cuerpo
 INFECCION TEMPRANA DE HONGOS DEUTEROMICETOS

- 10. Muertos
 11
 Moribundos
 13

- 11. Presentan apulaciones rosas, rosado o blanco
 ASFIXIA
 Irisado del cuerpo
 VIRUS
 Larvas generalmente muertas, contenidos en el fondo
 12

- 12. Masas blancas en el interior
 PROTOZOOS U HONGOS
 Algunas masas aparentemente en el interior
 INSECTOS ENTOMOPATOGENOS

- 13. Segmentado o irregularmente agrupado en quistes en lugares grasos del cuerpo
 PROTOZOOS O RICKETSIAS
 Esféricos en forma de quistes, esporangios dentro del cuerpo
 HONGO Coelomycidium, hifas o esporulación,
 esporangios densos o amurallados, principal
 mente en forma posterior HONGO Coelomyces

APENDICE 2

CLAVE GENERAL DE LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS MAS IMPORTANTES

ENTOMOPHTHORALES

- 1a Esporas típicas de forma acampanada completamente separadas de la pared, encima del sustrato o capa impactada, con núcleos multinucleados, con provimente heterocromático Entomophthora
- 1b Esporas no en forma acampanadas, casi globosa, ovoide, en forma de pera o elongada encima de la capa o solamente separada 2
- 2a Esporas ovoides o elongadas, parcialmente separadas de la capa o encima de la pared, impactadas en el sustrato (interno y externo de la capa, no separada en una corola circundante o parecido), uninucleada con un pedazo de heterocromático Erynia
- 2b Esporas globosas en forma de pera, de pared no separada a partir de impactación en el sustrato, multinucleada 3
- 3a Esporas globosas con apariencia cónica, conteniendo pequeños núcleos no teñidos con acetato, con un prominente nucleolo central y no aparenta heterocromatina Conidiobolus
- 3b Esporas no globosas, conteniendo núcleos largos 4
- 4a Esporas periformes a ovoides, con apariencia cónica, conteniendo núcleos con pedazos largos de heterocromatina y no aparecen nucleolos centrales manchados con acetato Entomophaga
- 4b Esporas en forma de pera, redondas, con apariencia truncada, en su mayor parte, contienen 4 núcleos no teñidos con acetato, esporas secundarias en su mayoría conidioesporas con conidióforos curvos Neozygites

ASCOMICOTA

- 1a Ascosporas unicelulares, que quedan en distintas bolas de ascosporas, principalmente asociadas con cer Ascospaera
- 1b Ascospora septada, no quedan bolas distintas de esporas 2

- 2a Ascosporas multiseptadas como transversal y longitudinalmente septadas, ascas globosas
..... Myriangium
- 2b Ascosporas multiseptadas con una septa transversal, con frecuencia desarticulada dentro de esporas, ascas cilíndricas a clavadas
..... 3
- 3a Ascospora helicoidal o fusiforme 2-3 septados
..... Nectria
- 3b Ascosporas largas, alargadas o cilíndricas, multiseptada
..... 4
- 4a Asca clavada o cilíndrica con distintas paredes de dos capas o estratos
..... Podonectria
- 4b Ascas largas, filiformes, por fuera dos capas de pared, solamente con distintos ápices espaciados
..... 5
- 5a Estroma prominentemente erecto, en su mayor parte clavado con una porción apical distinta y fértil o medio fértil
..... Cordyceps
- 5b Estroma ausente o no distintivo, erecto solo superficialmente
..... 6
- 6a Ascosporas fusiformes, de unas 30 micras de largo, 6-9 septos, no desarticulados en porta esporas
..... Calonectria
- 6b Ascosporas filiformes, en su mayoría aproximadamente largo como la asca, muchas veces desarticulado en su porta espora
..... 7
- 7a Ascomatos no en estroma, solo superficialmente embebidas en un aproximadamente arreglo micelial, en varios artrópodos
..... Torrubiella
- 7b Ascomatos en un estroma superficial, en su mayor parte parecidos a un plato o en forma de banda, en insectos de escamas o cuerpos blandos
..... Hypocrella

DEUTEROMYCOTINA

- 1a Conidias producidas por filas o cadenas en cabezas viscosas
..... 2

1b Conidias producidas por conidióforos semicoidal, muchas veces expuestas en distintas cicatrices o ascas dentadas 19

