

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

EVALUACION TOXICOLOGICA DE 60 CEPAS DE  
Bacillus thuringiensis (Berliner), UTILIZANDO COMO INDICADOR  
LARVAS DE Spodoptera frugiperda (Smith)

T E S I S

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

P O R:

FRANCISCO DAVID ALDANA CERNA

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRONOMO

EN SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA

En el grado académico de Licenciado

Guatemala, mayo de 1,996

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**RECTOR**

**Dr. Jafeth Ernesto Cabrera Franco**

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA**

<b>DECANO:</b>	<b>Ing. Agr.</b>	<b>Rolando Lara Alecio.</b>
<b>VOCAL PRIMERO:</b>	<b>Ing. Agr.</b>	<b>Juan José Castillo Mont.</b>
<b>VOCAL SEGUNDO:</b>	<b>Ing. Agr.</b>	<b>William Roberto Escobar L.</b>
<b>VOCAL TERCERO:</b>	<b>Ing. Agr.</b>	<b>Carlos Roberto Motta.</b>
<b>VOCAL CUARTO:</b>	<b>P. Agrícola</b>	<b>Henry Estuardo España M.</b>
<b>VOCAL QUINTO:</b>	<b>Br.</b>	<b>Mynor Joaquín Barrios O.</b>
<b>SECRETARIO:</b>	<b>Ing. Agr.</b>	<b>Guillermo Méndez Beteta.</b>

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. Jaleth Remijnis Cabrera Franco

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRICULTURA

Guillermo Méndez Pérez  
Hyon Jacinto Pérez  
Henry Batzardo  
Carlos Roberto  
William Roberto  
Juan José Castro  
Rolando Lara Alarcón

Ing. Agr.  
Dr.  
P. Agrónomo  
Ing. Agr.  
Ing. Agr.  
Ing. Agr.  
Ing. Agr.  
Ing. Agr.

SECRETARIO:  
VOCALES QUINTO:  
VOCALES CUARTO:  
VOCALES TERCERO:  
VOCALES SEGUNDO:  
VOCALES PRIMERO:  
PRESIDENTE:

Guatemala, mayo de 1,996

Señores  
Honorable Junta Directiva  
Tribunal examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Respetables Señores:

En cumplimiento con las normas establecidas en la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, someto a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

**"EVALUACION TOXICOLOGICA DE 60 CEPAS DE  
Bacillus thuringiensis (Berliner), UTILIZANDO COMO INDICADOR LARVAS DE  
Spodoptera frugiperda (Smith)"**

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

Atentamente,



Francisco David Aldana Cerna

**A C T O   Q U E   D E D I C O**

**A:**

**DIOS TODOPODEROSO**

Manantial inagotable de amor y sabiduría.

**MIS PADRES**

Francisco David Aldana Cordón.  
María Ofelia Cerna de Aldana.  
En cuyos hombros, he podido  
siempre apoyar mi cabeza para  
escuchar palabras de aliento.

**MIS HERMANAS**

Gerda, Melby, Nora, Maya y Mariela.

**MIS SOBRINOS**

Paola, Lucía, Andrés, Rodrigo,  
Pámela, Fernanda, Katia, Tiara,  
Marielita, Claudia, Nataly y Ruby.

**MI NOVIA**

Alicia Valencia.

**MIS FAMILIARES**

En General.

**MIS AMIGOS Y  
COMPAÑEROS**

Con especial cariño.

TESIS QUE DEDICO

A:

MI PATRIA GUATEMALA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

TODAS LAS PERSONAS E INSTITUCIONES PREOCUPADAS POR  
LA PROTECCION DE NUESTRO ENTORNO ECOLOGICO

## A G R A D E C I M I E N T O S

Quiero por este medio hacer extensivo mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que de una u otra manera, contribuyeron a la realización de este trabajo; especialmente:

### A MIS ASESORES:

Ing. Agr. M.Sc. Alvaro Hernández  
Ing. Agr. M.Sc. Rolando Aguilera

Por su invaluable orientación y decidida colaboración en la presente investigación.

### Al:

Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI), En particular a:  
Lic. Sheryl de Cabrera

Por la asesoría prestada en la parte experimental del presente trabajo.

# CONTENIDO GENERAL

	Pag.
INDICE DE CUADROS	iii
INDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
1. INTRODUCCION	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
3. MARCO TEORICO	3
3.1 MARCO CONCEPTUAL	3
3.1.1 El Gusano Cogollero, <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smith)	3
3.1.2 Dietas Artificiales Empleadas en la Crianza de Estadíos Inmaduros de Insectos del Orden Lepidoptera.	5
3.1.2.1 <u>El medio químico purificado.</u>	6
3.1.2.2 <u>Medios con material de plantas.</u>	6
3.1.2.3 <u>Medio mohoso.</u>	7
3.1.3 Especies de Insectos susceptibles a <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	7
3.1.4 El <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	8
3.1.5 Toxinas Producidas por <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	9
3.1.6 Forma de Acción del <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	12
3.1.7 Actividad de las Cepas de <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	14
3.1.8 Antecedentes	15
3.2 MARCO REFERENCIAL	17
3.2.1 Lugar donde fue Desarrollada la Investigación	17
3.2.2 Origen de las Cepas de <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) Evaluadas	17
4. OBJETIVOS	18
5. HIPOTESIS	18
6. MATERIALES Y METODOLOGIA	18



	Pag.
6.1 MATERIAL Y EQUIPO	18
6.2 METODOLOGIA	18
6.2.1 Establecimiento del Pie de Cría	19
6.2.2 Cultivo del <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) y Obtención de la Pella de Cristales y Esporas	20
6.2.3 Realización de los Bioensayos con las 60 Cepas de <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	22
6.2.3.1 <u>Conducción de los bioensayos</u>	22
6.2.3.2 <u>Descripción de los tratamientos</u>	23
6.2.3.3 <u>Métodos experimentales</u>	24
6.2.3.4 <u>Análisis de la información</u>	25
6.2.4 Determinación de la DL-50 de la Cepa que Mostró el Efecto Letal en mayor porcentaje, y en menor tiempo, en Comparación con la Cepa Patrón o de Referencia.	26
6.2.4.1 <u>Conducción de los bioensayos</u>	26
6.2.4.2 <u>Descripción de los tratamientos</u>	26
6.2.4.3 <u>Métodos experimentales</u>	27
6.2.4.4 <u>Análisis de la información</u>	28
7. RESULTADOS	30
7.1 REALIZACION DE LOS BIOENSAYOS	30
7.2 DETERMINACION DE LA DL-50	37
8. CONCLUSIONES	42
9. RECOMENDACIONES	43
10. BIBLIOGRAFIA	44
11. APENDICE	47

## INDICE DE CUADROS

	Pag.
CUADRO 1. CULTIVOS QUE ATACA EL GUSANO COGOLLERO	5
CUADRO 2. SUSCEPTIBILIDAD COMPARATIVA DE LARVAS DE LEPIDOPTERA A <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	8
CUADRO 3"A". MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN EL ESTABLECIMIENTO DEL PIE DE CRIA DE <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smith)	48
CUADRO 4"A". MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN EL CULTIVO DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) Y OBTENCION DE LA PELLA DE CRISTALES Y ESPORAS	49
CUADRO 5"A". MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN LA REALIZACION DE LOS BIOENSAYOS CON LAS 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	50
CUADRO 6"A". MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN LA DETERMINACION DE LA DOSIS LETAL MEDIA DE LA CEPA QUE MOSTRO MAYOR LETALIDAD EN MENOR TIEMPO COMPARADA CON LA CEPA PATRON DE REFERENCIA	51
CUADRO 7"A". DIETA LIQUIDA PARA LEPIDOPTEROS ADULTOS	52
CUADRO 8"A". DIETA PARA LARVAS DE LEPIDOPTEROS	52
CUADRO 9"A". MEDIO DE CULTIVO AGAR T3	53
CUADRO 10"A". COLORANTE AZUL DE COOMASIE	53
CUADRO 11"A". RECUENTO DE LA MORTALIDAD ACUMULADA POR REPETICION Y POR DIA, DE LARVAS DE <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smith), PRODUCIDA POR 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	54
CUADRO 12"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL PRIMER RECUENTO DE MORTALIDAD	60
CUADRO 13"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL SEGUNDO RECUENTO DE MORTALIDAD	60
CUADRO 14"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL TERCER RECUENTO DE MORTALIDAD	60
CUADRO 15"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL CUARTO RECUENTO DE MORTALIDAD	61
CUADRO 16"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL QUINTO RECUENTO DE MORTALIDAD	61
CUADRO 17"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL SEXTO RECUENTO DE MORTALIDAD	61

	Pag.
CUADRO 18"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL SEPTIMO RECUENTO DE MORTALIDAD	62
CUADRO 19"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL OCTAVO RECUENTO DE MORTALIDAD	62
CUADRO 20"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL NOVENO RECUENTO DE MORTALIDAD	62
CUADRO 21"A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL DECIMO RECUENTO DE MORTALIDAD	63
CUADRO 22"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL PRIMER RECUENTO DE MORTALIDAD	63
CUADRO 23"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL SEGUNDO RECUENTO DE MORTALIDAD	64
CUADRO 24"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL TERCER RECUENTO DE MORTALIDAD	65
CUADRO 25"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL CUARTO RECUENTO DE MORTALIDAD	66
CUADRO 26"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL QUINTO RECUENTO DE MORTALIDAD	67
CUADRO 27"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL SEXTO RECUENTO DE MORTALIDAD	68
CUADRO 28"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL SEPTIMO RECUENTO DE MORTALIDAD	69
CUADRO 29"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL OCTAVO RECUENTO DE MORTALIDAD	70
CUADRO 30"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL NOVENO RECUENTO DE MORTALIDAD	71
CUADRO 31"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) EN EL DECIMO RECUENTO DE MORTALIDAD	72
CUADOR 32"A". PROBITS CORRESPONDIENTES A LOS DISTINTOS VALORES PARA LA FUNCION SUMA DE LA DISTRIBUCION NORMAL FUNCION SUMA	73

CUADRO 33"A".	RECUESTO POR REPETICION DE LA MORTALIDAD DE LARVAS DE <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smitn) PRODUCIDA POR LAS CEPAS B-0158 Y B-0221 AL DECIMO DIA DE APLICADA LA TOXINA	74
CUADRO 34.	PROMEDIO DE MORTALIDAD ACUMULADA DE LARVAS DE <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smith) PRODUCIDA POR LAS CEPAS B-0158 Y B-0221 AL DECIMO DIA DE APLICACION DE LAS TOXINAS	37
CUADRO 35"A"	RESUMEN DEL ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD PRODUCIDO POR LA CEPA B-0158 EN LARVAS DE <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smith) AL DECIMO DIA DEL TRATAMIENTO, PARA LA DETERMINACION DE LA DL-50	75
CUADRO 36"A"	RESUMEN DEL ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD PRODUCIDO POR LA CEPA B-0221 EN LARVAS DE <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smith) AL DECIMO DIA DEL TRATAMIENTO, PARA LA DETERMINACION DE LA DL-50	75
CUADRO 37"A".	PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA LOS TRATAMIENTOS DE LA CEPA B-0158, EN LA DETERMINACION DE LA DL-50	76
CUADRO 38"A".	PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA LOS TRATAMIENTOS DE LA CEPA B-0221, EN LA DETERMINACION DE LA DL-50	76
CUADRO 39"A".	ANALISIS DE REGRESION LINEAL POR EL METODO DE AJUSTE DE CURVA DE MINIMOS CUADRADOS PARA LA CEPA B-0158	77
CUADRO 40"A".	CALCULO DE LA DL-50 PARA LA CEPA B-0158	78
CUADRO 41"A".	DATOS PARA EL CALCULO DEL VALOR TIPICO DE LA ESTIMA (SY.X) PARA LA CEPA B-0158, DE ACUERDO A LA ECUACION OBTENIDA POR REGRESION LINEAL $Y = 6.8055 + 3.6616$	79
CUADRO 42"A".	CALCULO DEL VALOR TIPICO DE LA (SY.X), DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION (r) Y DETERMINACION (r <sup>2</sup> ) PARA LA CEPA B-0158	80
CUADRO 43"A".	ANALISIS DE REGRESION LINEAL POR EL METODO DE AJUSTE DE CURVA DE MINIMOS CUADRADOS PARA LA CEPA B-0221	81
CUADRO 44"A".	CALCULO DE LA DL-50 PARA LA CEPA B-0221	82
CUADRO 45"A".	DATOS PARA EL CALCULO DEL VALOR TIPICO DE LA ESTIMA (SY.X) PARA LA CEPA B-0221, DE ACUERDO A LA ECUACION OBTENIDA POR REGRESION LINEAL $Y = -0.4970 + 2.07717$	83
CUADRO 46"A".	CALCULO DEL VALOR TIPICO DE LA (SY.X), DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION (r) Y DETERMINACION (r <sup>2</sup> ) PARA LA CEPA B-0221	84

