

CONTROL MICROBIOLOGICO DE PLAGAS (LARVAS DE LEPIDOPTERA) EN EL ALGODONERO (*Gossypium hirsutum* L.) MEDIANTE EL USO DE LA BACTERIA ENTOMOFAGA
Bacillus thuringiensis Berliner (*)

Por Jorge H. Aragón G.

I. — INTRODUCCION

A medida que el hombre ha progresado en su habilidad para causar la muerte artificial en los insectos, hasta obtener los potentes insecticidas hoy conocidos, ha sido menester llegar a la clasificación de dichos productos y al uso específico de términos especiales para describir los materiales usados. Así, la palabra "insecticida" ha llegado a generalizarse entre el vulgo para determinar con ella todo aquello que cause muerte o merma en una población de insectos determinada. Así también, la palabra "insecticida bacterial" sería aquella sustancia venenosa producida por un microbio, diferente a la enfermedad que dicho microbio entomófago pueda causar en el insecto.

Entre los microorganismos descubiertos y probados como patógenos a larvas de lepidópteros, el que mejor resultado ha dado ha sido la bacteria denominada *Bacillus thuringiensis* Berliner que al ser ingerida por las larvas y al localizarse en su intestino medio produce en los insectos un efecto similar al que en los humanos el comúnmente llamado "tifo".

Este tipo de "insecticida bacterial" es, no solo, poco común sino también poco usado. Las esporas de dicha bacteria deben ser ingeridas por las larvas de Lepidópteros y su germinación toma lugar en el intestino. Al principio, la multiplicación de las esporas de la bacteria ocurre pausadamente y al llevarse a cabo produce endotoxinas que envenenan la larva, presentándose posterior y rápidamente la penetración en el epitelio intestinal y la entrada a la hemolinfa (o sangre). La endotoxina producida por el bacilo reduce notablemente el pH normal del intestino del insecto, aumentando sucesiva y casi simultáneamente el pH de la hemolinfa del mismo.

Pero, como por todos nosotros es bien sabido, el arma principal hoy en uso contra insectos-plagas la constituyen los insecticidas qui-

(*) Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo, bajo la presidencia del Dr. Alvaro Figueroa E., a quien el autor expresa sus agradecimientos.

micos. El auge tomado, a partir de 1.945, por el DDT y otros insecticidas análogos ha polarizado de tal modo la atención, en la lucha química contra las plagas, que se vienen relegando muy a segundo termino otros métodos de combate. Hay motivos para creer que pronto sobrevendrá la debida reacción contra el actual estado de cosas. Día a día aumenta el número de insectos que adquieren resistencia contra los insecticidas usados, y otros, que al haber desaparecido su control biológico natural por el uso desmedido e irracional de dichos potentes insecticidas, ha venido a constituir lo no previsto: nuevas plagas. El costo de los tratamientos sube a medida que son necesarias concentraciones mayores de tóxico y número "extra" de tratamientos, elevando al mismo tiempo el peligro de envenenamiento paulatino, si nó inmediato, debido al efecto residual acumulativo de dichos insecticidas en los organismos superiores.

Muchas de las plagas existentes han venido presentando ultimamente una mayor dificultad en su control por métodos químicos, que han sido tradicionalmente usados, puesto que han desarrollado resistencia, o porque dicho control químico es indeseable por sus residuos tóxicos, su acumulación o por su efecto letal a otros insectos no dañinos.

Las plagas, muy extendidas en bosques y malezas, y las que se desarrollan dentro de los tejidos vegetales, resultan muy difíciles de combatir por el método químico. Tales razones abogan, cada vez más, en favor de la Entomología Económica y sus recursos para combatir plagas. La lucha biológica, o empleo de enemigos naturales, predadores o parásitos de la plaga, perdió hace ya tiempo partidarios; sin embargo, el mantener control económico efectivo de las plagas, que atacan no solo al algodón sino también otras plantas de cultivo, por medios químicos, presenta algunos inconvenientes que pueden en un futuro no muy lejano tomar serias proporciones, por los problemas que conlleva inherentes, como son, la destrucción de la vida silvestre y de los enemigos naturales de los insectos nocivos, aparición de nuevas plagas, resistencia inducida en las mismas, fitotoxicidad, peligro a la salud humana (intoxicación o muerte), almacenamiento en vertebrados o plantas, litigios vecinales y elevación del costo de producción, además de que algunos insecticidas requieren normas especiales de aplicación.

Una enorme cantidad de insectos sucumbe ante sus enemigos naturales. La lucha biológica consiste en reclutar precisamente a aquellos organismos que atacan al insecto plaga. La Entomología Económica moderna tiende con un interés, cada vez mayor, al uso de microorganismos en el control, y puede decirse que se ha renovado enérgicamente en muchos lugares y principalmente en última década, por su efectividad, facilidad e inocuidad a hombres, animales, plantas, suelo y a otros insectos útiles. Un gran número de informes de ensayos pertinentes a la bacteria *Bacillus thuringiensis* Berl. y otros microorganismos causantes de enfermedades o toxicidad a los insectos plagas, han aparecido como satisfactorios en el control, pero es razonable creer que el uso de dichos "insecticidas vivos" por parte de los agricultores, ha sido retardado a causa de la in-

fiuencia de la moda por los potentes insecticidas sintéticos. Vale la pena considerar que además de que muchos vertebrados son predadores de gran número de plagas, desempeñan también un importante papel en la diseminación de microorganismos que puedan causar enfermedades a insectos, si dichos microorganismos pueden sobrevivir a través del tracto digestivo de aquellos.

El objetivo principal de esta investigación consiste en lograr control económico, racional y práctico de las plagas (larvas de insectos pertenecientes al Orden *Lepidoptera*) que atacan al algodonero (*G. hirsutum* L. salvando casi todos los inconvenientes que ofrecen gran número de los insecticidas comunmente usados; específicamente los insecticidas sintéticos (Hidrocarburos, clorinados, carbamatos, esteres fosforados, carbazoles, fenoles, sulfonatos y algunos misceláneos y esteres del ácido crotónico).

La justificación de dicho trabajo se deduce del grandísimo problema derivado del uso irracional de insecticidas, cuyo efecto inmediato es la aparición de un cierto número de nuevas plagas, siendo el más notorio hasta la fecha, la invasión crecida de parte del perforador de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*) hasta un 60-80% de las plantas en la región cañera del centro del Valle del río Cauca (*), y hasta un 94% en el alto Valle del río Calima (**). Fuera de lo anteriormente expuesto, en este mismo Departamento han venido apareciendo plagas en la soya y en el pasto pangola (que antes no la presentaban) y otras nuevas en algodonero, frijol y otros cultivos económicos.

No debe creerse empero, que el solo uso de insecticidas bacteriales ha de cubrir por completo los problemas anteriormente expuestos, puesto que sería imposible en nuestras circunstancias actuales; éste método tendría que hacer parte de un control integrado (cultural-biológico-químico), que necesariamente tiene que llevarse a efecto, si no queremos sufrir mayores descalabros y puesto que en nuestro medio ecológico se facilita grandemente por la alta existencia natural de entomofauna benéfica (hasta el momento se conocen 133 especies de insectos benéficos que podemos y debemos aprovechar, como puede observarse en la Tabla II del Apéndice).

Por otra parte, en vista de que no existe en lengua Hispana literatura sobre trabajos de investigaciones, con o del *B. thuringiensis* Berl., o relacionados con el presente trabajo experimental, el autor ha querido dejar una fuente de consulta, completa en lo posible, para quienes quieran informarse o realizar nuevos ensayos del uso o de las propiedades de dicha bacteria, ya que ha querido presentar en esta pequeña obra un compendio de todos los datos existentes y disponibles, en otros idiomas principalmente, desde el punto de vista bacteriológico, entomológico, toxicológico e histopatológico.

Las experiencias consignadas en el presente escrito se realiza-

(*) Eduardo Cabal, comunicación personal.

(**) Fabio E. Aragón G., comunicación personal.

ron en la República de Colombia, Sur América, en terrenos aledaños a la ciudad de Palmira, Departamento del Valle del Cauca.

II.— REVISION DE LITERATURA

A. Investigaciones Iniciales.

En 1.902 una forma bacterial de esporas fue aislada por Ishiwata del intestino de cadáveres de larvas del gusano de seda *Bombyx mori* L., determinando a dicho microorganismo con el nombre de "Sotto-Bacillen" (Sotto en japonés significa "colapso súbito"). Dichos trabajos fueron continuados por Aoki y Chigasaki en 1.911, describiendo la bacteria y la enfermedad que ella causaba una vez que eran ingeridas por las larvas del gusano de seda. Estos autores notaron, por aquella época, que la bacteria era incapaz de producir la enfermedad a menos que fuera ingerida en forma de esporas. Cuando éstas formas les fueron suministradas a las larvas éstas se paralizaron en un curso mínimo de 60 a 80 minutos después de haber ingerido el cultivo esporulado (Heimpel y Angus, 41).

Berliner (7), aproximadamente por la misma época, aisló formas esporógenas de esta bacteria a partir del intestino de cadáveres de larvas de la polilla harinosa del Mediterráneo *Anagasta (Ephestia) Kühniella* Zell. la cual causaba enfermedad y muerte solo en dicho estado. Sus experimentos demostraron que la infección ocurre por la ingestión del bacilo y que éste se desarrolla en el tracto digestivo de la larva; la enfermedad así adquirida probó ser siempre fatal. En 1.915 describió la bacteria y la denominó *Bacillus thuringiensis* Berliner en honor de la provincia de Thuringia, en donde realizó el trabajo de investigación.

El aislamiento inicial de Berliner se perdió, pero Mattes (53), reaisló dicho organismo a partir de la *A. Kühniella* en 1.927, describiendo la enfermedad que causa en la polilla harinosa del Mediterráneo. Esta raza conocida en Europa como "the German strain" y en América como "Mattes' starin", fué adquirida por Porter en los Estados Unidos, quien la pasó a Smith y Steinhaus (Heimpel y Angus, 41).

Los cultivos de *Bacillus thuringiensis* Berl. distribuidos en los laboratorios comerciales y de investigación de América se creen provenientes del aislado por Mattes.

Sheperd (68), ya por el año de 1.924 reportaba que en Alemania era eficaz el control del *Echocerus cornutus* (Fab.) mediante el uso del *Bacillus thuringiensis* Berl.

Varios investigadores europeos utilizaron el *B. thuringiensis* en pruebas de laboratorio y de campo para infectar y controlar el gusano barrenillo del maíz *Pyrausta nubilalis* (Hbn.) basados en la estrecha relación entre éste y la polilla harinosa del Mediterráneo *Anagasta (Ephestia) Kühniella* Zell., en la que presentaba alto gra-

do de patogenicidad. Bajo condiciones de laboratorio se logró matar dichas larvas en 1 y medio días después de infectadas. La infección se produjo al alimentar las larvas con tallos de maíz humedecidos, en cultivos del bacilo en solución, o por contacto al asperjar o espolvorear las superficies sobre las que dichas larvas habrían de caminar (Chorine, 13, 14; Husz, 45, 47; Metalnikov y Chorine, 57, 58, 59).

Los investigadores anteriormente citados reportaron excelentes resultados por un período de más de 4 años durante los cuales estuvieron trabajando sobre dicho tema. La mortalidad alcanzada fue de 96,8 a 99,2 por ciento, en comparación con 81,7 a 87,5 por ciento en las parcelas no tratadas (testigos). Tales resultados tan excepcionales no se han logrado obtener en experimentos más recientes, tal vez debido a que en aquellos experimentos las plantas eran asperjadas y luego colocadas en ellas las larvas y lo más seguro es que éstas ingerían la bacteria mientras construían su galería hacia el interior del tallo.

Una vez dentro del tallo, ya las bacterias no son accesibles a las larvas (McConnel y Cutkomp, 54).

Por otra parte, Husz (46) asperjó plantas de maíz infectadas por el barrenillo, encontrando que el número de madrigueras (según los huecos de la perforación de las galerías) se redujo al 50 por ciento en las parcelas tratadas; sólo un 19 y 13 por ciento de las plantas, en dos parcelas tratadas, fueron infectadas, en comparación con un 32 y 27 por ciento en los respectivos testigos.

Los metalnikov (60), padre e hijo, continuaron los experimentos de campo, con *Bacillus thuringiensis* Berl., contra varias especies del Orden *Lepidoptera* incluyendo *Gelenchia gossypiella* Saund.), *Prodenia litura* F., *Sparganothis pilleriana* Schiff., *Clysis ambiguella* Hbn. y *Ephestia elutella* (Hbn.), con resultados muy prometedores.

Ellinger y Chorine (16), en 1.930, lograron aislar cultivos puros de las bacterias que atacaban y mataban al *Anagasta Ephestia Kühniella* Zell., llegando a la conclusión de que se trataba del mismo *Bacillus thuringiensis* aislado por Berliner.

Sweetman (88), en 1.936, describe los síntomas de la enfermedad, siendo lo más característico la inactividad y la pérdida del apetito en las larvas infectadas.

B. Investigaciones recientes.

Jacobs (citado por Heimpel y Angus, 41) probó, en 1.950, un producto francés llamado "Sporeine", que contenía un 10 por ciento de esporas y un 90 por ciento de bentonita, contra *Anagasta (Ephestia) Kühniella* Zell. en una serie de excelentes experimentos. Este investigador encontró que de 0,1 a 0,3 por ciento del peso de "Sporeine" mezclado con harina protegía del ataque de la polilla harinosa; concentraciones más altas (1,7 por ciento) dieron solamente un control parcial si el polvo bacterial era espolvoreado solamente so-

bre la superficie de la harina.

Jacobs envió a Heimpel y Angus los cultivos de las bacterias por él aisladas del "Sporeine", siendo dos de aquellas, definitivamente, *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (Heimpel y Angus, 41).

Steinhaus y Thompson (73), en América, por la misma época que Jacobs, estaban probando un virus contra el gusano de la alfalfa *Collias philodice eurytheme* Bdv. Al darse cuenta que la enfermedad causada por el virus se desarrollaba muy lentamente como para dar alguna protección al follaje, antes de que el insecto infectado muriera, Steinhaus empezó a hacer pruebas con bacterias, incluyendo *Bacillus thuringiensis* Berliner.

Steinhaus (74), concluyó sobre lo anterior de manera optimista reportando que el gusano de la alfalfa cesaba de comer en el término de muy pocas horas después de haber sido infectado por la ingestión de esporas del bacilo. La estimación primordial del uso del *B. thuringiensis* fué la muerte rápida de las larvas (en el término de 48 horas) reduciéndose de esta manera la población de insectos por debajo del nivel económico, previniendo una excesiva pérdida de follaje.

Resumiendo, a mediados de 1950 el *B. thuringiensis* Berl., tipo de bacteria *Bacillaceae*, fué aislada, descrita y probada con éxito contra una estrecha gama de especies de *Lepidoptera*. Varios autores notaron el hecho de que los cultivos bacteriales más antiguos eran más virulentos que los nuevos (Husz, 45; Mattes, 53; Metalnikov y Chorine, 58; Steinhaus, 74).

Toumanoff y Toumanoff y Vago (citados por Heimpel y Angus, 41), reportaron el aislamiento de una bacteria muy similar al *B. thuringiensis* y al *Bacillus sotto* a partir de larvas de gusano de seda *Bombyx mori* L. muertas de "flacherie" (agrietamiento). Puesto que dicha bacteria también era similar al *Bacillus cereus* Fr. & Fr., estos investigadores la denominaron *Bacillus cereus* var. *alesti* (en honor de la región de Alés, en Francia). En un segundo informe comparaban al *B. sotto*, *B. thuringiensis* y *B. cereus* var. *Alesti* por sus características de desarrollo en medio artificial de cultivo, llegando a la conclusión de que estas tres bacterias eran variedades del *B. cereus*.

A la altura de los conocimientos a este respecto, en 1952, esta aseveración se justificaba puesto que en realidad, las características y la morfología celular del *Bacillus sotto*, *B. thuringiensis* y *B. cereus* var. *alesti* son superficialmente iguales que el *Bacillus cereus* del suelo.

Las características generales entre el *B. thuringiensis* y el *B. sotto* pueden ser diferenciadas según su morfología, desarrollo en el medio de cultivo, y cualitativamente, según su grado de patogenicidad al *Bombyx mori* L. Estas larvas son más susceptibles al *B. cereus*, muriendo al poco tiempo de haberlo ingerido (Angus, 2).

Esencialmente las características que distinguen al *Bacillus cereus* de otras especies de la familia *Bacillaceae* son las siguientes: a) Las esporas del *Bacillus cereus* son el gram-positivas; b) el ancho de la red vegetativa es de 0,9 micras, o más; c) produce acetil-metil-carbinol; d) no fermenta la xilosa o la arabinosa. El último criterio es la producción de fosfolipasa C, pero todas las líneas de *Bacillus cereus* producen esta enzima (colmer, 12).

Smith et al. (69), antes de 1953, habían señalado que tanto el *B. sotto* como el *B. cereus* var. *alesti* (*) podían ser fácilmente identificados como *B. cereus* de acuerdo a estas pruebas.

Smith, Gordon y Clark (69) notaron que en cultivos esporulados de *B. thuringiensis* siempre había un alto porcentaje de esporangios cuyas esporas estaban sesgadas, es decir, se encontraban colocadas oblicuamente, hacia un lado en relación al eje principal del esporangio.

Desde que esto pareció ser, imparcialmente, una característica constante de este patógeno a insectos, se recomendó que el nombre de *Bacillus thuringiensis* no debía ser dado al *B. cereus* puesto que ésta no presenta dicha característica (Steinhaus y Jarrel, 78).

Por esta misma época eventualmente se realizaron dos importantes descubrimientos, que han hecho posible una mejor comprensión y conocimiento del modo de acción de dicha bacteria. El primero fué en Londres, Canadá, cuando Hannay (35) notó la presencia de un segundo cuerpo, al lado de cada espора, en cada esporangio del *B. thuringiensis* (**) y en 1953, al publicar dicho reporte, lo describió como un cristal con "forma de diamante". Usando la técnica de Robinow empleada en Bacteriología (montaje de placa con nigrosina) él pudo ver claramente los cristales y los asoció con la patogenicidad del bacilo.

Los cristales pueden distinguirse claramente de las esporas. Tal hecho puede apreciarse en la microfotografía electrónica tomada por Monro (61) que aparece en la página 110 (Figuras 1 y 2).

Angus (1) realizó el segundo de estos dos importantes descubrimientos en Sault, Ste. Marie, Canadá, trabajando con *Bacillus sotto*, repitiendo y confirmando las observaciones originales de Aoki y Chigasakide que dichas bacterias producían, al esporular, toxinas que eran patógenas a las larvas. Este investigador demostró, al proveer alimento impregnado de dicha sustancia tóxica (filtrada para que estuviera libre de bacterias y de esporas) que las larvas de *Bombyx mori* se paralizaban invariablemente de 60 a 80 minutos después de haberla ingerido.

(*) Hoy bien se sabe que éstas dos bacterias son líneas del *B. thuringiensis* (Nota del autor).

(**) Tanto Berliner (7) como Mattes (53) reportaron la presencia de dichos cuerpos paraesporales en el esporangio, pero ninguno de los dos asoció dicha observación con la patogenicidad de la bacteria (Nota del Autor).



FIGURA 1. Espora y cristales de *Bacillus thuringiensis* Berl. *thuringiensis* Berl. (Tomado de Monro, 61).



FIGURA 2. Un cristal de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (Tomado de Monro, 61).

Angus (2) determinó el pH del intestino medio del *B. mori* (9.5-10.4) y demostró que podían usarse "Buffers" alcalinos para extraer la toxina. Se presentó un hecho curioso y fué el que la toxina de mejor calidad, a partir de cultivos de bacterias esporuladas, fué obtenida usando "Buffers" con un pH más alto que el encontrado en el intestino del *B. mori*. Esto será discutido más tarde. Una vez que Hannay (46) reportó que los cristales eran álcali-solubles, Angus (1) separó los cristales de las esporas y extrajo a los primeros con buffers alcalinos. Los filtrados extraídos, adicionados al alimento del gusano de seda (*B. mori*) fueron tóxicos, observándose parálisis a las 4 horas de haberlo ingerido, presentándose septicemia en menos de 12 horas.

Subsecuentes estudios, llevados a cabo por varios investigadores, han determinado que las bacterias del Orden *Bacillaceae* (*Bacillus* spp.), patógenos a insectos, que causan parálisis al *B. mori*, producen solo un cristal en cada esporangio. La forma de dichos cristales pueden ser muy variados; de diamante y cuadrada (cuboide), o a triangular (Steinhaus y Jerrel, 78).

C. Taxonomía.

Berliner (7) fué el primero en identificar la bacteria denominándola *Bacillus thuringiensis* Berl.

Ellinger y Chorine (16) aislaron e identificaron una bacteria que causaba la muerte al *Anagasta* (*Ephestia*) *Kühniella* Zell., llegando a la conclusión de que se trataba del mismo *Bacillus thuringiensis* aislado por Berliner.

Smith, Gordon y Clark (69), a partir de cultivos artificiales obtenidos por Mattes, encontraron que la descripción del *B. thuringiensis* dada por Berliner era idéntica a la descripción del *B. cereus* dada por ellos.

Steinhaus (71), por 1.951 afirmaba que el *B. thuringiensis* era una forma de spora muy cercana al *B. cereus*.

Desde que se descubrió la presencia de cristales en *Bacillus thuringiensis* y en *B. sotto*, los entopatólogos han buscado estas características en las bacterias encontradas en insectos muertos por este tipo de enfermedad. Se han realizado un gran número de aislamientos, encontrándose los que aparecen en la Tabla I. Hoy se conocen más de 32 tipos.

Esto hizo posible el que se encontrara un gran número de bacterias muy similares, descritas con un gran número de nombres y que para los propósitos prácticos resultara su taxonomía en situación confusa. Un ensayo para poner orden a tal situación fué realizado por Delaporte y Béguin en 1955 (citado por Heimpele & Angus, 41). Ellos examinaron varias líneas de bacterias cristalóferas, concluyendo que *Bacillus sotto*, *B. cereus* var. *alesti* y *B. thuringiensis* (línea "francesa" y "anduze"), eran líneas del *Bacillus thuringiensis* Berliner.

— T A B L A I —
BACTERIAS CRISTALOFERAS

Nombre	Hospedero	Autoridad	Nueva Clasificación	Autoridad
<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner	Anagasta Kühn- iella (Zeller)	Mattes (53)	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> Berliner	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus sotto</i> (Ishiwata)	<i>Bombyx mori</i> L.	Aoki & Chigasaki (Ci- tados por H.&A., 41)	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>sotto</i> Aoki & Chigasaki	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Plodia inter- punctella</i> Hbn.	Stainhaus (75)	<i>Bacillus entomocidus</i> var. <i>sub-toxicus</i> H. & A.	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Aphomia gularis</i> Zeller	Stainhaus (75)	<i>Bacillus entomocidus</i> var. <i>entomocidus</i> H. & A.	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>alesti</i> Tou- manoff & Vago	<i>Bombyx mori</i> L.	Toumanoff & Vago (Ci- tados por H.&A., 41)	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>alesti</i> Toumanoff & Vago	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>alesti</i> li- nea "anduze"	<i>Bombyx mori</i> L.	Vago (Delaporte & Bé- guin (Citados por	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>alesti</i> Toumanoff & Vago	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Heliothis abso- leta</i> Fabricius	Heimpel & Angus, 41)	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> Berliner	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus dendro- limus</i>	<i>Dendrolimus si- berianus</i> Tsht.	Majumber et al. (52) Talalaev (92)	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>den- drolimi</i> Talalaev	Toumanoff & Lecoroller (98)
<i>Bacillus thurin- giensis</i> Berliner	<i>Plodia inter- punctella</i> Hbn.	Weiser (Vanková (Ci- tado por H.&A., 41)	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> Berliner	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus thurin- giensis</i> Berliner	<i>Galleria mello- nella</i> L.	Krieg & Franz (Cita- dos por H.&A., 41)	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> Berliner	Heimpel & An- gus (39)
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Galleria mello- nella</i> L.	Toumanoff & LeCo- roller (98)	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>galle- riae</i> Toumanoff & Vago	Toumanoff & Lecoroller (98)

Heimpel y Angus (39) colectaron los patógenos cristalóferos y los examinaron considerándolos como pertenecientes a un mismo grupo. Entre ellos había dos cultivos hechos por Smith "et al". (69) y por Steinhaus (75). Dos de los aislamientos (colonias de bacterias) de ésta colección no produjeron acetil-metil-carbinol ni tampoco fosfolipasa C. Ambas fueron tóxicas al gusano de seda (*B. mori*) pero a un grado marcadamente diferente. Era claro suponer que esas bacterias podían no ser consideradas variedades pertenecientes al grupo del *B. cereus* y que pertenecían a otra especie. La única alternativa fué la de crear una nueva especie que la llamaron *Bacillus entomocidus* y su variedad *B. entomocidus* var. *subtoxicus*.

De acuerdo con Smith "et al". (69) y Delaporte y Beguin, (citado por Heimpel y Angus, 41), éste aspecto fué considerado especialmente para lanzar la tesis de que la presencia de cristales era una característica estable que servía para admitir separación entre líneas entopatógenas y no entopatógenas pertenecientes al "grupo del *Bacillus cereus*", adaptándose así a los propósitos prácticos de los bacteriólogos. Consecuentemente, se recomendó que se mantuviera al *B. thuringiensis* como una especie válida y se propuso una clave para determinar las especies y variedades de las bacterias pertenecientes al "grupo del *Bacillus cereus*". Esta clave, que es reproducida aquí, propone que a la especie *B. thuringiensis* pertenecen las

variedades *sotto*, *alesti*, *anduze* y *thuringiensis*.

1. Clave para las especies del Grupo del *Bacillus cereus*"

Mesofilicas (buen crecimiento entre 28 y 35°C), aeróbicas facultativas). Esporas elipsoidales a cilíndricas, paracentrales a subterminales, de paredes delgadas. Esporangios pandeados indistintamente. Gram-positivos.

1. No hay presencia de cuerpos paraesporales.

A. Acido de Xilosa y arabinosa con nitrógeno amoniacal. No produce acetil-metilcarbinol ni fosfolipasa C.

1. *Bacillus megaterium*

B. No hay ácido de Xilosa o arabinosa. Produce acetil-metilcarbinol y fosfolipasa C.

a. Saprofito, algunas veces patógeno, pero no causa "antrax"; algunas veces móvil.

a.a. Crecimiento no rizoide, sobre agar.

2. *Bacillus cereus*

a.b. Crecimiento rizoidal sobre agar; auto-móvil

3. *Bacillus cereus* var. *mycoides*

b. Patógeno. Agente causante del Antrax; sin movilidad.

4. *Bacillus anthracis*

II. Presencia de cuerpos paraesporales

A. Cuerpos paraesporales a partir de esporangios y que se separan de las esporas de dos a seis días después de formados; patógena a larvas de **Lepidóptera**.

a. Produce acetil-metil-carbinol y fosfolipasa C.

a.a. Se forma una película en caldo nutriente. La película se rompe en pequeñas laminillas al sacudir el cultivo. Baja toxicidad al **Bombix mori**

5. **Bacillus thuringiensis** var. **thuringiensis**

a.b. No se forma película en caldo nutriente; aspecto turbio del caldo; buena suspensión de esporas. Altamente tóxico para larvas de **Lepidóptera**.

a.b.a. No forma pigmentos cuando crece en yema de huevo-agar.

6. **Bacillus thuringiensis** var. **sotto**

a.b.b. Se forma pigmento rosado después de varios días de crecimiento en yema de huevo-agar.

7. **Bacillus thuringiensis** var. **alesti** (línea "anduze")

b. No produce acetil-metil-carbinol ni fosfolipasa C.

b.a. Ácido de trehalosa, levulosa y glucosa después de 20 días de incubación a 32°C. Altamente tóxico para muchas larvas de **Lepidóptera**.

8. **Bacillus entomocidus** var. **entomocidus**

b.b. No forma ácido de trehalosa, levulosa o glucosa después de 20 días de incubación a 32°C. Baja toxicidad para ciertas larvas de **Lepidóptera**.

9. **Bacillus entomocidus** var. **subtoxicus**

B. Cuerpo paraesporal firmemente adherido a la espора aún después de meses de almacenamiento. Forma ácido de celulosa después de 48 horas de incubación. No patógeno para ciertas larvas de **Lepidóptera**.

10. **Bacillus finitimus**

Un estudio cuidadoso de la literatura consultada establece que la prioridad debe ser dada al **Bacillus thuringiensis** var. **thuringiensis** Berliner como el prototipo de las especies.

Recientemente Toumanoff y LeCoroller (98), publicaron una clave diferente para la clasificación taxonómica del "grupo del *Bacillus cereus*". Pero estos investigadores no pensaron que la presencia de un cristal tóxico en una bacteria es suficiente para justificar diferentes estados dentro de cada especie y dividieron al *Bacillus cereus* en dos grupos: cristalóferas y acristalóferas, siendo los primeros subdivididos en variedades del *Bacillus cereus*, basados en la acción sobre el medio de Loeffler (suero coagulado-yema de huevo-agar). En ciertos casos, la diferenciación de las especies está basada en la rata de acción sobre el medio de cultivo artificial. Una diferenciación es hecha en base del hospedero de la cual la bacteria fué aislada, ya que dichos autores ponen un marcado énfasis al determinar que "La biología del insecto hospedero, su régimen alimenticio y el medio en que éste se encuentre son los factores que ciertamente rigen el efecto patógeno y también las características bioquímicas y morfológicas del microbio patógeno" (*).

Estos mismos autores proponen una especulante teoría en que las variedades encontradas en varios insectos se han obtenido como resultado del paso del bacilo de una especie de insecto a otro, en el mismo medio ambiente, y que al efecto del hospedero sobre la bacteria es cambiarla (mutación) lo que trae como resultado la formación de nuevas variedades bacteriales.

Heimpel & Angus (41), determinan que si una bacteria es cristalófera (grupo del *B. cereus*) invariablemente producirá cristales cuando crece sobre agar nutriente (Difco), a temperatura constante entre 30 y 33°C., no obstante, según experimentos realizados, cuando hay cultivos con inóculos mezclados de alguna variedad del *B. thuringiensis* y *B. cereus*, éstas últimas inhiben la formación de cristales por uno o varios meses de parte del primero. Este es uno de los mayores problemas de las firmas productoras de formas cristalinas del *B. thuringiensis*.

Fitz-James y Young (23) examinaron una larga serie de bacterias con formas espora-cristales y no espora-cristales y encontraron que las esporas del *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* contienen un residuo fosfórico 10 veces mayor (después de haber removido el RNA-P y DNA-P) que la var. *alesti*, *sotto* o *B. cereus*. También determinaron que el contenido de DNA-P en las esporas del *B. thuringiensis* var. *alesti* es el doble que en el de las esporas de las variedades *thuringiensis*, *sotto* y *B. cereus*.

2. Descripción de la bacteria.— Según Swirnoff y Heimpel (89), el *B. thuringiensis* Berl. presenta las siguientes características:

a). Espora Oval, 1.1 por 1.4 micrones, subterminal, formada después de 48 horas. Las esporas son producidas en esporangios y aparecen con cantos, así que ellas pueden aparecer en forma de huevos o circulares.

(*) "La biologie de l'hôte, son régime alimentaire et son milieu environnement sont facteurs qui régissent certainement l'effet pathogène et aussi les caractères biochimiques et morphologiques du germe pathogène".

b. **Esporangios.** Ovaless no hinchados, tamaño variable, forma de diamante formando un cuerpo en cada esporangio. Estos cristales son tóxicos para el gusano de seda y el *Bacterium* ha limitado la virulencia para la mosca del Alerce (planta pariente del pino).

c). **Flagelos vegetativos.** Cortos, gruesos con terminal redondeado, tamaño promedio de 1.4 a 1.6 por 3.8 micrones; poco móviles, flagelos peritricos; sobre agar después de 96 horas forman cadenas hasta 22 células en longitud.

d). **Gelatina.** Positiva (la licúa).

e.) **Colonias sobre agar.** Grandes, medianamente refringentes, aplanadas con bordes muy delgados (que pueden moverse) y lobulados. Transmiten luz crema clara opaca; a la luz reflejada se presenta pardo claro.

f). **Caldo nutrieute.** El caldo se clarifica después de 24 horas de crecimiento, densa película formada la cual se desintegra en escamas cuando se sacude; forma entonces un sedimento granular.

g). **Almidón.** Lo hidroliza.

D. Producción de cristales

1. **Desarrollo.** Según Fitz-James y Young (23), rigurosos tratamientos de la bacteria *B. thuringiensis* con formalina pueden causar pérdida en su habilidad para formar cuerpos paraesporales, la cual nos sugiere que la producción de cristales puede estar bajo control genético. Esto nos plantea una interesante pregunta: "Por qué se forman cristales?"

Mattes (citado por Husz, 46) afirma que cultivos a partir de suspensión de esporas de 6 años de edad, no perdían su virulencia ni su poder para formar cristales. Heimpel y Angus (47), afirman que subcultivos de *B. thuringiensis* de 45 años de edad producen cristales en incubación sobre agar nutrieute a 33°C. y en forma invariable. Debe considerarse que el desarrollo en agar nutrieute es saprófito, pero que una vez en el insecto puede ésto tener un efecto degenerativo en la habilidad para formar cristales si esta habilidad tiene valor selectivo en el insecto. Si la variedad *sotto*, patógena al *B. mori*, es inyectada dentro de la cavidad del cuerpo de una larva de *B. mori*, muy poca esporulación se lleva a cabo y escasamente hay formación de cristales. Actualmente el *Bacillus thuringiensis* var. *sotto* produce más toxina sobre medio artificial sólido que en el insecto hospedero. En caldo nutrieute (cultivo en) la mayoría de las bacterias cristalóferas requieren aireación para que esporulen y formen cristales. Puesto que los cristales son proteínas sin contenido fosfórico (Hannay, 35) es improbable que sea una espóra abortada. Si una substancia indeseable es producida como resultado de un subproducto metabólico de la esporulación, ella puede ser removida del medio soluble por medio de su cristalización. Esta podría ser la explicación para la relativamente grande actividad química del cristal.

Ciertamente, esto constituye un campo de investigación muy digno de considerable esfuerzo.

Young & Fitz-James (100), Heimpel & Angus (41), han demostrado que la elongación de los dos cuerpos cromáticos en su desarrollo vegetativo, dentro de una estructura filamentosa a lo largo de su eje, sirve como una evidencia citológica del cambio del desarrollo vegetativo a células productoras de esporas. En este momento el crecimiento y la síntesis de ácido nucléico cesa. En cualquier momento, antes de que esta etapa se haya iniciado, la adición de 8-azaguanina inhibe la esporulación y, como resultado, la formación de cristales. La adición de lo análogo, después de dicha etapa, no inhibe la formación de cristales.

Nuevamente, Young & Fitz-James (citados por Heimpel y Angus, 41) anotan que los cristales paraesporales aparecen solo después de que las células vegetativas están esporulando. Monro (61) confirma esto al anotar que "los antígenos de dichos cristales están ausentes en las células vegetativas pero que aparecen durante la esporulación". Ellos sugieren que los cristales son sintetizados a partir de compuestos de bajo peso molecular a una forma final de proteína que al principio, en las primeras etapas de la formación de los cristales, son solubles a pH más bajo que a lo que lo son los cristales "maduros", que se disuelven a pH 11.5. Ellos proponen que la formación de las cadenas S-S, entre el gran número de proteínas, se efectúa para una mayor solubilidad (incremento) a pH más bajos cuando se hace una adición de ácido thioglicólico.

Hannay (citado por Heimpel y Angus, 41) afirma que la formación de cristales comienza en las células que contienen dos o cuatro cuerpos cromáticos. Cuando las células que contienen dos cuerpos cromáticos esporulan, los cristales no aparecen hasta que las esporas no adquieran un tamaño considerable. En las células que contengan cuatro cuerpos, la formación de esporas y de cristales está sincronizada simultáneamente. Los cristales usualmente son octaedros con una cara tetragonal. Los cristales son plásticos y pueden presentarse curvados y retorcidos al ser observados al microscopio electrónico.

Steinhaus y Jerrel (78) y Toumanoff y LeCoroller (98) han reportado otras formas de cristales, variando de triangulares a cuboides (tetragonal o hexagonal). Monro (61), en una línea de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* que produjo cristales con forma de diamante, observó que mirados desde la parte superior (punta), eran aparentemente cuadrados. Tanto Hannay (citado por Heimpel y Angus, 41) como Steinhaus y Jerrel (78) han reportado la existencia de células con dos cristales. El primero reportó que los cristales tenían una superficie regularmente serrada pero no dijo si esas serraciones eran los bordes externos de pilas de cristales amontonados uno sobre otro o cadenas enrolladas, representadas espiralmente, de grupos moleculares; afirma, además, que los cristales no estaban rodeados por ninguna membrana, como previamente había sido postulado. Afirma que la tinción de los cristales se lleva a cabo fácilmente.

te mediante el uso de la mayoría de los tintes biológicos, particularmente de los tintes ácidos. Sin embargo, su reacción general con tintes sugiere la existencia de un pequeño número de grupos reactivos libres que se encuentran asociados a los cristales.