2a Conidias en seco, con frecuencia grandes o largas cadenas 3

2b Conidias no en cadena, solamente en cabeza viscosa 9

3a Filamentos simples, consistentes de parecido dentado, creciendo de una hifa fértil Pleurodesmospora

3b Filamentos conspicuos, en su mayor parte leznas o en forma de frascos y con conidióforos distintos 5

4a Conidióforos consistentes de un tipo de embrecado, con terminación en un comportamiento de vesícula, conidióforos celdados y/o mutilados 4

4b Conidióforo por fuera en vesículas 6

5a Conidióforos en su mayor parte unidas en distintas ramificaciones tipo araña Gibellula

5b Los conidióforos surgen individualmente desde el cuerpo del huésped en su mayor parte no son tipo araña Aspergillus

6a Hifas organizadas, a lo largo ramificaciones como en un paquete Akanthomyces

6b Hifas organizadas de modo distinto 7

7a Conidióforos sueltos en paquetes en esporodoquios o en uno en uno, conidias en columnas Metarrhizium

7b Conidióforos sueltos y ordenados en paquetes o separados en su mayor parte verticiladas, conidias dentro de largas cadenas divergentes 8

8a Hifas de cuellos muy cortos, conidióforos de comportamiento denso, verticilo ramificado de hifas Nomuraea

- 8b Hifas con distintos cuellos, conidióforos con irregularidades o elementos de sección verticiladas
..... Paecilomyces
- 9a Conidióforos ordenados en picnidios en insectos, blanquecinos, conidias usualmente fusiformes
..... Aschersonia
- 9b Conidióforos no ordenados en picnidios
..... 10
- 10a Conidias unas o más septadas, usualmente curvados en forma de banana con distintas células pegadas
..... Fusarium
- 10b Conidias no septadas, o no curvadas en forma de banana
..... 11
- 11a Paquetes presentes con distintas mucosidades de cabeza fértil y estipuladas
..... 12
- 11b Paquetes ausentes o cabezas por fuera distintas
..... 14
- 12a Hifas cilíndricas, en un solo extracto de envoltura apical, conidias en su mayor parte prolongada 5 micras
..... Stibella
- 12b Hifas de diferentes formas, no solo cubiertas en la parte del ápice, conidias en su mayor parte haces de 5 micras
..... 13
- 13a Hifas solitarias o llenas en forma empaquetada, parecido a una capa desde el principio, con un hinchamiento en su parte basal repentinamente terminada en punta de uno a más largos delgados cuellos, conidias simples o unos pocos y típicamente cubiertos con limo en vaina
..... Hirsutella
- 13b Hifas en su mayor parte en espiral, muchas veces en cadena o más parece a una forma de lezna, brillantemente coloreada, de comportamiento limoso o viscoso de conidias en masas apicalmente conidias no cubiertas claramente con limo
..... Polycephalomyces
- 14a Hifas típicamente en forma de lezna
..... 15
- 14b Hifas no en forma de lezna, solo en forma de frasco o con exagerada base y distinto cuello
..... 17
- 15a Hifas formadas una o solo unas pocas conidias, usualmente cubiertas con distintas capas mucilaginosas
..... Hirsutella

		52
15b	Hifas formando muchas conidias en cabeza	16
16a	Hifas solitarias, no con conidióforos verticilados	<u>Acrenonium</u>
16b	Hifas en espiral, produciendo una rama verticilada en conidióforos	<u>Verticillium</u> (comparado con <u>Engyodontium</u>)
17a	Hifas con una exagerada base y una delgada cabeza curvada, estando afuera con un eje principal	<u>Tolypocladium</u>
17b	Hifas en forma de frasco con uno a más cabezas rectas	18
18a	Hifas con una cabeza, conidias clavadas en mosquitos y convexos en Dípteros	<u>Culicinomyces</u>
18b	Hifas en forma de frasco con más de una cabeza, conidias de varias formas	<u>Paraisaria</u>
19a	Conidióforos celdados, muchas veces cilíndricos con ascas llenas o dentadas en compactos paquetes, capas parecidas a lo largo de distintas hileras	<u>Hymenostilbe</u>
19b	Conidióforos celdados no en densas vesículas	20
20a	Conidióforos con estípula terminal en comportamiento vesicular mutilada, y conidióforo celdado	<u>Pseudogybellula</u>
20b	Conidióforo estipulado por fuera y vesícula hinchada	21
21a	Conidióforos formados en esporodoquios y produciendo conidias con varios brazos multiseptados	<u>Tetracrium</u>
21b	Conidióforos no en esporodoquios, conidias en celdas	22
22a	Conidias largas en forma de varilla, en su mayor parte produciendo verrugas, conidióforos celdados, asociados con <u>Turribiella</u> y <u>Gibellula</u> en tipo araña	<u>Granulomanus</u>