## INDICE DE FIGURAS

	Pag.
FIGURA 1. MORTALIDAD DE LARVAS DE <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smith) DURANTE 10 DIAS DE OBSERVACION, PRODUCIDA POR LAS 5 MEJORES CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	34
FIGURA 2. MORTALIDAD DE LARVAS DE <u>Spodoptera frugiperda</u> (Smith) DURANTE 10 DIAS DE OBSERVACION, PRODUCIDA POR LAS 5 CEPAS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner) CON RANGO DE EFECTIVIDAD ENTRE 59.8 Y 72.3%	36
FIGURA 3. RELACION DEL VALOR DEL LOGARITMO DE LA DOSIS Y EL VALOR PROBIT, PARA LA CEPA B-0221 DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	40
FIGURA 4. RELACION DEL VALOR DEL LOGARITMO DE LA DOSIS Y EL VALOR PROBIT, PARA LA CEPA B-0158 DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	41
FIGURA 5. RELACION DEL LOGARITMO DE LA DOSIS Y EL PROBIT, PARA LA CEPA B-0221 Y LA CEPA B-0158 DE <u>Bacillus thuringiensis</u> (Berliner)	41

EVALUACION TOXICOLOGICA DE 60 CEPAS DE  
Bacillus thuringiensis (Berliner), UTILIZANDO COMO INDICADOR  
LARVAS DE Spodoptera frugiperda (Smith)

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF 60 STRAINS OF  
Bacillus thuringiensis (Berliner), USING  
Spodoptera frugiperda (Smith) LARVAE AS INDICATOR

R E S U M E N

Los problemas derivados del uso inmoderado de los plaguicidas químicos, han conducido a la búsqueda de nuevas alternativas de control de las plagas insectiles. Entre ellas cobra vigencia la utilización de los denominados biopesticidas. El Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial ICAITI, cuenta con una colección de cepas de Bacillus thuringiensis (erkiner) aisladas de diversas muestras de suelos y granos de Guatemala. Esta bacteria cristalífera ha mostrado gran eficiencia en el control de poblaciones de diferentes especies de insectos, pero principalmente de larvas de lepidópteros.

El estudio incluyó el cultivo de las 60 cepas del bacilo, la recolección de larvas en campos cultivados con maiz en el municipio del Tejar del departamento de Chimaltenango, para su posterior reproducción, la realización de bioensayos que permitieron seleccionar las cepas más efectivas en el control de las larvas y la determinación de la dosis letal media de la cepa de mayor virulencia, en comparación con la cepa patrón Bacillus thuringiensis Kurstaki, codificada bajo el número B-0158.

Los bioensayos tuvieron una duración de 10 días, efectuándose un recuento de mortalidad diario. Para el efecto se empleó una concentración de 1,500 µg/ml de suspensión de esporas y cristales de cada cepa. Debido a la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar pruebas de comparación múltiple de medias de Tukey. Al término del décimo recuento, las cepas B-0221 y B-0215 produjeron el 100% y 97.5% de mortalidad respectivamente, quedando ambas a la vanguardia de las 60 evaluadas. La cepa B-0216 que produjo 92.3% de mortalidad, se ubicó en el segundo lugar y la B-0213 con 84.9% en la tercera posición de acuerdo a su virulencia. La actividad letal de las cepas restantes, ocupó el rango comprendido entre 0% y 75%, siendo 9 las totalmente inocuas.

Se encontró que la dosis letal media de la cepa B-0221 fue de 442.98 µg/ml/gr de dieta; en tanto que la reportada por la cepa patrón Bacillus thuringiensis Kurstaki (B-0158), fue de 1,675 µg/ml/gr de dieta.

## 1. INTRODUCCION

El deterioro del medio ambiente se acrecienta con el transcurso del tiempo, siendo muy diversas las maneras en que el hombre actúa sobre los ecosistemas rompiendo el equilibrio natural. Como ejemplo de este deterioro, consecuencia del inmoderado uso de plaguicidas agrícolas, puede mencionarse la contaminación del suelo, fuentes de agua y alimento, empleados por las especies afectadas. Tal es el caso de ciertas áreas en Jalapa y otras regiones de producción agrícola del país, en las que el uso excesivo de agroquímicos, ha contribuido al descenso de la productividad de la tierra y a la aparición de problemas de salud de los pobladores (6).

Son grandes las pérdidas económicas que productores y exportadores han tenido por el inadecuado uso de los plaguicidas agrícolas. En muchas oportunidades, embarques completos han sido incinerados en los puertos de entrada de países con estrictas medidas de sanidad vegetal, al detectar en ellos residuos químicos de uso restringido.

Estas situaciones de orden ecológico y económico, han colocado al control biológico de plagas agrícolas, en posición ventajosa en relación a las medidas de control químico.

La tendencia actual de muchas compañías productoras de agroquímicos, ha sido la de orientar sus investigaciones hacia la búsqueda de medios biológicos para el control de los organismos responsables del deterioro de los cultivos, entre los cuales se encuentran las plagas insectiles.

El Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología



Industrial (ICAITI), a través de un fondo internacional, ha conducido inicialmente un estudio que permitió aislar varias cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner) nativas de Guatemala.

Como parte del programa de investigación, la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos y el ICAITI, participaron en la evaluación de 60 de estas cepas, para el control del gusano cogollero Spodoptera frugiperda (Smith).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Spodoptera frugiperda (Smith) es una plaga masticadora que daña a gran número de cultivos (ver cuadro 1). Es en sus últimos estadios larvarios tan voraz, que en pocos días puede causar cuantiosos daños.

Por otra parte, la bacteria entonopatígena Bacillus thuringiensis (Berliner), ha sido utilizada como un método de control biológico que ha mostrado resultados satisfactorios, principalmente para el control de larvas de lepidópteros.

Cada día existen mayores restricciones en la utilización de productos químicos para la agricultura. Esto se debe a las múltiples propiedades nocivas que les han sido atribuidos. Entre estas se pueden mencionar: Contaminación ambiental, ruptura de los balances en los ecosistemas, inducción a resistencia en las plagas, mortalidad humana causada por las intoxicaciones agudas, los efectos colaterales a los que conducen las intoxicaciones crónicas y el consumo continuo de productos con estos como contaminantes (16). Tomando esto en consideración, se plantea la evalua-

ción y realización del estudio con el uso del Bacillus thuringiensis. (Berliner) como una alternativa viable, compatible con las tendencias futuras de la agricultura.

En el año de 1,992, se registraron en los Estados Unidos, 572 detecciones de productos agrícolas guatemaltecos, debido a que presentaban residuos de diferentes plaguicidas. Entre estos productos se pueden mencionar: Arveja china y arveja dulce (Pisum sativum L.), brócoli (Brassica oleracea italica Plenck), calabazas succhini (Cucurbita pepo Plenck), melón (Cucumis melo L.), moras (Rubus idaeus L.), y zanahorias miniatura (Daucus carota L.) (22). Lo anterior pone de manifiesto, la importancia que bajo los términos económicos, representa la búsqueda de alternativas de control biológico y ecológico de plagas, tendientes a reducir el uso de los tan objetados productos químicos.

### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 MARCO CONCEPTUAL

##### 3.1.1 EL Gusano Cogollero, Spodoptera frugiperda (Smith)

El gusano cogollero pertenece a la familia Noctuidae del orden Lepidoptera (9). Causa daños en el maíz (Zea mays L.), sorgo (Sorghum vulgare L.), arroz (Oriza sativa L.) y otro gran número de cultivos (13).

King y Saunders (13), al referirse al daño que el gusano cogollero puede causar, dicen que las plantas jóvenes pueden ser

destruidas o debilitadas, las plantas mayores defoliadas o dañadas seriamente, las flores y mazorcas dañadas y los tallos pueden aparecer cortados o dañados a nivel del suelo.

En cuanto al ciclo de vida, el huevo (3-5 días), es ovipositado en grupos de hasta 300 en cualquier superficie de la hoja, cubiertos con escamas gris-rosadas que se desprenden del abdomen de la hembra en la oviposición. La larva (14-21 días), pasa por 5 ó 6 estadios, dependiendo de la temperatura y el tipo de alimento, su longitud es de 35 a 40 mm cuando están maduras. Los primeros estadios son verdes con manchas y líneas negras dorsales, después se vuelven verdes con líneas espiraculares dorsales negras, o bien, café-beige o casi negras cuando están muy hacinadas, presentando una "Y" amarilla invertida en la cabeza, pináculos dorsales negros y 4 puntos negros en cuadro sobre el último segmento abdominal. La pupa (9-13 días), es café, de 18 a 20 mm de largo, en un capullo suelto o celda en el suelo. El adulto tiene una envergadura de 32 a 38 mm; las alas delanteras de la hembra son uniformemente de color gris a café-grisáceas y en el macho, son beige con marcas oscuras y rayas pálidas en el centro. Las alas traseras son blancas (13).

El periodo de postura de la hembra puede tardar hasta 10 días, durante los cuales puede poner hasta 1,200 huevos (9).

A continuación se presenta el cuadro 1, el cual reúne los diversos cultivos que ataca el gusano cogollero.

CUADRO 1. CULTIVOS QUE ATACA EL GUSANO COGOLLERO

FAMILIA	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
Compositae	lechuga	<u>Lactuca sativa</u> L.
Convolvulaceae	camote	<u>Ipomoea batatas</u> L.
Cruciferae	brocoli	<u>Brassica oleracea</u> itálica (Plenck)
	coliflor	<u>Brassica oleracea</u> botrytis L.
	nabo	<u>Brassica rapa</u> L.
	repollo	<u>Brassica oleracea</u> capitata L.
	Cucurbitaceae	melón
Cucurbitaceae	pepino	<u>Cucumis sativus</u> L.
	sandía	<u>Citrullus vulgaris</u> S.
	yuca	<u>Manihot esculenta</u> (Crantz)
Euphorbiaceae	yuca	<u>Manihot esculenta</u> (Crantz)
Gramineae	arroz	<u>Oryza sativa</u> L.
	maiz	<u>Zea mays</u> L.
	sorgo	<u>Sorghum bicolor</u> L.
Leguminosae	arveja	<u>Pisum sativum</u> L.
	caupi (cowpea)	<u>Vigna unguiculata</u> (Walp)
	haba	<u>Vicia faba</u> L.
	frijol	<u>Phaseolus vulgaris</u> L.
	soya	<u>Glycine max</u> L.
Liliaceae	cebolla	<u>Allium cepa</u> L.
Quenopodeaceae	espinaca	<u>Spinacea oleracea</u> L.
	remolacha	<u>Beta vulgaris</u> crassa L.
Solanaceae	berengena	<u>Solanum melongena</u> L.
	chile	<u>Capsicum annum</u> L.
	papa	<u>Solanum tuberosum</u> L.
	tomate	<u>Lycopersicon esculentum</u> (Miller)

FUENTE: SAUNDERS, J.; KING, A.; VARGAS, C. (1,983) (24).

### 3.1.2 Dietas Artificiales Empleadas en la Crianza de Estadíos Inmaduros de Insectos del Orden Lepidoptera

Algunas larvas de lepidoptera que naturalmente se alimentan de tejidos de planta viva, particularmente las que las barrenan, han sido criadas sobre dietas artificiales. La mayoría de sus requerimientos nutricionales se han determinado por tres especies de barrenadores, usando un medio a base de agar bajo técnicas asépticas. Algunas especies han sido criadas en medios que contienen principalmente material de la planta huésped, usando por lo general

follaje que ha sido partido o picado (3).

### 3.1.2.1 El medio químico purificado

Este se ha usado en la crianza de lepidópteros fitófagos; generalmente una cantidad de planta huésped o su extracto es adicionado. A fin de hacer el medio aceptable se agrega algún tipo de celulosa (3).