2. **Química.** Aunque solo se han realizado completamente tres estudios tendientes a determinar la composición química de los cristales, "ahora nosotros sabemos que los cristales son una proteína" (Angus, Hannay y Fitz-James, en 1955 (citados por Heimpel y Angus, 41); Monro (61). De estos autores, Hannay y Fitz-James determinaron que los cristales del *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* tienen un 17% de nitrógeno y trazas de fósforo, pero un año más tarde Hannay reportó que los cristales no contenían fósforo. Angus (1956) demostró que el *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* produce cristales con 17.5% de nitrógeno y nada de fósforo. Estos autores han sugerido que los cristales son substancias homogéneas pero que aún queda por investigar de nuevo y comprobar; sin embargo, si existen en los cristales otras substancias distintas a las proteínas tóxicas, aquellas existen en muy pequeña proporción. En el estudio de las proteínas de los cristales se han ideado varios métodos muy ingeniosos para recobrar cristales libres de contaminación de esporas (Heimpel y Angus, 41). Hannay y Fitz-James (citados por Heimpel y Angus, 41) usaron dos métodos basados en la tendencia de las esporas del *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* a germinar en agua destilada dejando en ella esporas y cristales, que son separables por medio de centrifugación diferencial. El *Bacillus thuringiensis* var. *sotto* es la línea que mayormente se presta para obtener cristales con este método, puesto que sus esporas son menos estables que aquellas del *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*. El otro método comprende la destrucción mecánica de las esporas en un vibrador "Mickle" seguido de centrifugación diferencial.

Angus (citado por Heimpel y Angus, 41), usó el 4º método de Hannay, trabajando con *B. thuringiensis* var. *sotto*; también trabajó con toxina disuelta en NaOH 0,05N siendo la proteína reprecipitada a un pH 4. L., LM) Este último paso es muy crítico y alguna pequeña desviación del procedimiento descrito puede causar la inactivación biológica de la toxina (Vanková, citado por Heimpel y Angus, 41).

Finalmente, Angus (5), ideó un método basado en la germinación de las esporas en agua destilada, seguida por el tratamiento de la suspensión con un fluorocarbono. Este denso líquido barre las esporas de la suspensión en agua, dejando los cristales en la fase acuosa. Este es tal vez, el método más rápido e ingenioso de obtener preparación de cristales libres de esporas.

Estudios químicos preliminares sobre el análisis cuantitativo (aminoácidos e inclusiones) de los cristales han sido reportados para el *B. thuringiensis* var. *sotto*, como puede observarse en la Tabla II. No obstante la composición química varía de unas a otras variedades bacteriales (Hannay y Angus, citados por Heimpel y Angus, 41). Se han hecho considerables trabajos sobre la solubilidad de las toxinas. Hannay y Fitz-James (citados por Heimpel y Angus, 41), demostra-

ron que los cristales del *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* no se disuelven en soluciones con un pH menor de 11,8. Fitz-James "et al". (22), también demostraron que las soluciones de cristales del *B. thuringiensis* var. *alesti* tienen un pH comprendido entre 11,0 y 12,2.

— T A B L A II —

Composición (aminoácidos, de la toxina del *Bacillus thuringiensis* var. *sotto* e inclusiones cristalinas de la bacteria (*))

Aminoácidos	Inclusiones cristalinas (%)	Toxina (%)	
		Promedio	Rango
Arginina	9.4	9.6	9.5—9.7
Licina	4.2	3.6	3.5—3.9
Cistina y/o cisteína	1.1	1.2	1.2—1.9
Histidina	1.7	2.7	2.7—2.8
Acido asparraguénico	9.5	9.6	9.3—10.2
Acido glutámico	12.9	11.8	11.6—12.0
Glicina	2.7	3.2	3.1—3.3
Serina	5.6	4.8	4.7—4.9
Alanina	3.2	2.8	2.7—2.9
Prolina	6.7	7.5	7.4—7.6
Tiroxina	3.9	6.8	6.6—7.0
Metionina	0.6	1.3	1.3—1.4
Fenilamina	7.4	8.6	8.5—8.7
Valina	5.0	5.3	5.2—5.4
Leocina y/o isoleucina	10.4	11.2	11.2—11.3
Triptofano (**)	2.1	2.6	2.5—2.7
Treonina	5.2	4.5	4.3—4.7
TOTAL	91.6	97.1	

(*) Estimado en gramos, por método de cromatografía del papel (hidrólisis de ácidos) (Angus, citado por Heimpel y Angus, 41).

(**) Determinado separadamente. Dichos componentes se determinaron a partir de 100 grs. de proteína analizada.

E. Modo de acción.

1. **El hospedero.**— Las bacterias cristalóferas nunca han sido aisladas de ninguna otra fuente diferente a los insectos, y debemos por lo tanto dejar el tubo de ensayo y estudiar el comportamiento del patógeno en lo que parezca ser su medio natural. A riesgo de llegar a ser tedioso, es menester hacer digresión del tema en este punto para describir al insecto desde el punto de vista de su relación fisiológica- patológica a la bacteria. Las larvas parecen ser los únicos estados de los insectos en que presentan suceptibilidad a la infección por dicha bacteria, y la siguiente descripción hace referencia a este

estado y particularmente a larvas de **Lepidóptera**.

Una larva de insecto es esencialmente un tubo digestivo con una pared corporal alrededor de él. Tienen una cavidad sanguínea abierta llenada por un fluido que tiene muchas funciones (incluyendo algunas atribuidas al hígado en los vertebrados), mayor que la sangre de los vertebrados. Varios tipos de cuerpos sanguíneos están presentes, algunos de ellos capaces de fagocitosis, pero no tan numerosos como en la sangre de los vertebrados. Según Angus y Heimpel (4), el pH de la sangre de los insectos es ligeramente ácido (5, 6-7, 0) siendo su capacidad buffer mínima a pH normal. El corazón es un órgano tubular localizado dorsalmente, el cual por medio de contracciones rítmicas extrae la sangre por dos conductos laterales y la bombea hacia adelante para bañar así el cerebro, desde donde inunda despaçosamente toda la cavidad del cuerpo hasta llegar a la parte posterior (Sheperd, 68).

El tubo digestivo no es complicado, consiste primeramente de un buche intestinal alineado con una cubierta de material de exoesqueleto la cual viene a formar la pared exterior de la pared del cuerpo. Esta es impermeable al agua.

El pH del proventrículo usualmentee es igual al de la sangre y en las larvas come-hojas es ligeramente ácido. El buche intestinal está separado del intestino medio por un fuerte esfínter, a manera de válvula. Las aletas (faldillas) de las válvulas, en la mayoría de las especies, contienen células las cuales están dando origen continuamente a una membrana y ésta delgada estructura tubular (la membrana peritrófica) aparentemente protege las delicadas células del intestino medio del daño que puedan causarle las agudas partículas de la sangre. El intestino medio segrega enzimas digestivas y compuestos "buffer", y absorbe los productos de la digestión. Anatómicamente, el intestino medio puede ser subdividido en dos o más regiones, de acuerdo al tipo de células que lo componen, y usualmente el pH en cada región anatómica suele ser diferente. El pH del contenido intestinal en las larvas del Orden **Lepidóptera** es alcalino; en algunas larvas el contenido del intestino medio es de 7,0 a 9,0 y en otros es muy alto (9,0 a 10,4). La acción del intestino medio de muchos lepidópteros es reducida. Después del intestino medio está el intestino posterior al cual se encuentran conectados los tubos de Malpighi, los cuales hacen las veces de riñones. Posteriormente se encuentra el recto, y luego el ano. El intestino posterior y el recto también se encuentran alineados con el material exoesquelético invaginado. El pH del intestino posterior y del recto es por lo general de ligeramente ácido a ligeramente alcalino (Heimpel, 38).

El estado larvario es precario en la vida del insecto. Las larvas de **Lepidóptera** deben tener continuamente acceso al alimento para que su salud sea buena y su desarrollo completo. Muchas de ellas comen continuamente (p.e. el gusano de seda (**Bombyx mori** L.); otras especies comen dietas más o menos periódicas (p.e. los cogolleros), comiendo 4 o 5 veces al día, descansando entre las comidas. Cuando las larvas están comiendo, el intestino segrega a rata máxima solucio-

nes Buffer y el pH del contenido intestinal está bastante alto. Si el insecto para de comer, el pH baja constantemente en el intestino y aparentemente la secreción "Buffer" disminuye. El pH vuelve a ser fuertemente alcalino solo cuando el alimento llega de nuevo al estómago.

Berliner (7), fué el primero el reportar que el bacilo se aloja en el intestino, en donde se desarrolla y resulta ser siempre fatal.

Bucher (8), reportó (en *Melacosana Pluviale* (Dyar.) que la enfermedad hacia que las larvas perdieran el apetito, rejurgitaran excesivamente, les causara desinteria, pérdida del brillo natural y se encogieran y momificaran (cortas y duras).

Drilhon & Vago (15), reportan que el *B. thuringiensis*, además de causar parálisis en las larvas, tiene por efecto disminuir los aminoácidos y proteínas, pretendiendo hacerlos desaparecer a medida que la enfermedad progresa. Afirma además, que aquello se lleva a cabo a través de la hemolinfa del bicho.

Heimpel (38), afirma que las bacterias cristalóferas del "grupo del *B. cereus*" hacen que el pH de la sangre y de los 2/3 anteriores del intestino medio cambien al óptimo para el desarrollo de la bacteria.

Las larvas del *Phlegethontius quinque maculatus* y *A. Antheraea pernyi* presentan un incremento en el pH de la sangre después de haber ingerido hojas asperjadas con un cultivo de *B. thuringiensis* var. *sotto* produciéndose luego la muerte. Lo mismo fué reportado para *B. mori* L. Las larvas que no manifiestan parálisis completa tampoco presentan cambios apreciables en el pH de la sangre (Heimpel y Angus, 4).

Tanada (93) reportó, en 1.956, que los síntomas que las larvas presentan en el campo son idénticos a las presentadas en el laboratorio.

Steinhaus (76) reportó, por 1.951, que una vez muertas las larvas, a consecuencia de la enfermedad, presentan color oscuro, flacidez y desarrollo de mal olor. Afirmó además que si la bacteria se combinaba con virus el porcentaje de muerte era más alta y que en dos días se lograba reducir el número de larvas a un nivel sub económico.

Según Halim Seleem (28), las larvas pueden presentar canibalismo y que esta clase de larvas mueren al poco tiempo a consecuencia de la enfermedad si están sanas y comen otra enferma.

2. **Relaciones hospedero-patógeno. Síntomas y efectos.**— Los entopatólogos generalmente están de acuerdo al afirmar que gran parte de los insectos del Orden *Lepidóptera*, tales como el gusano de seda, son naturalmente resistentes a bacterias saprófitas, incluyendo al "grupo del *Bacillus cereus*", a causa del pH alto en el intestino medio (Lysenko, 70, Steinhaus, 96). Los insectos con pH comprendido dentro del rango del buen desarrollo bacterial (pH 6,0 a 8,5) son

susceptibles a ciertas bacterias, tales como las del grupo del *Bacillus cereus* (Heimpel, 50; Stephens, 86). Hay sin embargo otros mecanismos para resistir infecciones bacteriales en el intestino medio de los insectos, además de las bajas concentraciones de iones hidrógeno (Heimpel y Angus, 41).

3. **Parálisis general.**— Aoki y Cihgasaki (citados por Heimpel y Angus, 41) determinaron que el gusano de seda queda paralizado después de haber ingerido alimento impregnado con cultivo esporulado de *Bacillus thuringiensis* var. *sotto*. Angus (2), llevó esto más adelante demostrando que los cristales, separados de tales preparaciones, también producen parálisis general en el gusano de seda. También demostró, más tarde, que otras líneas y también otras especies de bacterias cristalóferas producen los mismos síntomas en el gusano de seda y en los cachones *Protoparce sexta* (John.) y *Protoparce quinquemaculata* (Haw). Angus (2), Rabb (64) y Heimpel y Angus (40), reportan que el gusano de seda chino de la avena, *Antheraea pernyi* Guérin, también exhibe parálisis general cuando ingiere dicho organismo.

En un principio se pensó que era un síntoma del efecto tóxico de la bacteria en el insecto, pero pronto se probó que se trataba de una anomalía. Estudios sobre el efecto del *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* en el gusano de la alfalfa, *Collias eurytheme*, realizados por Steinhäus (74), demostraron que las larvas cesaban de comer al poco tiempo de haber ingerido cultivos esporulados y que morían dentro de las 24 a las 48 horas posteriores sin exhibir parálisis general. Como se ha experimentado en varias especies de *Lepidoptera* se ha deducido rápidamente que la parálisis es más bien la excepción que la regla. Pero si es común un síntoma, en todas las especies tratadas, que todos los insectos dejan invariablemente de comer pocos minutos después de haber ingerido la toxina.

4. **Parálisis intestinal.**— El punto anterior fué finalmente resuelto cuando se demostró que todos los insectos *Lepidoptera* susceptibles sufren parálisis intestinal poco después de haber ingerido cultivos esporulados o sus cristales. En una serie de experimentos, en los que se usaron fotografías de Rayos-X para rastrear el movimiento del sulfato de bario, Heimpel y Angus (40) observaron que el alimento ingerido con la toxina cesa de moverse a través del intestino. Es obvio por tal motivo, que el intestino de las larvas infectadas ha dejado de funcionar. Dichos estudios confirmaron las observaciones realizadas por Vanková en 1.957 (citado por Heimpel & Angus, 41) quien al disectar larvas infectadas de *Euproctia phaeorrhoea*, notó que la función intestinal cesaba pocas horas después de comer alimento contaminado con el *Bacillus*. La causa de esta parálisis intestinal no ha sido hasta el momento elucidada; sin embargo, existe la duda acerca del efecto diferente de la toxina en el gusano de seda a otras especies diferentes, el cual exhibe una parálisis general de 1 a 7 horas después de que ocurra la parálisis intestinal. En los últimos, la toxina llega al intestino de 3 a 5 minutos después de haber sido ingerida. 5 minutos más tarde el pH de la sangre empieza a cambiar de lo normal (pH 6,8 en larvas en 5º instar) tornándose más alcalino (Heim-

pel, 37). El incremento del pH de la sangre es paralelo a la aparición de la parálisis general, estando acompañado de una declinación progresiva en pH del altamente alcalino contenido intestinal. Tal fenómeno puede observarse claramente en la gráfica de la figura 3. La explicación más sencilla es que la toxina actúa más rápida-

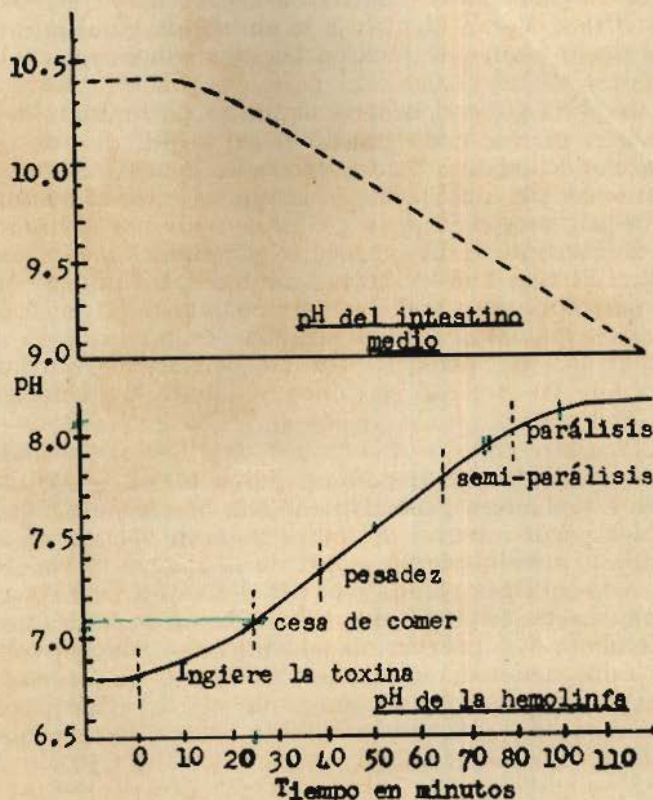


FIGURA 3. Cambios en pH del contenido intestinal y de la sangre del *Bombyx mori* (larvas) después de haber ingerido cristales de *Bacillus thuringiensis* var. stto.

Foto: El autor.

mente sobre el epitelio que tapiza el intestino medio, destruyéndolo suficientemente en su totalidad como para permitir que el altamente alcalino contenido intestinal sea absorbido rápidamente, pasando a la sangre que es pobremente alcalina.

Mediante experimentos en los cuales se inyectaba solución "Buffer" no tóxico en cantidad suficiente para llevar el contenido sanguíneo hasta un pH 8.0, se tradujo en una parálisis general indistinguible de aquella inducida por la toxina. Estos experimentos fueron repetidos con gusanos cachones y gusano de seda chino de la a-

vena, precisamente con los mismos resultados. En un grupo representativo de insectos susceptibles, que no exhibían parálisis general aunque sí cesaban de comer, no hubo incremento en el pH de la sangre (Heimpel & Angus, 40).

Después de que se logró cambiar el pH de la sangre por medio de inyección de soluciones "Buffer" a las larvas y que su efecto era causar parálisis general, idéntica a la observada en el gusano de seda por efecto de la toxina, se sacaron las siguientes conclusiones:

—La parálisis general ocurre en un grupo limitada de larvas de **Lepidóptera** cuyo contenido intestinal es de pH alto, designados como de reacciones del tipo I de hospederos. Esta parálisis es debida a un cambio en el pH alcalino de la sangre al aumentarse en 1,0 a 1,5 unidades de pH; éste cambio en pH es causado por la acción sobre el epitelio del intestino medio, de la toxina producida por las bacterias cristalóferas. El tipo I de insectos también sufre una parálisis intestinal, la cual solo viene a ser evidente cuando se ha ingerido una dosis subletal de toxina, la cual es seguida (en tal caso) de una disminución progresiva del pH del intestino, permitiendo un medio apropiado para que las esporas germinen y causen septicemia (Heimpel & Angus 41).

—El denominado tipo II de hospederos, está representado por las especies de **Lepidóptera** probadas que son afectadas por parálisis intestinal a los pocos minutos de haber ingerido la toxina, cesando de comer. No hay incremento en el pH de la sangre y consecuentemente no hay parálisis general; el pH del intestino baja poco a poco, tal como sucede en insectos a los cuales no se les da acceso a alimento (Heimpel, 38), proporcionando un buen medio para la germinación y propagación de las bacterias. Puesto que dichos insectos infectados mueren en menos tiempo que el requerido para matarlos por inanición, existe una pequeña duda acerca del por qué las bacterias aceleran su defunción.

Esta podría ser la explicación para la anomalía notada y comentada por Vanková (citado por Heimpel & Angus, 41). Vanková empleó dos tipos II de insectos en sus experimentos, a saber, **Lymantria dispar** L. y **Euproctis phaeorrhoea**. Las larvas de este último insecto fueron alimentadas con cultivos de 7 días de edad, de **Bacillus thuringiensis**, obteniendo una mortalidad de 100% en 6 días. Ella encontró que el 90% de las larvas que comían órganos vegetativos de las bacterias morían en 8 días. Esporas (en las que se habían removido los cristales mediante tratamiento con NaOH 0,1N) de **B. thuringiensis**, de la denominada línea 058, suministradas mediante alimento a larvas de **E. phaeorrhoea** produjo un 68% de mortalidad en 7 días. Vanková entonces repitió dichos experimentos con un cultivo de **Bacillus thuringiensis** acristalófero, que la llamó línea 059 acristalófera, encontrando que ni las células vegetativas ni las esporas de la línea acristalófera causaron muerte del **E. phaeorrhoea** pero que cuando se adicionaban cristales, aislados de líneas cristalóferas, a las esporas de la línea acristalófera daba como resultado una mortalidad del 100% en 6 días. Vanková concluyó que los cristales "solamente

inducían germinación de las esporas en el intestino de la oruga dando por resultado final una septicemia". Vanková notó que el intestino cesaba de funcionar; cabe anotar que ella no tomó lecturas del pH del intestino después de que los cristales fueron ingeridos. La toxina de los cristales es nociva al intestino, se relaja hasta la parálisis y cesan las secreciones, las condiciones cambian, el pH baja y la germinación de las esporas toma lugar entonces. La acción primaria y más importante, sin embargo, es el efecto de la toxina sobre el intestino, ya que las acristalóferas al no causar este efecto hace que el intestino continúe normal y sus condiciones alcalinas (debido a sus secreciones) no permita medio adecuado para la germinación de las esporas (Angus y Heimpel, 4 y Heimpel y Angus, 40).

5. **Acción fosfolipasa y otros efectos.**— Cuáles son entonces los efectos primarios o cuáles los secundarios de éstas bacterias y qué importancia tienen en la muerte de los insectos? Como se vió anteriormente, Vanková (citado por Heimpel & Angus, 41) reportó un 90% de mortalidad en *E. phaeorrhoea* dentro de 8 días después de haber comido células vegetativas de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* (línea 058). Casos similares han sido reportados por otros investigadores. Es posible, por lo tanto, que sean producidas otras toxinas por ciertas líneas de estas bacterias?

En 1953, Toumanoff (citado por Heimpel y Angus, 41) reportó la producción de fosfolipasa C (lecitanasa D) de varias especies del Género *Bacillus*. Fué confirmado por la afirmación original de Colmer (31) de que solamente las bacterias del "grupo del *Bacillus cereus*" producen fosfolipasa C. En 1954, Toumanoff (97) encontró que los filtrados de caldo nutriente con *Bacillus thuringiensis* var. *alesti* eran prácticamente inocuas por inyección en larvas de *Galleria melonella*, siendo sí nocivos cuando les eran suministrados por vía oral. Sin embargo, cuando él precipitó la proteína del cultivo filtrado con sulfato de amonio, (con lo cual concentraba la fosfolipasa C), encontró que el precipitado era tóxico, tanto por inyección como por vía oral. El concluyó que la fosfolipasa C contribuye parcialmente a la acción tóxica del *Bacillus thuringiensis* var. *alesti*.

Por el mismo tiempo Heimpel (38) demostró que las bacterias cristalóferas producían fosfolipasa C en cantidades más o menos altas, a excepción del *Bacillus entomocidus* var. *sub-tóxicus* y que aquellas que no producían ésta lecitinasa no presentaban patogenicidad al insecto con el cual experimentó (*Pristiphora erichsonii*).

Quiere hacerse notar, con énfasis, que aunque el *Bacillus thuringiensis* está clasificado como perteneciente al "grupo del *Bacillus cereus*" no indica sinonimia entre éstos. En realidad, el *B. thuringiensis* Berl. y el *B. cereus* Fr. y Fr. son bacterias que difieren en su acción, entre otras cosas. El *Bacillus cereus* Fr. y Fr. requiere un rango óptimo de pH de 7,0 a 8,4 para su desarrollo y reproducción y por esta razón es inocuo a Lepidópteros puesto que éstos tienen un contenido intestinal con pH alto. La acción de la fosfolipasa es óptima cuando el pH del medio intestinal está entre 6,8 y 7,4. No obstante (según Steinhaus, 82) cuando los insectos se encuentran en con-

diciones en que su actividad no es normal ("stress"), como por ejemplo en una población muy densa o en otras condiciones, el pH intestinal puede reducirse haciéndose más susceptible al ataque de microorganismos patógenos, entre ellos el *Bacillus cereus* Fr. y Fr. con inevitables resultados. Puede pues establecerse que las bacterias cristalóferas producen una enzima tóxica, fosfolipasa C, capaz de bloquear la acción de la lecitina en los insectos cuando hay cambios en el pH del contenido intestinal de los Lepidópteros normalmente resistentes, ya que hay otros que normalmente tienen pH ligeramente alcalino.

Además de la toxina y la fosfolipasa C McConnel y Richards (55), demostraron la existencia de una 3ª sustancia tóxica. Este material, producido por cultivos de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*, "in vitro" o "in vivo", es detectable después de 24 horas de incubación y tras recibir 15 libras de presión por 15 minutos en autoclave. La sustancia es hidrosoluble y dializable, pero no es tóxica a insectos al suministrárseles por vía oral. Para que sea mortal, el material tiene que ser inyectado, requiriendo 4 días mínimo para mostrar su efecto letal. Hasta el momento esta sustancia tóxica no tiene, pues, para nosotros, importancia práctica en el control de plagas.

6. **Histopatología.**— Las investigaciones histopatológicas han contribuido al conocimiento de la posible acción de algunas de estas sustancias tóxicas. Según Berliner (6), las esporas del *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* germinan y crecen rápidamente una vez ingeridas por el *A. Kühniella*. Esto es de esperarse, puesto que esta larva tiene en el intestino medio un pH por debajo de 8,4. Como el desarrollo de la bacteria se lleva a cabo en el intestino medio, las áreas particularmente corroídas se localizan en la parte terminal del intestino medio en donde la unión con el intestino posterior se realiza por medio de frágiles células. Berliner (7), determinó que era a través de dichas áreas deterioradas por donde la bacteria invadía la cavidad celentérica, causando una fatal septicemia.

Mattes (53), presentó otra hipótesis. Como quiera que Berliner afirmara que la bacteria se multiplicaba extensivamente en el intestino, antes de que el epitelio del intestino medio mostrara síntomas de desintegración, afirmando además que este tipo de arodación se encuentra muy infrecuentemente (esporádicamente), aquel sugirió que las bacterias penetraban a la sangre a través de los espacios intercelulares. Explicó además que era raro observar este fenómeno debido a la rápida migración de las bacterias. Heimpel, en 1954, apuntó que este tipo de invasión nunca fué encontrado en *Anagasta* (*Ephestia*) *Kühniella* confirmaron que aparentemente este insecto responde a la enfermedad de una manera diferente que lo que lo hace los tipos I y II de insectos. No se presenta parálisis general y hasta la fecha no ha sido demostrado que se presente parálisis intestinal. Si los cristales de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* son separados de las esporas y son suministradas al insecto la mortalidad resultante es solo una fracción de la obtenida cuando se suministra de cultivos que contengan ambas formas. Se demostró además que

hay una pequeña destrucción de mucosa y epitelio intestinal mientras la bacteria se desarrolla, presentándose tendencia de parte de las células epiteliales a desprenderse entre sí (una de otra) y como fué descrito por Mattes (53), las células epiteliales de los extremos del intestino medio pierden su habilidad a la tinción. El punto más débil del intestino es aparentemente el punto de unión entre el intestino medio y el intestino posterior, en donde débiles células conectan los dos órganos.

Tanada (94), afirma que las larvas de *Pieris rapae* L. (con pH del intestino medio de 6,4 a 8,1) cesan de comer poco después de haber ingerido esporas de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*. Este es un índice simple (síntoma común) de parálisis intestinal y por tal razón podría clasificarse al *P. rapae* como un insecto del tipo II. Este autor demostró que el epitelio del intestino medio anterior empieza a desintegrarse un poco después de que son ingeridas las esporas (y cristales) de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*; poco desarrollo vegetativo es observado y aunque la bacteria se multiplica no es evidente su proliferación excesiva dentro de la cavidad intestinal. Una vez que las bacterias penetran la pared intestinal y pasan al torrente sanguíneo una intensa septicemia toma lugar, causando comunmente la muerte del insecto. Esta descripción de la histopatología de la enfermedad en *Pieris rapae* es característica para el tipo II de insectos.

Toumanoff y Vago en 1953 (citados por Heimpel y Angus, 41), estudiaron la histopatología de la infección en larvas de *Bombyx mori* L., causada por el *Bacillus thuringiensis* var. *alesti*, concluyendo que dichas larvas ingerían una mínima cantidad de cultivo puro, mostraban síntomas indistinguibles de aquellos característicos del tipo II de insectos; pero no obstante, mayores dosis sí causaban parálisis general y muerte en 1 a 2 horas. Ellos demostraron que había una rápida degeneración del intestino medio y postularon que el cultivo esporulado contenía una toxina (*). Establecieron además que las células epiteliales perdían prontamente su cohesión y formaban una masa esponjosa degenerada. Cuando es ingerida en pocas dosis, la bacteria germina y se multiplica pausadamente en la cavidad intestinal y de modo más rápido después de que las células epiteliales han comenzado a separarse permitiendo a la bacteria penetrar al tejido muscular circunvecino (Toumanoff y Vago, citados por Heimpel y Angus, 41).

Heimpel y Angus (40), establecieron que los cristales solo causaban parálisis intestinal, lo cual constituye el primario y más importante efecto de esta bacteria sobre el insecto. Ellos postularon que este cese de la función intestinal es debida a las sustancias que cementan las células entre sí, lo cual expone las células a la acción de los jugos intestinales, causando autodigestión de las células provenientes del tejido desorganizado. Hasta el momento no ha sido ex-

(*) Por dicho tiempo, 1953, dichos autores no estaban enterados aún de la presencia de los cristales tóxicos, aunque sí hicieron notar que las esporas no tenían tiempo como para germinar antes de que el insecto se paralizara y muriera (Nota del Autor).

plicado el por qué la toxina afecta al tipo I de insectos, hasta causar completa permeabilidad del intestino (tal como ocurre en el gusano de seda *B. mori* L.), mientras que en el tipo II de insectos muestra un rápido deterioro epitelial, aunque no da lugar a paso de los jugos intestinales a la sangre.

Pipa y Cook (63) y Richards y Schneider (citados por Heimpel y Angus, 41) tal vez nos den respuesta a lo anteriormente expuesto mediante sus recientes estudios del tejido conectivo del piojo (*Pediculus humanus* L.), la cucaracha (*Periplaneta americana* L.) y polilla del gusano de seda (*Bombyx mori* L.) De acuerdo con estos investigadores, el tejido conectivo circunvecino a los órganos comprendidos dentro de la cavidad celéntrica, e íntimamente conectados al sistema nervioso y a la membrana basal, está compuesto en parte por mucopolisacárido, neutro o ácido, y proteína. Los segundos de los autores anteriormente citados determinaron que la masa nerviosa está compuesta por una proteína que difiere, obviamente, del colágeno, la elastina y reticulina, con propiedades ópticas que denotan la presencia de lípidos (*).

Pipa y Cook (63), no obstante, reportan que el tejido conectivo del piojo muestra algunas de las propiedades de una mucoproteína, glicoproteína, o un mucopolisacárido neutro y que es muy posible que las sustancias que cementan las células, las cuales aparecen (histológicamente) a continuación de la membrana basal, están compuestas de los muy similares materiales, o los mismos, que componen a ésta. Estudios histopatológicos hacen que no se dude, enfáticamente, que las células separadas provienen de la membrana basal, en un estado temprano en el progreso de la enfermedad en ambos tipos, I y II, de insectos susceptibles. Esto nos coloca en un terreno conocido, bacteriológicamente hablando, puesto que conocemos el efecto que causan los patógenos a los vertebrados, produciéndoles hialuronidasa en las sustancias que cementan las células entre sí.

Según Day y Pawning (citados por Heimpel y Angus, 41), en conexión con ésto, las células que componen el epitelio intestinal de la cucaracha alemana, *Blattella germanica* (L.) pueden ser separados "in vitro" mediante inyección de hialuronidasa obtenida a partir de testículos de cerdo. Esto no implica que el ácido hialurónico es el principal componente de las sustancias que cementan las células entre sí en los tejidos de los insectos, pero sugiere que una sustancia similar, posiblemente algún tipo de mucopolisacárido, está presente en este material.

Cabe la oportunidad de postular que la proteína cristalina bacteriana es la precursora de una enzima que, la cual en condiciones favorables, óptima dentro del intestino del insecto, ataca un substracto de la sustancia cementante de las células epiteliales. También puede ser, igualmente, que esta enzima afecte la membrana celular,

(*) Hasta el momento, según la literatura consultada, no se ha establecido claramente acerca de la composición de las sustancias que cementan las células entre sí (Nota del Autor).

en vista de que la rápida separación de las células epiteliales ocurre comunmente en la gran mayoría de los insectos examinados. (Heimpel y Angus, 41).

7. **Patio de acción.**— Heimpel y Angus (40), establecieron que el patio-primario de acción de la toxina del cristal en el gusano de seda *Bombyx mori* L. es el tercio anterior del intestino medio (con pH aproximado de 9,8, en esta región). Como ya se determinó previamente, éste pH no es lo suficientemente alto como para disolver los cristales a menos que un agente reductor se encuentre presente y por supuesto el contenido intestinal del gusano de seda es fuertemente reducible. Existen Lepidópteros tales como el *Choristoneura fulmiferana* (Clem.) en los cuales el pH del intestino anterior es aproximadamente de 8,5 y es por lo tanto improbable que los cristales pueden disolverse fácilmente a éste pH. Una hipótesis que sirve como alternativa para explicar la rápida liberación de la toxina del cristal es que las proteasas, del intestino del insecto, liberan una pequeña cantidad de moléculas tóxicas.

Heimpel y Angus (40), han reportado la presencia de una proteasa del cristal y sugieren que los insectos no susceptibles a las bacterias cristalóferas pueden carecer de dicha enzima. En tales sistemas los cristales inertes podrían ser considerados como una protoxina.

F. Producción de la toxina.

En 1949, cuando el Dr. Eduardo Steinhaus comenzó sus estudios sobre el efecto de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* contra el gusano de la alfalfa, la bacteria fué considerada como un organismo causante de enfermedades, como consecuencia de su presencia en forma de esporas y la concentración de éstas. Estaba basado en el número de esporas presentes para la estimación de su concentración. Afortunadamente, Steinhaus cultivó este organismo sobre Agar nutritivo, lo cual permitía la formación de un cristal en cada esporangio; el conteo del número de esporas nos daría así el número aproximado de cristales. Debido a alguna mortalidad inevitable y al agrupamiento de esporas, la cantidad real de cristales que hay es mayor que el número de esporas encontradas en el conteo. Sin embargo, cuando la producción en masa de dicho organismo se inició en Checoslovaquia, Francia y los Estados Unidos, se llegó al conocimiento pleno de que el conteo de las esporas no era una medida precisa de la virulencia de la preparación bacteriana. El motivo que dió a conocer esto fué la respuesta variable en esporulación y formación de cristales en el tipo medio de cultivo artificial por gran número de productores comerciales. Actualmente, en la industria productora de esta clase de "insecticidas bacteriales", las condiciones de crecimiento y desarrollo de las bacterias en el medio artificial empleado pueden ser controladas a graduación deseada. Los factores que limitan la producción del máximo número y calidad propia de los cristales no pueden ser evaluados por medio del conteo de esporas. La toxicidad de los cristales tampoco puede ser medida por

medio de un conteo microscópico (procedimiento por sí solo tedioso) (Heimpel y Angus, 41).

Heimpel y Angus (39), describieron una bacteria, *Bacillus entomocidus* var. *subtoxicus*, la cual producía tantos cristales como lo hacía el *B. entomocidus* var. *entomocidus* y de morfología idéntica, pero ésta última resultaba ser 100 veces más tóxica al gusano de seda *B. mori* L. que la primera. En otras palabras, la presencia del cristal hasta el momento no es una medida segura de la toxicidad.

G. Condiciones de desarrollo de la enfermedad.

Según White (99), el mayor grado de patogenicidad del *B. thuringiensis* en *Anagasta* (*Ephestia*) *Kühniella* Zell. ocurre en las épocas más cálidas, pudiendo producir hasta un 100 por ciento de mortalidad en la población de insectos.

No obstante, las larvas pueden ser inmunes al bacilo, cuando le son espolvoreadas las esporas, cuando aquellas tienen una gruesa capa de células dermales protectoras (Mattes, 53).

De acuerdo con Hall (30), la edad de las esporas, la temperatura y la edad y tamaño de la larva pueden tener efecto en el desarrollo de la enfermedad.

La forma de aplicación condiciona el desarrollo de la enfermedad. En efecto, parece que el espolvoreo es superiorísimo que la aspersión (Hall "et al", 33).

Stern "et al". (87), afirma que las larvas de mayor tamaño, que son las que más daño causan a la alfalfa, son afectadas más pronto por el bacilo que las más pequeñas. Afirman además que el control de este insecto (*Philodicta eurytheme*) por medio del *B. thuringiensis* es igual y aún mejor (guardando relación mayor por la seguridad que ofrece) que los insecticidas químicos comunes.