22b	Conidias de diferentes formas, conidióforos celdados uniformemente amurallados	23
23a	Conidióforos celdados alargados y delgados inconspicuos con una cicatriz terminal lateral	<u>Sporothrix</u>
23b	Conidióforo celdado en forma de frasco, con un fondo basal partido, terminando las ramificaciones en zigzag en raquis	<u>Beauveria</u>

APENDICE 3

CLAVE COMUN PARA GENEROS IMPORTANTES DE HONGOS ASOCIADOS CON INSECTOS

1a	Conidias producidas por hifas en cadenas o en cabezas limosas	2
1b	Conidias producidas semicoidal, conidióforos celdados	12
2a	Conidias en seco, largas cadenas	3
2b	Conidias en cabezas limosas	8
3a	Conidióforos constan de ramificaciones terminando en vesículas, conidióforos con comportamiento celdado o mutilado	4
4a	Conidióforos unidos en distintas ramificaciones, huésped tipo araña	<u>Gibellula</u>
4b	Conidióforos se presentan individualmente en cuerpos de insectos	<u>Aspergillus</u>
5a	Hifas ordenadas desde el principio en ramificaciones como en un conidióforo	<u>Akanthomyces</u>
5b	Hifas arregladas en distintos modos	6
6a	Conidióforos exactamente empaquetados es estructuras esporoquiales, conidias en columnas	<u>Metarrhizium</u>
6b	Conidióforos exactamente ordenados en paquetes o separadamente, conidias dentro de largas cadenas divergentes	7
7a	Hifas en mucha cantidad en huésped, conidióforos de comportamiento denso en espiral o ramas de hifa:	<u>Nomuraea</u>
7b	Hifas con distintas cabezas, los conidióforos son irregulares o verticilados en las primeras ramas	<u>Paecilomyces</u>

8a	Una conidia o más septadas, usualmente curvadas	<u>Fusarium</u>	
8b	Conidias no septadas		9
9a	Conidióforos ordenados en esporodoquios en insectos o blancos conidios usualmente fusiformes	<u>Aschersonia</u>	
9b	Conidióforos no ordenados en esporodoquios		10
10a	Hifas en su mayor parte separadas, con un hinchamiento en la parte basal, bruscamente cónico o denso, cuello largo, conidias separadas o algunas cubiertas por una vaina viscosa	<u>Hirsutella</u>	
10b	Hifas en multitud o conidióforos verticilados en ramas		11
11a	Hifas en forma de frasco, conidias clavadas, en mosquitos y relativo a Dípteros	<u>Culicinomyces</u>	
11b	Hifas usualmente en forma de lezna, conidias de varias formas	<u>Verticillium</u>	

APENDICE 4

CLAVE DE GENEROS DE HONGOS ASOCIADOS A INSECTOS

1a	Conidióforos primarios con un prominente hinchamiento subapical funcional en descarga de conidias, zigospora con dos o más haces exactamente apresados lateralmente en apéndice (promontorio)	<u>Basidiobolus</u>	
1b	Conidióforos y/o última espora no como continua		2
2a	Conidia primaria no descargada, cerca o dentro del huésped, limitada al abdomen de la cigarra	<u>Massospora</u>	
2b	Conidia primaria descargada, primero en huésped exterior o con exceso externo hasta en una cavidad ventral abierta		3
3a	Conidia primaria elíptica o subovoide, uninucleado, sostenido en un saco forrado, en una abertura de cavidad ventral abdominal	<u>Stronwellsea</u>	

- 3b Conidias primarias de diversas formas, uni o multinucleadas no más que en un saco forrado en una cavidad ventral abierta 4
- 4a Conidias primarias esféricas o subesféricas con un ápice redondeado liso conteniendo más de 7 núcleos, conidióforos simples, zigosporas (si presenta) hialinas o amarillentas, surgiendo dentro de lo largo de dos gametos, esporas y/o microconidias de ser posible esto se presenta en cultivos de PDA Conidiobulus
- 4b. Conidias primarias variables en forma y número de núcleos, no solo con la combinación de la característica en 4a; conidióforos primarios simples o rama zigospora (oazigospora), hialinas a coloreadas a muy obscuro, capa exterior nunca formada dentro de la capa de los gametos vellosos, esporas y microconidias ausentes, más especies no cultivadas en PDA Entomophthora