Bottger (1,942) citado por De Bach (3), cultivó Ostrinia nubilalis (Hbn) sobre una dieta a base de agar que contenía caseína, celulosa, azúcar, sales y agua. Los barrenadores eran transferidos a recipientes con alimento fresco cada segundo o tercer día, dado a que se emplearon técnicas sin esterilización. Los microorganismos como contaminantes, sin duda aportaron las vitaminas esenciales.

### 3.1.2.2 Medios con material de plantas

Son quizá los más usados para el cultivo de larvas de lepidópteros. Las partes de las plantas que normalmente se usan en la alimentación son picadas o partidas y en la mayoría de los casos, esterilizadas en el autoclave. En muchos casos, los huevos de lepidópteros son químicamente esterilizados antes de su introducción al medio. En ciertas ocasiones, el material vegetal ha sido colectado en grandes cantidades y preservado en diferentes formas, para su uso durante la época en que las plantas no se encuentran disponibles (3).

Wellington (1,940) citado por De Bach (3), cultivó el gusano de la yema del abeto, Choristoneura fumiferana (Clemens) y las larvas de otros dos lepidópteros en un medio que contenía princi-

palmente follaje del abeto de bálsamo (balsamtir). Este follaje es mezclado con cantidades mínimas de agua destilada para producir una suspensión fina y luego se combina con agar y una levadura autizada. Debido a que el medio no se puede meter al autoclave porque destruiría los atrayentes, se agrega propionato de sodio para inhibir el crecimiento del moho.

### 3.1.2.3 Medio mohoso

Otro avance en la propagación de larvas de lepidópteros sobre dietas artificiales, es el uso de ciertos hongos como comida (3).

Ripley, Hepburn y Dic (1,939) citados por De Bach (3), cultivaron en forma masiva la falsa palomilla del manzano Argyroplote leucotreta (Meyrick), esterilizando los huevos de la palomilla con formalina y colocándolos sobre un medio que favorece el crecimiento de hongos específicos. El medio es preparado mezclando 5 partes de avena (grado medio) y 3 partes de agua, seguido de la inoculación del hongo Mucor hiemalis (Wehmer) (3).

### 3.1.3 Especies de Insectos Suceptibles a Bacillus thuringiensis (Berliner)

Numerosas especies de insectos, especialmente aquellos entre los lepidópteros son susceptibles al Bacillus thuringiensis (Berliner). También se ha encontrado susceptibilidad entre algunas especies de hymenóptera y raramente en díptera (1).

A continuación se presenta el cuadro 2, el cual muestra la

susceptibilidad de diferentes especies de lepidópteros al insecticida Thuricide standard, que contiene esporas y cristales de Bacillus thuringiensis (Berliner).

CUADRO 2: SUSCEPTIBILIDAD COMPARATIVA DE LARVAS DE LEPIDOPTERA A Bacillus thuringiensis (Berliner)

FAMILIA	ESPECIE	DL 50 (mg/100 ml)
Pieridae	<u>Colias eurytheme</u> (Boisduval)	0.12
Artiidae	<u>Estigmene acrea</u> (Drury)	1.14
Noctuidae	<u>Peridroma saucia</u> (Huebner)	1.80
Noctuidae	<u>Trichoplusia ni</u> (Huebner)	3.20
Pyralidae	<u>Udea profundalis</u> (Guenee)	12.00
Notodontidae	<u>Schizura concinna</u> (Smith)	24.00
Pyralidae	<u>Nomophila noctuella</u> (Druce)	36.00
Noctuidae	<u>Autographa californica</u> (Huebner)	43.00
Noctuidae	<u>Heliothis zea</u> (Boddie)	100.00
Noctuidae	<u>Agrotis ipsilon</u> (Hufnagel)	NO SUSCEPTIBLE A NIVELES PROBADOS

FUENTE: AJIL, S.; MONTIE, C.; KADIS, S. (1,970) (1).

#### 3.1.4 El Bacillus thuringiensis (Berliner)

De acuerdo a la clasificación de bacterias de Bergey 1,974, citado por Penados (21), el Bacillus thuringiensis (Berliner), pertenece a la familia Bacillaceae, siendo estos, microorganismos aerobios, gram-positivos, formadores de esporas.

Estos como otros bacilos, son patógenos de los insectos y en años recientes, ha surgido interés considerable debido a su empleo

potencial en el control biológico de infestaciones de insectos fitófagos (4).

Bacillus thuringiensis (Berliner) es una bacteria cristalífera, o sea que forma una inclusión cristalina durante la esporulación, la cual es llamada cuerpo paraesporal. Este cristal se deposita dentro del esporangio pero fuera de la espora. Puede causar la muerte de diferentes larvas, cuando estas de alguna manera lo han ingerido (4).

El cristal o cuerpo paraesporal, es formado por el bacilo, al mismo tiempo que forma la espora y generalmente tiene forma de diamante. De ordinario cada esporangio contiene un cristal, separado de la pared celular y de la espora, el que parece persistir indefinidamente (3).

El cristal es de naturaleza protéica, tiene más de 17% de nitrógeno y al menos 17 aminoácidos, pero no tiene fósforo (3).

### 3.1.5 Toxinas Producidas por Bacillus thuringiensis (Berliner)

Se han descrito 7 diferentes toxinas, a saber: Fosfolipasa C (alfa - exotoxina o lecitinasa), una exotoxina termoestable (beta - exotoxina o Thuringiensin), una enzima no identificada que puede no ser tóxica (gama - exotoxina), el cristal paraesporal protéico (delta - endotoxina), una toxina lábil, una toxina soluble en agua y una exotoxina (mouse factor). Estas diferentes toxinas, se encuentran presentes en las distintas variedades de Bacillus thuringiensis (Berliner) hasta ahora encontradas, pero no estan



reunidas en su totalidad en una misma cepa (22).

A continuación se describen brevemente las toxinas más producidas:

#### Alfa - exotoxina.

La alfa-exotoxina es también formada por Bacillus cereus (kushner). Esta enzima termoestable que se acumula durante la fase de crecimiento exponencial de algunas variedades, es eficiente en la destrucción de muchos tipos de células (23).

#### Beta - exotoxina.

La beta-exotoxina también es conocida como fly factor; es una toxina termoestable secretada por algunas variedades durante su crecimiento exponencial, por ejemplo, la variedad thuringiensis normalmente produce 50 mg/litro. Es un derivado de la adenosina soluble en agua, que actúa como un inhibidor de la nucleotidasa (23).

La beta-exotoxina es altamente tóxica a las moscas y muchos otros insectos, bloqueando la mitosis celular (es teratogénica). Es un potente inhibidor de la polimerasa del ARN de células bacteriales y de mamíferos, siendo mutagénico para los últimos (23).

En las células sanguíneas humanas ha mostrado incrementar aberraciones cromosomales. Debido a sus propiedades mutagénicas y teratogénicas su uso como insecticida es sancionado en Europa y en Estados Unidos. Es producida y usada en la anterior U.R.S.S. (23).

#### Delta - endotoxina.

La delta-endotoxina de Bacillus thuringiensis (Berliner), que

es actualmente una protoxina, es el mayor componente del cristal protéico paraesporal formado durante la esporulación. Una proteína similar es encontrada en pequeñas cantidades en la cubierta de la espora (23).

La función del cristal hacia la célula bacteriana y su origen bioquímico exacto son desconocidos (23).

En general, un cristal y una muy pequeña inclusión ovoide se forma en cada célula, aunque la variedad israelensis produce en promedio tres inclusiones semicristalinas por célula. La inclusión ovoide está compuesta por péptidos de peso molecular de 68,000 daltons, idénticos a la cola N-terminal de la proteína del cristal (15).

Puesto que un fragmento N-terminal teniendo un peso molecular de 5,000 a 10,000 daltons se ha reportado como la porción tóxica, la inclusión ovoide tiene mayor toxicidad específica que el cristal (14).

El cristal paraesporal está compuesto de subunidades de glicoproteína (5% de carbohidratos), teniendo cada cual un peso molecular aproximado de 134,000 daltons, aunque diversos componentes polipéptidos han sido detectados (25).

La protoxina cristalina es soluble e hidrolizada a pH mayor de 9, es moderadamente termoestable, pudiendo permanecer por cortos periodos a 100 °C (25).

Mientras la delta-endotoxina de la mayoría de las variedades de Bacillus thuringiensis (Berliner) es patógena a las larvas de varias especies de insectos, al menos tres diferentes patotipos son ahora reconocidos: Lepidóptera (patotipo A), Díptera (patotipo B) y Coleóptera (patotipo C). Actividad exclusiva contra Lepidóptera, caracteriza la delta-endotoxina de la mayoría de las variedades.

La variedad israelensis muestra bien conocida toxicidad solamente hacia ciertas especies de Díptera, al igual que la variedad morrisoni (25).

### 3.1.6 Forma de Acción del Bacillus thuringiensis (Berliner)

Los insectos infectados con el bacilo pueden sufrir una parálisis parcial o total. Si el cristal es el principio tóxico activo, es probable que sea el responsable de la parálisis y de otros síntomas del hospedero susceptible; en muchos casos el bacilo invade los tejidos y la cavidad del cuerpo (hemocele), acelerando el proceso letal (3).

Dependiendo del insecto, parece que hay por lo menos tres formas diferentes de acción por las cuales la bacteria cristalífera puede matarlo. El tipo I, se caracteriza por una parálisis del intestino medio de 5 a 20 minutos después de la ingestión del bacilo esporulado. Transcurridas entre 1 y 5 horas, se produce parálisis general, la cual es acompañada de un incremento en el pH de la hemolinfa de 1.0 a 1.5, lo que indica que hay filtración del material alcalino del intestino. En el tipo II, los insectos no sufren un incremento en el pH, pero hay parálisis del intestino y la muerte se produce a los 2 ó 4 días, luego de sufrir parálisis general; este tipo es probablemente el más común de los tres. El tipo III, sólo se conoce en el insecto Anagasta kuehniella (Zeller), el cual muere a los 2 ó 4 días con los síntomas de parálisis general; no muere por la toxina en ausencia de la espora como en los casos I y II, parece ser que para causar la muerte la espora debe germinar (en presencia de la toxina) y crecer en el

intestino medio (3).

Cuando la fuente de toxina empleada corresponde a los cristales, estos luego de ser ingeridos por los insectos susceptibles, son disueltos en el medio alcalino del jugo intestinal. Los polipéptidos resultantes son protoxinas sin actividad biológica, las cuales necesitan ser activadas por las proteasas del jugo intestinal. Los componentes activos resultantes, son alrededor de la mitad del tamaño de las protoxinas (60,000 daltons); subsecuentemente, las moléculas tóxicas tienen que pasar a través de la membrana peritrófica (15).

El principal sitio de acción de la delta-endotoxina es el epitelio intestinal. Los primeros síntomas (cese de la alimentación seguido por una hinchazón del epitelio), aparecen en pocos minutos después de ingeridos los cristales (14).

Los siguientes pasos en el modo de acción de la delta-endotoxina no son bien comprendidos. Es poco probable que la delta-endotoxina pase a través de la membrana celular hacia el interior de las células susceptibles. Parece permanecer en la membrana, guiando la formación de poros que causan un trastorno en la regulación de las propiedades de permeabilidad de la membrana celular (15).

Los primeros cambios histopatológicos pueden presentarse en la microvili (parte del epitelio intestinal encargada de la absorción de alimentos). Esta incrementa en tamaño y pierde su estructura interna. Vacuolas aparecen dentro de las células epiteliales del intestino. El tamaño de las células incrementa hasta que explo-

tan. El trastorno en el control de la permeabilidad conduce a un libre intercambio entre la hemolinfa y el contenido intestinal que es letal para la larva del insecto (15).

La microvili es prácticamente la única parte del epitelio intestinal expuesta a la toxina in vivo. De hecho, representa la sección de la célula donde la acción de la toxina puede ser primero encontrada (10).

El rápido trastorno de la función de la membrana celular como barrera de permeabilidad y la ausencia de un medible eclipse entre el estímulo y efecto, indica que la delta-endotoxina pertenece al grupo de los metabolitos citolíticos activos. Estos parecen interactuar con los compuestos lípidos de la membrana celular (14).