Cuando a la preparación bacteriana a suministrar a los insectos se le adiciona antibióticos, la efectividad de la bacteria se puede inhibir, siendo la estreptomycin la más caracterizada (Afrikian (1960), citado por Splittstoesser y McEwen, 71).

La bacteria es mayor o menormente activa según el tiempo que hace fué aplicada o producida y las sustancias con que se mezcle al momento de aplicación (Hall y Dunn, 32).

1. **Viabilidad.**— El *Bacillus thuringiensis* Berl. es una forma bacteriana capaz de reproducirse aún bajo condiciones poco favorables. Se ha comprobado que las esporas no pierden su viabilidad o su patogenicidad a altas o bajas temperaturas climáticas. En laboratorio no se ha observado reducción de la viabilidad o de la patogenicidad de la bacteria, a pesar de que se ha conservado por largo tiempo a temperaturas por debajo de 0°C., registrándose un mínimum de -26°C. Las temperaturas cálidas son las mejores para el desarrollo y efecto patógeno rápido del microbio, siendo el óptimo 30°C. A es-

ta temperatura se ha observado formación de esporas después de 24 horas de sembradas en el medio de cultivo (ZDA es mejor, a pH entre 7,0 y 7,2) siendo el cultivo a los 6 días de solo esporas del bacilo *O. Mattes* guardó una suspensión de esporas viables en un frasco sellado, permaneciendo idéntico después de 4 ½ años; después de haber sido deshidratada dicha suspensión, a 60°C, no había perdido su viabilidad después de 6 años (Husz, 46).

Steinhaus (85), por otra parte, afirmaba por 1960 que las preparaciones de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berl. pueden conservar su poder, de matar insectos susceptibles, por más de 10 años.

2. **Compatibilidad.**— Cantwell "et al", (11), en 1961, reportaron la compatibilidad y posible uso del *Bacillus thuringiensis* con clorados tales como el DDT.

Las firmas comerciales productoras de este tipo de insecticida bacterial reportan, en la literatura comercial del producto, su compatibilidad, por corto tiempo, con varios de los insecticidas y fungicidas comunes.

Stauffer Chemical Co. (*), afirma que no debe permanecer mezclado el *Bacillus thuringiensis* (Thuricide) con los insecticidas compatibles por más de una hora en el tanque de aspersión, para que no haya interferencia. Por otra parte, afirman que las mezclas de polvos con dichos insecticidas son estables por espacio hasta de 2 meses, a condiciones de laboratorio, después de la cual la concentración de esporas viables empieza a declinar gradualmente; tenemos entonces que:

- a) Los insecticidas compatibles son: DDT, Demeton, Endrin, Guthion, Malathion, Parathion, Phosdrin, Sevin, Toxafeno y Trithion, entre otros.
 - b) Los fungicidas compatibles son: COCS, Dodine, Ferbam, Gloyodín (*), Maneb, Azufre, Tag, y Maneb, entre otros.
 - c) Es incompatible con: TEPP, preparaciones bordelesas, Captan, Choramil, Speigon, alcoholes, éteres, solventes polares y parece que la bentonita, entre otros.
 - d) Es compatible con adyuvantes tales como aceites y humectantes, entre otros.
- Aun quedan más por investigar a este respecto.

3. **Poder residual.**— Hall y Andres (31), afirman que las prepa-

(*) Mediante pruebas "in vitro" se ha llegado a determinar que el Clyodin, en comparación con Captan, Dodine, Dicloné y Acatato de Mercurio, fué el único que redujo notablemente el efecto del *B. thuringiensis* en larvas de *Malacosoma americanum* (Fab.) *Ophoropthera brumata* (L.) *Pieris rapae* L. y *Plutella maculipennis* (Curt). (Jaques (84), Literatura no citada).

raciones insecticidas a base de *B. thuringiensis* son de corta vida, perdiendo su efecto virulento en el término de 5 a 10 días después de haber sido aplicados.

Chorine (14), afirma, basado en resultados obtenidos mediante el uso de *B. thuringiensis* en el control del *Pyrausta nubilalis*, que el tratamiento debe ser aplicado al momento o un poco después (máximo), de la ovoposición, debido a que el tratamiento empieza a perder su efectividad dos semanas después de aplicado, estando ya todos los huevos eclosionados seguramente.

Genung (24), afirma que el poder residual del *B. thuringiensis* es tan rápido como el de los insecticidas químicos clorados.

4. **Otras causas.** —Otras causas que pueden hacer más propicios los insectos susceptibles al efecto patógeno de la bacteria, son entre otros: a) Población, b) clima (humedad, temperatura), c) variedad del microorganismo y el modo de transmisión y diseminación del patógeno (Steinhaus, 79).

H. Especies susceptibles.

1. **Pruebas de laboratorio.**— Ya por el año de 1915 Berliner (7), reportaba que el *B. thuringiensis* es un patógeno aparentemente específico del *Anagasta (Ephestia) Kühniella* Zell., así como de otras especies de insectos de los granos, tales como, *Calandra granaria*, *Calandra oryzae*, *Guathocerus cornutus*, *Tribolium castaneum*, *Tribolium lardarium* y *Tenebrio molitor*.

Shepard (63), en 1924, ya reportaba en Alemania el control efectivo del *Echucerus cornutus* (Fab.) mediante el uso del *B. thuringiensis* Berl.

Husz (45, 47), controló al barrenillo del maíz *Pyrausta nubilalis* Hbn., logrando la muerte de las larvas, bajo condiciones de laboratorio, 1 y 1/2 días después de infectadas.

Metelnikov y Chorine (57), en 1929 obtuvieron resultados confirmatorios de la patogenidad del *Bacillus thuringiensis* Berl. en larvas de *Porthetria dispar* (L.) *Aporia crataegi* L. y *Venessa truiniae* (L.).

En 1952, G. G. Thompson y A. R. Logan (citados por Hall, 30), determinaron que las esporas del *Bacillus thuringiensis* Berl. eran particularmente virulentas a larvas del esqueletizador de la vid *Harrisina brillians* B. & McD. Posteriormente, los resultados obtenidos en pruebas de laboratorio, con diferentes concentraciones de esporas del *Bacillus*, demostraron que en el porcentaje de mortalidad en larvas de *H. brillians* B. & McD. en mediano crecimiento, estaba cerca de 45% a los ocho días del 83% a los 12 días después de haberse producido la infección (Hall, 30).

Hall (29), controló un alto porcentaje de larvas de *Crambicidae*

(*Crambus bonifatellus* (Huert.) y (*Crambus sperryellus* Knots.), considerándolas altamente susceptibles.

Krieg (50), ensayó la efectividad de las esporas del *B. thuringiensis* en larvas de *Pieris brassicae* L. asperjándolas sobre hojas de repollo. La suspensión contenía 125 millones de esporas viables por c. c. Se aplicaron 1,7 lts. por cada 10 m². Sobre dichas hojas se colocaron las larvas, en 3°, 4° y 5° estados de crecimiento a una temperatura de 18°C. y 80% de humedad relativa. Este experimento dió como resultado que el 50% de la población muriera a los dos días y el resto a los cinco días de haberse puesto sobre las hojas inoculadas. Para comparar y evaluar los resultados se colocaron larvas testigos sobre hojas de repollo asperjadas con agua destilada, las cuales solo presentaron un 10% de mortalidad a los seis días.

Oka (62), logró control del *Plutella maculipennis* al asperjar esporas del bacilo en suspensión a diferentes concentraciones sobre hojas de repollo, en las que luego colocaron las larvas. Estas llegaron a estar inactivas al poco tiempo, muriendo al cabo de 24 horas.

Hall y Dunn (32), teniendo en cuenta la posible producción comercial del *Bacillus thuringiensis* Berl. para el control de insectos comedores de hojas, lo ensayaron bajo condiciones de laboratorio para asegurar una mejor conducta del patógeno en los experimentos de campo. Las larvas puestas en experimentación y tratadas con suspensiones de *Bacillus* fueron: *Estigmene acraea* (Dru), *Bucculatrix thurberiella* Busk, *Udea* (*Phlyctaenia*) *rubigalis* (Gn.) *Amorbia essigana* Busk., *Heliothis Zea* (Boddie) e *Hypera brunneipennis* (Boh.); estas larvas mostraron una alta susceptibilidad al ataque de las esporas del bacilo.

Hall (30), en el control del *Harrisina briallians* B. & McD. alcanzó una mortalidad del 45% a los ocho días y 83% a los doce días de aplicadas las esporas en suspensión.

Según Burgerjon y Klinger (10), es posible determinar mediante pruebas "in vitro" cual es el momento más apropiado para la aplicación del cultivo bacterial para obtener un mejor control de la plaga. Dichos experimentos los realizaron con larvas del *Tortrix viridana* L.

Hoyos (44), efectuó, en la República de Colombia, ensayos preliminares con larvas de *Pieris rapae* (L.), bajo condiciones de laboratorio, encontrando que es posible matarlas con esporas de *Bacillus thuringiensis* Berl. Anotó además que la efectividad del patógeno depende de la velocidad de entrada de éste al intestino de la larva.

Kantack (49) mediante pruebas de laboratorio logró determinar la susceptibilidad del *Plodia interpunctella* (Hbn.) al *B. thuringiensis*.

Helson (43), a partir de la aspersión de una suspensión de esporas viables (3 x 10⁹ esporas viables por gramo) obtuvo un control satisfactorio de plagas, tales como *Pieris rapae* L., *Pieris maculipen-*

sis L., *Plusia chalcites* Esper., *Apriphora coricopa* Wilk. y *Tortrix* sp.

El *Bacillus thuringiensis* es altamente patógeno a la polilla plumosa de la alcachofa *Platyptilia carduidactyla* (Riley), principalmente en el 1º y 2º "instar", las cuales mueren uno o dos días después de infectados (Tanada y Reiner, 95).

Faldini y Pastrana (17), en la república Argentina, probaron la efectividad del *B. thuringiensis* como agente entomófago del *Colias lesbia* F.

a) **Evaluación de toxicidad.**— Las preparaciones bacteriales difieren en actividad insecticida, según las diferentes técnicas comerciales, no siendo suficiente para valorarlos el solo conteo de sus esporas. La única forma de determinar la potencia insecticida de una preparación bacteriana es recurriendo a bioensayos con insectos. Se han propuesto varios métodos, usando como insectos de prueba al gusano de la col *Pieris rapae* L. (Burgerjon, 9); al medidor del repollo *trichoplusia ni* (Hbn.) (Hall, Halle y Arakawa, 33; Splittstoesser y McEwen, 71) y larvas de *Plutella maculipennis* (curtis) (Menn, citado por Heimpel y Angus (41)). En cada uno de los métodos anteriormente anotados se emplea follaje como sustrato, sobre el cual se asperja la sustancia que quiere ser evaluada. Dichos métodos pueden ser usados con éxito sobre la base comparativa de suficientes repeticiones y mientras se haga una aplicación uniforme del insecticida, sobre el follaje que se usa para la prueba.

Hall y Arakawa (citados por Splittstoesser y McEwen, 71) usaron larvas de mosca común *Musca doméstica* L. para evaluar la toxicidad de tres marcas comerciales de preparaciones de *B. thuringiensis*, pero sólo obtuvieron una curva de mortalidad proporcional a las dosis usadas para un solo producto.

Los bioensayos con insectos tienen dos variables inherentes; aquellas asociadas con la uniformidad fisiológica del insecto de prueba, y aquellas asociadas con la forma con que el material a probar es suministrado al insecto. El material biológico (insectos) y la dispersión de las esporas debe ser uniforme (Heimpel y Angus, 41).

En el método empleado por Splittstoesser y McEwen (71) se emplean larvas de *Trichoplusia ni* (Hübner) en cajas de Petri de 4 secciones iguales (cuadrantes) con hojas de repollo, más agar como medio artificial. Los ingredientes y proporciones de los materiales que intervienen en la preparación del medio de cultivo artificial de prueba, pueden observarse en la Tabla III.

La estreptomycin u otros antibióticos pueden inhibir la efectividad de la bacteria, siendo la primera la principal (Afrikian, 1960 citado por Splittstoesser y McEwen, 71).

Según Heimpel y Angus (41) investigadores franceses, bajo la dirección de Grisson, empezaron a trabajar en cuanto a la determi-

— T A B L A III —

Medio artificial usado en Bio-ensayos de preparaciones de *Bacillus thuringiensis* Berl. (Splittstoesser & McEwen, 71)

Ingrediente	Porcentaje
Sucrosa	3.0
Sales de wesson	1.1
Tegosept (*)	0.2
Agar	2.0
Germen de trigo	3.0
Hojas secas en polvo	2.0
Alginate	0.1
Sulfato de estreptomicina	5 microgramos/cc.

(*) Metilparahidroxibenzoato, Goldschmidt Chemical Corp., 153 Waverly Place, New York 14, N. Y.

nación de métodos biológicos para la medida de la toxicidad de la preparación. en 1956, Lemoigne "et al". Idearon un aparato de aspersión, descrito con más detalles por Burgerjon, lo cual les permitió asperjar una suspensión de esporas y cristales sobre una superficie plana de tal manera que la distribución fuera por igual (Heimpel y Angus, 41).

Burgerjon (9), describió un método de prueba, usando como insecto para tal objeto larvas de *Pieris rapae* L., mediante aspersiones de polvos mojables sobre hojas frescas de col (7,5 x 12,5 cms.) colocándolas en cajas de plástico, similares a las usadas para almacenar mantequilla, en las cuales se practicaron agujeros y se cubrieron con gasa fina para permitir una adecuada ventilación. Las hojas tratadas eran renovadas cada 48 hors y el análisis de resultados se hizo según el área consumida. Mediante este método se conoció que la cantidad ingerida era inversamente proporcional a la dosis asperjada en cada hoja. Aunque el % de mortalidad fué alto varió con la temperatura y el "instar" de las larvas.

Usando esta misma técnica, Bonnefoi "et al." en 1958 y Bugerjon en 1959 (citados por Heimpel y Angus, 41), probaron *B. thuringiensis* contra un gran número de larvas de *P. brassicae*, bajo condiciones idénticas, obteniendo una curva de LD50 por análisis de "Probits". Dicha preparación bacteriana fué titulada como "Standard" y procedieron a determinar un sistema de medida de la virulencia del subsecuente material producido de *B. thuringiensis*.

El procedimiento es como sigue: Varias cantidades pesadas de la preparación "Standard" de *Bacillus thuringiensis* son puestas, cada una, en 10 cc. de agua. Dichas preparaciones son suministradas a larvas de *peris rapae* L. en idéntico "instar", criadas bajo condiciones controladas (25°C y 75% de humedad relativa). Varios pesos de la

preparación incógnita (la que se quiere determinar) debe ser diluída en forma similar a la solución "standard". El peso del material "Standard" que da una LD50 a los insectos de prueba es multiplicado por el LD50 del peso "Standard" original (sin diluir) del análisis del "probit", y esta fracción a su vez es multiplicada por el LD50 del peso del material desconocido. Este procedimiento reduce el posible error debido al empleo de diferentes tandas de insectos. El resultado es un peso LD50 ajustado de material desconocido el cual es a su vez dividido por 10.000 (cc. de agua usada para preparar la suspensión). Esto nos da un factor de dilución en miligramos de agua por miligramos de material desconocido, lo cual da una suspensión aproximadamente igual en virulencia al material "Standard" usado en el análisis del "probit" original. Este es un método mucho más útil puesto que el factor de dilución puede ser llevado del laboratorio al campo y usado directamente para preparar material para aplicar al campo. Un atractivo futuro del método es aquel que lo adapta a variancias debidas a las distintas condiciones en que se encuentran los insectos y también el que podría ser usado entre diferentes especies de insectos. El resultado obtenido es más práctico que aquel de un sistema basado en la comparación de peso unidad (Heimpel y Angus, 41).

El método Francés de la "Standarización" es tal vez el mejor sistema para probar la toxicidad de preparaciones a base de bacterias cristalóferas en insectos. Otros sistemas, tales como el de la "unidad biológica", basado en el peso de una preparación "Standard" necesaria para dar un LD50 en insectos de prueba, ha sido propuesto y es tal vez el de mayor uso hoy en día, pero es de opinión personal el creer que el sistema Francés es el de más fácil aplicación y mucho mayor flexibilidad que otros sugeridos hasta la fecha (Heimpel y Angus, 41).

2. Prueba de campo.— Steinhaus (83), envió a Brown la mayor parte de las variedades de bacterias cristalóferas, las cuales fueron examinadas por éste para ver la posibilidad de que pudieran existir mezclados a dichos cultivos otros organismos patógenos, tales como bacterias similares a la causante del "antrax". Se reportó de éste examen que Brown no encontró evidencia de líneas patógenas (Steinhaus, 83).

Según Steinhaus (80 y 83), la mayoría de las bacterias cristalóferas (entre las cuales se encuentra el *B. thuringiensis*) que son patógenas a insectos son usualmente inocuas a animales y plantas. Añota además que el renovado interés, principalmente durante la última década, por el uso de microorganismos como uno de los medios de control de plagas integrado ha sido engendrado en muchas partes principalmente por su inocuidad a vertebrados y plantas; desde el punto de vista genético tampoco es posible que muten a formas patógenas.

Según la literatura consultada, miles de libras de estas preparaciones bacteriales han sido usadas en el campo sobre una amplia variedad de cultivos, en muchos países del mundo, sin que haya un

solo reporte sobre fitopatogenicidad o fitotoxicidad en las plantas protegidas.

Estas aplicaciones a alta escala de dicho "insecticida vivo", principalmente desde 1.950, ha sido posible gracias a que se ha podido producir cultivos de esporas cristalóferas a escala comercial principalmente en Checoslovaquia, Francia, Alemania y varias compañías de los Estados Unidos. Las formulaciones europeas han sido producidas por varias agencias del gobierno. Las formulaciones Norteamericanas han sido producidas, teniendo en cuenta bases experimentales, bajo el nombre de diferentes marcas registradas, como son: "Thuricide" (descontinuado) y "Thuricide 90T" (Stauffer Chemical Company y Bioferm Corporation, 380 Madison avenue, New York 17, Nueva York a P.O. Box 760 Mountain View, California y P.O. Box 1375, Wasco, California, respectivamente); "Larvatrol" (descontinuado) y "Biotrol BTB" (Nutralite Products, Inc., 5600 Grand Avenue, Buena Park, California); "Agritol" (Merck and Company, Inc., Rahway, New Jersey) y una preparación sin nombre comercial producido por la Rohm and Haas Company (descontinuado) en Philadelphia, Pensilvania, U.S.A.

Según Steinhaus (74), aspersiones de *B. thuringiensis* como medio de control del gusano de la alfalfa (*Colias aurytheme* Boisdu. es tan efectivo que a los 2 o 3 días queda reducida la población a nivel subeconómico. Si a dicha preparación se le adicionan virus, el porcentaje de muertes es más alto (Steinhaus, 76).

Majumber (52), determinó en un 50 a 80% la población que muere de larvas de *Heliothis absoleta* Fabr. a los 8 días de haber aplicado en el campo preparaciones de *B. thuringiensis*. A los 15 días es de 95 al 100%.

Hall (30), en el control del *Harrisina brillians* B. & McD, después de los ensayos promisorios en laboratorio pasó a experimentos de campo y usó concentraciones de 5 y 10 gms. de polvo de esporas viables puras (10.000 esporas/gr.) por galón de agua. Se asperjó dicha solución, con bomba de espalda, hasta saturar el follaje de las plantas de parra. La población de larvas se redujo en un 70 a 75% a los ocho días de la aplicación (larvas en 2º "instar"). En pruebas con larvas en completo desarrollo, se emplearon concentraciones de 5 gms. de polvo de esporas por galón de agua. Las dosis y resultados pueden verse en la tabla IV.

Oka (62), experimentó la efectividad del *Bacillus thuringiensis* Berl. en el control de las larvas del repollo *Plutella maculipennis* (Curt.), cuyo control presentaba ciertas dificultades en varios lugares de Indonesia.

Krieg (50), efectuó pruebas de campo asperjando dos litros de una suspensión que contenía 125 millones de esporas viables por cc. (mas humectante), sobre una parcela con 22 plantas de repollo con 10 a 100 larvas de *Pieris brassicae* (en 3º, 4º y 5º "instar") por planta. Todos los insectos mostraron síntomas de infección, muriendo un

— T A B L A IV —

Dosis y mortalidad/aplicación de *Bacillus thuringiensis* en prueba de campo con *Harrissina brillians* B. & McD. (Hall, 30)

Grupo	Aplicación (Galones por acre)	% de mortalidad: Días después de la aplicación				
		0	3	6	12	19
A	8.5	0	29	43	80	84
B	22	0	27	39	65	86
Testigo	0	0	2	27	70	87

50% a los 3 días y el otro 50% a los 6 días de la aplicación.

Hall y Dunn (32), pusieron en experimentación larvas de *Trichoplusia ni* (Hbn.), *Laphygma exigua* (Hbn.), *Bucculatrix thurberiella* Busk., *Platynota stultana* Weshn. y *Heliothis Zea* (Boddie), las cuales resultaron poco susceptibles y larvas de *Galerucella luteola* (Mul.), *Haltica anabiens* Lie., las cuales acaso presentaron alguna susceptibilidad. La infección de las larvas se determinó mediante examen microscópico y siembra de las larvas muertas en medios de cultivo artificial.

Se encontró que el *B. thuringiensis* Berl. puede ser igual en efecto al Endrin en cuanto a la prevención del cachón del tabaco *Protoparce sexta* (Johan.), siendo su mayor efecto a las 72 horas. aunque no se nota control efectivo contra el gusano cogollero *Heliothis virescens* (F.) también se notó su inocuidad a la avispa predadora a *Polistes exclamans* Vier. (Gurtie, Rabb y Bowery, 26).

Hall y Andres (31), emplearon diferentes muestras comerciales de material de esporas del *B. thuringiensis* Berl. para controlar por medio de espolvoreo y aspersiones al medidor de la col *Trichoplusia ni* (Hbn), gusano del repollo *Pieris rapae* (L.) y gusano ejército de la acelga *Laphygma exigua* (Hbn.). Para destruir el 80% del medidor y del *P. rapae* fué menester emplear como dosis mínima una concentración de 2.5×10^9 esporas por acre, aunque en ciertos casos se requirieron dosis mayores (8×10^9 esporas viables/acre). Reportan además dichos investigadores, que no fue posible controlar adecuadamente al gusano ejército de la acelga. Recomiendan, no obstante, en el control de larvas de la col de 0,5 a 1,5 lbs./acre (100×10^9 esporas viables/gramo).

McEwen y Hervev (56), controlaron larvas del repollo con aspersiones de 1 libra por acre (100×10^9 esporas viables/gr.).

Stern, Hall y Peterson (87), mediante aspersión aérea de 7,8 a 18 onzas (40×10^9 esp. viables/gr.) lograron control satisfactorio del gusano de la alfalfa *Colias philodice eurytheme* Boisd. El control óptimo se obtuvo después de 4 días de aplicación. Afirman además que el mínimo no debe bajar de 1,8 onzas por acre. Mediante la aplica-

ción de 50×10^{12} esporas viables por acre (asperjadas en suspensión) se logra prevenir la defoliación anti-económica por parte de larvas de *Porthetria dispar* L. en maíz.

Cantwell (11) y Harcourt y Cass (34), afirman que de las plagas que atacan las cricíferas de hoja las más importantes son *Pieris rapae* (L.), *Trichoplusia ni* (Hbn.) y *Plutella maculipennis* (Curt.) siendo el 1º el de mayor importancia económica. Puesto que en varios países altamente desarrollados, entre otras cosas en técnica agropecuaria, existen departamentos gubernamentales que reglamentan el uso de pesticidas y el análisis de éstos en los productos de consumo, se ha hecho necesario el uso de microrganismos entomófagos tales como el *Bacillus thuringiensis* Berl. para evitar presencia de residuos tóxicos en alimentos hortícolas, el cual ha dado buenos resultados en especies de *Lepidóptera* principalmente, siendo particularmente susceptible las larvas que atacan a las crucíferas, que cada día aumentan en número e importancia por el uso indebido de insecticidas orgánicos sintéticos.

Jaques (48), usó efectivamente el *Bacillus thuringiensis* Berl. contra siete plagas *Lepidóptera* de importancia económica en manzano, como son: *Oporophthera brumata*, *Alsophilía pometaria*, *Malacosoma americanum*, *Spilonota ocellana*, *Argyrotaenia mariana*, *Carpocapsa Pomonella* y *Danata ministra*.

I. Datos complementarios

1. **Medio natural.**— En un principio se creyó que el *Bacillus thuringiensis* Berl. solo podía existir en la naturaleza afectando larvas de *Lepidóptera*, principalmente. Pero contrariamente a lo anterior, en 1.961 Smirnoff y Heimpel (89) aislaron *B. thuringiensis* a partir de un insecto silvestre no *Lepidóptero* el *Phistipora erichsonii* (Hartig) el cual mostraba escasa susceptibilidad.

Por otra parte, Heimpel (42), reporta al comparar la patogenicidad de bacterias cristalóferas (Razas de *B. thuringiensis*) y acristalóferas (algunas razas del grupo del *Bacillus cereus* Fr. A Fr.) en larvas del barrenador del alerce, que la presencia de cristales tóxicos no influye, y que además de ello muestran poca susceptibilidad. Las larvas probadas fueron: *Nematus rivesii* (Scopoli), *Neodiprion abietis* (Harris), *N. banksianae* Rohwer, *N. swaimei* Niddleton, *Diprion hercyniae* (Hartig), *Hemichroa crocea* (Fourcroy), *Pikonema alasensis* (Rhwer) y *Pristiphora erichsonii* (Artig.)

Lo anterior demuestra que las bacterias del "grupo del *B. cereus*" pueden existir en insectos del campo en forma natural. Falta investigar la ocurrencia natural en vertebrados.

2. **Medio artificial de cultivo.**— De acuerdo con gran número de investigadores, el mejor medio artificial de cultivo es el compuesto por ZDA (Zanahoria-Dextrossa-Agar). El pH óptimo es el comprendido entre 7,0 y 7,2, a una temperatura de 30 a 36°C. y 80% de humedad relativa.

3. **Entomófagas similares.**— De acuerdo con gran número de investigadores, la bacteria que más estrecha relación guarda con el *B. thuringiensis* es el *Bacillus cereus* Fr. & Fr.

Según Revelo (65), los microorganismos más patógenos a Lepidóptera son la bacteria *Bacillus thuringiensis* Berl. y el hongo *Beauveria vassiana* Bals.

Otros microorganismos que ofrecen futuro en el control de Lepidópteros son, entre otros: *Serratia marcescens* Bizo (Steinhaus, 35), *Bacillus entomocidus* H. & A. (Heimpel y Angus, 41), *Streptococcus bombycis* (Lysenko, 51) y virus (Steinhaus, 76; Thompson y Steinhaus, 96).

4. **Toxicidad en Lepidóptera.**— El *Bacillus thuringiensis* Berliner presenta alto grado de patogenicidad en gran número de especies de insectos principalmente del Orden Lepidóptera.

Todos los autores están de acuerdo al afirmar que si el insecto es susceptible a la patogenicidad de la bacteria, aquel no puede desarrollar resistencia a éste, siendo mortal por ser la bacteria más virulenta.

Steinhaus (81), elaboró una lista en que figuran 62 especies diferentes de insectos del Orden Lepidóptera susceptibles al *Bacillus thuringiensis* Berliner.

5. **Toxicidad en otros organismos.**— No obstante que la acción de la bacteria es relativamente específica al Orden Lepidóptera existen otros grupos taxonómicos que presentan estados de susceptibilidad.

a) **Toxicidad en otros órdenes de insectos.**— Algunos grupos taxonómicos, como por ejemplo la familia Geometridae, parecen ser menos susceptibles McEwen y Hervey, 56 y Steinhaus, 81).

Los Mimenópteros parecen ser inmunes, aunque si pueden ser portadores naturales en campo abierto, lo cual sirve de prueba al afirmar que el *B. thuringiensis* existe de manera natural en varios insectos que se encuentran en campos y malezas (Heimpel, 42, Swirnow y Heimpel, 89).

Según Hall y Dunn (32) y Harvey y Brethour (36), las larvas de mosca doméstica (Díptera) son susceptibles al *Bacillus thuringiensis*. Este es un punto muy interesante con relación al modo de acción de la bacteria. Este fenómeno (acción en órdenes diferentes a Lepidóptera) es tal vez debido a que gran número de larvas de Díptera (incluyendo aquellos que tienen el tracto digestivo con pH usualmente ácido a ligeramente alcalino) rejurgitan un jugo digestivo que es alcalino, que contiene proteasas, sobre el medio nutritivo. De este modo pueden disolver los cristales de sustancias tóxicas e ingerirlas una vez combinadas al alimento.

Según Steinhaus y Bell (77), un nivel bajo de toxicidad ha sido notado en algunas especies de Coleópteros (*).

El *B. thuringiensis* es patógeno principalmente a larvas de *Lepidoptera* y algunas especies de *Diptera*, aunque faltan ensayos tendientes a confirmar ésto y probar otras especies diferentes. Por otra parte parece que el *B. thuringiensis* es patógeno a algunas larvas de *Tenthredinidae*, pero ha sido materia de gran interés el descubrimiento de que la lombriz de tierra *Lumbricus terrestris* L. aparece como muy susceptible a la acción de dicha bacteria que al ser ingerida parece que pasa del intestino a la cavidad celéntrica causando mortal septicemia. Aunque esto se determinó "in vitro" no hay evidencia completa (existen estudios tendientes a averiguarlo) de que a dosis normales de aplicación de campo se presente el problema, pues se cree que el 20% de las esporas germinan en el suelo a 23°C. Además, solo la forma cristalina es patógena a la lombriz de tierra y dichos cristales no son estables a condiciones comunes de campo. Pero aún así, queda el peligro de que el uso continuo de dicho "insecticida vivo" pueda hacer que la concentración de esporas en el suelo llegue a tal nivel que puedan afectar la población de lombrices. Debe estudiarse más este respecto, para determinarlo (Swirnoff y Heimpel, 90).

Según informes de Briggs (1959) y Dunn (1.959 y 1.960), las esporas de *Bacillus thuringiensis* Berl. son patógenas a la *Musca doméstica* L. en estado pupal. Lo mismo fué notado por Liles y Dunn, en 1959, pero el estado pupal del *Aedes aegyti* (L.) (Harvey y Brethour, 36).

b) **Efecto tóxico en plantas (fitotoxicidad).**— Hasta la presente no se ha reportado ningún efecto fitotóxico de la bacteria, como quemazón, mutación, etc. No obstante, es factible que altas concentraciones de preparaciones comerciales, al ser aplicadas a plantas y cultivos pueda tener algún efecto fitotóxico, no por la bacteria en sí sino por los adyuvantes que puedan contener. Faltan estudios a este respecto.

c) **Efecto tóxico en vertebrados.**— Berliner (7) y Steinhaus (75), reportaron informes de experimentos realizados con ratas, monos y conejos, los cuales después de haber sido inoculados con *B. thuringiensis*, no mostraron ningún síntoma de enfermedad o daño debido a dicho microentomófago. En humanos se pudo comprobar su inocuidad al inocular voluntarios o al consumir conejos inoculados (Tanada, 93).

Todos los autores que han estudiado este aspecto, están de acuerdo al afirmar su inocuidad a vertebrados e insectos benéficos. Por otra parte, desde el punto de vista genético es muy probable que

(*) Por último podría decir que la gran mayoría de especies y órdenes de insectos han sido poco estudiados, y menos extensivamente, pero aparente y tal vez seguramente este insecticida bacterial es más efectivo contra larvas de *Lepidoptera* (Nota del Autor).

microorganismos patógenos a insectos lo sean a vertebrados. Precisamente, el renovado interés, principalmente durante la última década, por el uso de microorganismos como uno de los medios de control de plagas se ha engendrado en muchas partes por la inocuidad que presenta al hombre y otros vertebrados. El *Bacillus thuringiensis* Berl. no es patógeno a vertebrados y más aún, no cambia (por mutación) a formas patógenas a estos (Steinhaus, 80, 83).

Experimentos llevados a cabo por Swirnof y McLeod (91) han demostrado que el *B. thuringiensis* Berl. no tiene efecto tóxico en aves y mamíferos, permaneciendo en idénticas condiciones de viabilidad y patogenicidad al pasar a través del tracto digestivo de éstos, no demostrando cambio aparente. Esto mismo puede decirse en animales de sangre caliente, según experimentos que involucraban vacunos (Dunn, citado por Swirnof y McLeod, 91) (*).

Fisher y Rosner (21), resolvieron finalmente la pregunta sobre la toxicidad y seguridad de dichas bacterias al demostrar la inocuidad del *B. thuringiensis*, Berl. en animales de sangre caliente.

J. Conclusiones.

La producción comercial de *B. thuringiensis* con alto porcentaje de cristales tóxicos presenta alguna dificultad. Algunas compañías producen la bacteria y adicionan luego bentonita, arcilla y similares, proveyendo una preparación que es excelente cuando se usa en espolvoreo. Bajo ciertas condiciones climáticas el espolvoreo es más eficiente que la aspersión (Grigarick y Tanada, 25; Hall y Andres, 31).

La aspersión bacterial parece ser más efectiva en cultivos donde la velocidad del viento es muy fuerte, en tal caso se adicionan adyuvantes (McEwen y Hervey, 56).

Hasta el momento no se ha determinado completamente el efecto de los cristales tóxicos en los insectos y si éstos constituyen el principio activo del insecticida bacterial. Tampoco se conoce la acción precisa de la toxina en el insecto.

De los microorganismos empleados en el control de plagas Lepidópteras el más satisfactorio es el *Bacillus thuringiensis* Berl., considerado además como un medio adecuado por su demostrada patogenicidad específica al estado larvario, aunque en casos rematos también puede afectarlos en estado adulto.

(*) Esta ausencia de toxicidad acrecenta el valor de la bacteria como "insecticida vivo", abriendo la interesante probabilidad de que la diseminación del patógeno en la naturaleza pueda ser ayudada por la actividad de los vertebrados. Los resultados anteriores sugieren la posibilidad de que el *B. Thuringiensis*, si se logra introducir dentro de la flora bacteriana de aves y mamíferos, pueda ser ayudado en su distribución si se provee comida contaminada a dichos vertebrados— (Nota del Autor).

Pero si bien es patógeno específico de larvas de *Lepidóptera*, algunas de éstas especies son mayormente susceptibles que otras, estando incluidas en ella, afortunadamente, una gran gama de plagas que revisten importancia económica y que además de ello presentan problemas de control químico, entre otras cosas, por la resistencia que adquieren a través de generaciones.

El problema principal de los insecticidas químicos lo constituye los efectos secundarios indeseables que inducen; no presentándose esto mediante el uso de aplicaciones de cultivos de *Bacillus thuringiensis* es de desear la reglamentación del uso de aquellos y el mayor empleo de éste, si no como único si como parte de un programa de control integrado, ya que es altamente específico para gran número de insectos nocivos y aparentemente no causa el menor daño a sus parásitos, es inocuo a abejas, animales de sangre caliente y a plantas que puedan tener contaminación con el microorganismo en el campo tratado.

Postrímeramente cabe advertir, de acuerdo con Aragón (6), que la creencia de algunos en lo que se refiere al control biológico, mediante el solo uso de insecticidas bacteriales u otros organismos benéficos, ha de cubrir por completo los problemas insectiles actuales y que constituye en sí una panacea que cura todos los males que causan las plagas, es por sí misma muy relativa puesto que sería imposible en nuestras circunstancias actuales. Todos los dedicados a las industrias del Agro deben convencerse con fé ciega de que éstos métodos de control tienen que hacer parte de un CONTROL INTEGRADO (Cultural-Biológico-Químico), más no unilateral perseverado, aunque exija sacrificios económicos iniciales, si nó se quieren sufrir mayores descalabros y aún, posiblemente, amenaza de restringir o de suprimir cultivos de determinadas plantas por ser antieconómica su explotación a causa de las plagas.

III.— MATERIALES Y METODOS

La presente investigación se llevó a cabo en terreno aledaño a la Facultad de Agronomía de Palmira, sobre la línea del ferrocarril Palmira-Pradera (Valle), el cual presenta un relieve que oscila entre 0 y 2% de pendiente, textura media (Franco-arcillosa), friable en húmedo, color negro (10 YR-2/1), sin reacción al ácido clorhídrico. El subsuelo semipesado de dicha localidad hace que el drenaje sea regular. La temperatura media es de 24°C., la precipitación en promedio anual es de 1.100 mm., a una altura de 1.085 mfs. sobre el nivel del mar. Los trabajos de campo se efectuaron durante el primer semestre del año 1.963, de acuerdo a la época de siembra y métodos de cultivos usuales en el área geográfica donde se desarrolló la plantación.