APENDICE 5

CLAVE PARA LA DETERMINACION DE LAS PRINCIPALES BACTERIAS ASOCIADAS A INSECTOS

- 1a Crecimiento de bacterias en medios nutritivos 2
- 1b No crecimiento de bacterias en caldos nutritivos y agar nutritivo 5
- 2a Esporulación en barras 3
- 2b No esporulación en barras 4
- 3a Infección oral en larvas de abejas de miel, produciendo cadáveres viscosos, adheridos a las paredes de las células, grupos de flagelos ondulados evolucionando cuando se hacen frotos con tinción de gram Bacillus larvae
- 3b Infección oral limitada a larvas de lepidoptera, esporangios alargados produciendo una espora terminal y un cristal bipiramidal Bacillus thuringiensis
- 4a Colonias rojo ladrillo de 72-120 horas en medios de agar Serratia marcescens

- 4b Colonias fluorescentes azuladas en agar nutritivo como 72-120 horas
..... Pseudomonas aeruginosa
- (Otros colores o colonias grises son bacterias como las de crecimiento en el intestino en insectos muertos)
- 5a Frotos primarios, con esporangios navicular con esporas ovales y cuerpos parasporal, apareciendo al mismo tiempo como una forma de pie rosado, infección blanca de la hemolinfa. En insectos terrestres, larvas de escarabajos
..... Bacillus popilliae, B. fribourgensis
- 5b En frotos primarios, barras gruesas en comidas, en tejidos irregulares, haciendo el cuerpo del huésped más corto en larvas de lepidópteros
..... Clostridium brevifaciens



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 FACULTAD DE AGRONOMIA
 INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
 AGRONOMICAS

Ref. Sem.039-96

LA TESIS TITULADA: "COLECTA E IDENTIFICACION PRELIMINAR DE AGENTES ENTOMOPATOGENOS
 EN AREAS HORTICOLAS DE SACATEPEQUEZ Y CHIMALTENANGO, GUATEMALA".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: APARICIO DAVID BAMACA LEIVA

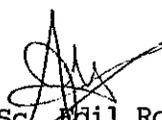
CARNET No: 8410013

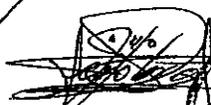
HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Gustavo Alvarez
 Ing. Agr. Leonel Cruz
 Ing. Agr. Filadelfo Guevara

Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha
 cumplido con las normas universitarias y reglamentos de la Facultad de Agronomía
 de la Universidad de San Carlos de Guatemala.


 Ing. M.Sc. Rolando Aguilera
 ASESOR

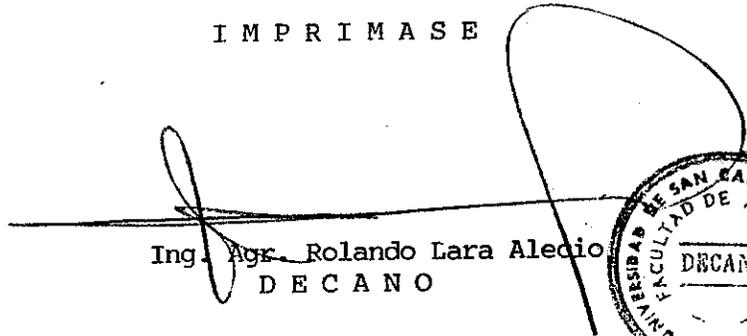

 Ing. M.Sc. Samuel Córdova
 ASESOR


 Ing. M.Sc. Edil Rodríguez
 ASESOR


 Ing. Agr. Fernando Rodríguez
 DIRECTOR DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS



I M P R I M A S E


 Ing. Agr. Rolando Lara Alecio
 DECANO



cc:Control Académico APARTADO POSTAL 1545 • 01091 GUATEMALA, C. A.
 Archivo

FR/prr.

TELEFONO: 769794 • FAX: (5022) 769770

Fragment of text from the left edge of the page, mostly illegible due to scanning artifacts.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE GUATEMALA
Biblioteca

Fragment of text from the bottom edge of the page, mostly illegible.