### 3.1.7 Actividad de las Cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner)

Dulmage 1,981, citado por Jaquet, Huter y Lüthy (12), asevera que las cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner) difieren no sólo en su actividad con respecto a las diversas especies de insectos, sino también en la relativa potencia de su delta-endotoxina. Rowe y Margaritis 1,987 (23), afirman que la actividad de la delta-endotoxina hacia una especie de insecto determinada, es altamente dependiente de la variedad de Bacillus thuringiensis (Berliner) y el tipo de cristal. Jaket y colaboradores en 1,987, citados por Gardner (7), concluyeron que la cepa relacionada con el origen de la delta-endotoxina, el grado de solubilidad de los cristales en el jugo intestinal y la intrínseca susceptibilidad de las células epiteliales del intestino medio a la delta endotoxina, contribuyen

a su potencia.

### 3.1.8 Antecedentes

Gardner 1,988 (7), probó interacciones entre Bacillus thuringiensis (Berliner) y sus beta-exotoxinas, contra el tercer y cuarto estadio larvario de Spodoptera frugiperda (Smith). Las larvas fueron colocadas en dietas conteniendo tratamientos individuales y combinados de los dos agentes. Las dosis usadas del bacilo, fueron de 900 y 1800 microgramos/ml de dieta y de la beta-exotoxina, 30, 60, 120 y 240 microgramos/ml de dieta para el tercer estadio de desarrollo larvario. Para el cuarto estadio larvario se usaron dosis del bacilo de 2,425 y 4,850 microgramos/ml de dieta, y de la beta-exotoxina, 120, 180, 240 y 360 microgramos de ingrediente activo/ml de dieta. Las fuentes de la exotoxina y Bacillus thuringiensis (Berliner), fueron ABG-6162A (lote # 82-893-BD) conteniendo 1.5 % de Thuringiensin, y Dipel WP (16,000 UI/mg) respectivamente (Abbott, North Chicago Ill).

Los resultados encontrados fueron los de efecto aditivos y sinérgicos entre los dos agentes, tanto para el porcentaje de mortalidad como para la reducción de los días a la muerte (7).

Los efectos sinérgicos de las combinaciones fueron enmascarados por la alta mortalidad causada por las concentraciones mayores de la endotoxina sola, no así para las concentraciones bajas (7).

Ignoffo y colaboradores en 1,971 (11), evaluaron la actividad

de las exotoxinas de Bacillus thuringiensis (Berliner) en adultos de mosca común a los diez días de haber emergido y encontraron una dosis letal media de 250 microgramos/ml de dieta, la cual era a base de agar.

Schesser, Kramer y Bulla en 1,976 (25), evaluaron los efectos de preparaciones homogéneas del cristal paraesporal de Bacillus thuringiensis (Berliner) sobre el Gusano Cornudo del Tabaco (Manduca sexta) (Linnaeus). La cepa del bacilo usado en este ensayo fue la HD-1, aislada de una formulación del insecticida comercial Dipel (Abbott Laboratories, North Chicago, Ill), la que ha sido identificada como Bacillus thuringiensis (Berliner) subespecie Kurstaki por H. de Barjac, del Instituto Pasteur en París, Francia.

Las diluciones del material cristalino fueron hechas por homogenización de 560 microgramos de cristal paraesporal purificado en 7 ml de agua destilada; las que dieron como resultado, 1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1, 0.08 y 0.04  $\mu\text{g}$  de cristal por ml de solución fueron preparadas y un ml de cada una fue aplicada uniformemente sobre la superficie de la dieta (16 cm cuadrados), seguido de aire seco (25).

En este caso se utilizaron larvas recién emergidas. Si bien las larvas pudieron mudar al segundo estadio de crecimiento, sólo 2/3 de las larvas sobrevivieron después de 7 días a las concentraciones de 0.08  $\mu\text{g}/\text{ml}$  y ninguna sobrevivió a la concentración de 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (25).

### 3.2 MARCO REFERENCIAL

#### 3.2.1 Lugar Donde Fue Desarrollada la Investigación

El experimento se realizó en los laboratorios de Microbiología del Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI), ubicado en Avenida La Reforma 4-47 zona 10, de la Ciudad de Guatemala.

Como información adicional se presentan los siguientes datos: El ICAITI se encuentra a una elevación aproximada de 1,450 msnm (5), teniendo este sector una precipitación pluvial entre 1,000 y 1,500 mm anuales registrados en 120 días de lluvia, temperatura promedio anual de 15 a 20°C, humedad relativa promedio de 80%, evapotranspiración media de 1,400 a 1,600 mm por año, con 180 horas promedio de brillo solar al mes (8).

#### 3.2.2 Origen de las Cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner) Evaluadas

Las cepas de la bacteria utilizadas en el presente estudio, fueron aisladas en Guatemala por la Licenciada en Bioquímica Nina Stauder (28). Entre los lugares de recolección de muestras se pueden citar: Bodegas y silos de maíz, sorgo arroz y frijol, muestras de suelo, polvo de emilla de algodón y ventas de granos; tanto en la Ciudad Capital, como en el interior de la república (28). Actualmente estas se encuentran formando parte del Ceparío del ICAITI.



#### 4. OBJETIVOS

- 4.1 Determinar cuál de las 60 cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner) evaluadas, produce la mayor mortalidad sobre las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith).
- 4.2 Establecer la DL-50 de la Cepa de mayor virulencia y compararla con la Cepa Patrón.

#### 5. HIPOTESIS

Al menos una de las 60 cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner), es diferente en efecto letal, sobre la larva de Spodoptera frugiperda (Smith).

#### 6. MATERIALES Y METODOLOGIA

##### 6.1 MATERIAL Y EQUIPO

Los cuadros 3 "A", 4 "A", 5 "A" Y 6 "A" contienen el material y equipo utilizado en cada una de las etapas involucrada en el proceso de investigación.

##### 6.2 METODOLOGIA

El desarrollo de este trabajo incluyó básicamente cuatro actividades:

- Establecimiento del pie de cría de Spodoptera frugiperda (Smith).
- Cultivo del Bacillus thuringiensis (Berliner) y obtención de la pella de cristales y esporas.
- Realización de los bioensayos con las 60 cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner).
- Determinación de la dosis letal media de la cepa que mostró el mayor efecto letal en menor tiempo, en comparación con la cepa patrón o de referencia.

#### 6.2.1 Establecimiento del Pie de Cría

Para establecer la crianza del Gusano Cogollero Spodoptera frugiperda (Smith), se capturaron larvas de la quinta o sexta muda, de campos cultivados de maíz en el municipio de El Tejar, del departamento de Chimaltenango. Estas larvas fueron trasladadas al laboratorio en recipientes plásticos de 16.5 cm de diámetro por 14 cm de alto, acompañadas de hojas tiernas de maíz. El proceso de crianza incluyó la desinfección de los pisos del laboratorio con germicidas de uso comercial, las jaulas y mesas de trabajo con formaldehído al 10 % y esterilización de recipientes plásticos para crianza (de 7 cm de diámetro por 5 cm de alto), con luz ultra violeta.

Se colocaron 2 larvas en cada recipiente de crianza, las que se alimentaron con un trozo de dieta (cuadro 8"A") de aproximadamente 20 gramos. Se notó que al colocar más de 2 larvas en cada recipiente, se estimulaba el canibalismo. Las larvas entraron al estado de pupa en término de 6 días, teniéndose durante este tiempo el cuidado de retirar las heces producidas.

Las pupas fueron desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.55 % mediante inmersión por 5 minutos, luego fueron lavadas en agua estéril también por inmersión durante el mismo tiempo y secadas con servilletas de papel. En seguida, las pupas fueron colocadas en jaulas de malla metálica de una abertura aproximada de 3 mm, las cuales se forraron con papel parafinado. A los 12 días del traslado a las jaulas, emergieron las palomillas, las que se alimentaron con la dieta líquida descrita en el cuadro 7"A".

Al emerger los adultos iniciaron la cópula, observándose en aproximadamente 4 días, los huevos adheridos al papel parafinado, en grupos de variada cantidad.

Los grupos de huevos adheridos al papel, fueron desinfectados con una solución de formaldehído al 3.7 % durante 5 minutos y lavados en agua estéril por 10 minutos. Cuando el papel se secó, fue cortado en pedazos de 2 a 4 cm<sup>2</sup>, cada uno con un grupo de huevos. Estos fueron colocados en los recipientes de crianza con un trozo de dieta de aproximadamente 20 gramos. En término de 3 a 4 días, los huevos eclosionaron y a los 4 días, las pequeñas nuevas larvas eran separadas para continuar la crianza o bien para realizar los bioensayos. El laboratorio se mantuvo con iluminación natural, siendo el fotoperíodo imperante en la época, de aproximadamente 12 horas.

#### 6.2.2 Cultivo del Bacillus thuringiensis (Berliner) y Obtención de la Pella de Cristales y Esporas

Para la reproducción de las distintas cepas de Bacillus

thuringiensis (Berliner) se utilizó el medio de cultivo Agar T3 (ver cuadro 9"A"), en el cual se observó una adecuada esporulación y formación de cristales.

Para la realización de esta actividad, se trasladó del cepario el material a utilizar a tubos de ensayo con tapón de rosca, conteniendo 3 ml de Agar T3 solidificado a mediana inclinación, auxiliándose para el efecto de asas y flameado con el mechero. Estos tubos se incubaron durante 24 horas a 28°C. Posteriormente, cada una de las cepas se trasladó a frascos de Rooks con 225 ml del mismo medio de cultivo y se cultivaron durante 96 horas bajo las mismas condiciones de temperatura para obtener una adecuada esporulación. Cumplida la incubación, los frascos fueron sometidos a refrigeración a una temperatura de 5°C durante 72 horas.

Para observar el estado de la esporulación y la formación de cristales protéicos (fuente de la delta endo-toxina), se hicieron preparaciones de cada cepa en porta-objetos con tinción de azul de coomasie (Cuadro 10"A").

Estas preparaciones consistieron en hacer un frote de la cepa sobre una laminilla de vidrio, fijándola y secándola con la llama del mechero a calor moderado. Cuando la muestra secó, se agregaron unas gotas de colorante azul de coomasie (Cuadro 10"A") y se dejó teñir por 3 minutos, periodo después del cual, los excesos del colorante fueron lavados con agua esterilizada y el frote se dejó secar a temperatura ambiente. Mediante este procedimiento, los cristales fueron teñidos de azul y fácilmente observables al microscopio con aumento de 100 X.

Una vez realizada la tinción y después de haberse cerciorado de una buena producción de cristales, la placa de esporas, cristales y residuos celulares formada durante el periodo de incubación y refrigeración, fue recogida de los frascos de Rooks mediante un lavado con agua estéril y colectada en frascos de vidrio esterilizados. Estos frascos se almacenaron a 5°C mientras se procedía a realizar la siguiente etapa del proceso.

Para separar la biomasa del agua, el material se centrifugó a 10,000 rpm y 4°C durante 15 minutos, tiempo después del cual, se descartaba el agua y se conservaban los sedimentos. A la pella resultante se agregó nuevamente agua esterilizada y se agitó para producir una nueva suspensión; seguidamente se centrifugó de nuevo bajo las mismas condiciones. Esto se hizo 2 veces con el fin de lavar cualquier exceso del medio y residuos de la esporulación.

La pella producto de la centrifugación, fue desecada en un horno al vacío, a 15 atmósferas y 40°C durante 36 horas.

### 6.2.3 Realización de los Bioensayos con las 60 Cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner).

#### 6.2.3.1 Conducción de los bioensayos

Debido al canibalismo que practican las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith), un día anterior al inicio de los bioensayos, una larva en el tercer estadio, fue colocada en cada recipiente plástico de 4 cm de diámetro por 3 cm de alto. Las larvas se mantuvieron durante ese día sin alimentación, con el propósito de

que consumieran vorazmente las dietas tratadas con las diluciones tóxicas. Cada dilución tóxica correspondía a cada una de las cepas evaluadas. Estas diluciones se prepararon a una concentración de 1,500 µg/ml y fueron aplicadas sobre la superficie de la dieta que se proporcionó a cada larva, de acuerdo al tratamiento correspondiente. Estas dietas, a diferencia de las utilizadas en la cría, carecían de tetraciclina y formaldehído; esto para evitar cualquier reacción con la dilución de esporas y cristales.

Las dietas rociadas con la solución de esporas y cristales, fueron cambiadas al segundo día del bioensayo por dietas normales. La razón de hacer este cambio, es que por carecer las primeras de formaldehído y tetraciclina, eran susceptibles a la contaminación microbiológica; de manera que la mortalidad observada correspondió a la ingestión del primer día.