Se empleó semilla de algodón americana de la variedad "Delta-pine Smooth-leaf", deslintada con ácidos, la cual fué tratada antes de la siembra con un fungicida a base de Penta-Cloro-Nitro-Benzeno (PCNB) en polvo ("Brassicol" del 75%; Hoechst Colombiana, Apdo.

aéreo 225- Cali, Valle- Colombia, S.A.) para prevenir posible ataque de "Damping-off", el cual ya se había presentado anteriormente en el lote escogido. La semilla fué sembrada a máquina, en surcos separados un metro entre sí y a chorro seguido para ser luego releados.

El material, a base de esporas viables de la bacteria entomófaga denominada *Bacillus thuringiensis* Berliner, empleado en éste experimento, fué de la preparación comercial producida por "Bloferm Corporation" y distribuida por "Stauffer Chemical Company" con la marca comercial de "THURICIDE 90-T", la cual tiene un 3% de ingrediente activo (espos viables del bacilo, en suspensión) y 97% de adyuvantes y materiales inertes. Dicho "insecticida bacterial" tiene una concentración de 30×10^9 esporas viables por grano de suspensión, equivalente a una concentración total de 90×10^{12} esporas viables por libra de sólidos (*).

En la aspersión de las diferentes dosis comparativas se empleó una bomba de espalda marca "Flox", de 10 litros de capacidad, bombeo lateral y doble boquilla de cono hueco, con el objeto de lograr una mayor y mejor distribución de la suspensión en agua. El régimen de dicha bomba dió un promedio muy aproximado de 2 lts. por minuto.

Para cuestiones de análisis estadístico se escogió como diseño experimental el llamado de distribución (factorial) en bloques al azar, y también denominado de distribución en bloques al azar (por el método factorial). En este diseño cada tratamiento independiente se consideró compuesto por cada combinación de dos variantes (dosis - frecuencia de aplicación), para luego ser distribuido al azar; como eran 5 las dosificaciones y dos las frecuencias de aplicación (cada 8 y cada 15 días), resultaron por lo tanto 10 tratamientos individuales, incluyendo dos testigos, de los cuales se hicieron tres replicaciones. Las parcelas, dentro de cada bloque, fueron continuas, constituidas cada una por cinco surcos colocados a un metro de distancia entre sí. La dimensión de cada parcela fué de 100 mts². (20 x 5 mts.) La distancia definitiva entre matas, dentro de cada surco, fué de 0,50 mts. Las calles que se dejaron entre los bloques median 2,50 mts. de ancho.

En cuanto a labores culturales, se siguieron las prácticas comunes para el cultivo del algodón recomendadas en la región. Se efectuaron, una arada, dos rastrilladas, una nivelada, siembra a máquina, un raleo, una cultivada mecánica, una desyerba a mano, un aporque mecánico, dos aplicaciones de insecticidas fosforados (sistémicos, al 2% contraataques de pulgón *Aphis gossypii* Glover), recolección de cosecha a mano y destrucción de la soca. Sólo se cosecharon y pasaron los tres surcos centrales de cada parcela.

Las dosis del "insecticida bacteriológico" a comparar se calcularon, cada una, en el laboratorio, en frascos rotulados que contenían,

(*) Según literatura del producto comercial.

cada uno, la cantidad concentrada a emplear y que luego se completaban a 2 lts. de suspensión en agua al momento de la aplicación, para asperjarlas inmediatamente a cada parcela respectiva. El experimento constaba de 10 tratamientos, c/u con niveles diferentes (dosis) de concentración de esporas viables de la bacteria, tal como puede observarse en la Tabla V, variando de 0 a 285.00×10^9 esporas viables por Hectárea.

La aplicación del producto se hizo según los datos obtenidos en los conteos, más la observación visual de plantación, sobre la base de la población incidente de insectos y el cuadro de daños, en magnitud, por ellos ofrecido.

A las parcelas que sirvieron como testigos se les aplicó como tratamiento agua común, en la misma cantidad que a las otras parcelas, pero sin solución de esporas, tal como se observa en la Tabla V.

— T A B L A V —

Cantidad de esporas viables aplicadas por tratamiento

Tratamiento		Gramos de solución de cultivo puro		Número total de esporas viables	
Aplicación semanal	Aplicación quincenal	Dosis/parcela	Dosis/Ha.	Dosis/parcela	Dosis/Ha.
I	VI	5	500	150×10^9	15.000×10^9
II	VII	35	3.500	1.050×10^9	105.000×10^9
III	VIII	65	6.500	1.950×10^9	195.000×10^9
IV	IX	95	9.500	2.850×10^9	285.000×10^9
V (Testigo)	X (testigo)	0	0	0	0

Según la exigencia económica de plagas (larvas de **Lepidóptera** y posturas de mariposas de las mismas) se efectuaron 4 aplicaciones de la preparación bacteriana, cada 8 y 15 días (tratamientos I a V cada 8 días y tratamientos VI a X cada 15 días) de los 5 niveles (dosis) diferentes, a razón de 2 litros de suspensión en agua por parcela (200 lts./Ha.), tal como figura en la Tabla VI.

Antes de la primera aplicación, y para determinarla, se observó minuciosamente la plantación hasta notar la primera aparición de plagas, realizando conteos masales a partir de entonces, hasta encontrar una población cuyo nivel hiciera necesaria la primera aplicación. Los conteos no masales sino individuales (un conteo en cada parcela correspondiente a cada uno de los tratamientos), se efectuaron inmediatamente antes de cada aplicación y a los 3 (72 horas), 8 y 15 días después de cada aplicación, tal como puede observarse en la Tabla VI.

— T A B L A VI —

**Fechas de aplicación de los tratamientos y de conteo de plagas
en cada una de las parcelas respectivas**

Fecha		Aplicación		Conteo de plagas	
Tratamientos	Nº	día	Nº	día	
I a X	1	19 - VII - 63	1	19 - VII - 63	
			2	22 - VII - 63	
I a V	2	26 - VII - 63	3	26 - VII - 63	
			4	29 - VII - 63	
I a X	3	2 - VIII - 63	5	2 - VIII - 63	
			6	5 - VIII - 63	
..... (*)	7	9 - VIII - 63	
			8	12 - VIII - 63	
I a X	4	16 - VIII - 63	9	16 - VIII - 63	
			10	19 - VIII - 63	

(*) No fué necesaria aplicación alguna porque según conteo hubo nivel sub-económico de población de plagas.

Dichos conteos, anteriores y posteriores a cada aplicación, se hicieron con el objeto de tener una base comparativa del porcentaje de larvas muertas por el posible efecto del bacilo, en las diferentes poblaciones, bajo condiciones de campo. En los conteos se incluían larvas de Lepidópteros y posturas de éstas, y la observación minuciosa del estado de desarrollo ("instar") de las larvas y edad de las posturas (reciente o avanzada). Se observó también el estado de los órganos vegetativos de las plantas y el daño causado en ella por las plagas. Dichos conteos y observaciones se realizaron en plantas escogidas al azar dentro de cada parcela, en un equivalente numérico de 500 matas por Hectárea, haciendo las anotaciones del caso en hojas de campo diseñadas especialmente, para llevar así la ficha de cada parcela y poder así notar el efecto del tratamiento y de la frecuencia correspondiente.

La última aplicación la determinó el estado de desarrollo de la plantación, al acercarse la maduración de la misma, la cual coincidió con la semana inmediatamente anterior a la iniciación de la defoliación. Después de iniciada la defoliación (a los 12 días, más o menos) se llevó a cabo un conteo de hojas promedio por rama, en plantas escogidas al azar dentro de cada parcela, en un equivalente numérico de 600 matas por Hectárea, con el fin de tener base comparativa del posible efecto fitotóxico del producto comercial empleado, no debido al microorganismo sino a los adyuvantes y materiales inertes de aquel.

Al recolectar la cosecha, así también como al hacer conteos de hojas por rama, solo se tuvieron en cuenta los tres surcos centrales de cada parcela (corrección de campo). El cosechar y pesar la pro-

ducción por parcela se hizo con el fin de hacer comparación económica del control entomológico en la producción y la relación económica entre ellas.

Con los datos obtenidos sobre el desarrollo general de las plantas se calificaron individualmente las mismas, su grado de defoliación, su aspecto general y el posible efecto fitotóxico del producto insecticida usado, como producto comercial, no en sí como suspensión de la bacteria sino en cuanto a los aditivos usados en la preparación de dicho producto. Una vez con los datos sobre la producción por parcela se relacionaron éstos con la efectividad insecticida, según el tratamiento empleado, y su posible efecto en un adecuado control de plagas y sobre la producción de la cosecha.

Se efectuaron determinaciones para larvas de *Alabama argillacea* Hbn., *Heliothis virescens* F., *Bucculatrix thurbiella* Busk. y *Sacadodes pyralis* Dyar. por haber sido las únicas que se presentaron con carácter de plagas del algodónero (*Gossypium hirsutum* L.).

Procediendo de acuerdo al método de conteo del número de larvas, de las plagas en cuestión, se efectuaron diferentes cuentas conforme al estado del huésped (planta de algodónero) y al tamaño de la muestra que hubiera podido tomarse. Así, en el periodo comprendido entre la época de siembra y la época de floración se contó el número de cada una de ellas, en proporción de 500 plantas por hectárea, por cada tratamiento, método que resultó algo laborioso por el número de la muestra tomada en relación con el número total de parcelas del experimento, cada una con distinto tratamiento (teniendo en cuenta que se trataba de nueve, contando cada una con tres replicaciones) lo cual se juzgó como adecuadamente indicado para dar una idea clara del grado de infestación.

En el periodo comprendido entre floración y cosecha final se realizaron diferentes conteos de plagas pertenecientes al Orden *Lepidoptera*, de hojas y de rendimiento. Por medio de los datos mencionados se valoró al insecticida.

En los conteos de plagas, posteriores a las aplicaciones del producto empleado (Thuricide 90-T), se observaba el estado de desarrollo de las larvas, su apariencia o aspecto microscópico, su actividad, color natural y brillo, además del cuadro de daños en las plantas.

Los cadáveres de larvas, rescatados de la plantación, eran de inmediato transportadas al Laboratorio y una vez allí se procedía a verificar si en realidad la causa de la enfermedad y muerte de dichas larvas era debida al efecto patógeno de la bacteria en prueba "*Bacillus thuringiensis* Berl". Las pruebas de verificación se realizaron para cada una de las plagas (de cada género colectado) y para cada ocasión que eran hallados en el campo plantado, para los fines de este experimento, e individualmente.

Vale la pena anotar que en las parcelas testigos (en las cuales no se aplicó el microbio) no se llegó a presentar la ocurrencia de lar-

vas con síntomas de la enfermedad.

Una vez en el laboratorio las larvas-cadáveres se tomaban individualmente con una pinza debidamente esterilizada y se lavaban exteriormente con una solución fungicida, que para el caso fué el Bicloruro de Mercurio 1:1000, por espacio no mayor de tres minutos ni menor de dos. Esta operación se efectuaba con el fin de eliminar toda clase de microorganismos que bien pudieran encontrarse sobre el integumento de las larvas y se realizaba dentro de una pequeña Cámara de inoculación, debidamente esterilizada, para evitar posterior contaminación exterior con microorganismos que hubiesen podido encontrarse en el interior de dicha cámara.

Posterior a la desinfección externa se procedió al lavado de los cuerpos de las larvas con agua esterilizada para luego abrirlas con la ayuda de un bisturí y extraer entonces el contenido intestinal que de inmediato debía de ser transportado hasta el interior de un pequeño tubo de ensayo, que contenía 4 c.c. de agua esterilizada, para proceder a una completa maceración y lograr así una suspensión de dicho material.

De acuerdo con la literatura consultada y por experiencias anteriores, uno de los mejores métodos de cultivo artificial de la Bacteria entomófaga *Bacillus thuringiensis* Berl., si acaso no el óptimo, lo constituye el medio compuesto por Zanahoria-Destrosa-Agar (ZDA) y a una temperatura de 35°C. "in vitro". Por tal motivo se empleó este mismo método, para proceder a verter la suspensión del contenido intestinal de las larvas a probar, sobre la superficie del medio artificial (ZDA) que cubría el fondo de las cajas de Petri empleadas para tal fin. Para cada caso se realizaron 5 replicaciones. Posteriormente se sellaron las cajas de Petri con vaselina y cinta transparente, para luego ser sacados de la cámara de inoculación esterilizada y colocarse en incubadora a 35°C. de temperatura. Los testigos lo constituían cajas de Petri, con las mismas características anotadas, en las cuales se habían inoculado el microbio mediante suspensiones del material puro empleado (Thuricide 90-T).

IV.— RESULTADOS Y DISCUSION

Entre las plagas (larvas pertenecientes al Orden Lepidóptera) que atacaron con carácter de tal al algodónero, durante el desarrollo del presente experimento de campo, a lo largo del período vegetativo de la plantación de dicha fibra, se mostraron marcadamente cuatro que hacen parte de las más tradicionalmente nocivas, a saber: el "gusano medidor de la hoja del algodónero" (*Alabama argillacea* Hbn.), el "gusano perforador de la bellota", llamado también "gusano bellotero" o "gusano de la cápsula" (*Heliothis virescens* F.), el "gusano perforador de las hojas", o "minador de las hojas" (*Bucculatrix thurberiella* Busk.) y por último el "gusano rosado colombiano", llamado también "falso gusano rosado" o "gusano rosado grande" (*Sacadodes pyralis* Dyar.).

Cabe anotar que otras larvas de Lepidópteros que comunmente

se presentan en esta zona algodonera del país, como son el "gusano tierrero" o "trozador" (*Agrotis ypsilon* Rott.), el "gusano cogollero del maíz" (*Laphygma frugiperda* (A.&S.) y el "gusano egipcio del algodonero" (*Prodenia* spp.), conocido también como "rasputín", no se manifestaron durante la cosecha en que se realizó este experimento de campo y como razón que cae en virtud de su propio peso, solamente se observó el comportamiento de las cuatro plagas anotadas inicialmente a la acción insecticida de la bacteria, exclusivamente entomófaga, denominada "*Bacillus thuringiensis* Berl." (bajo condiciones de campo), su efecto como tal en el desarrollo general de las plantas y su manifestación final en la producción, en cuanto al aspecto económico se refiere.

Para una mejor y más clara interpretación de los resultados obtenidos a partir de los datos estadísticos recolectados, como son, conteos de las plagas presentes, hojas presentes a mediados de la defoliación natural de las plantas y producción de fibra con semilla, en cada una de las parcelas, para cada uno de los tratamientos comparados, en dos frecuencias de aplicación (cada ocho y cada quince días respectivamente), se creyó menester el subdividir el presente capítulo en cuatro partes que cobijen cada una su aspecto específico.

A. Efecto de la preparación bacterial sobre la población de plagas.

Al llevar a cabo los conteos de plagas, muy comunmente se encontraron sobre el follaje y ramas de las plantas, como también sobre la superficie del terreno, cadáveres de las larvas en observación. Algunas de dichas larvas-cadáveres fueron fácil presa de predadores, entre los cuales se podrían citar dos insectos del Orden *Hymenóptera* como la avispa determinada comunmente como "avispa alpargate" o "casera" (*Polistes canadensis*) y la "avispa de panelería" (*Polybia nigra*).

Los cadáveres de las larvas y las larvas que se notaban enfermas fueron observadas en cuanto a su apariencia general, notándose en ellas síntomas característicos similares en las diferentes especies.

Entre los síntomas comunes observados en las larvas fué de primordial significancia la pérdida del brillo normal del color del cuerpo, dando aspecto de palidez y opacidad; fué común observar también cierta pesadez e inactividad en los movimientos y en el ánimo de comer (pérdida del apetito), como también al encontrar manifestaciones acuosas de rejugitamientos y de diarrea, a cada extremo de la larva enferma. También pudo observarse marcada pérdida de turgencia y consecuente flacidez del cuerpo, como resultado lógico de la deshidratación debida (indudablemente) el rejugitamiento y a la diarrea. Por último, se notó debilidad y pesadez, tal vez debida al cese de ingerir alimento.

Vale la pena anotar que en las parcelas testigos (en las cuales no se aplicó el microbio) no se llegó a presentar la ocurrencia de larvas con síntomas de la enfermedad.

Las cajas de Petri, una vez instaladas en la estufa eran obser-

vadas cada 24 horas. A las 24 horas de estar a una temperatura constante (35°C.) empezaron a aparecer las primeras colonias bacteriales sobre la superficie del medio de cultivo artificial, para proliferar notablemente de los 12 a 15 días posteriores a la primera observación, cubriendo casi toda el área.

Normalmente sobre la superficie del medio dichas colonias se presentan aplanadas, con bordes muy delgados e irregulares pero de preferencia lobulados. Son grandes y medianamente refringentes, transmitiendo una especie de luz crema-clara a opaca. La luz artificial reflejada se presenta de apariencia pardo clara. Da también la vaga apariencia de que licúan ligeramente el medio, por la refringencia de la luz diurna difusa.

En la figura 4, se puede observar el desarrollo de colonias de *Bacillus thuringiensis* Berliner obtenidos sobre ZDA, a partir de suspensiones de material puro del producto comercial empleado para los fines del presente experimento. La ilustración es representativa, notándose claramente el desarrollo de las colonias bacteriales a los ocho días de inoculado el medio artificial de cultivo y bajo una con-

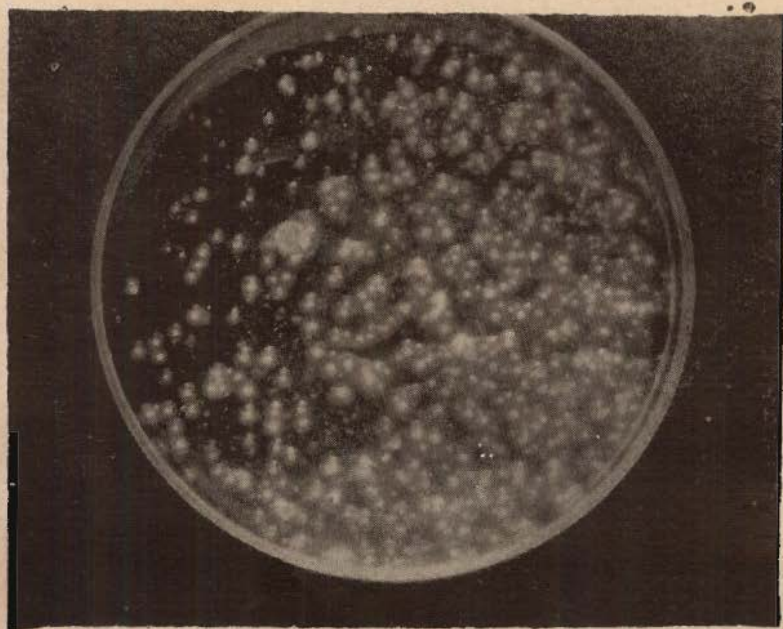


FIGURA 4. Fotografía representativa de colonias de *Bacillus thuringiensis* Berliner obtenidas sobre un medio artificial de cultivo compuesto por Zanahoria-Dextrosa-Agar (ZDA), a partir de suspensión de material puro del producto comercial empleado para los fines del experimento (Thuricide 90-T). Puede notarse claramente el desarrollo de las colonias a los ocho días de inoculado el medio artificial de cultivo y bajo una condición de temperatura constante de 35°C., en estufa eléctrica.

Foto: A. Figueroa P.

dición de temperatura constante de 35°C., en estufa eléctrica.

En cuanto a la aparición de colonias de *Bacillus thuringiensis* Berliner se refiere (y por lo tanto a que la causa de la muerte de larvas encontradas en dicho estado, en el campo del experimento, era la producida por la presencia nociva de la bacteria y por su efecto), se constató que para *Alabama*, *Heliothis* y *Bucculatrix* dió resultados positivos para todos los casos, siendo el desarrollo de las colonias bacteriales muy similares entre sí, al ser comparados estos cultivos con las de los testigos, (que las constituían cultivos de material puro), en sus características y su dispensión sobre la superficie del medio. Esto puede observarse y compararse fácilmente en las figuras N° 4, 5 y 6.

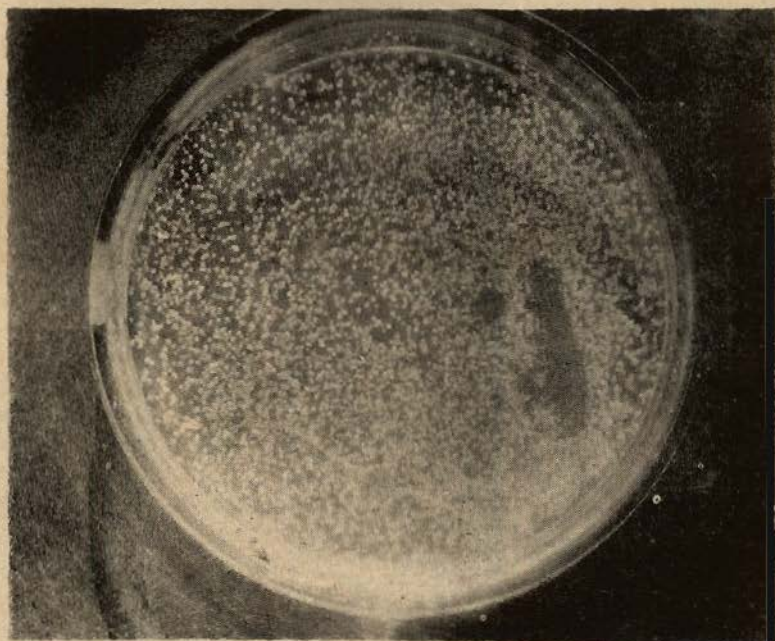


FIGURA 5. Fotografía representativa de colonias de *Bacillus thuringiensis*

Berliner obtenidas sobre un medio artificial de cultivo compuesto por Zanahoria-Dextrosa-Agar (ZDA), a partir de suspensión del contenido intestinal de larvas muertas del "gusano medidor de la hoja del algodón" *Alabama argillacea* (Hbn.) como consecuencia de enfermedad causada por dicho microorganismo. Claramente puede observarse el desarrollo de las colonias a los ocho días de inoculado el medio artificial de cultivo y bajo una condición de temperatura constante de 35°C, en estufa eléctrica. Esta fotografía también podría ser representativa para las colonias obtenidas en *Heliothis* spp. ya que la similitud es notablemente marcada.

Foto: A. Figueroa P.

No obstante, para el "gusano rosado", *Sacadoses pyralis* Dyar, no dió resultado positivo de la enfermedad

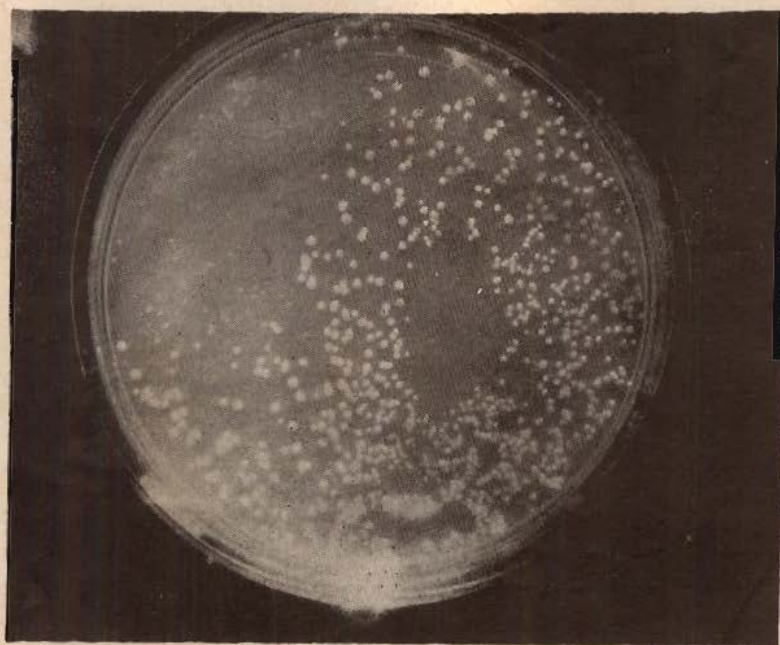


FIGURA 6. Desarrollo representativo de colonias de *Bacillus thuringiensis*

Berliner obtenidas sobre ZDA, a partir de suspensión del contenido intestinal de las larvas muertas por efecto de dicho microorganismo en "el perforador de la hoja del algodón", *Bucculatrix thurberiella* Busk. Puede notarse, al compararse con las fotografías inmediatamente precedentes, que el desarrollo de las colonias es idéntico, aunque más separadas entre sí. Esta ilustración enseña las colonias a los ocho días de incubación y a temperatura constante de 35°C. en estufa eléctrica, como para los demás casos anteriores.

Foto: A. Figueroa P.

sino para un solo caso. Otro caso se presentó en una larva encontrada muerta cuando trataba de penetrar en la cápsula a través de la galería practicada por ella, estando el cadáver con aproximadamente más de 1/3 de su cuerpo dentro de aquella. Aunque en el campo (parcelas) experimental se presentó el caso de que se encontraron larvas muertas de *Sacadodes pyralis* Dyar., con síntomas de enfermedad, puede anotarse que dicho deceso no fué debido primordialmente a causa del efecto patógeno del *Bacillus thuringiensis* sino al de otro microbio diferente, del cual se hablará detalladamente más adelante.

Como explicación a lo anterior podría anotarse que tal vez a causa de que el producto asperjado queda adherido sobre la superficie de las partes aéreas de la planta de algodón y de manera estática, las larvas quedan a la acción de la bacteria toda vez que aquellas no movilizan la parte externa que es donde factiblemen-

le adquieren la enfermedad; una vez en el interior de la planta o de alguno de sus órganos, las larvas se encuentran a salvo del efecto mortal del bacilo que se puso a prueba.

La figura 5 aunque enseña las colonias representativas de *Bacillus thuringiensis* Berliner obtenida a partir de larvas muertas a causa de dicho microbio en *Alabama argillacea* (Hbn.), pudo notarse que bien podría serlo también para las obtenidas en *Heliothis spp.*, ya que su similitud es notablemente marcada para ambas. Ya en la figura 6 puede observarse el desarrollo representativo de colonias del bacilo en cuestión, obtenidas a partir de larvas del "perforador de la hoja del algodonero" (*Bacculatrix thurberiella* Busk.). Puede notarse a simple vista que aunque las colonias presentan las mismas características que en los demás casos, éstas se encuentran más distanciadas entre sí. Esto es tal vez debido a que por el tamaño de la larva la suspensión del contenido intestinal de la misma es menos concentrada. No obstante lo anotado, posteriormente (4 a 5 semanas) a la incubación y permanencia a una temperatura constante de 35°C. presenta ya en el medio artificial características similares a las ofrecidas por los otros casos de medios con suspensiones del contenido intestinal de larvas de otras especies muertas a consecuencia de dicho microentofagocito.

Por otra parte, específicamente hablando y de acuerdo con los resultados obtenidos mediante análisis de variancia, puede decirse qué efecto se produjo en la población de cada una de las plagas que se trataron de controlar biológicamente.

I. Efecto sobre *Alabama argillacea* Hbn.— Al constatar (mediante los datos recopilados en el campo experimental, después de efectuar el debido análisis de variancia) si la Prueba de Significancia era manifiesta o no, se encontró que ésta se tradujo como altamente significativa, es decir, tanto para niveles del 95 como del 99%. En esta comparación se siguió el método descrito por Snedecor (70).

Tomando como base este dato, altamente significativo, se procedió a realizar la Prueba de Duncan de las comparaciones múltiples, descrita por Federer (18) y Fisher (19, 20).

Como puede apreciarse en la Tabla VII, el control de larvas de *Alabama* fué efectivo mediante el uso de la bacteria entomófaga *Bacillus thuringiensis* Berl. bajo condiciones de campo. Al efectuar los adecuados análisis de variancia los resultados estadísticos demostraron claramente que el tratamiento Testigo se mostró significativamente diferente a los tratamientos restantes.

En la Tabla VII puede apreciarse el número promedio de larvas (media: \bar{x}) que permanecieron vivas después de los diferentes tratamientos, relacionada con las del Testigo. A pesar de que algunas larvas mostraban síntomas de enfermedad, pero a bajo grado, se contabilizaron como vivas por ser difícil asegurar si estaban sanas o no. Los datos de los Tratamientos Testigos fueron promediados a uno solo (al Tratamiento IX, modificándose un poco la Tabla V a la Tabla

— T A B L A VII —

Efectividad de la bacteria entomófaga *Bacillus thuringiensis* Berliner en el control del *Alabama argillacea* Hbn. en el Algodonero (*Gossypium hirsutum* L.) bajo condiciones de campo, basada en el número promedio de larvas por planta halladas en cada tratamiento.

Parcela Nº	Tratamiento	Dosis(*)	Larvas vivas	(% de abatimiento)
		Kgs./Ha.)	— por planta: X	
1	I	0,5 (**)	5,13	34,23 %
2	II	3,5 (**)	3,53	54,74 %
3	III	6,5 (**)	2,60	66,66 %
4	IV	9,5 (**)	1,93	75,25 %
5	V	0,5 (*)	5,00	35,89 %
6	VI	3,5 (*)	4,43	43,20 %
7	VII	6,5 (*)	3,27	58,07 %
8	VIII	9,5 (*)	2,53	67,56 %
9	IX (Testigo)	0	7,80	0 %

(*) Suspensión de cultivo puro. Concentración: 30×10^9 esporas viables/gr.

(**) Aplicación semanal.

(*) Aplicación quincenal.

VII, tal como puede apreciarse).

Los cálculos estadísticos se realizaron para niveles de significancia tanto del 95 como del 99% en las pruebas de las comparaciones múltiples entre los diferentes grupos de tratamientos (Prueba de Duncan). Las diferencias entre tratamientos fueron significativas, lo cual puede apreciarse claramente en la representación gráfica de la figura 7, ya que ésta sintetiza los resultados finales del cálculo estadístico, notándose objetivamente las diferencias anotadas. De acuerdo con Federer (18), los tratamientos comprendidos dentro de un mismo corchete (llave) se consideran iguales, los no incluidos bajo una misma llave son considerados diferentes en su efecto.

Por otra parte, los resultados estadísticos demuestran claramente que el tratamiento Testigo se manifestó significativamente diferente a los ocho tratamientos restantes. En efecto, si se observa la gráfica de la figura 7, se puede notar que el tratamiento IX (Testigo) no se encuentra incluido dentro de ningún corchete, lo cual manifiesta y corrobora lo anteriormente afirmado. También puede apreciarse en dicha gráfica que la efectividad de los tratamientos aumenta de izquierda a derecha, según su orden de eficacia en el abatimiento de larvas de *Alabama*. Los tratamientos IV, VIII, III, VII y II se consideran iguales entre sí, tanto para el 95 como para el 99% (coincidentalmente). Estos 5 tratamientos y en el orden anotado fueron los más eficaces; estadísticamente significativos (altamente) con relación a los demás.

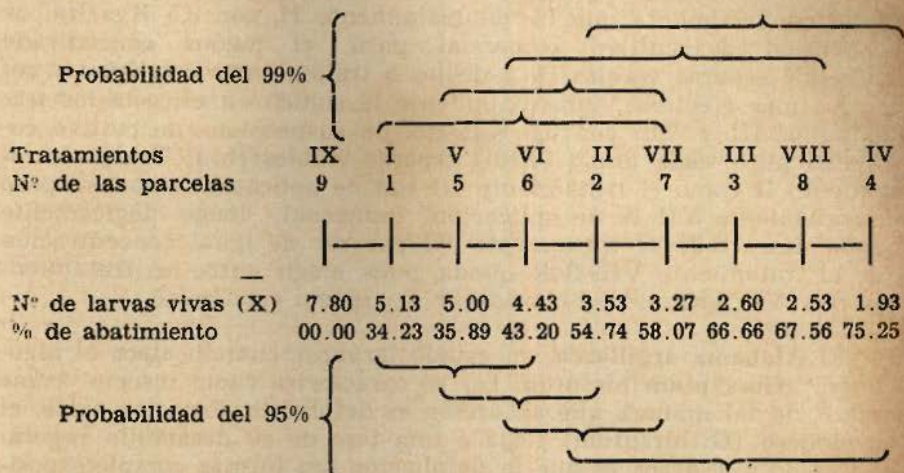


FIGURA 7. Representación gráfica, para *Alabama argillacea* Hbn., de las diferencias significativas existentes entre los distintos tratamientos aplicados, con base en el promedio (media: X) de larvas vivas por planta, para niveles de significancia del 95 y 99% (*).

tos aplicados, con base en el promedio (media: X) de larvas vivas por planta, para niveles de significancia del 95 y 99% (*).

(*) De acuerdo con Federer (18), estadísticamente los tratamientos incluidos dentro de una misma llave se consideran iguales entre sí. Los tratamientos no agrupados dentro de una misma llave son considerados como diferentes entre sí por su efecto. Así, el tratamiento IX es significativamente diferente a los ocho tratamientos restantes; el tratamiento I es diferente de los tratamientos IX, III, VIII y IV, y así sucesivamente.

Como estadísticamente está establecido que los 5 tratamientos incluidos en la llave localizada al final del margen derecho de la figura 7 son iguales entre sí, tiene que pasarse a otro aspecto consistente en determinar cuál de éstos es el óptimo. En realidad lo que se desea saber es qué cantidad de producto se requiere y cuál es la frecuencia con que debe aplicarse sobre la plantación atacada por larvas de *Alabama argillacea* Hbn., en este caso. Puesto que tanto la preparación bacteriana a base de *Bacillus thuringiensis* Berl. como la aplicación de ésta al campo plagado cuestan tiempo, trabajo y dinero, es elemental medida el elegir el tratamiento que requiera mínimas concentraciones y el mayor número posible de días sin recurrir a él, es decir menos frecuente.

Por medio de los cálculos estadísticos se pudo determinar que los tratamientos IV, VIII, III, VII y II fueron los más efectivos en el control del *Alabama argillacea* Hbn. y en el orden descrito de mayor a menor, para niveles de significancia del 95 y del 99% (por coincidencia) tal como pudo apreciarse en la Tabla VII y en la figura 7. Pero como es de conocimiento común la igualdad de estos tratamientos entre sí, por encontrarse agrupados bajo la misma llave, sólo resta elegir preferentemente al tratamiento menos concentrado y de menos frecuencia de aplicación. Al estudiarse la Tabla VII pudo

deducirse fácilmente que fué el tratamiento II, con 3,5 Kgs/Ha. de suspensión de cultivo comercial puro, el menos concentrado (105×10^{12} esporas viables/Ha.) de los 5 tratamientos catalogados como los más efectivos; inmediatamente le siguen en eficacia los tratamientos III y VII, con 6,5 Kgs/Ha. de suspensión de cultivo comercial puro, cada uno (19×10^{12} esporas viables/Ha.). Tanto el tratamiento II como el tratamiento III son de aplicación semanal, pero el tratamiento VII es de aplicación quincenal, luego lógicamente queda descartado el tratamiento III por ser de igual concentración que el tratamiento VII. Sólo queda, pues, elegir entre los tratamientos II y VII, entrando a considerar el aspecto económico.

El *Alabama argillacea*, en estado larvario, cuando ataca el algodónero (*Gossypium hirsutum* L.) se caracteriza como insecto "come hojas", de tal manera que su acción es defoliante. Por otra parte, el algodónero (*G. hirsutum*) llega a una fase de su desarrollo vegetativo en lo que desea es que la defoliación sea lo más completa posible a medida que se acerca la época de recolección de la fibra, ya sea por fisiología de la planta o por factores externos, o por la conjugación de ambos en forma natural o forzada. En realidad el efecto que se persigue mediante el empleo de insecticidas, cuando se presenta plaga de Alabama, es el de prevenir la defoliación prematura de las plantas, ya que dichas larvas solamente dejan sin atacar las nervaduras de las hojas.

Volviendo al caso, para la escogencia de uno de los tratamientos, II o VII, se requiere saber por cuanto tiempo se desea prevenir la defoliación forzada por parte del Alabama. Si por ejemplo se desea controlar el efecto del insecto por cuestión de una semana, lógicamente se empleará el tratamiento II; si es por 2 semanas, el tratamiento VII; si es por 3 semanas, se emplearía una vez el tratamiento VII completándose con otro del tratamiento II; así se procedería similarmente, según el caso. Cabe anotar que cuando el control de la plaga se requiere por más de una semana y según el caso se necesita usar en combinación el tratamiento II, éste es siempre complementario al tratamiento VII que es el fundamental. Esto puede apreciarse nítidamente en la Tabla VIII.

En resumen podría decirse que, para el caso del *Alabama argillacea* Hbn., el mejor tratamiento para mantener el control de una población de larvas por debajo del límite económico, según los resultados estadísticos de este experimento, vendría siendo el tratamiento VII, con 3,5 Kgs/Ha. de solución de producto comercial puro (un total de 195×10^{12} esporas viables por Hectárea) y de una frecuencia de aplicación quincenal. Según casos especiales se hace a veces necesario (económico) emplear como complemento el tratamiento II, como en los supuestos para la elaboración de la Tabla VIII.

2. Efecto sobre *Heliothis virescens* F.— El efecto del *Bacillus thuringiensis* Berl. fué significativo en larvas de *Heliothis virescens* F., no solo para nivel del 95% sino también para el 99%. Para este caso se procedió estadísticamente de la misma forma que para el caso del *Alabama argillacea* Hbn., descrito anteriormente.

— T A B L A VIII —

Tratamientos a usar según el lapso de tiempo que se quiera controlar el ataque de *Alabama argillacea* Hbn. antes de la época de la defoliación de-seada en las plantas del algodónero (*Gossypium hirsutum* L.) suponiendo un caso de ataque continuo.

Tiempo en semanas Tipo de tratamiento y N° de veces a emplearlo (*)

1	1 (II)
2	1 (VII)
3	1 (VII) + 1 (II)
4	2 (VII)
5	2 (VII) + 1 (II)
6	3 (VII)
7	3 (VII) + 1 (II)
8	4 (VII)
9	4 (VII) + 1 (II)
10	5 (VII)
11	5 (VII) + 1 (II)
12	6 (VII) (**)

(*) Los coeficientes que anteceden a los tratamientos indican el número de veces que deben repetirse seguidamente antes de proceder a la aplicación del tratamiento complementario.

(**) En la presente Tabla puede notarse claramente que el tratamiento óptimo es el VII, empleándose el tratamiento II solamente como un complemento de aquel y posterior a todas sus aplicaciones. El Tratamiento II, cuando se emplea, siempre se aplica de último.

Después de comprobar la existencia de una alta diferencia significativa entre los tratamientos se procedió, como en el caso precedente, a efectuar la prueba de comparaciones entre grupos (Prueba de Comparaciones múltiples de Duncan) procediendo de acuerdo con los métodos descritos por Federer (18) y Fisher (19, 20).

Objetivamente se pueden observar los resultados obtenidos si se estudian los datos registrados en la Tabla IX. Tal como puede notarse en dicha Tabla, la incidencia de larvas de *Heliothis virescens* F. sobre la plantación experimental conservó una población promedio baja a lo largo del período vegetativo. Por otra parte cabe afirmar que al efectuar la primera aplicación del "insecticida biológico" en prueba y a pesar de que la plantación ya sostenía un nivel presumiblemente antieconómico de larvas de *Alabama*, el *Heliothis* se presentó en ese momento únicamente en huevos de postura reciente; por ende, cuando dichos huevos eclosionaron ya el bacilo estaba presente sobre el follaje y muy posiblemente por tal razón las larvas nacidas en tal estado de cosas no sobrepasaban al 2º o 3er. estadio de desarrollo ("instar"), no alcanzando por lo general a penetrar

— T A B L A IX —

Efectividad de la bacteria entomófaga *Bacillus thuringiensis* Berliner en el control del *Heliothis virescens* F. en el algodón (Gossypium hirsutum L.) bajo condiciones de campo, basada en el número promedio de larvas por

planta (media: X) halladas en cada tratamiento

Parcela Nº	Tratamiento	(Kgs/Ha.) Dosis(*)	por planta Larvas vivas	(% de abatimiento)
1	I	0,5 (**)	1,87	42,81 %
2	II	3,5 (**)	1,73	47,09 %
3	III	6,5 (**)	0,73	77,68 %
4	IV	9,5 (**)	0,80	75,64 %
5	V	0,5 (*)	2,00	38,84 %
6	VI	3,5 (*)	1,73	47,09 %
7	VII	6,5 (*)	0,70	78,59 %
8	VIII	9,5 (*)	0,97	70,34 %
9	IX (Testigo)	0	3,27	00,00 %

(*) Suspensión de cultivo comercial puro. Concentración: 3×10^9 esporas viables por gramo.

(**) Aplicación semanal.

(*) Aplicación quincenal.

dentro de los botones y cápsulas (*).

Tal como puede constatarse en la figura 8, los resultados estadísticos demostraron claramente que el tratamiento Testigo fué significativamente diferente a los ocho tratamientos restantes y que tanto para el 95% como para el 99%, al comparar los grupos entre sí, los tratamientos I, II, V y VI se consideran iguales entre sí y éstos altamente significativos en su diferencia con los demás. Entre los tratamientos altamente significativos sobresalieron el VII y el III, frecuencias de aplicación quincenal y semanal, respectivamente, y de igual dosificación (6,5 Kgs/Ha.). Por lógica se dedujo entonces que, si tener idéntica dosificación, había de preferirse al que tuviera que aplicarse menos frecuentemente, o sea el tratamiento VII. Aún más, según los resultados, se logró mayor abatimiento (78,59%) con el tratamiento VII que con el tratamiento III.

En resumen, el tratamiento VII fué el que manifestó mayor diferencia significativa al comparársele con el Testigo y demás tratamientos, siguiéndole en eficacia, en su orden de mayor o menor, los tratamientos III, IV y VIII. Si se comparan estos resultados con los obtenidos para *Alabama argillacea* Hbn. puede notarse que a pesar

(*) Muchas veces se notó que las cápsulas eran ruñidas levemente. En los Testigos se encontraron larvas, en avanzado estado de desarrollo, dentro de las cápsulas (Nota del Autor).

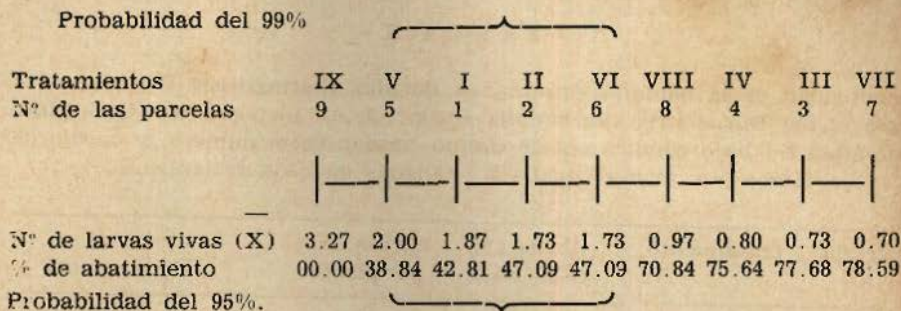


FIGURA 8. Representación gráfica, para *Heliothis virescens* F., de las diferencias significativas existentes entre los distintos tratamientos aplicados, con base en el promedio de larvas vivas por planta (media: X)

para niveles de significancia del 95 y del 99% (*).

(*) De acuerdo con Federer (18), estadísticamente se considera que los tratamientos incluidos dentro de una misma llave son de efectos similares. Los tratamientos no agrupados dentro de una misma llave son considerados como diferentes. En este caso, según podemos observar en la gráfica, los tratamientos V, I, II y VI se consideran iguales entre sí al comparar su efecto con los demás; el tratamiento IX se considera altamente diferente a los otros tratamientos restantes; el tratamiento VII es significativamente diferente al tratamiento Testigo y a los agrupados y no agrupados; etc.

de que la población de larvas fué menor para *Heliothis virescens* F. el abatimiento fué mayor y el nivel de la población se conservó más bajo que en aquel (ver Tabla IX).

3. Efecto sobre *Bucculatrix thurberiella* Busk.— Los tratamientos a base de *Bacillus thuringiensis* Berl., como insecticida biológico contra larvas de *Bucculatrix thurberiella* Busk., se manifestaron como altamente significativos en cuanto a su diferente efecto en la población existente, tal como puede observarse en la Tabla X y en la figura 9. En la parte estadística se procedió de manera similar a lo referente con Alabama y *Heliothis*.

El abatimiento de la población se manifestó en mayor grado que para los dos casos considerados anteriormente, tal como puede apreciarse en la Tabla X. A pesar de que el nivel general de la población no se cataloga como bajo, las larvas del "minador de la hoja del algodón" *Bucculatrix thurberiella* Busk. no se notaron muy activas. Por otra parte, megascópicamente no se observó alto grado de injuria del insecto en el follaje de la plantación, en general.

Al efectuar la prueba de las comparaciones entre los grupos de tratamientos (Prueba de Duncan), siguiendo el procedimiento descrito por Federer (18) y Fisher (19,20), se obtuvieron algunos datos que sirvieron como base para elaborar la figura 9, en la cual puede apreciarse las relaciones entre tratamientos. Como bien puede obser-

— T A B L A X —

Efectividad de la bacteria entomófaga *Bacillus thuringiensis* Berliner en el control del *Bucculatrix thurberiella* Busk. en el algodónero (*Gossypium hirsutum* L.) bajo condiciones de campo, basado en el número promedio de larvas por planta (media:X) halladas en cada tratamiento.

Parcela N°	Tratamiento	Dosis (*) (Kgs/Ha.)	Larvas vivas por planta	(% de abatimiento)
1	I	0,5 (**)	16,67	54,54 %
2	II	3,5 (**)	12,00	67,28 %
3	III	6,5 (**)	6,00	83,64 %
4	IV	9,5 (**)	6,00	83,64 %
5	V	0,5 (°)	16,67	54,54 %
6	VI	3,5 (°)	14,00	61,82 %
7	VII	6,5 (°)	8,00	78,18 %
8	VIII	9,5 (°)	8,00	78,18 %
9	IX (Testigo)	0	36,67	00,00 %

(*) Suspensión de cultivo puro. Concentración: 30×10^9 esporas viables/gr.

(**) Aplicación semanal.

(°) Aplicación quincenal.

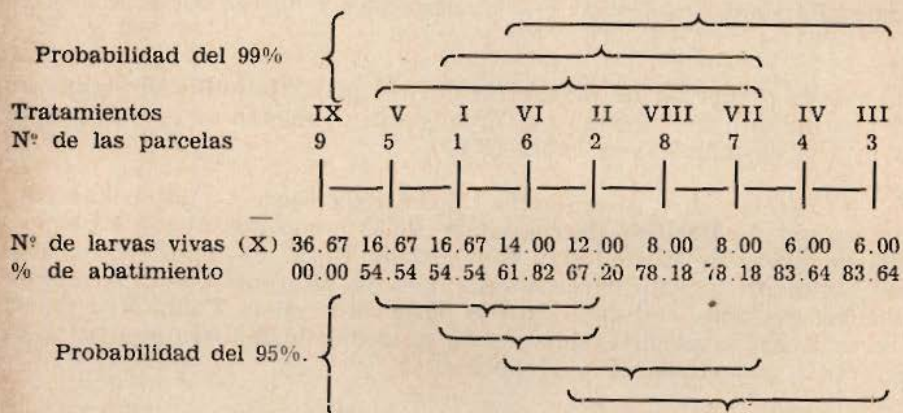


FIGURA 9. Representación gráfica, para *Bucculatrix thurberiella* Busk., de las diferencias significativas existentes entre los distintos tratamientos aplicados, con base en el promedio general de larvas vivas halladas por planta (media: X) para niveles de significancia del 95 y del 99% (*).

(*) Como ya se ha dicho para los casos anteriores, estadísticamente se considera que los tratamientos incluidos en grupos cobijados por una misma llave son de efectos similares entre sí y que los tratamientos no agrupados dentro de una misma llave se consideran como diferentes. Como podemos observar en la gráfica, los tratamientos VI, II, VIII, VII, IV y III se consideran iguales entre sí por su efecto.

varse, los resultados estadísticos demostraron claramente que el tratamiento testigo fué significativamente diferente de los tratamientos restantes. También puede observarse en dicha figura, teniendo en cuenta el máximo valor estadístico (99%), que los tratamientos III, IV, VII, VIII, II y VI se consideran iguales entre si, siendo los más altamente significativos, diferentes al Testigo y a los demás tratamientos no mencionados. Al completar los cálculos se dedujo que con el tratamiento VI se obtenía un control más económico por contener, entre los altamente significativos, el menor número total de esporas viables (3,5 Kgs/Ha.: 105-1012 esporas viables por hectárea) y poseer menor frecuencia de aplicación (quincenal).

4. **Efecto sobre *Sacadodes pyralis* Dyar.**— Para el caso del gusano rosado colombiano, *Sacadodes pyralis* Dyar., los resultados estadísticos se manifestaron negativos en cuanto a la existencia de diferencias significativas entre los efectos de cada uno de los tratamientos. En otras palabras, estadísticamente no hubo diferencia significativa entre las distintas concentraciones de esporas viables de la bacteria entomófaga *Bacillus thuringiensis* Berliner, ya fuera que se aplicaran semanal o quincenalmente. Por otra parte cabe anotar que aunque se presentaron casos de muerte por enfermedad microbiana no puede decirse que se debió únicamente a causa del *Bacillus thuringiensis* sino a otra forma hasta ahora no conocida en nuestro medio.

A pesar de que estadísticamente no se puede considerar para este caso el efecto insecticida del *B. thuringiensis*, podríanse si discutir algunos puntos observados durante la prueba experimental. Por una parte podría decirse que aunque la población no fué muy crecida en las parcelas experimentales (salvo la parcela Testigo) pudo notarse algún efecto limitante de parte de la bacteria. El mayor promedio de larvas por planta fué de 0,8 (el tratamiento II), exceptuando al IX (Testigo), con 12,4 larvas de *Sacadodes pyralis* por planta. Así pues, el ataque se consideró sub-económica. Este aspecto es de importancia, ya que al momento del conteo, al notarse erodación en las cápsulas se procedía paso seguido a abrir el casco invadido para conocer la identidad del organismo allí alojado. Como sería lógico el pensar que esta operación tendría incidencia sobre la producción de fibra, es preciso recordar que el promedio general de la población fué muy bajo y, por lo tanto, bajo el número de cápsulas discretamente abiertas.

En resumen podría decirse que para el caso de *Sacadodes pyralis* Dyar. ("falso gusano rosado" o "gusano rosado colombiano") no hubo diferencias significativas, considerándolo estadísticamente, entre los diferentes tratamientos a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner aunque sí se notaron diferencias entre los niveles de población de dichas larvas en las parcelas tratadas. En general, el ataque de larvas de "gusano rosado colombiano" se conservó bajo en cuanto a su incidencia sobre la plantación.

B. **Nueva forma microbiológica de efecto letal al gusano rosado colombiano *Sacadodes pyralis* Dyar.**

Como se anotó anteriormente, sólo se encontró un caso en el

que la muerte de las larvas de *Sacadodes pyralis* Dyar. se debiera a causa de la enfermedad producida por el *Bacillus thuringiensis* Berl. bajo condiciones de campo. Igualmente se anotó que aunque en las parcelas con los tratamientos testigos se encontraron niveles de población de dichas larvas, muy superiores a los de los demás tratamientos, no podría asegurarse que el efecto limitante de dicha población fuera debida exclusivamente a la influencia del *B. thuringiensis* sino a otros organismos, posiblemente también microbiales.

El gusano rosado colombiano (*Sacadodes pyralis*) una vez dentro de las cápsulas del algodónero (*G. hirsutum*) queda libre de la amenaza del bacilo, ya que éste queda adherido a la superficie de aquella y de manera estática, escapando así las larvas a su acción toda vez que no ingieran de la parte externa que es donde adquieren el microorganismo.

Durante la ejecución de los conteos de plagas en la plantación experimental se encontraron, en diferentes fechas, larvas de gusano rosado colombiano (*S. pyralis*) muertas a causa de la enfermedad. Al llegar los cadáveres al laboratorio, para verificar si la causa primaria del deceso la constituía el *B. thuringiensis*, se constató que para uno de los casos resultó positivo y para los tres casos restantes negativo(*). Cabe anotar que aunque los síntomas eran característicos de muerte inducida por enfermedad, éstos fueron un poco diferentes para los tres casos en que resultaron negativos al comparárseles con los del *B. thuringiensis*, notándose además en los negativos un fétido y penetrante olor al olfatearlos de cerca.

Con todos los cadáveres se procedió de la misma manera en cuanto a las siembras del contenido intestinal de los mismos sobre medio artificial de cultivo (tal como fué descrito en el génesis de este capítulo).

De las siembras del contenido intestinal de las larvas (muertas por enfermedad, pero no por la causada por el *B. thuringiensis*) se obtuvieron, para los tres casos enumerados, 4 clases de colonias microbiales características y sobresalientes. Estas se aislaron en tubos de ensayo y se procedió con cada una de ellas según los postulados de Koch.

Después de aisladas individualmente se reaislaron sucesivamente hasta obtener cultivos ópticamente puros. Posteriormente se procedió a suministrar dichos microorganismos a larvas sanas y por separado. Para ésto se tomaron cápsulas sanas de algodóneros vecinos, con un pequeño trozo de la rama a que estaban insertados (unos 5 cms.), procediéndose luego a inmergir el extremo polar inferior del trozo de rama en solución nutritiva (solución hidropónica a base de fórmula compuesta completa "Hyponex") a las que posteriormente se les asperjaba, con un atomizador de mano esterilizado, suspensiones acuosas de cada uno de los aislamientos obtenidos. Paso seguido se introducían las cápsulas en solución dentro de un Beaker gran-

(*) Una de estas larvas cadáveres fué rescatada de una parcela Testigo.

de, se colocaba una larva en cada una y se tapaba la boca del recipiente con gaza.

De las distintas colonias microbiales obtenidas aisladamente y así probadas, solamente para un caso se encontró efecto letal al gusano rosado colombiano (*S. pyralis*). De cada aislamiento se hicieron pruebas (4 replicaciones para cada colonia específica) de patogenicidad, presentándose para una de ellas el caso de muerte para 2 larvas a las 72 horas, aproximadamente, de estar sobre las cápsulas tratadas, mostrando característicos síntomas de enfermedad y desarrollando, entre otros, la fetidez. Al proceder a inocular con el contenido intestinal de estos cadáveres en nuevas cajas de Petri con medio de cultivo artificial (ZDA) se observó que aparecían, aproximadamente a las 48 horas, colonias microbiales de idénticas características a las obtenidas para las larvas originalmente encontradas muertas en la plantación experimental. También aparecieron sobre el medio otros tipos de colonias no observadas en el primer caso; éstas no se tuvieron en consideración por no interesar para el caso.

El desarrollo del microorganismo efectivo, sobre el medio de cultivo artificial, presentó cierto tipo de características individuales; entre las principales sobresalen las de ser de apariencia convexa, redondeadas, con bordes a bisel, de topografía ondulada al anastomosarse, no lobuladas, levantadas con relación al plano del medio de cultivo artificial, muy refringentes a la luz artificial directa, color blanco opaco, alto grado de proliferación hasta llegar a cubrir totalmente la superficie del medio, raramente forman cadenas y de un diámetro individual promedio de 2 mm. Cada colonia licúa el medio a su alrededor, dando la apariencia de una corona circular con bordes hialinos. Si se observa detalladamente la figura 10 se puede apreciar a "grosso modo" algunas de las más sobresalientes características de la colonia del microorganismo patógeno a larvas del gusano rosado colombiano *Sacadoses pyralis* Dyar., a diez días de sembrado sobre ZDA y conservado en incubadora a una temperatura constante de 35°C.

El laboratorio Bacteriológico, en que se adelantaba lo anteriormente descrito, presentó por ese entonces una fuerte infestación de partes de diminutos ácaros del género *Seius*, que al penetrar a los medios de cultivo inoculados los contaminaba con otros microorganismos indeseables, entre los que se puede reportar la *Monilla*. Por otra parte, por la época tan avanzada del año, casi todos los cultivos de algodónero se hallaban muy cerca de la parte final de su ciclo vegetativo y por lo tanto no se podía disponer de nuevas cápsulas. Por tales motivos, tan limitantes, se procedió a enviar a importantes centros investigativos de tales aspectos el cultivo microbiológico en cuestión para su identificación y estudio.

Debidamente aislados en tubos de ensayos esterilizados que contenían como medio artificial de cultivo Zanahoria-Dextrosa-Agar (ZDA), fueron enviadas por vía aérea colonias desarrolladas, procedentes de la misma Cepa patógena, a los siguientes investigadores (previa autorización de los mismos y de la aduana interna de los

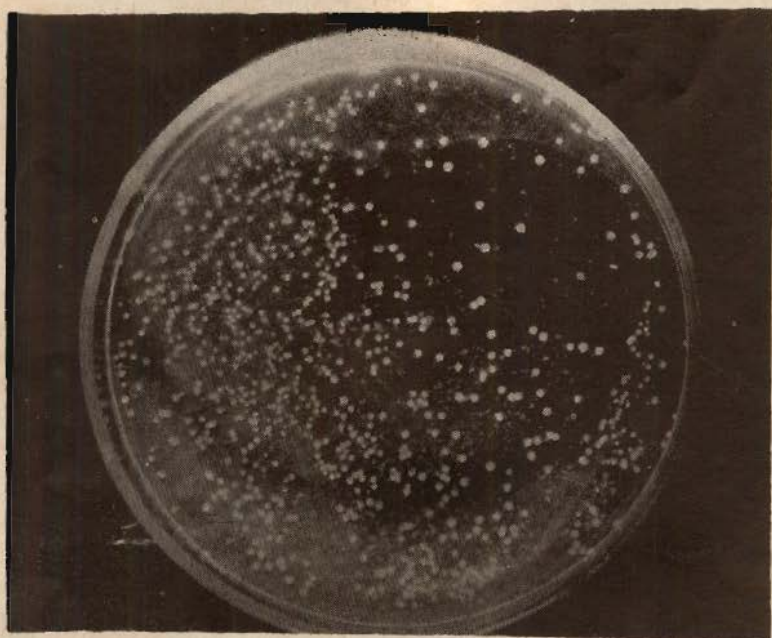


FIGURA 10. Fotografía representativa de colonias de microorganismo, aún no identificado, patógeno a larvas del gusano rosado colombiano, *Sacadoses Pyralis* Dyar., obtenidas sobre medio de cultivo artificial compuesto por Zanahoria-Dextrosa-Agar (ZDA) a partir de suspensión del contenido intestinal de larvas muertas a consecuencia de la enfermedad por él producida. Claramente puede observarse el desarrollo y apariencia de las colonias a los diez días de inoculado el medio artificial de cultivo y bajo una condición de temperatura de 35°C., en estufa eléctrica.

Foto: A. Figueroa P.

EE. UU.):

—Dr. T. A. Angus
Insect Pathology Research Institute
P. O. Box 490
Sault Ste. Marie, Ontario, Canada.

—Dr. Edward A. Steinhaus
Dr. Gordon A. Marsh
Laboratory Technician University of California
Division of Invertebrate Pathology
Berkeley 4, California, U.S.A.

—Dr. A. M. Heimpel
Principal Insect Pathologist
Agricultural Research Service
Entomology Research Division
Beltsville, Maryland 207005
U.S.A.

—Dr. Philip R. Edwards
Chief Laboratory Section
Department of Health, Education and Welfare
Public Health Service
Communicable Disease Center
Atlanta 22, Georgia. U.S.A.

—Dr. Ruth E. Gordon
Institute of Microbiology, Rutgers University
New Brunswick, New Jersey
U.S.A.

Por dilaciones involuntarias e imprevistas en transporte y en aduanas, el cultivo microbiológico en cuestión, demoró 34 días en llegar al primero de los destinatarios y en fuertes condiciones de contaminación (según acuso de recibo). Actualmente se continúan los trabajos referentes a dicho microorganismo, en los centros anteriormente anotados, sin que hasta el momento se haya llegado a una conclusión completamente definitiva, pero que sin duda alguna se ha avanzado en tal aspecto y pronto se sabrá qué clase de organismo fue el que produjo tal efecto letal en larvas del gusano rosado colombiano, *Sacadodes pyralis* Dyar., ya que tanta importancia puede revestir por ser este insecto uno de los principales problemas del algodón en las plantaciones comerciales del país.

C. Efecto sobre el desarrollo general de las plantas.

Durante el tiempo en que se aplicaron los diferentes tratamientos bacteriales a las parcelas experimentales se mantuvo bajo observación el desarrollo general de la plantación, comparándola con los Testigos. Megascópicamente no se constató ningún disturbio externo ocasionado por las distintas concentraciones de *B. thuringiensis* o por los aditivos que llevara en producto comercial empleado para los fines de este experimento.

Un poco después de iniciada la defoliación natural de la plantación (más o menos a los 12 días) se procedió a contabilizar la cantidad promedio de hojas por rama, para conocer si éstas tenían más o menos en unas u otras parcelas experimentales.

Los resultados estadísticos demostraron claramente que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a adelantar o retardar la defoliación de las plantas, tanto para el 95 como para el 99% de niveles de significancia estadística. El número promedio de hojas por rama fué muy similar para cada uno de los distintos tratamientos, incluyendo los Testigos. Por otra parte cabe anotar que no se llegó a encontrar, para ninguno de los tratamientos, casos de plantas que ofrecieran quemazones en el follaje, aún ni en las plantas de las parcelas que recibieron los tratamientos más concentrados y frecuentes.

En resumen podría decirse que todos los aspectos del ciclo vegetativo de la plantación se desarrollaron normalmente y sin dife-

— T A B L A XI —

Rendimiento promedio, en kilogramos por Hectárea, de algodón con semilla obtenido en las parcelas sometidas a los distintos tratamientos usados en el experimento (*)

Parcela Nº	Tratamiento	Dosis (*) (Kgs/Ha.)	Produc. de algodón con semilla	
			Kgms./Ha.	Tratamientos vs. Testigo (%)
1	I	0,5 (**)	2.935,53	109,47 %
2	II	3,5 (**)	2.845,57	106,12 %
3	III	6,5 (**)	3.182,76	118,69 %
4	IV	9,5 (**)	2.980,20	111,14 %
5	V	0,5 (**)	2.955,96	110,23 %
6	VI	3,5 (**)	3.005,86	112,10 %
7	VII	6,5 (**)	3.137,76	117,01 %
8	VIII	9,5 (**)	2.897,00	108,04 %
9	IX (Testigo)	0	2.681,53	100 %

(*) Tanto para el 95% como para el 99% los diferentes tratamientos no mostraron diferencias significativas entre sí, según análisis de variancia.

(*) Suspensión de cultivo puro. Concentración: 30×10^9 esporas viables/gr.

(**) Aplicación semanal.

(**) Aplicación quincenal.

rencias fundamentales entre el comportamiento de las plantas para cada uno de los tratamientos probados. El grado de defoliación natural tampoco se alteró por efecto del producto comercial empleado para los fines del presente experimento, no siendo por lo tanto fitotóxico ni enzimático.

D. Efecto sobre la producción de fibra

La producción de fibra (con semilla) se manifestó normal aunque, como puede observarse en la Tabla XI y en la Figura 11, existen diferencias entre los tratamientos. Esto es de acuerdo al aspecto económico porque de acuerdo al aspecto estadístico y según el debido análisis de variancia no hubo diferencia significativa entre tratamientos en lo referente a la producción de fibra de algodón con semilla.

Podrá pensarse que aún el dato de producción promedio del Testigo es alta si se compara con la producción promedio en plantaciones comerciales extensivas de la localidad. Esto es lógico hasta cierto punto si se tiene en cuenta que en las parcelas experimentales se cosecha cuidadosamente y por completo todas las motas de algodón presentes en las plantas, no quedando casi nada en el terreno, por facilitarse grandemente la labor por la relativamente poca extensión

de cada una de las parcelas (100 ms²). Al hacer la conversión de la producción promedio por parcela a producción promedio por hectárea hubo una traducción a las cifras consignadas en la Tabla XI, las cuales sirvieron como base para la elaboración de la figura 11.

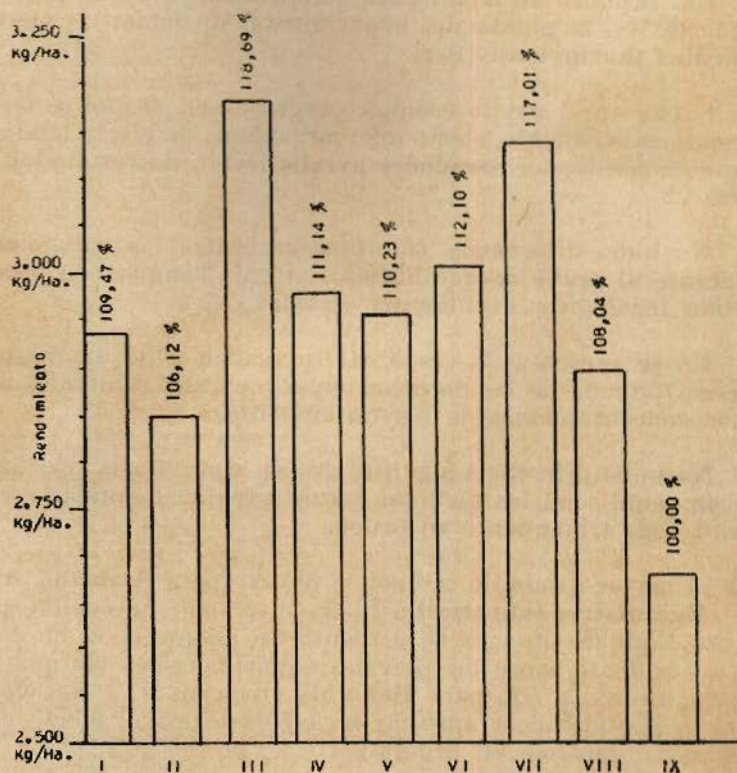


FIGURA 11. Efecto de las aplicaciones de los tratamientos de suspensiones de *Bacillus thuringiensis* Berliner sobre la producción de algodón con semilla, como agente insecticida "biológico". El tratamiento Testigo se considera como equivalente al 100%.

V.— CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en las diferentes pruebas de este experimento se pueden deducir las siguientes conclusiones:

1. Las larvas de *Alabama argillacea* Hbn., *Heliothis virescens* F., *Bucculatrix thurberiella* Busk. y *Sacadodes pyralis* Dyar. son susceptibles a la enfermedad y muerte debida a la acción de la bacteria entomófaga *Bacillus thuringiensis* Berliner, bajo condiciones de campo y aún a dosis medianas.

2. Los resultados estadísticos establecieron diferencias significativas entre el efecto de los tratamientos para los casos del Alabama, del *Heliothis* y del minador de las hojas (*B. thurberiella*), mas nó para el caso del gusano rosado colombiano (*S. pyralis*).

3. Las pruebas de laboratorio demostraron que las larvas halladas muertas en la plantación experimental se debían al efecto letal del *Bacillus thuringiensis* Berl.

4. Existe en el medio ecológico regional, en el que se desarrolló el presente experimento, cierto microorganismo de efecto letal al gusano rosado colombiano, *Sacadodes pyralis* Dyar., de resultados promeadores.

5. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos en lo referente al grado de defoliación natural. Tampoco se observaron disturbios fisiológicos de ninguna especie.

6. No se presentaron casos de fitotoxicidad o de quemazones del follaje en ninguna de las parcelas experimentales sometidas a las diferentes concentraciones de los tratamientos.

7. No hubo diferencia significativa en cuanto a la producción de libra con semilla en las distintas parcelas experimentales correspondientes a cada tratamiento en prueba.

8. El mayor grado de control se obtuvo para *Alabama argillacea* Hbn. y *Bucculatrix thurberiella* Busk. si se tiene en cuenta que para estos dos tipos de insectos se presentó un mayor nivel de población larvaria incidente sobre las parcelas experimentales (lo que no ocurrió en el mismo grado para *Heliothis virescens* F. y *Sacadodes pyralis* Dyar.), pudiéndose apreciar en mejor forma el efecto insecticida del microorganismo en prueba.

9. Los rendimientos económicos por unidad de superficie fueron satisfactorios y muy similares a los obtenidos en plantaciones comerciales extensivas de la misma zona. Esta similitud también se presentó en cuanto al margen de utilidad.

10. El autor cree conveniente efectuar futuras replicaciones del presente experimento, pero en parcelas considerablemente mayores, para lograr así un estimativo que cubija el aspecto económico aplicado y constituya ser definitivo en todos los aspectos, al emplear el control biológico como parte de un sistema de control integrado, CULTURAL-BIOLOGICO-QUIMICO, de represión de plagas.

VI.— RESUMEN

En este trabajo, referente al CONTROL MICROBIOLOGICO DE PLAGAS (LARVAS DE LEPIDOPTERA) EN EL ALGODONERO (*Gossypium hirsutum* L.) MEDIANTE EL USO DE LA BACTERIA ENTOMOFAGA *Bacillus thuringiensis* Berliner, se presenta inicial-

mente un comentario acerca del control biológico, sus posibilidades y sus límites. Se incluye luego un compendio bibliográfico, completo en lo posible, en todo lo referente a dicha bacteria y finalmente se consigna una compilación agotada de escritos que pueden ser consultados por los interesados en un momento dado.

Se estudió el efecto de diferentes concentraciones de esporas viables de *Bacillus thuringiensis* Berliner sobre larvas de *Alabama argillacea* Hbn., *Heliothis virescens* F., *Bucculatrix thurberiella* Busk. y *Sacadodes pyralis* Dyar. en pruebas de campo. La distribución de las parcelas comprendidas en el experimento se efectuó completamente al azar, comprendiendo cada tratamiento tres replicaciones. Se probaron dosis y frecuencias de aplicación.

Estadísticamente se dedujo que mediante aplicaciones quincenales de 195×10^{12} esporas viables por hectárea se conservaron poblaciones de larvas de *Alabama argillacea* Hbn. y *Heliothis virescens* F. a niveles sub-económicos de ataque a la plantación. Con aplicaciones quincenales de 105×10^{12} esporas viables por hectárea ocurre lo mismo con larvas de *Bucculatrix thurberiella* Busk.

Como fuente de inóculo se usó el producto comercial denominado "Thuricide 90-T", con 30×10^9 esporas viables por gramo. La aplicación de este producto no produjo disturbios fisiológicos ni quemazones en el follaje de la plantación.

La producción de fibra con semilla se manifestó dentro de lo normal en la zona algodонера a que corresponde.

Se reporta en este trabajo la existencia y localización de cierto microorganismo, aún no identificado, altamente patógeno a larvas del gusano rosado colombiano *Sacadodes pyralis* Dyar.

VII.— SUMMARY

In this work, concerning the MICROBIOLOGICAL CONTROL OF PESTS (LEPIDOPTEROUS LARVAE) OF COTTON (*Gossypium hirsutum* L.) BY MEANS OF THE USE OF THE ENTOMOPHAGOUS BACTERIA *Bacillus thuringiensis* Berliner, a commentary about biological control is initially presented, giving its possibilities and limitations, also included is a bibliographical compendium, as complete as possible, concerning the above bacteria, and an exhaustive compilation of writings which can be readily consulted by those who are interested.

The effect of different concentrations of viable spores of *Bacillus thuringiensis* Berliner on larvae of *Alabama argillacea* Hbn., *Heliothis virescens* F., *Bucculatrix thurberiella* Busk. and *Sacadodes pyralis* Dyar. was studied in field tests. The field experiment was conducted using a randomized block design with three replications. Dosages and frequencies of applications were tested.

It was statically demonstrated that populations of larvae of *Alabama argillacea* Hbn. and *Heliothis virescens* F. were maintained at sub-economic levels in those treatments where a dosage of 195×10^{12} viable spores per hectarea (2.49 acres) were applied biweekly. With biweekly application of 105×10^{12} viable spores per hectarea the same result was obtained with larvae of *Bucculatrix thurberiella* Busk.

The commercial product, marketed under the brand name of "Thuricide 90-T", with 30×10^9 viable spores per gram, was used as a source of inoculum. The applications of this product did not produce physiological disturbances nor foliage burn in the plats.

The production of seed cotton was within the normal limits for the zone in which the test was conducted.

The existence and isolation of a microorganism, not yet identified, which is high pathogenic to larvae of Colombian pink bollworm, *Sacadodes pyralis* Dyar., was reported in this work.