Diariamente, cada recipiente conteniendo una larva, era revisado para hacer los recuentos de la mortalidad acumulada y retirar las heces producidas; esto, durante 10 días.

Durante la realización de los bioensayos, el laboratorio mantuvo temperaturas entre 24 y 26°C y la humedad relativa de un 50%.

#### 6.2.3.2 Descripción de los tratamientos

Los tratamientos que se dieron a las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith) fueron la aplicación de las suspensiones de

esporas y cristales de las 60 cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner).

Se utilizó una concentración de 1,500 µg de esporas y cristales por ml de agua, cubriendo la superficie de un gramo de dieta fragmentado en 10 porciones, con 1/10 de ml de la dilución tóxica.

Se hizo un total de 61 tratamientos, ya que se incluyó además de los 60 tratamientos correspondientes a las 60 cepas, un tratamiento control o testigo (sin aplicación de toxina).

#### 6.2.3.3 Métodos experimentales

##### A. Diseño experimental:

El experimento se realizó con un diseño Completamente al Azar con 4 repeticiones y 61 tratamientos, lo que dio un total de 244 unidades experimentales. Cada unidad experimental estaba formada por 10 larvas en su tercer estadio de crecimiento, colocadas cada una en su respectivo recipiente plástico de 4 cm de diámetro por 3 cm de alto provisto de tapadera. Se seleccionó este estadio larvario tomando criterio de Gardner (7).

##### B. Modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij} \quad \begin{array}{l} i=1,2,3,\dots,t=\text{tratamientos} \\ j=1,2,3,\dots,r=\text{repeticiones} \end{array}$$

de donde:

$Y_{ij}$  = variable de respuesta de la  $ij$ -ésima unidad experimental  
(mortalidad producida por la  $i$ -ésima Cepa y  $j$ -ésima

repetición).

$\mu$  = efecto de la media general.

$T_i$  = efecto de la  $i$ -ésima Cepa.

$E_{ij}$  = efecto del error experimental asociado a la  $ij$ -ésima unidad experimental ( $i$ -ésima Cepa y  $j$ -ésima repetición).

#### C. Variable de respuesta:

Se hicieron conteos diarios de la mortalidad acumulada por un periodo de 10 días. El criterio de mortalidad de las larvas, se fundamentó en el cese de la actividad fisiológica de las mismas, las que presentaban un aspecto licuado (se desintegraban al menor contacto con un pincel).

#### 6.2.3.4 Análisis de la información

Los datos resultantes a la conclusión de los bioensayos, fueron sometidos a un análisis de varianza de acuerdo con el diseño experimental empleado. Debido a la existencia de diferencias significativas en la respuesta de mortalidad producida por cada cepa, se realizó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey, con el propósito de establecer qué cepa(s) presentó(a-ron) el mejor resultado (mayor mortalidad en menor tiempo).

Por la naturaleza de los datos, fue necesario para poder analizarlos, realizar una transformación del tipo  $\sqrt{(X+1)}$ .

Como se midió el porcentaje de la mortalidad acumulada producida por cada cepa durante 10 días, los resultados de cada día, fueron analizados en forma individual.



#### 6.2.4 Determinación de la DL-50 de la Cepa que Mostró el Efecto Letal en Mayor Porcentaje y en Menor Tiempo, en Comparación con la Cepa Patrón o de Referencia.

Con el fin de tener un parámetro de comparación de la efectividad de las cepas, se decidió establecer la DL-50 (dosis que probablemente mata al 50% de la población) de la cepa que mostró el mejor resultado de las 60 evaluadas inicialmente y la de una cepa patrón o de referencia, siendo esta última, la denominada Bacillus thuringiensis (Berliner) Kurstaki, codificada por el ICAITI, bajo el número B-0158.

##### 6.2.4.1 Conducción de los bioensayos

El manejo del experimento en esta etapa fue básicamente el mismo que el dado en la evaluación de las 60 cepas, con la diferencia que en este caso sólo se hizo el conteo de mortalidad al décimo día, por considerarse que después de este tiempo, las larvas que quedaron vivas no morirían y entrarían al siguiente estado de metamorfosis.

##### 6.2.4.2 Descripción de los tratamientos

Para decidir los tratamientos a dar a las larvas, consistentes en las dosis de cada una de las 2 cepas a evaluar, fue necesario realizar pruebas preliminares para establecer la Ventana de Respuesta Biológica. Esta ventana no es más que el rango que hay entre la dosis máxima que no produce mortalidad y la dosis mínima que produce el 100% de mortalidad.

A continuación se presentan las concentraciones de las suspensiones de esporas y cristales seleccionadas, las cuales están expresadas en  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

CEPA	C O N C E N T R A C I O N E N $\mu\text{g}/\text{ml}$															
SELECCIONADA (B-0221)	62.5	125	250	375	500	750	1000	1250	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
PATRON (B-0158)	-----	-----	-----	-----	500	750	1000	1250	1500	1750	2000	2250	2500	2750	3000	3250

Un décimo de mililitro de estas diluciones de tóxima, se agregó a la superficie de un gramo de dieta fragmentado en 10 porciones.

#### 6.2.4.3 Métodos experimentales

##### A. Diseño experimental:

Se utilizó el diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones.

Debido a que determinar la DL-50 de cada cepa es una actividad aislada (aunque se haya realizado simultáneamente), cada una tiene características propias.

Para la cepa seleccionada (B-0221), se utilizaron ocho tratamientos; cada uno correspondió a una dosis de la cepa. Se incluyó un tratamiento de control (testigo), es decir, sin la aplicación de la toxina, con el objeto de poder corregir los

datos por mortalidad natural.

Se establecieron en total 36 unidades experimentales, cada una de las cuales estaba conformada por 10 larvas en su tercer estadio de desarrollo, colocadas de manera individual en su respectivo recipiente de 4 cms de diámetro por 3 cms de alto, con tapadera.

Para la cepa patrón (B-0158), se utilizaron 12 tratamientos; cada uno correspondió a una dosis de la cepa. Se incluyó también un tratamiento de control o testigo. El número de unidades experimentales fue de 52, conformadas de igual manera que para el caso anterior.

B. Modelo estadístico:

Este correspondió al descrito en la literal B del inciso 6.2.3.3.

C. Variable de respuesta:

Se anotaron los datos de mortalidad al décimo día del consumo de la toxina.

6.2.4.4 Análisis de la información

A los resultados se les practicó su correspondiente análisis de varianza. Debido a la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de medias de Tukey, para ordenar los tratamiento del más al menos efectivo. En este caso como en la evaluación inicial de las sesenta cepas,

también fue necesario realizar una transformación de los datos de la forma  $\sqrt{(x+1)}$ .

Para establecer la DL-50 de las cepas, se realizó un análisis de Probit para cada una. Este procedimiento consistió en una regresión que permitió encontrar la dosis que produciría el 50% de mortalidad. Para encontrar este valor de mortalidad, fue necesario hacer una transformación de los datos y al trabajar de la manera gráfica, se requirió plotear los puntos de los logaritmos de las dosis en el eje "X" y el porcentaje de mortalidad transformado a unidades Probit en "Y", basándose para el efecto en el Cuadro 32"A". Sabiendo que el valor Probit que corresponde al 50% de mortalidad es de 5, este punto en la curva se hizo coincidir con el logaritmo de la dosis correspondiente por medio de una línea perpendicular hacia el eje "X". Al obtener el antilogaritmo, se encontró la DL-50.

Otro procedimiento utilizado fue el de despejar la "X" y sustituir el valor de 5 en lugar de "Y" en la ecuación obtenida por regresión (método de mínimos cuadrados), para finalmente obtener el antilogaritmo del número resultante.

La forma más práctica y rápida de determinar la DL-50, es utilizar los programas de computadora que para el efecto existen, tal como el denominado "Polo", para DL-50 ó el "SAS" (Statistical Analysis Systems) para Probit. Ambos programas se encuentran en la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSION

### 7.1 REALIZACION DE LOS BIOENSAYOS

La realización de bioensayos con recuentos de mortalidad acumulada una vez al día durante diez días, permitió a simple vista apreciar tanto la existencia de cepas innócuas, como algunas que mostraron desde leve hasta considerable virulencia hacia las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith).

Al realizar los análisis de varianza desde el primero al décimo recuento, se observaron diferencias significativas en la respuesta de mortalidad producida por las distintas cepas del bacilo. Tal situación puede apreciarse en los resúmenes de ANDEVA por recuento diario, presentados en los cuadros del 12"A" al 21"A", donde se evidencia la existencia de diferencias altamente significativas entre los tratamientos para cada día.

Los resultados obtenidos de la prueba de comparación múltiple de medias para cada recuento, mostraron el primer día una mortalidad de 45.0% para la cepa B-0181, seguida de las cepas B-0221 y B-0185 con 35.0 y 30.0% respectivamente. El resto de las cepas produjo mortalidad inferior a 25.0% (cuadro 22"A").

Para el segundo día las tres cepas anteriormente descritas, incrementaron el valor de mortalidad a 52.0, 49.8 y 41.3% respectivamente. Las cepas B-0215, B-0175 y B-0216, que estaban abajo de 25.0%, aumentaron su efecto letal a 39.7, 34.9 y 30.0% respectivamente. El resto de las cepas se mantuvo abajo de 25.0% (cuadro 23"A").

El tercer recuento mostró un notable cambio en la posición de las cepas, ya que el orden de mortalidad observado, de más a menos fue: cepa B-0221 con 70.0%, cepa B-0181 con 62.3%, cepa B-0215 con 57.2, cepa B-0216 con 52.5% y cepa B-0185 con 46.7%; esta última, pasó del tercero al quinto lugar, mismo que también fue compartido por las cepas B-0175, B-0213 y B-0209. El resto de las cepas produjo mortalidad inferior al 40.0% y 16 no registraron efecto letal (cuadro 24"A").

En el cuarto recuento se observaron menos cambios de posición en el orden de mortalidad. La cepa B-0221 se conservó en primer lugar con 90.0%. Estadísticamente a las cepas B-0215 con 77.3%, B-0216 con 67.8%, B-0181 con 64.7%, B-0213 con 59.8% y B-0209 con 57.4% de mortalidad, a pesar de las notables diferencias, la prueba de Tukey las ubicó en el mismo grupo. El resto de las cepas no sobrepasó el 53.0% de mortalidad y en 14 cepas la toxina fue inocua (cuadro 25"A").

En el quinto recuento de mortalidad hubo poca variación en las posiciones de las diferentes cepas, pero si hubo incremento en el efecto letal producido. La ubicación mostrada este día fue la siguiente: En primer lugar la cepa B-0221 con 95.0%, en segundo lugar las cepas B-0215 y B-0216 con 84.7 y 74.6% respectivamente. Estadísticamente la prueba de Tukey no detectó entre las medias de las tres cepas mencionadas, diferencias significativas con las cepas B-0181 y B-0213, ambas con 70.0%, ni con la cepa B-0209 con 59.8% de mortalidad. Las cepas restantes produjeron mortalidad inferior a 55.0% y 11 no tuvieron ningún efecto letal sobre las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith) (cuadro 26"A").

En el sexto recuento de mortalidad la cepa B-0221 alcanzó el 100% manteniéndose siempre en la primera posición, pero en esta oportunidad, también se ubicó en el primer lugar la cepa B-0215 con 97.5%. La prueba de Tukey no mostró diferencias significativas entre las medias de mortalidad de las cepas mencionadas y las siguientes cepas: B-0216 con 80.0%, B-0213 con 77.4%, B-0181 con 70.0%, B-0208 con 67.1% y B-0209 con 62.4%. El resto de las cepas registró valores de mortalidad inferiores al 60.0% y 9 no produjeron ningun efecto letal (cuadro 27"A").

El séptimo recuento no mostró cambios notables, básicamente los porcentajes de mortalidad fueron los mismos del día anterior, solo en el caso de las cepas B-0181 y B-0208, se invirtió el orden de presentación (cuadro 28"A").

Al octavo recuento, los cambios observados en el grupo, se reflejaron únicamente en el incremento de la mortalidad producida por algunas cepas; tal es el caso de las cepas B-0216, B-0213, B-0208, B-0181 y B-0209, que reportaron mortalidades de 87.0, 82.5, 75.0, 70.5 y 65.0 respectivamente. El resto de las cepas reportó mortalidad inferior a 60.0% y 9 no tuvieron ningún efecto letal (cuadro 29"A").