VII.— BIBLIOGRAFIA CITADA

1. ANGUS, T. A.— A bacterial toxin paralyzing silkworm larvae. *Nature*. 173:545. 1954.
2. ————. General characteristics of certain insect pathogens related to *B. cereus*, *Can. Jour. Microbiol* 2: 111-121, 1956. (Res. en Biol. Abst. 32 (2): 576. 1958).
3. ————, and A. M. HEIMPEL.— An effect of *Bacillus sotto* on the larvae of *Bombyx mori*. *Can. Entomologist*. 88:138-139. 1956.
4. ————. Inhibition of feeding and blood pH changes, in lepidopterous larvae infected with cristal-forming bacteria. *Can. Entomologist*. 91:352-358. 1959.
5. ————. Separation of bacterial spores and parasporal bodies with a fluorocarbon. *Jour. Insect path.* 1:97-98. 1959. (Res. en Chem. Abst. 53(23):18272c. 1959).
6. ARAGON G., J. H.— La avispa *Trichogramma minutum* Riley como parásito de huevos de insectos-plagas en el control biológico dirigido Departamento de Entomología. Sección de control Biológico. I.F.A. (Instituto de Fomento Algodonero). Palmira, Colombia, Sur América. 57 pp. 1963 (Manuscrito no publicado).
7. BERLINER, E.— Über die Schiafsucht der Mehimottenraupe (*Ephesia Kijniella*, Zell.) und ihrem Erreger *Bacillus thuringiensis* n. sp. *Zeithschr. f. Angew. Entomol.*, Berlin. 1(2):29-56. 1915. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 8:252-253. 1920).
8. BUCHER, G. E.— Disease of the larvae of tent caterpillars caused by a

- spore-forming bacterium. *Can. Jour. Microbiol.* 3:695-709. 1. 1957.
(Res. en Biol. Abs. 32(2):577. 1. 1958).
9. BURGERJON, A.— L'utilisation des chenilles de *Pieris brassicae* L. comme "insecte test" de laboratoire dans un service de controle de preparation pathogenes insecticides. *Entomophaga* 2:129-235. 1. 1957.
(Res. en Rev. of Appl. Ent. 47 (3): 109-110. 1. 1959).
10. ———— adn K. KLINGER.— Determination au laboratoire de l'epoque de traitement de *Tortrix viridana* L. avec une preparation a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Ent. Exptl. Applicata*. 2: 100-109. 1. 1959.
11. CANTWELL, G. E.— "et al". Results of testa with *Bacillus thuringiensis* Berliner against gypsy moth larvae. *Jour. Insect. Pathoy.* 3(2): 143-147. Illus. 1. 1961). (Res. en Biol. Abs. 36(19):6189. 1. 1961).
the lecithin complex of egg yolk, *Jour. of. Bact.* 55:777-785. 1. 1958.
(Res. en Biol. Abs. 23:1633. 1. 1948).
13. CHORINE, V.— New bacteria pathogenic to the larvae of *Pyrausta nubilalis* Hb. *Internat. Corn Borer Invest. Sc. Rep. Chicago*. 2:39-53. 1. 1929. (Res. en Rev of Appl. Ent. 18:143-144. 1. 1930).
14. ———— — On the use of bacteria in the fight against the corn borer (*Pyrausta nubilalis* Hn.) *Internat. Corn Borer Invest. Sci. Rep.* 3:94-98. 1. 1930. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 19:150-151. 1. 1931).
15. DRILHON, A. et C. VAGO.— Recherches sur le mecanisme d'action de *Bacillus thuringiensis* Berl. Effect de la toxemie sur les fraction proteiques de l'hemolyphe Antonie van Leewenhock. *Jour. Microbiol. and Serol.* 24(4):407-412. 1. 1960. (Res. en Biol. Abs. 36(9): 2351. 1961).
16. ELLINGER, T. et V. CHORINE.— Sur les microbes d'*Ephestia Kühniella*, *Zell. C. R. Soc. Biol.* 103(6):401-402. Paris. 1. 1930. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 18:293. 1. 1930).
17. FALDINI, J. D. y J. A. PASTRANA.— *Bacillus thuringiensis* B. como agente entomofago de *Colias Lesbia* F. *Rev. Argentina Agron.* 19: 154-165. 1. 1952).
18. FEDERER, W. T.— *Experimental designs*. The McMillan Co., New York. 544 pp. 1. 1955.
19. FISHER, R. A.— *Statistical methods for resarch workers*. 9th. ed. rev. and elarged Oliver and Boyd, London. 350 pp. 1. 1944.
20. ———— — *Métodos estadísticos para investigadores*. Traducción de la 10ª ed. inglesa y prólogo por Ruiz Magan, J. y J. J. Ruiz Rubio. Ed. Aguilar, Madrid. 322 pp. 1. 1949.
21. FISHER, R. and L. ROSNER.— *Toxicology of the microbial insecticide, thuricide*, *Jour. Agr. Food Chem.* 7:686-688. 1. 1959..

22. FITZ-JAMES, P. C., C. TOUMANOFF and YOUNG E.— I. localization of a toxicity for silkworm larvae in the pers-sporal inclusion of *Bacillus cereus* var. *alesti*. Can. Jour. Microbiol. 4:385-392. 1.958. Res. en Biol. Abs. 33:1600. 1.959).
23. ————— and E. I. Young.— Comparison of species and varieties of the genus *Bacillus*. Structure and nucleic acid content of spores. Jour. Bacteriol. 78:743-754. 1959.
24. GENUNG, W. G.— Comparison of insecticides. Insect pathogens and insecticide-pathogen combination for control of cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Hbn.). Florida Ent. 43(2):65-68. 1.960. (Res. en Biol. Abs. 36(9):2.351. 1.961).
25. GRIGARICK, A.A. and Y. TANADA.— A field test for the control of *Trichoplusia ni* (Hbn.) on celery with several insecticides and *Bacillus thuringiensis* Berliner. Jour. Econ. Ent. 52:1.013-1.014. 1.959.
26. GUTHRIE, F. E., R. L. RABB and BOWERY, T. G.— Evaluation of candidate insecticides and insect pathogens for tobacco hornworm control, 1.956-1.958. Jour. Econ. Ent. 52:798-804. 1.959.
27. —————, et al.— Control of hornworms and budworms on tobacco with reduced insecticide dosages. Raleigh. Car. Tobacco. (New ork) section Tobacco Science. 3:65-68. 1.959. (Res. en Biol. Abs. 33 (12):3.942. 1.959).
28. HALIM SELEEM SOLIMAN.— Studies of the biology of *Microbracon hebetor* Say. Bull. Soc. Fouad. Ir. Cont. 24:215-247. El Cairo. 1.940. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 30:404-405. 1.942).
29. HALL, I. M.— Studies of the microorganisms pathogenic to the sod webworm. Hilgardia. 22:536-565. 1.954.
30. —————.— The use of *Bacillus thuringiensis* Berliner to control the western grapeleaf skeletonizer. Jour. Econ. Ent. 48(6):675-677. 1.955.
31. —————, and L. A. ANDRES.— Field evaluation of commercially produced *Bacillus thuringiensis* Berl. used for control of lepidopterous larvae on crucifers. Jour. Econ. Ent. 52 (5):877-880. 1.959.
32. ————— and P. H. DUNN — Susceptibility of some insect pests to infection by *Bacillus thuringiensis* Berliner in laboratory tests. Jour. Econ. Ent. 51 (3):298. 1.958.
33. ————— R. L. HALE and ARAKAWA, K. I.— Evaluation of chemical and microbial materials for control of the cabbage looper. Jour. Econ. Ent. 54 (1):141-146. 1.961.
34. HARCOURT, D. G. and L. M. CASS.— Control of the caterpillars on cabbage on the Ottawa Valley of Ontario and Quebec, 1.956-1.957. Jour. Econ. Ent. 52 (2): 221-227. 1.959.

35. HANNAY, C.L.— Crystallina inclusions in aerobic sporeforming bacteria. *Nature*. 172:1.004. 1.953.
36. HARVEY, T. L. and J. R.— Brethour, Feed additives for control of house fly larvae in livestock feces. *Jour. Econ. Ent.* 53 (5):774-776. 1.960.
37. HEIMPEL, A.M.— A strain of *Bacillus cereus* Fr. and Fr. pathogenic for the larch sawfly *Pristiphora erichsonii* (Htg.). *Can. Entomologist*. 86:73-77. 1.954.
38. ————. — The pH in the gut and blood of the larch sawfly *Pristiphora erichsonii* (Htg.) and other insects with reference to the pathogenicity of *Bacillus cereus* Fr. and Fr. *Can. Jour. Zool.* 33:99-106. 1.955. (Res. en Biol. Abs. 29:2480. 1.955).
39. ————, and T. T. ANGUS.— The taxonomy of insect pathogens related to *Bacillus cereus* Fr. and Fr. *Can. Jour. Microbiol.* 4:531-451. 1.958. (Res. en Biol. Abs. 33:1162. (1.959)).
40. ————. — The site of action of crystalliferous bacteria in lepidoptera larvae. *Jour. Insect Pathol.* 1:152-170. 1.959.
41. ————. — Bacterial insecticides. *Bact. Rev.* 24 (3):266-288. 1.960.
42. ————. — Pathogenicity of *Bacillus cereus* Frankland and Frankland and *Bacillus thuringiensis* Berliner varieties for several species of sawfly larvae. *Jour. Insect Pathol.* 3 (3):271-273. 1.961.
43. HELSON, G.A.H.— *Bacillus thuringiensis* Berl., as a potential mean of control of cabbage moth (*Plutella maculipennis* Curt.), and some other lepidoptera. *New Zealand Jour. Agri. Res* 3 (6):1009-1014, illus. 1.960. (Res. en Biol. Abs. 36 (21):6872. 1.961).
44. HOYOS, R.— Uso del *Bacillus thuringiensis* Berl. en pruebas de laboratorio para el control del cogollero, trozador y otras larvas de Lepidópteros. Dept. de Ent. del centro Nal. de Invest. Agri. Bogotá. Colombia, 10 pp. 1.959.
45. HUSZ, B.— *Bacillus thuringiensis* Berl., a bacterium pathogenic to corn borer larvae. *Inter. corn borer invest.*, Sci. Repts. 1: 191-193. 1.928. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 17:219. 1.929).
46. ————. — On the use of *Bacillus thuringiensis* in the fight against the corn borer. *Intern. Corn Borer Invest. Sci. Repts.* 2:99-110. 1.929. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 18:148-149. 1.930).
47. ————. — Field experiments on the application of *Bacillus thuringiensis* against the corn borer. *Intern. Corn Borer Invest. Sci. Repts.* 3:91-98. 1.930. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 19:150. 1.931).

43. JACQUES, R. P.— Control of some lepidopterous pests of apple with commercial preparations of *Bacillus thuringiensis* Berliner. Jour. Insect pathol. 3 (2):167-182. Illus. 1.961. (Res. en Biol. Abs. 36 (19): 6189. 1.961.
49. KANTACK, H.S.— Laboratory studies with *Bacillus thuringiensis* Berl. and its possible use for control of *Plodia interpunctella* (Hbn.) Jour. Econ. Ent. 52:1226-1227. 1.959.
50. KRIEG, A.— Über die Möglichkeit einer Bekämpfung des Kohlweißling (*Pieris brassicae*) durch Künstliche Verbreitung einer Bacteriose. (Posible control del *Pieris brassicae* por medio de infección artificial con una bacteria), Zeitsch. Pflanzenkrankh. 64(6):321-327. 1.957. (Res en Biol. Abs. 32 (7):2099. 1.958).
51. LYSENKO, O.— "*Streptococcus bombycis*", its taxonomy pathogenicity for silkworm caterpillars. Jour. Gen. Microbiol. 18:774-781. 1.958 (Res en Biol. Abs. 32(10):2875. 1.958).
52. MAJUMDER, S.K., M. MATHU and PINGALE, S. U.— A bacterial disease of *Heliothis absoleta* F. Current. Sci. 24:122-123. 1.955. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 46 (12):472. 1.958).
53. MATTES, D.— Parasitare Krankheiten der Mehimottenlarven und Versuche Über ihre Verwendbarkeit als biologisches Bekämpfungsmittel. Sitzber.
54. MC CONNELL, E. and L. K. CUTKOMP.— Studies with *Bacillus thuringiensis* in relation to the European corn borer. Jour. Econ. Ent. 47 (6):1.074-1.082. 1.954.
55. ———, and A. G. RICHARDS.— The production of *Bacillus thuringiensis* Berl. of a heat-stable substance toxic for insect. Can. Jour. Microbiol. 5:161-168. 1.959. (Res. en Biol. Abs 33:2794. 1.959).
56. MCEWEN, F. L. and G. E. R. HERVEY.— Microbial control of two cabbage insect Pathol. 1:86-94. 1.959.
57. METALNIKOV, S. and V. CHORINE.— On the natural and acquired immunity of *Pyrausta nubilalis* Hbn. Internat. Corn. Borer Invest. Sci. Rept. 2:22-38. 1.929. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 18:142-143. 1.930).
58. ———.— Experiments on the use of bacteria to destroy the corn borer. Internat. Corn Borer Invest. Sci. Repts. 2:54-59. 1.929b. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 18:144. 1.930).
59. ———.— On the infection of gypsy moth certain other insects with *Bacillus thuringiensis*. 2:60-61. 1.929c. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 18:144-145. 1.930).
60. ———, and S. S. METALNIKOV, Jr.— Maladies des vers du coton (*Gelechia gossypiella* et *prodenia litura*). Compt. rend. acad.

agr. France. 18:203-207. 1932.

61. MONRO, R. E.— The formation of protein inclusions in *Bacillus thuringiensis*. Ph. D. Thesis dissertation University of Cambridge, England. 1959. (Abs. en Jour. Gen. Microbiol. in press. 1960).
62. OKA, I. N.— Pertjobaan laboratorium laboratorium dal am pembedantsan ulat Kubis *Plutella maculipennis* Curt. dengan *Bacillus thuringiensis* Berl. Tehok Pertanian (Bogor, Indonesia). 6:113-134. 1957. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 46 (5):159. 1958).
53. PIPA, R. L. and E. F. COOK.— The structure and histochemistry of the connective tissue of the sucking lice. Jour. Morphol. 353-386. (Res. en Biol. Abs. 34:167. 1959).
64. RABB, R. L., E. A. STAINHAUS and GUTHRIE, F. E.— Preliminary tests using *Bacillus thuringiensis* Berliner against hornworms. Econ. Ent. 50:259-262. 1957.
65. REVELO, M.A.— Field experiments with the fungus *Beauveria bassiana* (Bais.) Vuill. for control of the European corn borer. Iowa State College. 82pp. 1959. (Tesis de grado no publicada).
66. ROEDER, K. D.— Insect physiology. John Wiley and Sons. New York. 1,100 pp. 1953.
67. SEMEL, M.— The efficiency of a polyhedrosis virus and the *Bacillus thuringiensis* for control of the cabbage looper en couliflower. Jour. Econ. Ent. 54 (4):698-701. 1961.
68. SHEPERD, D.— Life-history and Biology of *Echocerus cornutus* (Fab.). Jour. Econ. Ent. 17 (5):572-577. 1924. (Res. en Rev. of Appl. Ent. 12:1924).
69. SMITH, N R, R E GORDON and CLARK, F. E.— Aerobic spore-forming bacteria. U. S. Dept. Agr. Misc. Publ. N° 559. 1946. Re-issued as U. S. Dept. Agr. Agr. Monograph N° 16. 1952. (Res. en Biol. Abs. 20: 1.900. 1946).
70. SNEDECOR, G. H.— Statistical Methods. 5th ed. the Iowa State College Press. Ames, Iowa. 534 pp. 1959.
71. SPLITTSTOESSER, C. M. and F. L. MC EWEN.— A bioassay technique for determining the insecticidal activity of preparations containing *Bacillus thuringiensis* Berliner. Jour. Insec Pathol. 3 (4): 391-398. 1961.
72. STEINHAUS, E. A.— Principles of Insect Pathology. New York. Mc Graw-Hill Book Co. Inc. 757 pp. 1949.
73. —————, and C. G. THOMPSON.— Preliminary field tests using a polyhedrosis virus in the control of the alfalfa caterpillar. Jour. Econ. Ent. 42:301-305. 1949.

74. ————. — Possible use of *Bacillus thuringiensis* Berliner as and aid in the biological control of the alfalfa caterpillar. Hilgardia. 20:359-381. 1951a.
75. ————. — Report on diagnosis of diseased insects 1944-1950. Hilgardia. 20:629-678. 1951b.
76. ————. — Pest control by bacteria; alfalfa caterpillar in field reduced to sub-economic levels within two days by bacillus applied as spray. Calif. Agr. 5: 5. 1951c.
77. ————, and C. R. BELL. — The effect of certain microorganisms and antibiotics on stored grain insects. Jour. Econ. Ent. 46 (4): 582-598. 1953.
78. ————, and E. A. JERREL. — Further observation on *Bacillus thuringiensis* Berliner and other sporeforming bacteria. Hilgardia. 23:1-23. 1954a.
79. ————. — Effects of disease on insect populations. Hilgardia. 23 (9): 197-261. 1954b.
80. ————. — Concerning the harmlessness of insect pathogens and standardization of microbial products. Jour. Ent. 50 (6): 715-720. 1957.
81. ————. — List of insects and their susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Berliner and closely related bacteria. Univ. of Calif. (Berkeley). Lab. Insect Pathol. Mimeo Ser. 4:24. 1957.
82. ————. — Crowding as a possible stress factor in insect disease. Ecology. 39:503-514. 1958.
83. ————. — On the improbability of *Bacillus thuringiensis* Berliner mutating to forms pathogenic for vertebrates. Jour. Econ. Ent. 52 (3):506-508. 1959a.
84. ————. — *Serratia marcescens* Bizlo as an insect pathogen. Hilgardia. 28:351-380. 1959b.
85. ————. — The duration of viability and infectivity of certain insect pathogens. Jour. Insect Pathol. 2 (3): 225-229. 1960. Res. en Biol. Abs. 36 (4):1017-1018. 1961).
86. STEPHENS, J. M. — Disease in codling moth larvae produced by several strains of *Bacillus cereus* Can. Jour. Zool. 30: 30-40. 1952. (Res. en Biol. Abs. 26:2066. 1952).
87. STERN, V. M., I. M. HALL and PETERSON, G. D. — The utilization *Bacillus thuringiensis* Berliner as a biotic insecticide to suppress the alfalfa caterpillar. Jour. Insect Pathol. 1 (2):142-151. 1959. (Res. en Biol. Abs. 34 (5):1308. 1959).

90. SWEETMAN, H. L. — The Biological of insects. New York. Comstock Publ. Co. Inc. 461 pp. 1. 1936.
91. SWIRNOFF, W. A. and A. M. HEIMPEL. — A strain of *Bacillus thuringiensis* Berliner isolated from the larch sawfly, *Pristiphora erichsoni* (Hartig.). Insect Pathol. 3 (4):347-351. 1951.
92. ———, ———. — Notss on the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* for the earthworm, *Lumbricus terrestris* Linnaeus. Jour. Insect Pathol. 3 (4):403-408. 1961.
93. ———, and C. F. MCLEOD. — Study of the survival of *Bacillus thuringiensis* Berliner in the digestiva tracts and feces of small mammals and birds. Jour. Insect Pathol. 3 (3):266-270. 1961.
94. TALALAEV, E. V. — Septicaemia in the caterpillars of the siberian silkworm (in russian). Mikrobiologiya. 25:99-102. 1956. (Res. en Biol. Abs. 32:2604. 1. 1958).
95. TANADA, Y. — Microbial control of some lepidopterous pests of crucifers Jour. Econ. Ent. 49 (3): 320-329. 1. 1956.
96. ———. — Microbial control of insect pests. Ann. Rev. Ent. 4: 277-302. 1. 1959.
97. ———, and C. REIVER. — Microbial control of the artichoke plume moth, *Platyptilia carduidactyla* (Riley). Jour. Insect. Pathol. 2 (3):230-246. 1. 1960. (Res en Biol. Abs. 36 (4):1018. 1. 1961).
98. THOMPSON, C. G. and E. A. STEINHAUS. — Further tests using a polyhedrosis virus to control the alfalfa caterpillar. Hilgardia. 19: 411-445. 1950.
99. TOUMANOFF, C. — L'action de *Bacillus cereus* var. *alesti* Toum. et Vago sur les chenilles de *Galleria malonella* L. et *Hyponomeut cognatella* H. B. Ann. Inst. Pasteur. 86:570-579. 1. 1954. (Res. en Biol. Abs. 29:1912. 1. 1955).
100. ———, and Y. LeCoroller. — Contribution à l'étude de *Bacillus cereus* Frank. et Frank. cristallophores et pathogènes pour les larves de Lépidoytères. Ann. Ins. Pasteur. 96:680-688. 1. 1958.
101. WHITE, G. F. — A protozoan and a bacterial disease of *Ephestia Kühniella*, Zell. Proc. Soc. 19 (6):147-148. 1. 1927. (Res. en Rev. of appl. Ent. 15:165. 1. 1927).
102. YOUNG, I. E. and P. C. FITZ-JAMES. — Chemical and morphological studies of bacterial spore formation. III. The effect of 8-azaguanine on spore and parasporal protein formation in *Bacillus cereus* var. *alesti*. Jour. Biophys Biochem. Cytol. 6:499-506. 1. 1959. (Res en Biol. Abs. 54:228-231).

BIBLIOGRAFIA NO CITADA

1. ANGUS, T. A.— Studies of *Bacillus* spp. pathogenic for silkworm. Can. Agr. Bio-Mo. Hept. 9:1-2. 1953.
2. ———.— Some properties of a bacterial toxin affecting insect larvae. Can. Dept. Agr. Bio-Mo. Rept. 10:2. 1954.
3. ———.— Studies on the toxin of *Bacillus sotto* Ishiwata and on its toxicity against certain insects. Ph. D. Thesis McGill University, Montreal. 187 pp. 1955.
4. ———.— Association of toxicity with protein crystalline inclusion of *Bacillus sotto* Ishiwata. Can. Jour. Microbiol. 2:111-121. 1956a.
5. ———.— Extraction, purification and properties of *Bacillus sotto* toxin. Can. Jour. Microbiol. 2:416-426. 1956b.
6. ———.— The reaction of certain lepidopterous and hymenopterous larvae to *Bacillus sotto* toxin. Can. Entomol. 88:280-283. 1956c.
7. ———.— & A. M. HEIMPEL.— Further observations on the action of *Bacillus sotto* toxin. Canada Dept. Agr. Bio-Mo. Rept. 14:1-2. 1958.
8. (Anónimo).— Bacteria and insects: Host-parasite relationships. Current Sci. 28(6):236. 1959.
9. ———.— Contrarresto de insectos. Revista Agricultura de las Américas. Kansas City. 8(11):64. 1959.
10. AOKI, K. & Y. CHIGASAKI.— On the application of the agglutination reaction in the bacteriological examination of silkworms. For further elucidation of the question of the identity of *Bacillus sotto* (Ishiwata, B. Alvei (Cheshire and Cheyne) and B. megaterium Rpt. Imp. Sericult. Exptl. Sta. Nakado, Tokyo. 1:1-126. (In Japanese). 1915a.
11. ———.— Uber die Pathogenität der sog. *Bacillus sotto* (Ishiwata) bei Seidenraupen. Mitt. Med. Fak. Kais. Univ., Tokyo. 13:419-440. 1915b.
12. ———.— Uber das toxin von soy. Sotto-Bacillen. Mitt. Med. Fak. Kais. Univ., Tokyo. 14:59-80. 1915c.
13. ———.— Uber die Anwendbarkeit der Agglutinationsreaktion bei der bakteriologischen Untersuchung von Seidenwürmern. Bull. Imp. Sericult. Exp. Sta. Japan. P:83-95. 1916a.
14. ———.— Uber atoxogene Sotto-Bacillen. Bull. Imp. Ser. Exp. Stat. Nakado, Tokyo. 1:141. 1916b.
15. AZUMA, R.— The experiments proving the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* of the honeybee. Japanese Jour. Vet. Sci. 22 (suppl.): 535. 1960.
16. BEG, J. A.— The effectiveness of a Microbial Insecticide against the tobacco and tomato hornworms (*Protoparce*) under laboratory conditions. Jour. Insect Pathol. 5(4):492-494. 1963.
17. BELLET, P. & D. GERARD.— (cent. rech. Roussel-Uclaf, Paris, France.)

- N-oxidation microbiologique de la strychnine. (Microbiologic N-oxidation of strychnine by *Bacillus thuringiensis* and other bacteria). Ann. Pharmaceut. Franc. 20(2):928-929. 1962.
13. BENZ, G. & K. BORUSIEWICZ.— A method for the differential staining of spores and parasporal bodies of *Bacillus thuringiensis* Berliner, and *Bacillus fribourgensis* Willie. Jour. Pathol. 5(3):398-394. 1963.
 19. BERLINER, E.— Uber die Schiaffsucht der Mehlmotenraupe. Z. ges. Getreidew. 3:63-70. 1911.
 20. BIOLIOTTI, E.— Ein Symposium Uber Insektenpathologie in Darmstadt. Mise au point d'une méthode de lutte biologique utilisant des suspensions de spores de *Bacillus thuringiensis* (Berliner), Souche "Anduze". Entomophaga 1:95-98. 1956.
 21. BONILLA, A.— Control de *Pieris* sp. con *Bacillus thuringiensis* Berl. Univ. Nal. de Colombia. Fac. de Agronomía del Valle. Palmira. 57 pp. 1963 (Tesis de grado no publicada).
 22. BONNEFOL, A., A. BURGERJON & GRISON, P.— Titration biologique des préparations de spores de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Compt. rend. 247:1418-1420. 1958.
 23. ———, & S. BEGUIN.— Recherches sur l'action des cristaux de *Bacillus thuringiensis* Berliner souche "anduze". Entomophaga. 4:193-199. 1959.
 24. ———, & P. GRISON.— Etat actuel et perspectives de la lutte par la voie microbiologique contre les insectes nuisible aux cultures. Phytlat. Phytopharm. 8:65-72. 1959.
 25. BORGATTI, A. L.— The toxicology of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* Berliner to Japanese quail and house-fly larvae. Dissertations Absts. 22(6):210-2111. 1961.
 26. ———. (Salem Sta. Coll., Salem, Mass., U.S.A.) & E. G. GORDON.— Formulations of *Bacillus thuringiensis* Berliner found to be contaminated with chlorinated hydrocarbon insecticides. Jour. Econ. Ent. 55(6):1015-1016. 1962.
 27. ———, & G. E. GUYER.— The effectiveness of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* Berliner on house-fly larvae. Jour. Insect Pathol. 5(3):377-384. 1963.
 28. BROWN, E. R. "et al".— Differential diagnosis of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* var. *mycoides*. Jour. Bacteriol. 75:499-509. 1958.
 29. BUCHER, G. E.— General summary and review of utilization of disease to control insects. Intern. Congr. Entomol., Proc. 10th. Congr. Montreal. 1956. 1958.
 30. BURGERJON, A.— Pulvérisation et pudrage au laboratoire par des préparations phatogenes insecticides. Ann. Ephyphyt. 4:677-686. 1956.
 31. ———.— Titration et définition d'une unité biologique pour les préparations de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Entomophaga. 4(3): 201-206. 1959.

32. ———, & P. GRISON.— Sensibilité des différents Lépidoptères a la souche "anduze" de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Entomophaga* 4(3):207-209. 1959.
33. ———.— Relations entre l'intoxication provoquée par *Bacillus thuringiensis* Berliner et la consommation chez *Pieris brassicae* L. *Ann. Epiphyt. (Paris)*. 13(1):59-72. Illus. 1962.
34. BURN, E. C., B. H. WILSON & TOWER, B. A.— (Louisiana Sta. Univ., Baton Rouge).— Effect of Feeding *Bacillus thuringiensis* to caged layers for fly control. *Jour. Econ. Ent.* 54(5):913-915. 1961.
35. BURNSIDE, C. A.— Studies on the bacteria associated with European foalbrood. *Jour. Econ. Ent.* 27:656-668. 1934.
36. CHORINE, V.— Sur l'utilisation des microbes dans la lutte contre la pyrale du maïs. *Ann. Pasteur.* 46:326-336. 1931.
37. CHU, H. P.— The lecithinase of *Bacillus cereus* and its comparison with *Clostridium welchii* toxin. *Jour. Gen. Microbiol.* 3:255-273. 1949.
38. CLORDIA, H. & W. B. BIZZEL.— A preliminary report on the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner on the development of the free-living stages of some cattle nematodes. *Jour. parasitol.* 47 (4 sect. 2:41. 1961.
39. CREIGHTON, C. S., W. S. KINARD & ALLEN, N.— Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* and several chemical insecticides for control of budworms and hornworms on tobacco. *Jour. Econ. Ent.* 54(6): 1112-1114. Illus. (1961.
40. ———, F. P. CUTHBERT Jr. & REID, J. Jr.— Evaluation of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* in control of caterpillars on cabbage. *Jour. Insect Pathol.* 6(1):102-110. 1964.
41. DAMME, E. N.— G. van der & P. A. van der Laan Some observations on the effect of E-58 powder (*Bacillus thuringiensis* Berliner) on *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera) *Entomophaga*. 4(3)221-225. 1959.
42. DAY, M. F. & R.F. FOWNING.— A Study of the processes of digestion in certain insects. *Australian Jour. Sci. Research.* 2:175-215. 1949.
43. DE, R. K. & G. KONAR.— Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Trogoderma granarium*. *Jour. Econ. Ent.* 48:773-774. 1955.
44. DELAPORTE, B. & S. BEGUIN.— Etude d'une souche de *Bacillus* pathogène pour certains insectes, identifiable a *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Ann. inst. Pasteur.* 89:632-643. 1955.
45. FALDINI, J. D. & PASTRANA.— *Bacillus thuringiensis* Berl. como agente entomófago de *Colias lesbia* F. *Revista Argentina de Agronomía.* 19:154-165. 1952.
46. FARB, P.— Control biológico contra las plagas. *Rev. Selecciones del Reader's Digest.* New York. 34(202):45-50. 1957.
47. FELGIN, P. M.— (Dept. Entomol. Cornell Univ. Ithaca, New York U. S.A.) Exposure of the house-fly to selection by *Bacillus thuringiensis* *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 56(6):878-879. 1963.

48. FIGUEIREDO, M. B., J. M. COUNTINHO & ORLANDO, A.— (Inst. Biol. Sao Paulo, Brazil). Nuevas perspectivas para o controle biológico de algumas pragas com *Bacillus thuringiensis*. Arq. ins. Biol. (Sao Paulo). 27:77-85. Illus. 1.960.
49. ————. — *Bacillus thuringiensis* no combate biológico ás pragas de larvoura. Biológico. 27 (12): 295-298. Illus. 1.961.
50. FIGUEROA E., A.— Conferencias de Entomologia. Fac. De Agron. del Valle. Palmira. Colombia. 1.962 (Manuscrito no publicado).
51. FIGUEROA P., A.— Conferencias de Entomologia General. Tomo I. Fac. de Agron. del Valle. Palmira. Colombia. 306 pp. 1.961. (Manuscrito no publicado).
52. FITZ-JAMES, P. C.— Discussion in Spores.— A. symposium held at Allerton Park, Illinois. Am. Inst. Biol. Sci. Publ. N° 5:85-93. 1.957.
53. FOX, C. J. S. & R. P. JAKES.— Field tests with *Bacillus thuringiensis* Berliner and DDT for control of two pests of cabbage. Can. Jour. Plant Sci. 41(2):428-430. Illus. 1.961.
54. FRANZ, J.— (Véase Grison, 1956b.)
55. ————. — Bibliographie Über biologische Bekämpfung. Entomophaga. 3:333-364. 1.958.
56. GEERING, U. A. & A. H. LLOYD.—(Chestford Park Res. Sta. Saffron Walden, Essex, England). Effects of Lovo spray additives on performance of low-volume sprays of *Bacillus thuringiensis* Berliner. Jour. Econ. Ent. 55(5):786-790. Illus. 1.962.
57. GOLEBIEWSKA, Z.— (Pracowala Entomol. Poznań, Poland). Wstepne badania nad nozlieoscia zastosowania *Bacillus thuringiensis* Berliner do zwalczania mklka macznego (*Ephestia Kühniella* Zeller). Biul. Inst. Ochrony Roslin. 8:55-68. 1.960.
58. GRISON, P. & A. BEGUIN.— Premiere essais sur une méthode d'emploi et sur L'efficacité de *Bacillus cereus* contrae les chenilles processionnaires. Comp. Rend. Acad. Agric. 40:413-416. 1.954.
59. ————. — Quelques aspects de la lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures. Ann. Epiphyt. 4:543-562. 1.956a.
60. ————. —Rapport. Colloques d'Antibes. Comm. Inter. Lutte Biol. Nov. 20-22, 1.956: 119-124. 1.956b.
61. GUNTHER, S.— Über ei nen Bek'Smpfungsversuch mit *Bacillus thuringiensis* Berliner gegen *Hyponomeuta malinella* Zell. Zeit. Pflanzenkrankh. 67(8):475-478. 1.960
62. HALL, I. M. & K. Y. ARAKAWA.— The susceptibility of the house fly. *Musca domestica* Linnaeus, to *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner. Jour. Insect Pathol. 1:351-355. 1.959.
63. ————. & V. M. STERN.— (Univ. Calif., Riverside, Calif., U.S.A.). comparison of *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *thuringiensis* and chemical insecticides for control of the alfalfa caterpillar. Jour. Econ. Ent. 55(6):862-865. 1.962

64. HANNAY, C. L.— Inclusions in bacteria. In **Bacterial anatomy**, pp. 318-3 40. Sixth Symposium of Soc. Gen. Microbiol. Cambridge Univ. Press. London. 1956.
65. ———, & P. C. FITZ-JAMES.— The protein crystals of **Bacillus thuringiensis** Berliner. *Can. Jour. Microbiol.* 1:694-710. 1955.
66. HARVEY, T. L. & D. E. HOWELL.— The effect of **Bacillus thuringiensis** Berliner on **Drosophila melanogaster** Meigen. *Jour. Insect Pathol.* 5(4):495-497. 1963.
67. HEIMPEL, A. M.— Investigations of the mode of action of strains of **Bacillus cereus** Fr. & Fr. pathogenic to the larch sawfly (**Pristiphora erichsonii** (Htg.)). Ph. D. Thesis Queen's Univ. Kingston, Ontario. Canada. 1954.
68. ———.— Investigations of the mode of action of strains of **Bacillus cereus** Fr. & Fr. pathogenic for the larch sawfly, **Pristiphora erichsonii** (Htg.) *Can. Jour. Zool.* 33:311-326. 1955a.
69. ———.— Pathogenicity of a bacterium, **Serratia marcescens** Bizlo, for insects. *Canada Dept. Agr. For Biol. Bio-Mo. Rept.* 11:1. 1955b.
70. ———.— Further studies of the pH in the gut and blood of Canadian forest insects. *Can. Jour. Zool.* 34:210,212. 1956.
71. ———, & T. A. ANGUS.— Recent advances in the knowledge of some bacterial pathogens of insects. *Intern. Congr. Entomol. Proc. 10th congr., Montreal, 1956* 1958.
72. ———.— The susceptibility of certain geometrids to crystalliferous bacteria. *Canada Dept. Agr. Bio-Mo. Rept.* 15:2. 1959.
73. HELTOR, F.— Persistence de la virulence de bacteries entomopathogenes du groupe **thuringiensis**. *Rev. Pathol. et Entomol. Agric. France.* 40(1):13-16. 1961.
74. HOOPINGARNER, R. & M. E. A. MATERU.— The toxicology and histopathology of **Bacillus thuringiensis** Berliner to **Galleria Mellonella** (Linnaeus). *Jour. Insect Pathol.* 6(1):26-30. 1964.
75. HUDON, M.— Field experiments with **Bacillus thuringiensis** and chemical insecticides for the control of the European corn borer, **Ostrinia nubilalis**, on sweet corn in southwestern Quebec. *Jour. Econ. Ent.* 55(1):15-117. *Illus.* 1962.
76. HULL, G. Jr. & G. B. I. ONUOHA, (Tennessee A&M. Sta. Univ., Nashville). Pathogenicity of **Bacillus thuringiensis** Berliner for two species of webworms. *Jour. Insect Pathol.* 4(3): 357-360. 1952.
77. HUSZ, B.— Experiments during 1931 on the use of **Bacillus thuringiensis** Berliner in controlling the corn borer. *Inter. Corn. Borer Invest. Sci. Repts.* 4:22-23. 1931.
78. IGNOFFO, C. M.— The susceptibility of **pectinophora gossypiella** (Saund.) to intrahemocoelic injections of **Bacillus thuringiensis** Berliner. *Jour. Insect. Pathol.* 4(1): 34-40. *Illus.* 1962.
79. ———.— The effects of temperature and humidity on mor-

- ality of larvae of *pectinophora gossypiella* (Saunders) injected with *Bacillus thuringiensis* Berliner. Jour. Insect Pathol. 4(1):63-71. Illus. 1962.
80. ————. Sensibility spectrum of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner to antibiotics, sulfonamides, and other substances. Jour. Insect Pathol. 5(3):395-397. 1963.
81. ————, & S. R. DUTKY.— The effect of Sodium Hypochlorite on the viability and infectivity of *Bacillus* and *Beauveria* Spores and cabbage-looper nuclear-polyhedrosis virus. Jour. Insect Pathol. 5(4):422-426. 1963.
82. ISHIWATA, S.— (Report on sericulture.) Kyoto Imperial Univ. Station Séricicole. Rapport N° 2. 1902.
83. JACOBS, S. E.— Bacteriological control of the flour moth (*Ephestia kuniella* Zell.) Proc. Soc. Appl. Bacteriol. 13:83-91. 1950.
84. JAKES, R. P.— (Canada Dept. Agric. Res. Sta., Kentville, Nova Scotia, Canada). The influence of some fungicides on the effectiveness of sprays of *Bacillus thuringiensis* Berliner. Can. Jour. Plant Sci. 43(3):301-306. 1963.
85. KELLEN, W. R. & L. L. LEWALLEN.— Response of mosquito larvae to *Bacillus thuringiensis* Berliner. Jour. Insect Pathol. 2(3):305-307. 1960.
86. KRIEG, A & J. FRANZ.— Versuche zur Bekämpfung von wachsmotten mittels Bakteriose. Naturwissenschaften. 1:22-23. 1959.
87. ————, & E. MÜLLER-KUGIER.— Über pilzbedingte Heumengen von *Bacillus thuringiensis* Berliner in Submerskulturen. Naturwissenschaften. 22:630-631. 1959.
88. ————, & W. HERFS.— (Inst. Biol. Schädlingbekämpfung, Darmstadt, Germany). Über die Wirkung von *Bacillus thuringiensis* auf Bienen. (Efecto del *Bacillus thuringiensis* en abejas). (Entomol. Exptl. 6(1):1-9. Illus. 1963.
89. ————. Crystalliferous bacteria (del grupo del *Bacillus thuringiensis*). En el 8° Congreso Internacional de Microbiología, Montreal, 1962. Recent Progr. Microbiol. 8:134-140. 1963.
90. KUSHNER, D. G. & A. M. HEIMPEL.— Lecithinase production by strains of *Bacillus cereus* Fr. & Fr. Pathogenic for the larch sawfly, *Pristiphora erichsonii* (Htg.) Can. Jour. Microbiol. 3:547-551. 1957.
91. LAAM, P. A. van der & H. J. M. WASSINK.— (Univ. Amsterdam, Netherlands). Control of tent caterpillars (*Malacosoma neustria*) with *Bacillus thuringiensis* in the city of Amsterdam. Tijdschr. Plantenziekten. 68(2):143-146. 1962.
92. LABAW, L. W.— The structure of *Bacillus thuringiensis* Berliner Crystals. Jour. Ultrastructure Res. 10(1-2):66-75. Illus. 1964.
93. LECOMPTE, M. & D. Martouret.— Non toxicité pour les abeilles des traitements à base de *Bacillus thuringiensis* souche anduze. Ann. de l'Abeille. 2:171-175. 1959.

94. LECOROLLER, Y.— A propos de la transformation de souches banales de *B. cereus* Frank & Frank. en souches cristallophores pathogènes pour les insectes. Ann. Ins. Pasteur. 94:670-673. 1958.
95. LEMOIGNE, M. "et al".— Essais d'utilisation de *Bacillus thuringiensis* Berliner contre *Pieris brassicae* L. Entomophaga. 1:19-34. 1956.
96. LIPA, J. J.— (Título en Ruso).— Control de algunas plagas lepidópteras en crucíferas con dos insecticidas microbiales comerciales (Biotrol 25W y Thuricide WP). Biul. Inst. Ochrony Roslin. 16:235-256. Illus. 1962.
97. MAJUNDER, S. K., M. MUTHU & PINGALE, S. V.— Bacteriological control of insects. I. Studies on field control of Lablab podboring caterpillar. Indian Jour. Entomol. 18:397-407. 1956.
98. MARCEL, H.— (Canada Dept. Agric. Res. Br. St. Jean, Quebec, Canada). Further field experiments on the use of *Bacillus thuringiensis* and Chemical insecticides for the control of the European corn borer, *Distritia nubilalis*, on sweet corn in southwestern Quebec. Jour. Econ. Ent. 56(6):804-808. 1963.
99. MARTOURET, D.— Les conditions d'utilisation des préparations à base de *Bacillus thuringiensis* contre les larves de Lépidoptères. Rev. Zool. Agr. et appl. 1-3:2-11. 1959a.
100. ————.— Applications diverses et normes d'utilisation de *Bacillus thuringiensis* Berliner; souche "anduze". Entomophaga. 4:211-220. 1959b.
101. ————, & G. EUVERTE.— The effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner Preparations on the honey bee under conditions of forced feeding. Jour. Insect Pathol. 6(2):198-203. 1964.
102. MASERA, E.— La malattia infettiva degli insetti. A monograph issued by the R. Stazione Biologica Sperimentale di Padova. L. Capelli, Bologna. 1936.
103. MCGAUGHEY, C. A. & H. P. CHU.— The egg yolk reaction of aerobic spore bacilli. Jour. Gen. Microbiol. 2:334-340. 1948.
104. MECHALAS, B. J. & P. H. DUNN.— Bioassay of *Bacillus thuringiensis* Berliner-Based Microbial Insecticides. I. Bioassay Procedures. Jour. Insec Pathol. 6(2):214-217. 1964.
105. ————, & N. B. ANDERSON.— Bioassay of *Bacillus thuringiensis* Berliner-based microbial insecticides. II. Standardization. Jour. Insect Pathol. 6(2):218-224. 1964.
106. METALNIKOV, S. & C. TOUMANOFF.— Recherches experimentales sur l'infection de *Pyrausta nubilalis* par des champignons entomophytes. Compt. rend. soc. biol. 98:583-584. 1928.
107. ————, & V. CHORINE.— On the infection of gypsy moth and certain other insects with *Bacillus thuringiensis*. Inter. Corn Borer Invest. Sci. Repts. 2:60-61. 1929.
108. ————, J. ERMOLAEV & SKOBALTZYN, V.— New bacteria pathogenic to the larvae of *pyrausta nubilalis* Hbn. Intern. Corn

Borer Invest. Sci. Repts. 3:28-36. 1930.

109. ————.—Utilisation des microbes dans la lutte contre *lymantria* et autres insectes nuisibles. Comp. Rend. Soc. Biol. 105: 535-537. 1930.
110. ————, B. HERGUIA & STRALL, D. M.— Experiments on the application of bacteria against the corn borer. Int. corn Borer Invest. Sci. Repts. 3:148-151. 1930.
111. ————, & S. S. METALNIKOV Jr.— Utilisation des bactéries dans la lutte contre les insectes nuisibles aux cotomiers. Compt. Rend. Soc. Biol. 113:169-172. 1933.
112. MONRO, R. E.— (Univ. Cambridge, England). Serological studies on the formation of protein parasporal inclusions in *Bacillus thuringiensis*. Jour. Biophys. and Biochem. Cytol. 11(2):321-331. Illus. 1961.
113. ————.—(Inst. Molecular Biol., Cambridge, Inglaterra). Protein turnover and the formation of protein inclusions during sporulation of *Bacillus thuringiensis*. Biochem. Jour. 81(2):225-282. Illus. 1961.
114. MORRIS, O. N.— (Forest Entomol. Pathol. Lab., Dept. Forest Canada, Victoria, Brit. Columbia). Comparative susceptibility of four forest insects to a commercial preparation of *Bacillus thuringiensis* (Berliner). Can. Entomol. 94(7):686-690. 1962.
115. ————.—Pathogenicity of three commercial preparations of *Bacillus thuringiensis* Berliner form some forest insects. Jour. Insect Pathol. 5(3):361-367. 1963.
116. MORRISON, F. O. & J. M. PERRON.— Sensibilité des différents stades larvaires de *Galleria mellonella* L. a *Bacillus thuringiensis* Berliner. Phytoprotection. 44(2):106-115. Illus. 1963.
117. MOORE, I., J. HELPERIN & NAVON, A.— Laboratory and field trials in the bacterial control of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea wilkinsoni* tams. with *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner. Israel Jour. Agric. Res. 12(4):167-174. Illus. 1962.
118. NORRIS, J. R. & H. D. BURGESS.— Esterases of crystalliferous bacteria pathogenic for insects: epizootiological applications. Jour. Insect Pathol. 5(4):460-472. 1963.
119. PAILLOT, A.— On the natural equilibrium of *Pyrausta nubilalis* Hb. Intern. Corn Borer Invest. 1:77-106. 1928.
120. PARROT, W. L.— The use of *Bacillus thuringiensis* Berliner for the control of cabbage caterpillars. Proc. Ind. Acad. Sci. 69:150-151. 1959.
121. PINTING, P. J. (Forest insect Lab., Sault Ste. Marie, Ontario, Canada). The effectiveness of a microbial (*Bacillus thuringiensis*) insecticide against larvae of the European pine shoot moth, *Rhyacionia buolana* (Schiffermüller). Jour. insect Pathol. 4(4):484-486. Illus. 1963.
122. QUINTON, R. J. & C. C. DOANE.— (Connecticut Agric. Expt. Sta., New Haven U.S.A.). *Bacillus thuringiensis* against the fall cankerworm, *Alsophila pometaria* (Lur. Econ. Ent. 55(4):567-568. Illus. 1962.

123. RAGHAVA, W. A. (Agriculture College. Bapatla, India). Trials with *Bacillus thuringiensis* Berliner. A microbial insecticide in the control of certain insects. *Andhra Agric. Jour. (India)*. 9(2):66-70. 1962.
124. RAUN, E.S.— Corn borer control with *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Iowa Sta. Jour. Sci.* 38(2):141-150. 1963.
125. RENG AYYAR, G.— (Agri. Coll. and Res. Inst., Vellayanl Nemon, India) Preliminary trials with an entomogeneous bacterium, *Bacillus thuringiensis* Berl., new to India. *Current Sci.* 30(1):29-30. 1961.
126. REVELO, M. A.— Efectos del *Bacillus thuringiensis* Berliner sobre algunas plagas Lepidópteras del maíz bajo condiciones tropicales. Fundación Alejandro Angel Escobar. Bogotá, Colombia. 1964. (Manuscrito no publicado).
127. ROEHRICH, R.— A comparative study of the sensibility of three Lepidoptera (Tortricidae) to commercial preparations of *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Jour. Insect Pathol.* 6(2):186-197. 1964.
128. SCHWETZOWA, O. I.— Biological characters of some entomophagenous bacteria and their practical use. Comunicación a la Primera Conferencia Internacional sobre patología de los insectos y la Lucha Biológica. Praga, Checoslovaquia, 1958.
129. SEKHAR, P. S. & K. GOPINATH.— (Coffee Res. Sta. P. O., Mysore, India). Susceptibility of the coffee hairy caterpillar, *Eupterote fabia* cramer, to *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Jour. Insect Pathol.* 4(3):381-384. 1962.
130. SILVA, M. D. de.— Microbial control. I. Laboratory tests on the susceptibility of the Lepidopterous pests of cabbage in Ceylon to commercially prepared *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Trop. Agric. (Ceylon)*. 116(4):273-286. Illus. 1960.
131. STEINHAUS, E. A.— A study of the bacteria associated with thristy species of insects. *Jour. Bac.* 42:757-790. 1941.
132. ————. Insect Pathology and biological control. *Jour. Econ. Ent.* 38:591-596. 1945a.
133. ————. Bacterial infection of potato tuber moth larvae in an insectary. *Jour. Econ. Ent.* 38:718. 1945b.
134. ————. Insect Microbiology. Comstock Publ. Co. Inc. Ithaca New York. 763 pp. 1946.
135. ————. An Orientation with respect to members of the genus *Bacillus* pathogenic for insects. *Bacteriol. Revs.* 10:51-61. 1946.
136. ————. Insect microbiology. Comstock Publ. Co. Ithaca. New York, 763 pp. 1946.
137. ————, & K. M. HUGHES.— A granulosis of the western grape leaf skeletonizer. *Jour. Econ. Ent.* 45(4):744. 1952.
138. ————. Stress as a factor in insect disease. Intern. Congr. Entomol. Proc. 10th Congr., Montreal. 1956. 1953.
139. SWEETMAN, H. L.— The principles of Biological Control W. W. C.

Brown Co. Publ. Dubuque, Iowa. 559 pp. 1.958.

140. SWIRNOFF, W. A.— (Forest Res. lab., Quebec, Canada). A staining method for differentiating spores crystals and cells of *Bacillus thuringiensis* (Berliner). Jour. Insect Pathol. 4(3):384-386. Illus. 1.962.
141. ————. — Essais de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner et *B. cereus* Fr. & Fr. sur les chenilles de la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). Phytoprotection. 44(1):61. 1.963.
142. ————. — Test of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner and *B. cereus* Fr. & Fr. on larvae of *Choristoneura fumiferana* (Clemens). Canadian Entomology. 95(2):127-132. 1.963.
143. The formation of crusts in *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner before sporulation, at low-temperature incubation. Jour. Insect Pathol. 5(2):242-250. Illus. 1.963
144. TALALAEV, E. V.— Establishment of a bacteriological method of warfare against the Siberian silkworm (*Dendrolimus sibericus*). (En ruso. In Russian). Proc. Inst. Intern. Conference of Insect Pathology and Biological control. Prague, 1.958. 1.958.
145. TAMASHIRO, M.— (Univ. Hawaii, Honolulu). The susceptibility of Bracon-paralyzed *Corecya cephalonica* (Stainton) to *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner. Jour. Insect. Pathol. 2(3):209-219. 1.960.
146. TANADA, T. —Susceptibility of the imported cabbage worm to *Bacillus thuringiensis* Berliner. Proc. Hawaiian Entomol. Soc. 15:159-166. 1.953.
147. TANADA, Y.— Microbial control of imported cabbageworm. Hawaii Farm Sci. 4(3):6-7. 1.956.
148. TOUMANOFF, C. & C. VAGO.—L'agent pathogène de la flacherie des vers à soie endémique dans la région des Cévennes: *Bacillus cereus* var. *alesti* var. nov. compt. Rend. 233:1504-1506. 1.951
149. ————. — Essais comparatifs sur la virulence pour *Bombyx mori* L. (Lepidoptera) de divers bacillus entomophytes du groupe *cereus*. Ann. Inst. Pasteur. 83:634-639. 1.952a.
150. ————. — La nature de l'affection des vers à soie due à *Bacillus cereus* var. *alesti* Tourn. et Vago, et les modalités d'action de ce bacille. Ann. Inst. Pasteur. 83:421-422. 1.952b.
151. ————. — L'effet de l'alcalinité du milieu de culture sur la virulence de *Bacillus cereus* var. *alesti* Tourn. & Vago, pour les vers à soie. Comp. Rend. Acad. Sci. 235:1717-1718. 1.952c.
152. ————. — A propos d'un bacille pathogène pour les vers à soie au Japon (*Bacillus sotto* Ishiwata) et ses affinités avec d'autres bacilles entomophytes. Ann Inst. Pasteur. 82:512-516. 1.952.
153. ————. — Description de quelques souches entomophytes de *Bacillus cereus* Frank et Frank. avec remarques sur leur action et celle d'

- autres bacilles sur le jaune d'oeuf. Ann. inst. Pasteur. 85:90-99. 1953.
154. ———, & C. VAGO.— Etude histopathologique de vers à soie atteints de *Bacillus cereus* var. *alesti*. Ann. Inst. Pasteur. 84:376-386. 1953.
155. ———.— A propos d'un caractère, différentiel de *Bacillus cereus* var. *alesti* Toum. et Vago, agent pathogène de la flacherie infectieuse des vers à soie. Ann. Inst. Pasteur. 87:486-493. 1954.
156. ———, C. VAGO & GLADILLNE, C.— Recherches sur l'effet toxique de *Bacillus cereus* var. *alesti* vis-à-vis des vers à soie. Ann. Inst. Pasteur. 86:438-445. 1954.
157. ———, & P. GRISON.— Etudes préliminaires sur l'utilisation des bactéries et champignons entomophages contre les insectes nuisibles. Comp. Rend. Acad. Agri. Extrait du procès verbal de la Séance du 7 April 1954. 4 pp. 1954.
158. ———, M. LAPIED & MALMANCHE, L.— Au sujet de souches cristallophores entomophytes de *cereus*. Observations sur leur inclusions cristallines. Ann. Inst. Pasteur. 89:644-653. 1955.
159. ———, & C. VAGO.— Sur la virulence vis-à-vis du ver à soie de quelques *cereus* entomophytes en tant que test de comparaison. Ann. Inst. Pasteur. 88:388-392. 1955.
160. ———.— Virulence expérimentale d'une souche banale de *Bacillus cereus* Frank. et Frank. pur les chenilles de *Gallerie melonella* L. et *Pieris brassicae* L. Ann. Inst. Pasteur. 90:660-665. 1956.
161. ———, & L. MALMANCHE.— Virulence expérimentale d'une souche banale de *Bacillus cereus* Frank et Frank. pour les chenilles de *Galleria melonella* L. et *Pieris brassicae*. Ann. Inst. Pasteur. 90:660-665. 1956.
162. VANKOVA, J.— Study of the effect of *Bacillus thuringiensis* on insects. Folia Biol. (Prague). 3:175-182. 1957.
163. VASILJEVIC, L.A.— Patogeno dejstvo nekih vrsta bakterija na dudovca. (*Hyphantria cunea* Drury). Institut za Zaxtitu Bilja Posebna Izdanja. (Memoirs of the institute for plant protection). 7:1-79. Seograd. 1957.
164. VENKATRAMAN, T. V., V. K. MATHUR & CHANDER, R.— Experiments on the possible use of *Bacillus thuringiensis* Berl. in the control of crop pests. I. Tests with two spore formulations of *B. thuringiensis* against some insect pests. Indian Jour. Entomol. 24:274-277. 1962.
165. WEISER, J. & J. VEBER.— The possibilities of biological control of the fall webworm (*Hyphantria cunea* Drury). Zool. a Entomol. Listy. (Folia Zool. et Entomol.). 3:55-68. 1954.
166. YOUNG, I. E. & P. C. FITZ-JAMES.— Chemical and morphological studies of bacterial spore formation. II. Spore and parasporal protein formation in *Bacillus cereus* var. *alesti*. Jour. iBophys. Biochem. Cytol. 6:483-489. 1959.
167. ZAGATO, AG. A. ORLANDO & COUTINHO, J. M.— (Título en portu-

gués). Estudio del uso del *Bacillus thuringiensis* Berliner en el control de insectos de los granos almacenados. *Biológico*. 29(11):234-235. 1963.

168. ZERNOFF, V.—Microbes virulents pour les chenilles (*Galleria mellonella* et *Pyrausta nubilalis*). *Compt. Rend. Soc. Biol.* 106:543-546. 1931.
169. ———.—Sur l'infection et l'immunité chez *Caeraxis* (*Dixippus*) *moscosus*. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 111:385-386. 1932.

SUSCEPTIBILIDAD APROXIMADA DE DIFERENTES ESPECIES DE INSECTOS A LA ACCION DE LA
BACTERIA ENTOMOFAGA *Bacillus thuringiensis* Berliner (1)

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
COLEOPTERA				
Bostrichidae (Bostrychi- dae o apati- dae)	Rhyzoperta dominica (Fabr.)	0		Steinhaus & Bell, 1953
Chrisomeli- dae	Galerucella luteola (Müll.)		0 a +	Hall & Dunn, 1958
	Haitica anabiens Lie		0 a +	Hall & Dunn, 1958
	Leptinotarsa decimilineata (Say.)		0 a +	Krieg, 1957
Coccineli- dae	Epilachna ocellana Fabr.	S		Venkatraman, Mathur & Chan- der, 1962
Curculioni- dae	Hypera brunneipennis (Boh.)	Larva: + - + - + -		Hall, 1957
		Adulto: + - +		Hall, 1957
				Larva: + ± + + - +
	Sitophilus oryza L.	0		Berliner, 1915

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Curculioni- dae	<i>Sitophilus granarius</i> (L.)	- · - · -		Steinhaus & Bell, 1953
	<i>Sitophilus oryza</i> L.	0		Berliner, 1915
		- · a · - · - · -		Steinhaus & Bell, 1953
		0 a -	- · - · a · - · - · - (2)	(Anónimo), 1960-61
				Zagato, Orlando & Coutinho, 1963
	<i>Sitophilus sasaki</i> (Takahashi)		- · - · a · - · - · - (2)	(Anónimo), 1960-61
Dermestidae	<i>Dermester lardarius</i> L.	0		Berliner, 1915
	<i>Trogoderma granarium</i> Everts	0		De & Konar, 1955
Mylabridae	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say)	0		Metalnikov & Chorine, 1929
Scarabaeidae	<i>Melolontha</i> sp.	0		Krieg, 1957
	<i>Oryctes rhinocerus</i> L.	- · -		Steinhaus, 1951
	<i>Popilia japonica</i> Nwm.	- · -		Steinhaus & Bell, 1953
Tenebrioni- dae	<i>Gnathocerus conutus</i> (Fabr.)	0		Berliner, 1915
	<i>Tribolium castaneum</i> (Herbst.)		- · - · a · - · - · - (2)	(Anónimo), 1960-61
	<i>Tribolium confusum</i> Duv.	- · -		Steinhaus & Bell, 1953
	<i>Tribolium molitor</i> L.	0		Berliner, 1915
	<i>Tribolium ferrugineum</i> Fabr.	- · -		Berliner, 1915
DICTIOPTERA				
Blattidae	<i>Periplaneta americana</i> L.	0		McConnel & Richards, 1959

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Laboratorio	Campo
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo		
DIPTERA					
Culicidae	<i>Aedes aegypti</i> L.	Larva: - - a - - - -		Liles & Dunn, 1959	
		0		McConnel & Richards, 1959	
	<i>Anopheles maculipennis</i> Meig.	0		Metalnikov & Chorine, 1929	
	<i>Culex pipiens</i> L.	0		Metalnikov & Chorine, 1929	
Drosophilidae	<i>Drosophila melanogaster</i> Meigen	Larvas: - - - a - - - -		Harvey & Howell, 1963	
Muscidae	<i>Musca domestica</i> L. (Larvas)	S(3)		Hall & Dunn, 1958	
		S		Briggs, 1959	
		S		Dunn, 1959	
		0 a - (3)		Hall & Arakawa, 1959	
		- - - - -	0 a - (2)	(Anónimo) 1960-61	
		- - - - -	- - - - -	Figueiredo Countinho & Orlan-	
				do, 1960	
		S		Dunn, 1960	
		S(3)		Harvey, 1960	
		- - a - - - -		Dunn, Wilson & Tower, 1961	
Tipulidae	<i>Tipula paludosa</i> Meig.	- - - a - - - - -		Borgatti & Guyer, 1963	
		- - a - - -		Felgin, 1963	
		0		Krieg, 1957	
Trypetidae	<i>Dacus dorsalis</i> Hendel	S		Steinhaus & Bell, 1953	
HYMENOPTERA					
Apidae	<i>Apis mellifera</i> L.	0 a - -		Krieg & Herfs, 1963	
Apidae	<i>Apis mellifera</i> L.	0 a - - -		Martouret & Euberte, 1964	

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Diprionidae	<i>Diprion hercyniae</i> (Htg.)	0(4)		Angus, 1.956
		0		Franz, 1.956 a y b
		0		Krieg, 1.956
		0		Krieg, 1.957 b
	<i>Neodiprion abietis</i> (Harr.)	0 a -		Heimpel, 1.961
		0(4)		Angus, 1.956
	<i>Neodiprion americanus banksianae</i> (Roh.)	0 a -		Heimpel, 1.965
		0(4)		Angus, 1.956
	<i>Neodiprion sertifer</i> (Geoff.)	0 a -		Heimpel, 1.961
		0(4)		Angus, 1.956
	<i>Neodiprion swaini</i> Nidd.	0		Krieg, 1.957
		0 a -		Heimpel, 1.961
Tenthredinidae	<i>Croesus septentrionalis</i> L.	0		Krieg, 1.957
	<i>Hemicroa crocea</i> (Fourcroy)	0 a -		Heimpel, 1.961
	<i>Nematus rivesii</i> (Scopoll)	0 a -		Heimpel, 1.961
	<i>Pikonema alaskensis</i> (Roh.)	0 a -		Heimpel, 1.961
	<i>Pristiphora abietina</i> (Chris.)	0		Franz, 1.956 a y b
		0		Krieg, 1.956
		0		Krieg, 1.957
	<i>Pristiphora erichsonii</i> (Htg.)	- - -		Heimpel, 1.955
			0 a - -	Swirnoff & Heimpel, 1.960
		0 a -		Heimpel, 1.961

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
LEPIDOPTERA				
Arctidae	Diacrisia virginica (Fab.)	·-		Steinhaus, no publicado
		·-·-·-		Hall, 1957
	Estigmene acrea (Drury)	·-·- a ·-·-·-		Hall & Dunn, 1958
		·-		Weiser & Veber, 1954
	Hyphantria cunea (Drury)	·-·-·-·-		Vasiljevic, 1957
		·-·-·-(5)		Vasiljevic, 1957
		·-·-·-		Hull & Onuoh, 1962
		·-·-·-·-(4)		Ishiwata, 1902
		·-·-·-·-(4)		Aoki & Chigasaki, 1915a y b
		·-·-·-·-(4)		Aoki & Chigasaki, 1916a y b
		·-·-·-·-(5)		Toumanoff & Vago, 1951 (ais-
Bombycidae	Bombyx mori (L.)	·-·-·-·-(4)		lamiento original de la var.
		0		alesti)
		·-·-·-·-(5)		Toumanoff & Vago, 1952
		·-·-·-·-(5)		Toumanoff & Vago 1952a
		·-·- a ·-·-·-		Toumanoff & Vago, 1952a, b, c
		·-·-·-·-(4)		Toumanoff, Vago & Gladilini,
		·-·-·-·-(5)		1954
		·-·-·-·-(5)		Toumanoff & Vago, 1955
		·-·-·-·-(5)		Toumanoff & Vago, 1955
		·-·-·-·-(5)		Toumanoff & Vago, 1955
Bombycidae	Bombyx mori (L.)	·-·-·-·-(4)		Angus, 1956a
		·-·-·-·-(4)		Angus, 1956a, b, c
		·-·-·-·-		Vanková, 1957
		·-·-·- a ·-·-·-·-		Steinhaus, no publicado

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Bombycidae	<i>Antheraea pernil</i> Guérin		S(4) S	Angus & Heimpel 1956 Heimpel & Angus, 1959
Citheroniidae	<i>Anisota rubicunda</i> (Fbr.)	·-·-·-·-		Angus, 1956a
		·-·-·-·-(4)		Angus, 1956a, c
	<i>Anisota senatoria</i> (A.&S.)	·-·-·-		Angus, 1956a
		·-·-·-·-(4)		Angus, 1956a, c
Dioptridae	<i>Phrygania californica</i> Packard	·-·-		Steinhaus, 1951a
Ecosmididae	(Véase Olethreutidae)			
Gelechiidae	<i>Gnorimoschema operculella</i> (Zell.)		·-·-·-(5)	Toumanoff & Grison, 1954
	<i>Pectinophora</i> (<i>Gelechia</i>) <i>gossypiella</i> (Saund.)		S	Metalsnikov & Metalsnikov Jr., 1932
			S	Metalsnikov & Metalsnikov Jr., 1933
	<i>Sitotroga cerealella</i> (Oliv.)	·-·- a ·-·-·-·-·-·- 0 a ·-·-·-·-·-·- ·-·-·-·-·-·-		Ignoffo, 1952a, b Steinhaus & Bell, 1953 Zagato, Orlando & Coutinho, 1963
Geometridae	<i>Alsophila manmetaria</i> (Harris)		·-·- a ·-·-·-·-·-·-	Jaques, 1961
	<i>Alsophila pometaria</i> (Harris)	·-		Quinton & Doane, 1962
	<i>Erannis tiliaria</i> (Harris)	·-·-·-·-(4)		Angus, 1956a
	<i>Hibernia defoliaria</i> (L.)	·-·-·- a ·-·-·-·-·-·-(5)		Grison, 1956a, b

Orden y familia	Insecto	Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
		Laboratorio	Campo	
Geometridae	<i>Himera pennaria</i> (L.)	- - - (5)		Grisson, 1956a, b
	<i>Lambdina fiscellaria</i> (Guen.)	0(4)		Angus, 1956a
	<i>Lambdina fiscellaria sommiara</i> (Hulst.)	- - a - - -		Morris, 1962
		- - - -		Morris, 1963
	<i>Lambdina fiscellaria lugubrosa</i> (Hulst.)	- - -		Morris, 1963
	<i>Operophtera brumata</i> (L.)	- - - a - - - (5)		Grisson, 1956a, b
		- - - a - - -	- - - a - - - -	Jaques, 1961
		- - - a - - -	- - - a - - - -	Jaques, 1963
	<i>Sabulodes caberata</i> Guen.	- - -		Steinhaus, no publicado
Hyponomeuti- dae	(Véase Yponomeutidae)			
Lasiocampi- dae	<i>Malacosoma</i> sp.	- - - - (5)		Toumanoff & Grison, 1954
	<i>Malacosoma americanum</i> (Fabr.)	- - - a - - - -	- - - a - - - - -	Jaques, 1961
		- - - a - - - -		Jaques, 1963
	<i>Malacosoma neustrium</i> (L.)	S(5)		Toumanoff, 1955
		- - - a - - - - (5)		Grisson, 1956a, b
		S		van der Damme & van der Haan, 1959
		- - - - -		Bucher, 1957
		- - - - -		van der Damme & Wassing, 1962
	<i>Malacosoma pluviale</i> Dyar.	0 a - -		Morris, 1963

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Lymantriidae (Lyparidae)	<i>Dasychira pudibunda</i> (L.)	± —		Krieg, 1957b
	<i>Nygmia</i> (<i>Euproctis</i>) <i>chysorrhoea</i> (L.)	0 -.-.-		Berliner, 1915 Krieg, 1957
		-.-.-		Vanková, 1957
	<i>Nygmia</i> (<i>Euproctis</i>) <i>phaerrhoea</i> (Don.)	-.-.- (5)		Grison, 1956
			-.-.-.-	Vanková, 1957
	<i>Lymantria dispar</i> L.		-.-.-.-	Vanková, 1957
	<i>Lymantria monacha</i> L.	0		Franz, 1956a, b
		0		Krieg, 1956
		0		Krieg, 1957b
	<i>Stilpnotia salicis</i> (L.)	-.-.-.-		Morris, 1963
	<i>Porthetria</i> (<i>Liparis</i>) <i>dispar</i> (L.)	-.-.-.-		Metalnikov & Chorine, 1929c
		-.-.-.-		Metalnikov, 1930
		S		Angus, 1955
		-.-.-.- (4)		Angus, 1956
		-(5)		Grison, 1956a, b
Lyonetiidae	<i>Ducculatrix thurberiella</i> Busk.	-.-.-.-		Franz, 1956a, b
		-.-.-.-		Krieg, 1956
		-.-.-.-		Krieg, 1957b
		-.-.- a -.-.-.-	-.-.- a -.-.-.-	Cantwell et al., 1961
		-.-.-.-	-.-.- a -.-.-.-	Hall, 1957
		-.-.-.-	-.-.- a -.-.-.-	Hall & Dunn, 1958
			-.-.- a -.-.-.-	Aragón, 1963

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Noctuidae	(Véase Phalaenidae)			
Notodontidae	<i>Datana integerrina</i> (G. & R.)	·-·-·-(4)		Angus, 1956a
	<i>Datana ministra</i> (Drury)	S		Angus, 1955
		·-·-·-(4)	·-·- a ·-·-·	Angus, 1956a, c Jaques, 1961
Nymphalidae	<i>Euphydryas chalcedona</i> (D. & H.)	·-		Steinhaus, no publicado
	<i>Junonia coenia</i> Hbn.	·-		Steinhaus, 1951a
		·- a ·-·-·		Steinhaus, 1951a
		·-		Steinhaus & Jerrel, 1954
	<i>Nymphalis antiopa</i> (L.)	·-·-·		Angus, 1956a
		·-·-·-(4)		Angus, 1956a, b
	<i>Vannessa urticae</i> (L.)	·-·-·		Metalnikov & Chorine, 1929c
Olethreutidae (Ecosmi- dae)	<i>Carpocapsa pomonella</i> (L.)		·-·- a ·-·-·	Jaques, 1961
	<i>Polychrosis botrana</i> (Schiff.)	0		Berliner, 1915
		·-·-·-·		Metalnikov, 1941
	<i>Spilonota ocellana</i> (Dennis & Schiff.)		·-·- a ·-·-·	Jaques, 1961
		·-·-·- a ·-·-·-·		Steinhaus, no publicado
Papilionidae	<i>Papilio philenor</i> L.			
Phalaenidae (Noctuidae)	<i>Agrotis ypsilon</i> Rott.		0 a \pm (2)	(Anónimo), 1960-1961
	<i>Alabama argillacea</i> Hbn.		·- a ·-·-·	Creighton, Cuthbert & Reid, 1964

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Phalaenidae (Noctuidae)	Alabama argillacea Hbn.	·-·-·-·-	·-·-·-·-	Figueredo Countinho & Orlando, 1960
	Heliothis absoleta Fabr.	·-·-·-	·- a ·-·-·-	Aragón, 1963
	Heliothis viresces Fabr.		0 a ·-·-	Majumber, Muthu & Pingale, 1955
			·-·-·-	Gurthrie, Rabb & Bowery, 1959
			·-·-·-	Creighton Kindard & Allen, 1961
	Heliothis zea (Doddie)	·-·-·-	·- a ·-·-·-	Aragón, 1963
		·-·-·-	0 a ·-·-	Tanada, no publicado
	Laphygma exigua (Hbn.)	·-·-·-	0 a ·-·-	Hall & Dunn, 1958
		·-·-·-	·- a ·-·-·-	Hall & Dunn, 1958
			0 a ·-·-	Hall & Andres, 1959
	Laphygma frugiperda (A. & S.)	·-	·-	Figueiredo, Countinho & Orlando, 1960
			0 a ·-·-(2)	(Anónimo), 1961-1962
	Peridroma margaritosa (Haworht)	·-		Steinhaus, 1951a
	Plusia chalcytes Esp.	·-·-·-·-		Helson, 1960
	Prodenia litura L.		S	Metalnikov & Metalnikov Jr., 1932
			S	Metalnikov & Metalnikov Jr., 1933
	Prodenia proefica Grote	·-·-		Steinhaus, 1951a
		·-·- a ·-·-·-		Steinhaus, 1951a
			·- a ·-·-·-	Aragón, 1963

Insecto		Graño de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Phalaenidae (Noctuidae)	<i>Pseudaletia unipuncta</i> (Haw.)	-(4)		Angus, 1956a
		0(4)		Angus, 1956c
	<i>Trichoplusia ni</i> (Hbn.)	-.-.-a-.-.-.-	-.-.-a-.-.-.-	Tanada, 1956b
		-.-.-a-.-.-.-	-.-.-a-.-.-.-	Hall, 1957
		-.-.-.-	-.-.-a-.-.-.-	Hall & Dunn, 1958
			-.-.-a-.-.-.-	Hall & Andres, 1959
			-.-.-a-.-.-.-	Grigarick & Tanada, 1959
		-.-.-.-		McEwen & Harvey, 1959
		-.-.-.-		Splittstoesser & McEwen, 1961
			-.-.-a-.-.-.-	Creighton, Cunthbert & Reid, 1964
Phalonildae	<i>Clisia ambiguella</i> Hbn.	0		Berliner, 1915
		-.-.-.-		Metalnikov, 1941
Pieridae	<i>Aporia crataegi</i> (L.)	-.-.-.-		Metalnikov & Chorine, 1929c
		-.-.-.-		Krieg, 1957b
	<i>Colias lesbia</i> Fabr.	-.-.-a-.-.-.-	-.-.-a-.-.-.-	Faldini & Pastrana, 1952
	<i>Colias philodice eurytheme</i> Boisd.	-.-.-.-	-.-.-.-	Steinhaus, 1951a, c
		-.-.-.-	-.-.-.-	Steinhaus & Jerrel, 1954
			-.-.-.-a-.-.-.-	Stern, Hall & Peterson, 1959
	<i>Pieris brassicae</i> (L.)		-.-.-.-	Hall & Vernon, 1962
		-.-.-.-		Metalnikov, 1930
			-.-.-.-	Toumanoff & Grison, 1954
			-.-.-.-(5)	Delaporte & Béguin, 1955
				Toumanoff, 1955

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Pieridae	Pieris brassicae (L.)	- - - -		Franz, 1.956a, b
		- - - -		Krieg, 1.956
		- - - -		Toumanoff & Malmanche, 1.956
		- - - - -		Burgerjon, 1.957
		- - - - a	- - - -	Krieg, 1.957a
		- - - -		Krieg, 1.957b
		S		Bonnefol, 1.958
		S		Bonnefol, 1.959
		- a - - - -		Lemoigne et al., 1.959
		- - - - -		McEwen & Harvey, 1.959
		- - - - -		Burgerjon, 1.962
			- - - - -	Geering & Lloyd, 1.962
		- - - - -		Lipa, 1.962
	Pieris maculipennis L.	- - - - -		Helson, 1.960
	Pieris rapae (L.)	- - - - -		Tanada, 1.953
			- - - - -	Tanada, 1.956a, b
		- - - - a - - - - -		Burgerjon, 1.957
		- - - - a - - - - - (5)		Bonnefol, 1.957
			- - - a - - - - -	Hall & Andres, 1.959
		- - - - a - - - - -		Hoyos, 1.959
			- - - - -	McEwen & Harvey, 1.959
		- - - - -		Helson, 1.960
			- - - - -	Fox & Jaques, 1.961
		- - - - -		Lipa, 1.962
	Pieris spp.		- - - - a - - - - -	Jaques, 1.963
		- - - - -	- - - - a - - - - -	Bonilla, 1.960