En el noveno recuento se dieron algunos cambios con respecto al recuento anterior, quedando la tabla de medias de mortalidad en el siguiente orden: el primer lugar lo mantuvieron las cepas B-0221 y B-0215, que desde el sexto recuento alcanzaron su máximo valor letal en las larvas de Spodoptera frugiperda. La cepa B-0216 elevó el promedio de mortalidad a 92.3%, mientras que las cepas B-0213, B-0208, B-0181 y B-0209, prácticamente no provocaron ninguna variación en la

muerte de las larvas. Se observó en cambio que las cepas B-0217 y B-0212, incrementaron para este recuento su índice letal a 72.3 y 67.4% respectivamente, ubicandose en el grupo de medias de mortalidad de alto valor significativo en relación a las demás. Las cepas restantes reportaron valores de mortalidad inferiores a 60.0% y 9 no produjeron efecto letal (cuadro 30"A").

En el décimo recuento se mantuvieron las mismas condiciones que se observaron en el conteo anterior (cuadro 31"A").

Debido a que el tratamiento testigo no registró ninguna larva muerta, no fue necesario hacer corrección en los datos de mortalidad observados a lo largo del bioensayo.

Un resumen de los resultados discutidos puede efectuarse al analizar la figura 1, la cual presenta el efecto de mortalidad sobre larvas de Spodoptera frugiperda (Smith) de las 5 mejores cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner); las cuales son las siguientes: B-0221, B-0215, B-0216, B-0213 y B-0208. En ella se aprecia la tendencia creciente de las curvas de mortalidad producidas por las cepas con bastante regularidad. La cepa B-0221 produjo a partir del tercer día 70.0% de mortalidad y al sexto, alcanzó el máximo valor. Similar respuesta presentó la cepa B-0215, aunque esta alcanzó al sexto día el 97.5% de mortalidad sobre las larvas. Las cepas B-0216 y B-0213 mostraron curvas de mortalidad porcentual con tendencia bastante semejante a las cepas lider B-0221 y B-0215, aunque en todos los muestreos estuvieron por debajo de estas. La cepa B-0208 fue la que registró el valor mínimo de mortalidad de este grupo. cesando su actividad letal al octavo día con 75.0%.



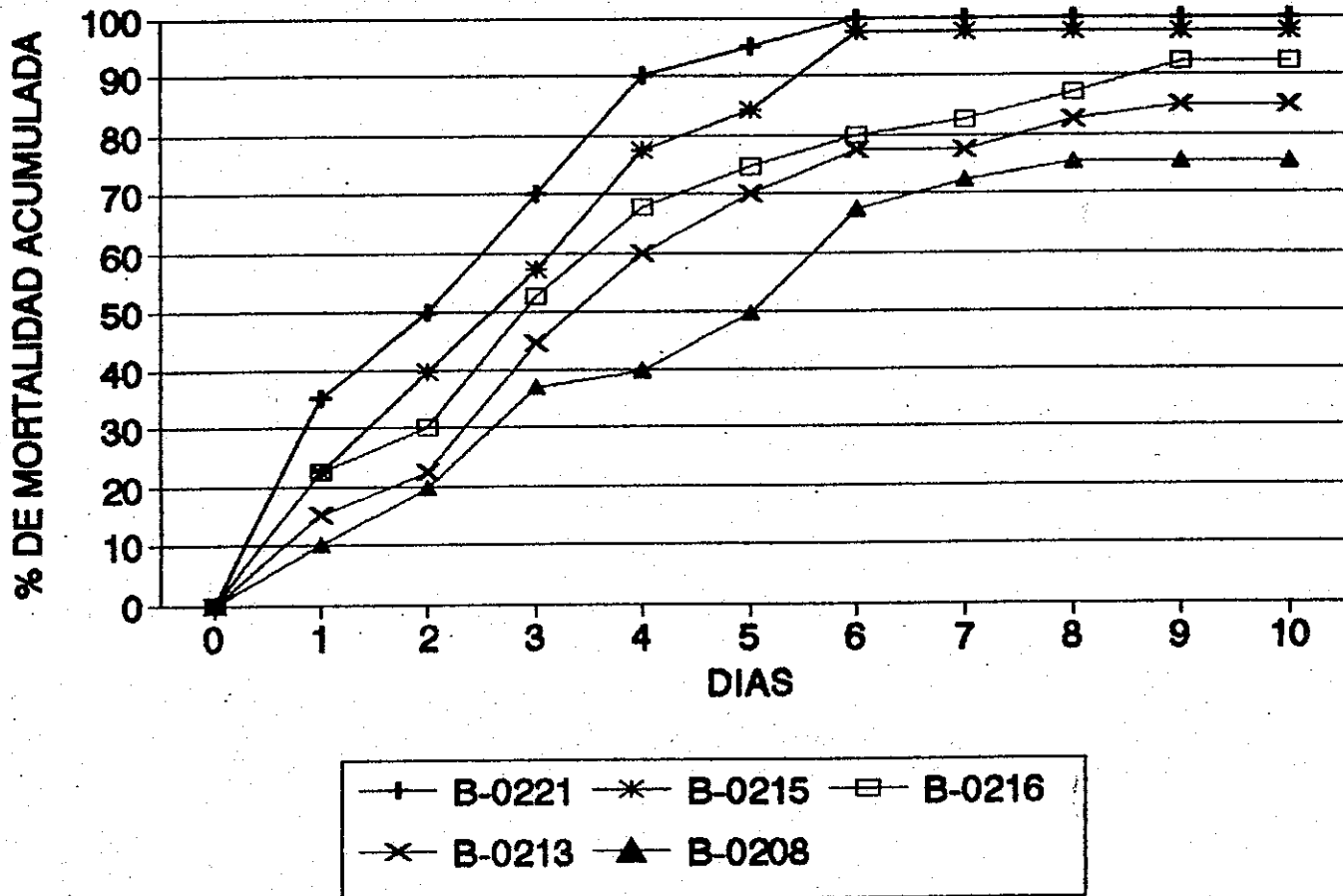


FIGURA 1. MORTALIDAD DE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda* (Smith) DURANTE 10 DIAS DE OBSERVACION, PRODUCIDA POR LAS 5 MEJORES CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* (Berliner)

En relación a las cepas B-0217, B-0181, B-0212, B-0209 y B-0185, puede observarse en la figura 2, que actuaron al término de los diez días de la evaluación, en un rango de efectividad de 59.8 a 72.3%; mostrando un comportamiento variado. La cepa B-0217, que al primer recuento mostró menor capacidad letal, paulatinamente se ubicó a la cabeza de este grupo. La cepa B-0181, que al inicio se perfilaba como la más virulenta de todas, cesó su actividad letal al quinto día con 70.0%, quedando ubicada por debajo de la B-0217. La cepa B-0209 que manifestó un repunte en el tercer día, quedó ubicada en tercer lugar de este grupo y la cepa B-0212, que apareció en el octavo día por debajo de la B-0185, ocasionó un incremento en la mortalidad de las larvas al noveno día, ubicándose exactamente en los mismos valores de la cepa B-0209. La cepa B-0185 finalizó su actividad letal al octavo día con 59.8%, siendo la menos virulenta de esta grupo.

Al observar con detenimiento los resultados producidos por las diversas cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner) presentadas en la figura 2, se aprecia que las amplias diferencias en el efecto letal sobre las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith), registradas en los primeros días de tratamiento, disminuyeron considerablemente en el noveno y décimo recuento. En ese momento, el rango entre la de menor y mayor virulencia, fue de solo 12.5%.

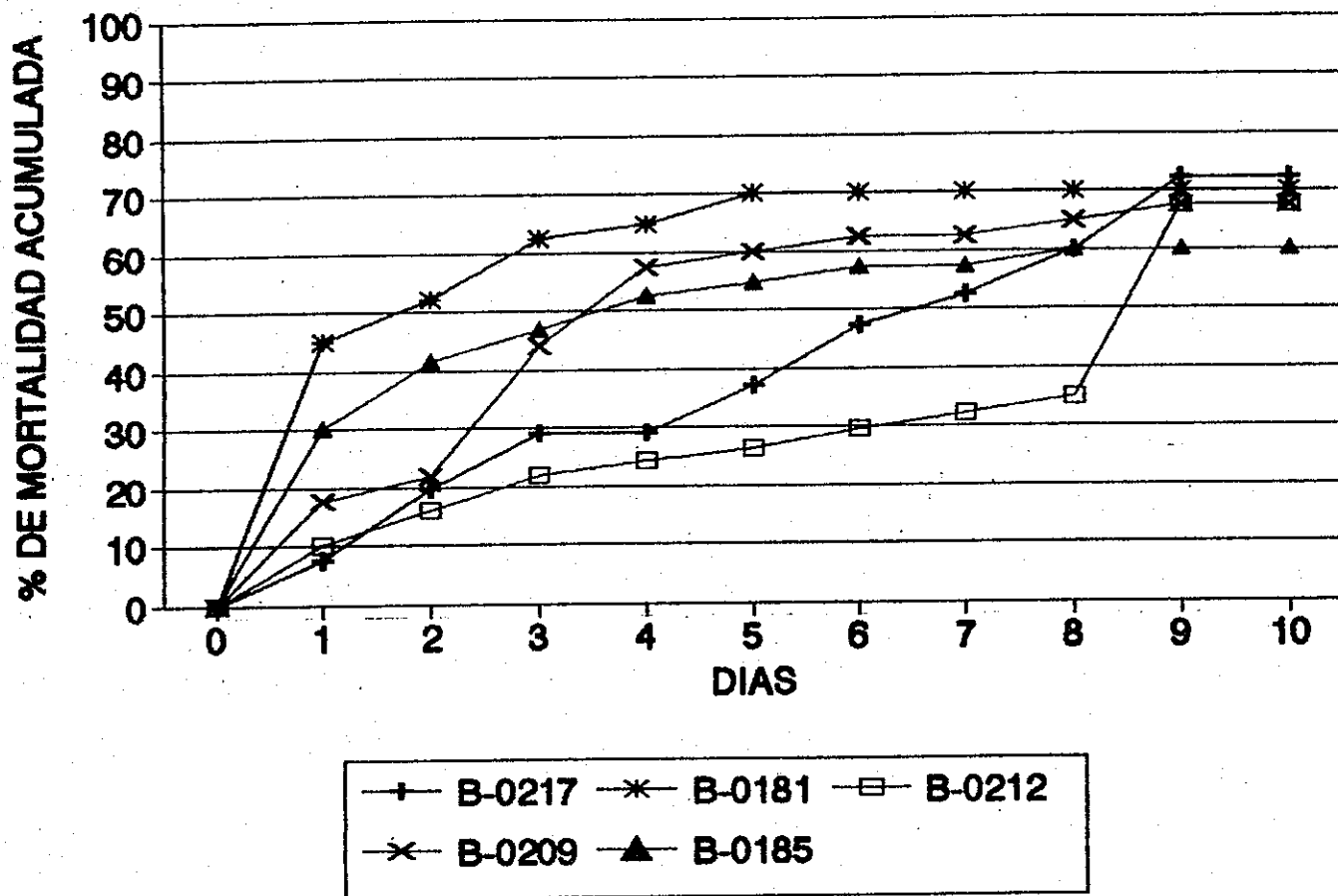


FIGURA 2. MORTALIDAD DE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda* (Smith) DURANTE 10 DÍAS DE OBSERVACION, PRODUCIDA POR LAS 5 CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* (Berliner) CON UN RANGO DE EFICIENCIA DE 59.8 A 72.3%

## 7.2 DETERMINACION DE LA DL-50

En esta etapa se determinó la DL-50 de la cepa B-0221 (seleccionada como la mejor) y de la cepa B-0158, usada como patrón de referencia.

Los resultados de mortalidad por repetición, obtenidos al décimo día de haber inoculado las dos cepas al medio nutritivo de las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith), se presentan en el cuadro 33"A".

A continuación se presentan los promedios de los recuentos de mortalidad acumulados al décimo día de aplicada la toxina.