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Plutelli- dae	<i>Plutella maculipennis</i> (Curt.)	-.-.- a -.-.-.-	-.-.-.- a -.-.-.-.-	Tanada, 1.956b
		-.-.-.-.-		Oka, 1.957
		-.-.-.-		Menn, 1.960
		-.-.- a -.-.-.-		Silva, 1.960
			-.-.-.-	Fox & Jaques, 1.961
			-.-.- a -.-.-.-.-	Jaques, 1.963
Pterophori- dae	<i>Platyptilla carduidactila</i> (Riley)	-.-.- a -.-.-.-		Tanada, no publicado
				Tanada & Reiver, 1.960
Pyralidae (Pyralididae)	<i>Anagasta</i> (<i>Ephestia</i>) <i>Kühniella</i> (Zeller)	-.-.-.-.-		Berliner, 1.911
		-.-.-.-.-		Berliner, 1.915
		-.-.-.-.-		Mattes, 1.927
		-.-.-.-.-		White, 1.927
			-.-.- a -.-.-.-.-	Jacobs, 1.950
	<i>Aphomia gularis</i> (Zeller)	-.-.-.-.-		Steinhaus & Bell, 1.957
		-.-.- a -.-.-.-.-		Golebiowska, 1.960
		-.-.-.-.-		Steinhaus, 1.951a, b
		-.-.-.-.-		Steinhaus & Bell, 1.957
		-.-.-.-.-		Hall, 1.954
	<i>Crambus bonifatellus</i> (Huist)	-.-.-.-.-		Hall, 1.957
	<i>Crambus sperryellus</i> Knot	-.-.-.-.-	-.-.-.-.-	Hall, 1.957
	<i>Diatrea</i> spp.		-.-.- a -.-.-.-.-(2)	(Anónimo), 1.960-1961

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Pyrilidae (Pyrilididae)	<i>Ephestia elutella</i> (Hbn.)		S	Metalnikov & Metalnikov Jr., 1932
			S	Metalnikov & Metalnikov Jr., 1933
	<i>Galleria mellonella</i> (L.)	·-·-· ·-·-· a ·-·-·-·-·-·(5) 0 ·-·-· a ·-·-·-·-·-·(5) 0(4) 0(4) 0 ·-·-· a ·-·-·-· ± ·-·-· a ·-·-·-· ·-·-·-·(3) ·-·-·-· ·-·-· S		Zernoff, 1931 Toumanoff, 1954a Toumanoff, 1955 Toumanoff, 1955 Toumanoff, 1955 Angus, 1956c Toumanoff & Malmanche, 1956 Toumanoff & Malmanche, 1956 Krieg, 1957b Steinhaus, no publicado Tamashiro, 1960 Raghava 'e't al", 1962 Morrison & Perron, 1963 Hoopingarner & Materu, 1964
	<i>Hellula undalis</i> (Fbr.)	·-·-· a ·-·-·-·	·-·-· a ·-·-·-·-·-·	Tanada, 1956b
	<i>Hellula undalis</i> (Fbr.)	·-·-· a ·-·-·-·		Silva, 1960
	<i>Obstrinia</i> (<i>Pyrausta</i>) <i>nubilalis</i> (Hbn.)	·-·-·-·-· 0(4) -·(4)		Husz, 1928 Metalnikov & Chorine, 1928 Paillot, 1928
			·-·-·	Husz, 1929

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Pyralidae (Pyralididae)	Obstrinia (Pyrausta) nubilialis (Hbn.)	·- a ·-·-(4)		Metalnikov & Chorine, 1929a
		·-·-·-(4)		Metalnikov & Chorine, 1929a
		·-·-·-		Metalnikov & Chorine, 1929a
			·-·-·-	Metalnikov & Chorine, 1929b
		·-·-·-		Prell, en Chorine, 1929
			·-·-	Chorine, 1930
			·-·-	Husz, 1930
			·-·-·-	Metalnikov, Hergula & Strall, 1930
			·-·-·- a ·-·-·-·-	Chorine, 1931
			·-·-	Husz, 1931
		·-·-·-		Metalnikov, Ermolaeva & Sko- baltzyn, 1931
		·-·-·-		Zernoff, 1931
		·-·-·-		Steinhaus & Bell., 1953
		·-·-·-	·- a ·-·-	McConnell & Cutkomp, 1954
			0 a ·-·-·-	Tanada, 1959
			·- a ·-·-	Hudon, 1962
			·- a ·-·-·-	Marcel, 1963
			·- a ·-·-·-(3)	Raun, 1963
		Plodia interpunctella (Hbn.)	·-·-·-	
	·-·-·-			Steinhaus & Bell, 1953
S			Kantack, 1959	
Sacadodes pyralis Dyar		0 a ·-·-	Aragón, 1963	
Udea rubigales (Guén.)	·-·-·-		Hall, 1957	

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Pyrilidae (Pyrilididae)	<i>Udea rubigalis</i> (Guén.)		+- a -+ -+ -+	Hall & Dunn, 1958
Pyromorphi- dae	(Véase Zygaenidae)			
Sphingidae	<i>Protoparce quinquemaculata</i> (Johan.)	-+ -+ -+ a -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ (4) -+ -+ -+ -+	-+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+	Angus, 1955 Angus, 1956a, c Rabb, Steinhaus & Griffin, 1957 Rabb, Steinhaus & Gurthrie, 1957
	<i>Protoparce sexta</i> (Johan.)	-+ -+ -+ a -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ (4)	-+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+ -+	Angus, 1955 Angus, 1956a, c Gurthrie, Rabb & Bowery, 1959 Rabb, Steinhaus & Griffin, 1957 Rabb, Steinhaus & Gurthrie, 1957 Creighton, Kinard & Allen, 1961
Thaumetopoei- dae	<i>Thaumettopoea pityocampa</i> (D.&S.)	-+ -+ -+ -+ (5) S		Grison & Béguin, 1954 Delaporte & Béguin, 1955
	<i>Thaumettopoea processionea</i> L.	0 S -+ -+ -+ -+ (5)		Berliner, 1915 Grison & Béguin, 1954 Grison, 1956a, b

Insecto		Grado de susceptibilidad en prueba de		Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
	<i>Thaumetopoea Wilkinsoni</i> Tams.	·-· a ·-·-·-·(3)	·-· a ·-·-·-·(3)	Moore, Halperin & Navon, 1962
Tortricidae	<i>Amorbia essigana</i> Busk	·-·-·-·-·		Hall, 1957
		·-· a ·-·-·-·		Hall & Dunn, 1958
	<i>Argyrotaenia mariana</i>		·-·-· a ·-·-·-·-·	Jaques, 1961
	<i>Cacoecia murinana</i> Hbn.	·-·-·		Fransz, 1956a, b
		·-·-·		Krieg, 1956
		·-·-·		Krieg, 1957b
	<i>Choristoneura (Archips) fumifera</i> (Clem.)	0(4)		Angus, 1956c
		0 a ·-·-·		Heimpel & Angus, 1960
		S(3)		Swirnoff, 1963
			·-·-·-·	Swirnoff, 1963
	<i>Clysia ambiguella</i> Hbn.	S		Metalnikov & Metalnikov Jr., 1932
		S		Metalnikov & Metalnikov Jr., 1933
	<i>Grapholitha molesta</i> (Busk.)	·-· a ·-·-·		Roehrich, 1964
	<i>Laspeyresia pomonella</i> (L.)	·-· a ·-·-·		Roehrich, 1964
	<i>Lobesia botrana</i> (Schiff.)	·-·-· a ·-·-·-·-·		Roehrich, 1964
	<i>Platynota stultana</i> Weshn.	·-· a ·-·-·-·	0 a ·-·-·	Hall & Dunn, 1958
	<i>Tortrix viridana</i> L.	S		Burgerjon & Klinger, 1959
	<i>Tortrix</i> spp.	·-·-·-·-·		Helson, 1960

Insecto		Laboratorio en prueba de	Campo	Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Tortricidae	<i>Sparagnothis pilleriana</i> Schiff.	0		Berliner, 1915
		S		Metalnikov & Metalnikov Jr., 1.932
		S		Metalnikov & Metalnikov Jr., 1.933
Yponomeuti- dae (Hypono- meutidae)	<i>Atteva aurea</i> (Fitch.)	-.-.-.-.		Hull & Onuoha, 1.962
	<i>Hyponomeuta cognatella</i> Hbn.	-.-.-.(5)		Toumanoff, 1.954a
		-.-.-.(5)		Toumanoff, 1.955
	<i>Hyponomeuta maniella</i> Zell.	0 a -		Günther, 1.960
	<i>Hyponomeuta padella</i> (L.)	S(5)		Toumanoff, 1.955
	<i>Hypomoneuta</i> sp.	-.-.-.-.		Franz, 1.956
		-.-.-.-.		Krieg, 1.956
		-.-.-.-.		Krieg, 1.957
Zygaenidae (Pyromorphi- dae)	<i>Harrisina brillians</i> B. & McD.	-.-.-.-.		Thompson & Logan, 1.952
			-.-.- a -.-.-.-.	Hall, 1.955
		0 a -		Tanada, 1.959
ORTHOPTERA				
Locustidae	<i>Chortrippus pulvinatus</i> F. W.	0		Metalnikov & Chorine, 1.929c
	<i>Chorthippus dorsatus</i> Zeller	0		Metalnikov & Chorine, 1.929c
	<i>Stauroderus biguttulus</i> L.	0		Metalnikov & Chorine, 1.929c
	<i>Calliptamus italicus</i> (L.)	0		Metalnikov & Chorine, 1.929c

Insecto		Laboratorio en prueba de	Campo	Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
Phasmatidae	<i>Carausius morosus</i> Brunner	- - - -		Zernoff, 1932
OTROS (6)				
	<i>Acleris variana</i>	- - - - -		Morris, 1963
	<i>Agriophora caricopa</i> Wilk.	- - - - -		Helson, 1960
	<i>Ascia monuste orsis</i>	- - - - -		Figueiredo, Countinho & Orlando, 1960
	<i>Athalia proxima</i>	S		Venkatraman, Mathur & Chander, 1962
	<i>Azochis grupusalis</i>	- - - -		Figueiredo, Countinho & Orlando, 1960
	<i>Corcyra cephalomica</i> (Stainton)	S		Venkatraman, Mathur & Chander, 1962
		- - - - - (3)		Tamashiro, 1960
	<i>Crocidotomia binotalis</i>	- - - a - - - -		Silva, 1960
	<i>Dirphia sabina</i>	- - - -	- - - -	Figueiredo, Countinho & Orlando, 1960
	<i>Ectropis crepuscularia</i>	- - a - - -		Morris, 1962
	<i>Euproctis lunata</i>	S		Chander, 1962
	<i>Mamestra brassicae</i>	- - - -		Lipa, 1962
	<i>Melanolophia imitata</i>	- - - -		Morris, 1962
	<i>Mocis repanda</i>	- - - -		Figueiredo, Countinho & Orlando, 1960
	<i>Orgyia pseudosugata</i> McDunnough	- - -		Morris, 1963
	<i>Phlegethontius quinquemaculatus</i>	- - - - (4)		Angus & Heimpel, 1959
	<i>Pulsia erisoma</i>	- - - a - - - -		Silva, 1960
	<i>Schistocerca gregaria</i>	S		Chander, 1962

I n s e c t o		Laboratorio en prueba	Campo de	Autoridad y fecha
Orden y familia	Especies	Laboratorio	Campo	
OTROS (6)	<i>Sylepta silicalis</i>	· · · · ·	· · · · ·	Figueiredo, Countinho & Orlando, 1.960
	<i>Xanthopastis timais</i>	· · · · ·	· · · · ·	Figueiredo, Countinho & Orlando, 1.960
Otros organismos probados (7)				
Clase: Symphyla (Miriapoda)				
Scolopendrellidae (Scutigereillidae)				
	<i>Scutigereilla immaculata</i> (Newp.)	0		Tanada, no publicado
Clase: Oligochaeta (Anelida)				
	<i>Lumbricus terrestris</i> (L.)	S		Swirnoff & Heimpel, 1.961b

- (1) La clasificación de las especies anotadas en la presente Tabla se hicieron de acuerdo con Borror, D. J. y D. M. Delong. An Introduction to Insect Study. 4 ed. Reinehart & Co. New York, 1.959.
- (2) Ensayos realizados en la República de Colombia. The Rockefeller Foundation. Programa International Agricultural Sciences. Annual Report. 1.960-1.961 y 1.961-1.962.
- (3) Grado de susceptibilidad al *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*.
- (4) Grado de susceptibilidad al *B. thuringiensis* var. *sotto*.
- (5) Grado de susceptibilidad al *B. thuringiensis* var. *alesti*.
- (6) El autor localizó separadamente a dichas especies ya fuera por ignorar el Orden o la Familia a que pertenecen, o simplemente por no conocer a sus clasificadores.
- (7) No se contabilizaron vertebrados (incluyendo al *Homo sapiens*).

El grado de susceptibilidad aproximada, según lo indica, significa:

0	=	no susceptible
· ·	=	ligeramente susceptible
· · ·	=	moderadamente susceptible
· · · ·	=	marcadamente susceptible
· · · · ·	=	altamente susceptible
S	=	susceptible (sin que se haya indicado el grado de susceptibilidad)

T A B L A II —

LISTA PRELIMINAR DE INSECTOS BENEFICOS QUE OCURREN EN LOS ALGODONES CULTIVADOS EN COLOMBIA(*)

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE (**)	HUESPED O PRESA
ORTHOPTERA	MANTIDAE	(pr) <i>Stagmoptera setentrionalis</i>	Toda clase de insectos
		(pr) <i>Choerododis rhombicollis</i>	Idem.
		(pr) <i>Masonis surinama</i>	Idem.
	PHASMIDEA	(pr) <i>Prosarhria teretirrostris</i>	Insectos varios (posturas, larvas y adultos pequeños)
		(pr) <i>Parabacillus</i> sp.	Idem.
NEUROPTERA	MANTISPIDAE	(pr) <i>Mantispa</i> sp.	Lepidópteros (huevos y larvas pequeñas)
	CHRYSOPIDAE	(pr) <i>Crysopa</i> (varias especies)	Aphis, Lepidópteros diversos (huevos y larvas), Thrips, Cóccidos, ácaros
	MIRMELLONIDAE	(pr) Varias especies no identificadas	Lepidópteros (larvas pequeñas), hormigas
THYSANOPTERA	THIRIPIDAE	(pr) <i>Thrips nigra</i>	Thrips (larvas)
HEMIPTERA	MIRIDAE	(pr) <i>Phinaeloa</i> sp. posible <i>forticornis</i>	Alabama, <i>Heliothis</i> (huevos y larvas pequeñas)
	ANTHOCORIDAE	(pr) <i>Orius</i> (varias especies)	Idem.
	NABIDAE	(pr) <i>Nabis</i> sp.	<i>Heliothis</i> y otros lepidópteros (larvas)
	REDUVIIDAE	(pr) <i>Zelus longipes</i>	Insectos de cuerpo blando (larvas de Lepidópteros, Homóptera, Diptera)

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE (°°)	HUESPED O PRESA
HEMIPTERA		(pr) <i>Zelus errans</i>	Idem.
		(pr) <i>Zelus</i> sp.	Idem.
		(pr) <i>Castolus plagaticollis</i>	Sacadodes, Alabama, (larvas)
		(pr) <i>Brontostoma sanginosus</i>	Aphis, Thrips, Lepidópteros (posturas y larvas pequeñas)
		(pr) <i>Pselliopus punctipes</i>	Lepidópteros varios (larvas)
		(pr) <i>Apiomerus lanipes</i>	Heliothis, Alabama y otros Lepidópteros (larvas)
		(pr) <i>Rasahus hamatus</i>	Idem.
		(pr) <i>Rhodnius prolixus</i>	Idem.
		(pr) <i>Kepipta haurus</i>	Idem.
	LIGAEIDAE	(pr) <i>Geocoris llyidipensis</i>	Idem. (larvas pequeñas)
		(pr) <i>Geocoris</i> sp.	Heliothis alabama y otros lepidópteros (larvas pequeñas)
	NEIDIDAE	(pr) <i>Parajalysus</i> sp.	Idem.
	COREIDAE	(pr) <i>Gatorhinta gutula</i>	Alabama, Anomis, prodenia (huevos)
	PENTATOMIDAE	(pr) <i>Alcaerrhynchus grandis</i>	Sacadodes (huevos), Alabama (larva)
		(pr) <i>Doru lineare</i>	Diversos Lepidópteros (larvas)
		(pr) <i>Euchistus cremator</i>	Idem.
HEMAPTERA	FORFICULIDAE	(pr) <i>Edesa</i> sp. cerca a virula	Insectos pequeños, larvas posturas.
	LABIDURIDAE	(pr) <i>Carcinophora americana</i>	Idem.
	PYGIDIERANIDAE	(pr) <i>Piragra</i> sp.	Idem.

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE (**)	HUESPED O PRESA
COLEOPTERA	CICINDELIDAE	(pr) <i>Tetracha</i> sp. (posible <i>chilensis</i>)	<i>Agrotis</i> , <i>prodenia</i> , <i>Laphygma</i> , Alabama y otras
		(pr) <i>Tetracha sobrina</i>	Idem.
	CARABIDAE	(pr) <i>Calosoma granulatum</i>	<i>Agrotis</i> , <i>prodenia</i> , <i>Laphygma</i> y otros <i>Lepidópteros</i> (larvas)
		(pr) <i>Brachinus</i> sp.	<i>Agrotis</i> , <i>prodenia</i> , <i>Laphygma</i> y otros <i>Lepidópteros</i> (larvas)
		(pr) <i>Calathus fuscipes</i>	Idem.
	LAMPYRIDAE	(pr) <i>Aspisoma lateralis</i>	Insectos pequeños (varios)
	ELATERIDAE	(pr) <i>Pyrophorus noctilucus</i>	Idem.
	EROTYLIDAE	(pr) <i>Aeaghitus variacollis</i>	<i>Aphis</i> , <i>Dysdercus</i> (ninfas)
	LYCIDAE	(pr) <i>Colopteron tropicum</i>	<i>Lepidópteros</i> (larvas pequeñas)
		(pr) <i>C. palpalis</i>	Idem.
	COCCINELLIDAE	(pr) <i>Cycloneda sanguinea</i>	<i>Aphis gossypii</i> , <i>Lepidópteros</i> (larvas pequeñas)
		(pr) <i>Caleomegilia maculata</i>	<i>Aphis</i> , Alabama, <i>prodenia</i> (huevos, larvas pequeñas), ácaros
		(pr) <i>Corinus coerulus</i>	<i>Aphis gossypii</i>
		(pr) <i>Pentilia castanea</i>	<i>Aphis</i> , cócidos
		(pr) <i>Brachycantha bitripustulata</i>	<i>Aphis</i> , ácaros
		(pr) <i>Azya orbígera</i>	<i>Aphis</i> , cócidos
		(pr) <i>Neda murilloi</i>	<i>Aphis</i> cócidos
		(pr) <i>Hyperaspis annexa</i>	<i>Pseudococcus</i>
		(pr) <i>Scymus</i> sp.	<i>Aphis</i> , <i>Lepidópteros</i> (huevos)
		(pr) <i>Stethorus</i> sp.	Acaros
		(pr) <i>Phyllobora</i> sp.	Hongos (micelios del <i>oidium</i>)

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE (**)	HUESPED O PRESA
DIPTERA	ASILIDAE	(pr) <i>Proctacanthus</i> sp.	Alabama y otros Lepidópteros (larvas), Dípteros, Homópteros
		(pr) <i>Lapria</i> sp.	Idem.
		(pr) <i>Diomites</i> sp.	Idem.
		(pr) <i>Erax</i> sp.	Idem.
	SYRPHIDAE	(pr) <i>Baccha clavata</i>	Aphis gossypii y otros
		(pr) <i>B. capitata</i>	Idem.
	TACHINIDAE	(pr) <i>B. dimidiata</i>	Idem.
		(pr) <i>Eristalis albiceps</i>	Idem.
		(pr) <i>volucella esuriens</i>	Idem.
		(pr) <i>V. obesa</i>	Aphis, ácaros
		(pa) <i>Archytas</i> sp.	Tierreros (larvas de noctuidos)
		(pa) <i>Achaetoneura</i> sp.	Lepidópteros (larvas)
		(pa) <i>Belvosia bicinta</i>	Lepidópteros (larvas)
		(pa) <i>Gonia</i> sp.	Heliothis, tierreros (larvas de noctuidos)
		(pa) <i>Lepiselaga crassipes</i>	Heliothis sp.
		(pa) <i>Parasetigena</i> sp.	Lepidópteros (larvas)
		(pa) <i>Paradexas epilchnae</i>	Idem.
		(pa) <i>Phorocera</i> sp.	Alabama (larvas)
		(pa) <i>Eraspedonispasacharma</i>	Lepidópteros (larvas)
		(pa) <i>Teuchlabis jocosa</i>	Idem.
		(pa) <i>Tropidopsiomorfa trópica</i>	Idem.
		(pa) <i>Paraphoronta</i> sp.	Dysdercus (ninfas y adultos)
		(pa) <i>Winthemia</i> sp.	Alabama, Laphygma (larvas)
		(pa) <i>Zenilla</i> sp.	Heliothis y otros Lepidópteros (larvas)

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE (**)	HUESPED O PRESA
DIPTERA	SARCOPHAGIDAE	(pa) <i>Sarcophaga austriallis</i>	Heliothis, Laphygma, Prodenia (larvas)
		(pa) <i>S. Cerca a Wiedermanni</i>	Idem.
		(pa) <i>S. lambens</i>	Schistocerca, Alabama, Heliothis
		(pa) <i>S. crysostomanya</i>	Larvas de noctuidos
		(pa) <i>C. plintopyga</i>	Agrotis, Prodenia, Alabama (larvas)
		(pa) <i>Spathimelgenia</i> sp.	Alabama (larvas)
HYMENOPTERA	ICHNEUMONIDAE	(pa) <i>Crypthoekostizus</i> sp.	Sacadodes (pupas)
		(pa) <i>Enicospilus</i> sp.	Lepidópteros (larvas)
		(pa) <i>Neotheronia</i> sp.	Idem.
		(pa) <i>Perisierola</i> sp.	Idem.
	BRACONIDAE	(pa) <i>Apanteles thurberiae</i>	Sacadodes (larvas pequeñas)
		(pa) <i>Aphidius testaecipes</i>	Aphis gossypii
		(pa) <i>Microbracon platinotae</i>	<i>Pectinophora gossypiella</i> (larvas)
		(pa) <i>Ipobracon</i> sp.	Prodenia (larvas)
		(pa) <i>Meteorus</i> sp.	Laphygma, Prodenia (larvas)
		(pa) <i>Rogas</i> sp.	Alabama (larvas)
	CHALCIDIDAE	(pa) <i>Brachymeria ovata</i>	Alabama (larvas)
		(pa) <i>B. comitator</i>	Idem.
		(pa) <i>Spilochaicis femorata</i>	Ceratocomus, Agrotis (larvas)
		(pa) Especie no identificada	Sacadodes (huevos)
	ENCYRTIDAE	(pa) <i>Copidosoma truncatellum</i>	<i>Trichoplusia ni</i> (larvas)
		(pa) Especie no identificada	Cóccidos
	APHELINIDAE	(pa) <i>Eretmocerus</i> ?	Aleyrodidus
		(pa) <i>Prostaltella</i> ?	Idem.

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE (**)	HUESPED O PRESA
HYMENOPTERA	EULOPHIDAE	(pa) <i>Euplectrus junctus</i>	Agrotis, Prodenia, Alabama (Larvas)
		(pa) <i>E. platypenae</i>	Laphygma, Prodenia (larvas)
		(pa) <i>Eulophus</i> sp.	Heliothis virescens (larvas)
	TRICHOGRAMMATIDAE	(pa) <i>Trichogramma</i> sp.	Heliothis, Alabama, Trichoplusia (huevos)
	PELECINIDAE	(pa) <i>Pelecinus</i> sp.	Heliothis zea (larvas)
	SCOLIDAE	(pa) <i>Campsomeris hyalina</i>	Cryllotalpa, scapteriscus
		(pa) <i>C. ephippium</i>	Idem.
	FORMICIDAE	(pr) <i>Ectatomma ruidum</i>	Sacadodes y otros Lepidópteros (larvas)
		(pr) <i>Camponotus bugnioni</i>	Insectos varios (Huevos y larvas)
		(pr) <i>C. abdominalis</i>	Idem.
		(pr) <i>C. (myrmobrachys)</i> sp.	Idem.
		(pr) <i>Eciton (Labidus)</i> sp.	Idem.
		(pr) <i>Hoplomutiilla</i> sp.	Idem.
	VESPIDAE	(pr) <i>Polistes canadensis</i>	Sacadodes, Alabama, Laphygma y otros Lepidópteros (larvas)
		(pr) <i>P. canadensis</i> var. <i>paranensis</i>	Idem.
		(pr) <i>P. versicolor</i> var. <i>vulgaris</i>	Idem.
		(pr) <i>P. carnifex</i>	Idem.
		(pr) <i>Polybia nigra</i>	Alabama y otros Lepidópteros (larvas)
		(pr) <i>P. occidentalis</i>	Idem.
		(pr) <i>Parachartegus apicales</i>	Idem.
		(pr) <i>Syroca suriname</i>	Sacadodes, Alabama, (larvas)

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE (**)	HUESPED O PRESA
HYMENOPTERA	POMPHILIDAE	(pr) <i>Psommocharis lophopompilus</i>	Tierreros (larvas de noctuidos) grillus
		(pr) <i>P. (notiocharis) sp.</i>	Idem.
		(pr) <i>Pepsis ecuestris</i>	Tierreros (larvas de noctuidos) grillus
		(pr) <i>Pepsis sp.</i>	Idem.
		(pr) <i>Scheliphron figulum</i>	Alabama y otros Lepidopteros (larvas), Gryllus
	SPHECIDAE	(pr) <i>S. fistulare</i>	Idem.
		(pr) <i>Ammobia singularis</i>	Idem.
		(pr) <i>Rúbrica surinamensis</i>	Idem.
		(pr) <i>Agapostemon sp.</i>	Idem.

(*) Herrera, J. Problemas que presenta la represión de las plagas del algodonero en Colombia. Agricultura Tropical. 19(1):35-40. 1963.

(**) Las abreviaturas que preceden al nombre de cada especie significan:

(pa) = Parásito

(pr) = Predator

LISTA DE INSECTOS Y ARACNIDOS QUE ATACAN AL AGODONERO EN COLOMBIA (1)

Orden y Familia	(Especies (2))	Organos que ataca
Orthoptera		
Gryllidae	(-) <i>Cryllotalpahexadactylus</i>	Cuello de la raíz
	(-) <i>Cryllus assimilis</i>	Idem.
	(-) <i>Scarpteristicus didatylus</i>	Idem.
	(-) <i>S. oxydactylus</i>	Idem.
Locustidae	(-) <i>Tropinotus rosulentus</i>	Hojas, cápsulas tiernas
	(-) <i>Schistocerca paranensis</i>	Idem.
	(-) <i>S. implenta</i>	Idem.
	(-) <i>S. palens</i>	Idem.
	(-) <i>S. Boyacae</i>	Idem.
Isoptera		
Termitidae	(o) <i>Heterotermis convexinotatus</i>	Raíces, tallos
Thysanoptera		
Thripidae	(-) <i>Frankliniella gossypii</i>	Hojas, cogolos tiernos
	(-) <i>Heliothrips fasciapennis</i>	Idem.
	(-) <i>Microthrips pierrei</i>	Idem.
Hemiptera		
Tingitidae	(-) <i>Corythusa gossipii</i>	Hojas
Pyrrhocoridae	(o) <i>Dysdercus peruvianus</i>	Cápsulas
	(o) <i>D. columbicus</i>	Idem.
	(o) <i>D. fulvioniger</i>	Idem.
	(o) <i>D. chirinquinus</i>	Idem.
	(-) <i>D. fernaldi</i>	Idem.
	(-) Otras especies	Idem.

Orden y Familia	(Especies (2))	Organos que ataca
Coreidae	(-) <i>Lepthoglossus</i> sp.	Cápsulas
	(o) <i>Acrosternum maculata</i>	Idem.
Pentatomidae	(o) <i>Loxa viridis</i>	Idem.
	(-) Otras especies	Idem.
Homoptera		
Cicadellidae	(o) <i>Empoasca Kraemeri</i> (complejo)	Hojas
Aphididae	(-) <i>Aphis gossypii</i>	Hojas, cogollos
	(o) <i>Myzus persicae</i>	Idem.
	(o) <i>Aphis medicaginis</i>	Hojas, cogollos
Aleyrodidae	(a) <i>Bemisia</i> sp.?	Hojas
	(o) <i>Aleurotrixus</i> sp.?	Hojas
Coccidae	(o) <i>Pseudococcus</i> sp.	Tallos, hojas, cápsulas
	(o) <i>Orthesia</i> sp. posible insignes	Hojas, tallos
	(o) <i>Ischnaspis (emichionaspis) minor</i>	Tallos
	(-) <i>Coccus hemisphaerica</i>	Hojas
Coleoptera		
Elateridae	(o) <i>Aeolus</i> sp.	Raíces
	(o) <i>Chalcolepidius</i> sp.	Raíces
Tenebrionidae	(-) <i>Tenebroides mauritanicus</i>	Semillas
	(-) <i>Oryzaephilus surinamensis</i>	Semillas
	(o) <i>Tribolium castaneum</i>	Semillas
Tenebrionidae	(-) <i>Epitragus aurulenta</i>	Cogollos
Anobiidae	(o) <i>Lasioderma serricorne</i>	Semillas

Orden y Familia	(Especies (2))	Organos que ataca
Coleoptera		
Bosthricidae	(-) <i>Bostrychopsis uncinata</i>	Tallos
Scarabaeidae	(-) <i>Ciclocephala</i> sp.	Flores, cápsulas
Cerambycidae	(-) <i>Dectes</i> sp.	Tallos
Chrysomelidae	(o) <i>Diabrotica</i> sp. (cerca a <i>pairmani</i>)	Tallos
	(o) <i>Disonychia glabrata</i>	Hojas
	(o) <i>Systema</i> sp. (varias especies)	Hojas
Curculionidae	(-) <i>Anthonomus grandis</i>	Botones florales, cápsulas
	(o) <i>Anthonomus</i> sp. (cerca a <i>vestitus</i>)	Botones florales
	(-) <i>Colabismodes</i> sp.	Tallos
	(-) <i>Compsus</i> sp.	Cogollos
	(-) <i>Sitophilus oryzae</i>	Semillas
Lepidoptera		
Lyonetiidae	(o) <i>Bucculatrix thurberiella</i>	Hojas
Lyonetidae	(o) <i>B. gossypiella</i>	Hojas, tallos, botones
Gelechiidae	(-) <i>Pectinophora gossypiella</i>	Flores, cápsulas
Cosmopterygidae	(-) <i>Pyroderces stigmaphora</i>	Semillas
Tortricidae	(o) <i>Platynota</i> posible <i>rostrana</i>	Cogollos, hojas, botones, cápsulas
	(o) <i>Platynota</i> sp.	Cogollos, hojas, botones, cápsulas
	(o) <i>Argyrotaenia sphaleropa</i>	Cogollos, hojas, botones, cápsulas
Pyralidae	(o) <i>Ephestia</i> sp.	Semillas
	(-) <i>Plodia</i> sp.	Semillas
	(-) <i>Sacadodes pyralis</i>	Cogollos, botones, cápsulas

Orden y Familia	(Especies (2))	Organos que ataca
Lepidoptera		
Phalaenidae (Noctuidae)	(-)- Agrotis ypsilon	Cuello de la raíz, hojas
	(o) Feltia anneza	Cuello de la raíz, hojas
	(-)- Laphygma frugiperda	Cuello de la raíz, tallos, hojas, botones, cápsulas
	(-)- Prodenia sunia	Cuello de la raíz, tallos, hojas, botones, cápsulas
	(-)- P. ornithogalli	Cuello de la raíz, tallos, hojas, botones, cápsulas
	(-)- Heliothis zea	Cogollos, botones, cápsulas
	(-)- H. virescens	Cogollos, botones, cápsulas
	(-)- Alabama argillacea	Hojas
	(o) Anomis texana	Hojas
	(o) Anomis doctorium	Hojas
	(o) Anomis sp.	Hojas
	(-) Azeta versicolor	Hojas
	(o) Parochia daria	Hojas
	(o) Stigmene sp.	Hojas
Artidae	(o) Halisidota sp.	Hojas
	(-) Cydosia nobilitella	Hojas
Diptera		
Agromyzidae	(o) Agromyza sp.	Hojas
Phoridae	(-) Ceratocomus sp.	Tallos tiernos
Hymenoptera		
Formicidae	(o) Atta sexdens	Hojas
	(o) Atta cephalotes	Hojas

Orden y Familia

(Especies (2))

Organos que ataca

ARACNIDOS

Acarina

Tetranychidae

(o) *Tetranychus bimaculatus*

Hojas

Eriophidae

(o) *Eriophyes gossypii*

Hojas, ramas, botones

- (1) Herrera, J. M. Problemas que presenta la represión de las plagas del algodón en Colombia. *Agricultura Tropical*. 19 (1):35-40. 1963.
- (2) Las abreviaturas que preceden al nombre de cada especie significa:

(-) = Sin mucha importancia económica

(o) = Pueden adquirir importancia económica

(-·-) = Tienen gran importancia económica.

— T A B L A IV —

MICROORGANISMOS PATOGENOS A LARVAS DE LEPIDOPTEROS ENCONTRADOS DURANTE EL AÑO DE 1.963 EN EL DEPARTAMENTO DEL VALLE DEL CAUCA

Larva hospedera	Planta hospedera	Microorganismo patógeno	Acci. N° (1)	Colector Fecha	Localidad
No determinada	Palma africana	Beauveria bassiana (Bais.) Vuillemin	2.029	J. Sáenz III-5-63	Bajo Calima
Laphygma frugiperda (A. & S.)	Soya	Aerobacter aerogenes (Kru- se) Berj. Aspergillus flavus Link.	2.000		
		Spicaria rileyi (Farlow) Charles (2)			
Prodenia sp.	Soya	Aerobacter spp. Streptococcus (no determi- nado)	2.001	H. Alcaraz XII-6-63	Buga
		Spicaria rileyi (Farlow) Charles (2)			
Alabama argillacea (Hbn.)	Algodón	Nosena (no determinado) (3)	2.076	H. Alcaraz VI-1-63	Buga
Anticarsia genmatalis Hbn.	Algodón	Spicaria rileyi (Farlow) Charles (2)	2.211	A. Gil XII-2-63	Palmira
Sacadoses pyralis Dyar.	Algodón		2.154	H. Alcaraz VIII-63	Buga

Larva hospedera	Planta hospedera	Microorganismo patógeno	Acci. N° (1)	Colector Fecha	Localidad
<i>Sacadoses pyralis</i> Dyar.	Algodón			J. H. Aragón 15-VIII-63	Palmira
<i>Trichoplusia ni</i> (Hbn.)	Maleza	(4)		H. Patiño	El Bolo

- (1) "Accession number" asignado por la División de Patología de Invertebrados de la Universidad de California.
- (2) Casi siempre constituye ser un patógeno primario a insectos. Ha sido reportado como patógeno a *Spicaria rileyi* en 5 estados de los EE.UU. y en Puerto Rico; patógeno a *Prodenia ornitogalli* Guen y *Heliothis zea* (Boddie) en Nicaragua.
- (3) Similar al *Nosena heliothidis* Lute & Splendor. reportado como patógeno a varias especies de *Heliothis* en el Brasil y los EE.UU. También es similar al *Nosena laphygmae* welser, reportado en Venezuela como patógeno a larvas de *Laphygma frugi* perda (J. E. Smith.)
- (4) Los entopatógenos que posiblemente merezcan estudio son: *Spicaria rileyi* (Farlow) Charles, contra *Laphygma*, *Prodenia*. *Anticarsia* y *Heliothis*; *Nosena* sp. contra *Heliothis* y *Laphygma*; *Beauveria bassiana* Bals.