CUADRO 34. PROMEDIO DE MORTALIDAD ACUMULADA DE LARVAS DE Spodoptera frugiperda (Smith) PRODUCIDA POR LAS CEPAS B-0158 Y B-0221 AL DECIMO DIA DE APLICACION DE LAS TOXINAS

CEPA B-0158		CEPA B-0221	
TRATAMIENTO EN µg/ml	% PROMEDIO DE MORTALIDAD	TRATAMIENTO EN µg/ml	% PROMEDIO DE MORTALIDAD
500.0	05.0		
750.0	15.0		
1,000.0	20.0	62.5	04.6
1,250.0	22.5	125.0	17.3
1,500.0	32.5	250.0	22.4
1,750.0	37.5	375.0	32.1
2,000.0	55.0	500.0	54.9
2,250.0	62.5	750.0	64.9
2,500.0	72.2	1,000.0	69.8
2,750.0	77.5	1,250.0	92.5
3,000.0	87.5		
3,250.0	95.0		

LAS LINEAS VERTICALES INDICAN VALORES PROMEDIO DE MORTALIDAD DE IGUAL SIGNIFICANCIA ESTADISTICA DE ACUERDO A LA PRUEBA DE MEDIAS DE TUKEY.

En el cuadro 34 se aprecia que la cepa B-0221, produjo mortalidad en concentraciones inferiores a la cepa utilizada como patrón (B-0158). A la concentración de 500 µg/ml, la cepa B-0221 produjo

una mortalidad mayor al 50.0%; en tanto que la B-0158 mató únicamente el 5.0% de la población de larvas. Cuando la concentración toxica evaluada fue de 1,250  $\mu\text{g/ml}$ , la cepa B-0221 reporto 92.5% de letalidad. A esta misma concentración, el valor letal de la cepa B-0158 valor letal de la cepa B-0158 fue escasamente de 22.5%.

El análisis de varianza practicado (cuadros 35"A" y 36"A"), probó la existencia de diferencias altamente significativas en la mortalidad producida por los tratamientos en ambas cepas.

Los cuadros 37"A" y 38"A", presentan en orden descendente, las medias de mortalidad de las larvas, por efecto de las diferentes concentraciones de toxina de las cepas B-0158 y B-0221 respectivamente.

Es importante hacer notar que en el caso de la cepa B-0158, niveles de toxina de 2,250 a 3,250  $\mu\text{g/ml}$ , causaron una mortalidad entre 62.5 y 95.0%; lo cual significa comparativamente, concentraciones de toxina mucho más altas que las que se utilizaron con la cepa B-0221. Para esta última, el rango de mortalidad comprendido entre 69.8 y 92.5%, sólo requirió entre 1,000 y 1,250  $\mu\text{g/ml}$  de toxina.

En los cuadros 39"A" y 40"A" aparecen los valores y cálculos de la regresión lineal practicada a la cepa B-0158. La DL-50 resultante de este análisis fue de 1,675.47  $\mu\text{g/ml/gr}$  de dieta. Al comparar este valor con los datos presentados en el cuadro 34, parece no coincidir la DL-50 resultante, con los valores experimentales; hay que recordar que la DL-50 se obtiene atravez de una linearización de la curva y en todo caso, la variación es atribuible a la disperción de los puntos a lo largo de la recta de regresión.

Los cuadros 41"A" y 42"A", presentan los datos y cálculos involucrados en la determinación del valor típico de la "estima" (SY.X), los coeficientes de correlación (r) y determinación ( $r^2$ ) para la cepa B-0158. El valor resultante de SY.X fue de  $\pm 0.2741$ ; puede apreciarse que 7 de los 12 puntos ( $Y - Y_{est.}$ ) quedaron incluidos dentro de los límites del error típico de la "estima", lo cual representa el 58.33%. De acuerdo con Spiegel al menos el 68.0% de estos deberían quedar dentro del rango de SY.X, por lo que se considera que su distribución a lo largo de la recta de regresión, se aleja un poco del comportamiento normal. También se observa que existe un alto coeficiente de correlación r (0.9558) y de determinación  $r^2$  (0.9135), lo cual refleja que la línea recta explica adecuadamente el comportamiento de las 2 variables.

Los cuadros 43"A" y 44"A", contienen los valores y cálculos de la regresión lineal practicada a la cepa B-221. La DL-50 resultante de este análisis fue de 442.98  $\mu\text{g/ml/gr}$  de dieta.

Los cuadros 45"A" y 46"A" presentan los datos y cálculos involucrados en la determinación del valor típico de la "estima" (SY.X), los coeficientes de correlación (r) y determinación ( $r^2$ ) para la cepa B-0221. El valor resultante de SY.X fue de  $\pm 0.2525$ ; puede apreciarse que 6 de los 8 puntos ( $Y - Y_{est.}$ ) quedaron incluidos dentro de los límites del error típico de la "estima", lo cual representa el 75.0%. De acuerdo con Spiegel al menos el 68.0% de estos deben quedar dentro del rango de SY.X, por lo que se considera que su distribución a lo largo de la recta de regresión, es normal. También se observa que existe un alto coeficiente de correlación r (0.9605) y de determinación  $r^2$  (0.9226), lo cual refleja que la línea recta explica adecua-

damente el comportamiento de las 2 variables.

Comentados los resultados anteriores, lo prominente del cálculo de la DL-50 son los valores comparativos de mortalidad que ocasionaron las toxinas de ambas cepas. La toxina proveniente de la cepa B-0221 posee una virulencia 3.78 veces superior a la de la cepa usada como patrón de referencia (B-0158). Lo anterior plantea que la cepa B-0221, es una buena alternativa para el control de Spodoptera frugiperda como insecticida biológico.

Para aclarar los conceptos vertidos en los párrafos anteriores, en las figuras 3 y 4 se muestran las líneas descritas por las ecuaciones de regresión de las cepas B-0221 y B-0158 respectivamente. La figura 5 reúne las 2 gráficas y muestra la intersección producida.

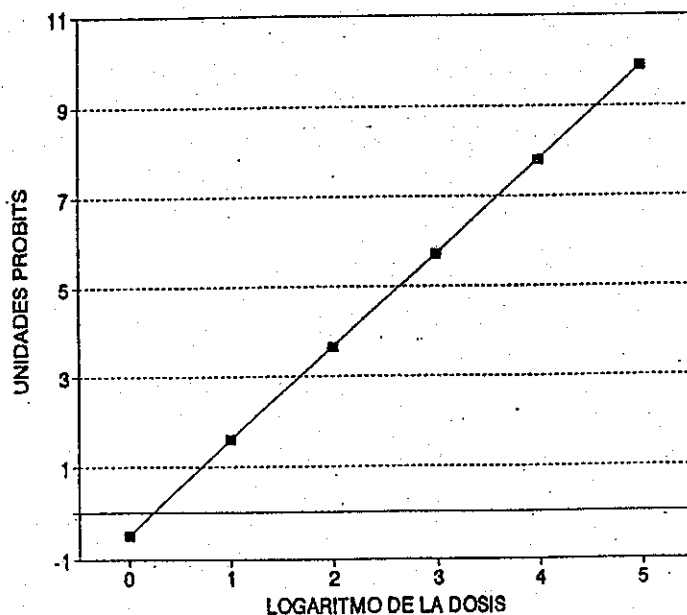


FIGURA 3. RELACION DEL VALOR DEL LOGARITMO DE LA DOSIS Y EL VALOR DE PROBIT, PARA LA CEPA B-0221 DE Bacillus thuringiensis (Berliner)

I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

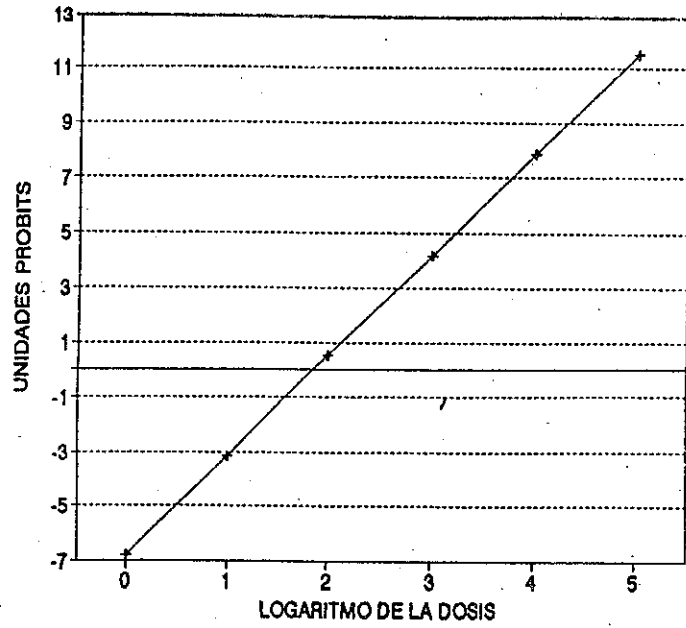


FIGURA 4. RELACION DEL VALOR DEL LOGARITMO DE LA DOSIS Y EL VALOR DE PROBIT, PARA LA CEPA B-0158 DE Bacillus thuringiensis (Berliner)

I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

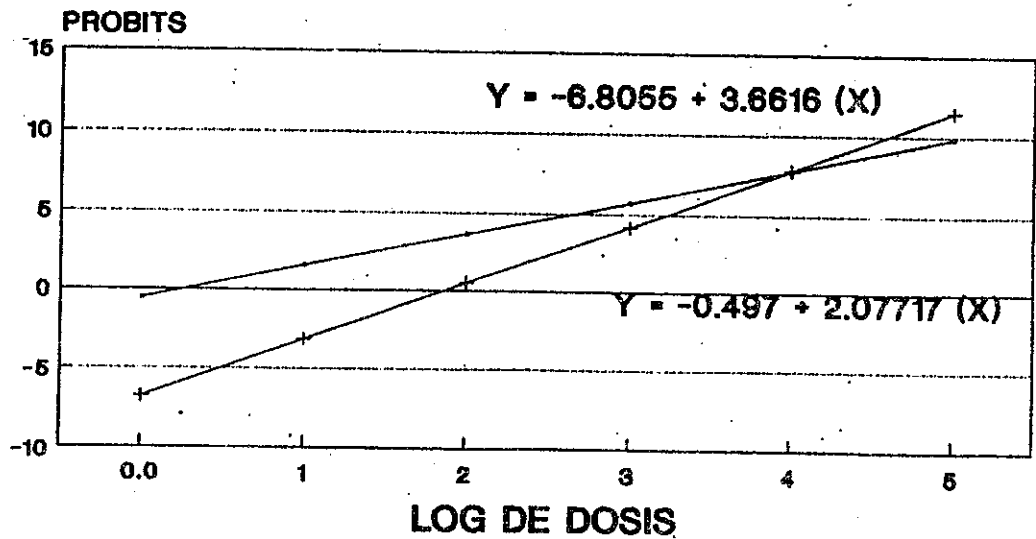


FIGURA 5. RELACION DEL LOGARITMO DE LA DOSIS Y EL PROBIT, PARA LA CEPA B-0221 Y LA CEPA B-0158 DE Bacillus thuringiensis (Berliner)

I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3



## 8. CONCLUSIONES

- 1.- Las cepas de Bacillus thuringiensis (Berliner) evaluadas al término de 10 días, produjeron diferente respuesta de mortalidad en las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith). Se encontraron cepas totalmente inocuas, algunas de leve a mediana virulencia y otras que produjeron un elevado efecto letal.
- 2.- Según el comportamiento manifestado por la bacteria sobre la mortalidad de larvas de Spodoptera frugiperda (Smith), durante los diez recuentos practicados uno por día en el bioensayo, se consideró a la cepa B-0221 como la mas virulenta entre las sesenta.
- 3.- La Dosis Letal Media sobre las larvas de Spodoptera frugiperda (Smith) en su tercer estadio de desarrollo, para la cepa B-0221 fue de 442.98  $\mu\text{g/ml/gr}$  de dieta; mientras que para la cepa patrón B-0158 fue de 1,675.47  $\mu\text{g/ml/gr}$  de dieta. Esto plantea que la cepa B-0221 es una excelente alternativa para el control biológico, al tener una toxina 3.78 veces más letal que la cepa utilizada como patrón; lo que expresado porcentualmente equivale a una actividad 378% más efectiva.
- 4.- De acuerdo a las ecuaciones lineales obtenidas por regresión, Spodoptera frugiperda (Smith) manifestó mayor susceptibilidad a la cepa B-0221 que a la cepa B-0158, hasta el valor del logaritmo de la dosis de aproximadamente 4 (10,000  $\mu\text{g/ml}$ ). En este punto, se cruzan las líneas descritas por las trayectorias de ambas cepas (figura 5), lo cual sugiere que con esta dosis la mortalidad producida por cada una, es la misma ( entre 99.8 y 100% ).

## 9. RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar pruebas de campo con las cepas que reportaron elevada mortalidad, pero sobre todo, con la cepa B-0221, a fin de establecer la posibilidad de su producción comercial.
- 2.- Llevar a cabo ensayos que involucren la participación simultanea de 2 ó más cepas, con el fin de establecer la posible existencia de efectos aditivos o sinérgicos.
- 3.- Realizar pruebas en las que se evalúe este biopesticida en comparación con los insecticidas químicos.
- 4.- Efectuar estudios que permitan observar el comportamiento de las mejores cepas encontradas en esta investigación, frente a otras especies de insectos plaga de importancia económica en Guatemala.
- 5.- Llevar a cabo análisis serológicos de las distintas entradas a la colección de Bacillus thuringiensis oriundas de Guatemala y evaluadas en el presente trabajo, para determinar su raza o estirpe.
- 6.- Estudiar la posibilidad de introducción de los genes responsables de la producción de la delta endotoxina en la cepa B-0221, a plantas de maíz y otras de importancia económica en nuestro medio (formación de plantas transgénicas), que sean seriamente afectadas por larvas susceptibles.

## 10. BIBLIOGRAFIA

- 1.- AJIL, S.; MONTIE, C.; KADIS, S. 1970. Microbial toxins. Estados Unidos, Academic Press. v. 3.
- 2.- ALVAREZ, V. 1988. Copias del curso de diseños y análisis de experimentos. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de agronomía. 34 p.
- 3.- BACH, P. DE 1987. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. México, Compañía Editorial Continental. 949 p.
- 4.- BROCK, T.; SMITH, D.; MADIGAN, M. 1987. Microbiología. México, Hispanoamericana. 906 p.
- 5.- ESTADOS UNIDOS. DEPARTMENT OF DEFENSE. s.f. Guatemala city maps: E954X guatemal 01. Estados Unidos, U.S. Army Topographic Command. Esc.1:12,500. Color.
- 6.- ESTADOS UNIDOS. AGENCIA DE LOS ESTADOS UNIDOS PARA EL DESARROLLO. 1993. Manejo de los recursos naturales, estrategia para Guatemala 1993. Guatemala, Litorama. 32 p.
- 7.- GARDNER, W. 1988. Enhanced activity of selected combinations of Bacillus thuringiensis and beta-exotoxin against fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Journal of Economic Entomology (EE.UU.) 81(2): 463-469.
- 8.- GUATEMALA. INSTITUTO NACIONAL DE SISMOLOGIA, VULCANOLOGIA, METEOROLOGIA E HIDROLOGIA. 1988. Atlas climatológico de la república de Guatemala. Guatemala. 21 p.
- 9.- GUDIEL V. 1980. Manual agrícola Superb. Guatemala, Productos Superb. 291 p.
- 10.- HOFFMAN, C.; LÜTHY, P. 1986. Binding and activity of Bacillus thuringiensis delta-endotoxin to invertebrate cells. Archives of Microbiology (Suiza). no. 146:7-11.
- 11.- IGNOFFO, C. et al. 1970. Use of an agar-base diet and house fly larvae to assay  $\beta$ -exotoxin activity of Bacillus thuringiensis. Journal of Economic Entomology (EE.UU.) 63(6):1987-1988.
- 12.- JAQUET, F.; HUNTER, R.; LÜTHY, P. 1986. Specificity of Bacillus thuringiensis delta-endotoxin. Applied and Environmental Microbiology (Suiza) 53(3):500-504.

- 13.- KING, A.; SAUNDERS, J. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos alimenticios en América Central. Inglaterra, Administración de Desarrollo Extranjero. 182 p.
- 14.- LÜTHY, P. 1990. History, taxonomy and use of Bacillus thuringiensis as an insecticide. In International Course on the Biotechnology of Bacillus thuringiensis (I., 1990, Guatemala). Guatemala, Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial. p 1-6.
- 15.- LÜTHY, P.; EBERSOLD, H. 1981. Bacillus thuringiensis delta-endotoxin, histopathology and molecular mode of action. In Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases. Davinson E.W. ed. Estados Unidos, s.e. p. 235-263.
- 16.- MANUAL DE uso ambiental de plaguicidas. 1989. Honduras, AID. 324 p.
- 17.- MARTINEZ, J. 1990. Cuadro básico de insecticidas para el control de plagas del algodón en el sur de Sonora, ciclo p.v. Mexico, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH)/Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Campo Experimental valle del Yaqui. Desplegable para productores, no. 8. 8 p.
- 18.- METCALF, C.; FLINT, M. 1987. Insectos destructivos e insectos útiles, sus costumbres y su control. 4 ed. Mexico. CECSA. 1208 p.
- 19.- MIHM, J. 1983. Efficient mass-rearing and infestation techniques to screen for host plant resistance to fall armyworm, Spodoptera frugiperda. México, Centro Internacional del Mejoramiento del Maiz y Trigo. 16 p.
- 20.- MOAR, W.; TRUMBLE, J. 1990. Comparative toxicity of five Bacillus thuringiensis strains and formulations against Spodoptera exigua (Lepidoptera: Noctuidae). Microbiology Abstract (EE.UU.) 25(8): 13-14.
- 21.- PENADOS, J. 1991. Búsqueda, aislamiento y selección de cepas de Bacillus thuringiensis nativas en Guatemala para el control de las especies Anastrepha ludens y Anastrepha obliqua. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 74 p.

- 22.- PRODUCTS DETAINED from Guatemala FY'92. 1993. Estados Unidos, Food and Drugs Administration, Department of Health and Human Services. 17 p.
- 23.- ROWE, G.; MARGARITIS, A. 1987. Bioprocess developments in the production of bioinsecticides by Bacillus thuringiensis. Critical Reviews in Biotechnology 6(1):87-127.
- 24.- SANDERS, J.; KING, A.; VARGAS, C. 1983. Plagas de cultivos en América Central. Costa Rica, CATIE. Boletín Técnico no. 9. 90 p.
- 25.- SCHESSER, J.; KRAMER, K.; BULLA, L. 1977. Bioassay for homogeneous parasporal crystal of Bacillus thuringiensis using the tobacco hornworm, Manduca sexta. Journal of Economic Entomology (EE.UU.) 33(4):878-880.
- 26.- SMITH, K. 1976 Virus-insect relationships. Estados Unidos, FRS Longman. 291 p.
- 27.- SPIEGEL, M. 1990. Estadística. México, Mac-Graw Hill 357 p. (Serie de Compendios Schawn).
- 28.- STAUDER N. 1990. Aislamiento de cepas de Bacillus thuringiensis propias de Guatemala y caracterización de la endotoxina. Tesis Lic. Bioquímica. Guatemala. Universidad del Valle, Facultad de Ciencias y Humanidades. 70 p.

Vo. Bo. Rolando Barrios.



**11 APENDICE**

CUADRO 3 "A". MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN EL  
ESTABLECIMIENTO DEL PIE DE CRIA  
DE Spodoptera frugiperda (Smith)

- 5 Recipientes plásticos de 16.5 cm de diámetro por 14 cm de altura, con tapadera.
- 30 larvas de Spodoptera frugiperda en 5o. ó 6o. estadio de desarrollo.
- 200 Recipientes plásticos de 7 cm de diámetro por 5 cm de altura, con tapadera.
- 3 Jaulas cilíndricas de malla metálica de 20 cm de diámetro por 40 cm de alto.
- 2 Rollos de papel parafinado.
- 1 Cámara de esterilización a base de luz Ultra Violeta.
- Tijeras.
- Formaldehido al 3.7%.
- Servilletas de papel.
- Hipoclorito de sodio al 0.55%.
- Balanza analítica.
- Estufa con agitador.
- Batidora eléctrica.
- Dieta líquida para lepidópteros adultos (cuadro 7"A").
- Dieta para larvas de lepidópteros (cuadro 8"A").

CUADRO 4 "A". MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN EL CULTIVO DE Bacillus thuringiensis (Berliner) Y OBTENCION DE LA PELLA DE CRISTALES Y ESPORAS

- Tubos de ensayo con tapón de rosca, de 3 ml de capacidad.
- Asas.
- Mechero Bunsen.
- Frascos de Rooks.
- Autoclave Castle tipo 1624.
- Balanza OHAUS Brainweight B-300D, de 30 a 300 gramos.
- Potenciómetro.
- Microscopio de Luz WILD Heerbrugg, Suiza.
- Incubadora New Brunswick Scientific Co. Inc. Controlled environment Incubator, USA patent. # 3002. 895.
- Centrifuga refrigerada IEC. International Refrigerated Centrifuge Model B-20. International Equipment Co.
- Tubos para centrífuga de 40 ml. con tapón de rosca.
- Frascos de vidrio de 50 ml con tapadera.
- Horno de vacío.
- Medio de cultivo Agar T3 (cuadro 9"A").
- Colorante Azul de Coomasie (cuadro 10"A").
- Alcohol al 98%.
- Agua esterilizada.



CUADRO 5 "A". MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN LA REALIZACION  
DE LOS BIOENSAYOS CON LAS 60 CEPAS  
DE Bacillus thuringiensis (Berliner)

- 2,500 Recipientes plásticos de 4 cm de diámetro por 3 cm de alto, con tapadera.
- Tubos de ensayo de 20 ml con tapón de plástico.
- Jeringas esterilizadas de 1 ml.
- Pincel.
- Pinzas.
- Suspensión de esporas y cristales de las cepas de la bacteria a evaluar.
- 2,500 larvas de Spodoptera frugiperda.
- Dieta para larvas cortada en trozos de 1 gramo.

CUADRO 6 "A". MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN LA DETERMINACION DE LA DOSIS LETAL MEDIA DE LA CEPA QUE MOSTRO MAYOR LETALIDAD EN MENOR TIEMPO COMPARADO CON LA CEPA PATRON DE REFERENCIA

- 900 recipientes plásticos con tapa, de 4 cm de diámetro por 3 cm de alto.
- Tubos de ensayo de 20 ml con tapón de plástico.
- Jeringas esterilizadas de 1 ml.
- Pincel.
- Pinzas.
- Suspensión de esporas y cristales de la cepa de Bacillus thuringiensis que produjo el mayor efecto letal en el menor tiempo.
- Suspension de esporas y cristales de la cepa patrón.
- 900 larvas de Spodoptera frugiperda.
- Dieta para larvas cortada en trozos de 1 gramo.

CUADRO 7 "A". DIETA LIQUIDA PARA LEPIDOPTEROS ADULTOS

AZUCAR	50.0 gr
METILPARABEN	01.0 gr
ACIDO ASCORBICO	00.1 gr
MIEL DE ABEJA	05.0 cc
AGUA DESTILADA	1,000.0 cc

FUENTE: MIHN, J. (19), 1,983

CUADRO 8 "A". DIETA PARA LARVAS DE LEPIDOPTEROS

-ACIDO ASCORBICO	8.0 gr
-ACIDO SORBICO	2.5 gr
-METIL PARABEN	5.0 gr
-TETRACICLINA HCL 25%	5.0 gr
-VITAMINAS	5.0 gr
-HARINA DE SOYA	226.0 gr
-LEVADURA	62.0 gr
-GERMEN DE TRIGO	100.0 gr
-AGAR	20.0 gr
-LECHE EN POLVO	50.0 gr
-FORMALDEHIDO	3.0 cc
-AGUA DESTILADA	1,500.0 cc

**PREPARACION:**

Con la mitad del agua batir cruda la harina de soya, germen de trigo y levadura de cerveza; con la otra mitad se pone a hervir el agar. En seguida se bate el agar con la mezcla de harina de soya, germen de trigo y levadura de cerveza y se agrega la leche semidisuelta. A continuación se agregan las vitaminas con la tetraciclina y los ácidos predisoluidos. Finalmente se bate la mezcla con todo y el formaldehido.

CUADRO 9 "A". MEDIO DE CULTIVO AGAR T3

TRIPTONA	3.0 gr
TRIPTOSA	2.0 gr
EXTRACTO DE LEVADURA	1.5 gr
BUFFER DE FOSFATO DE Na <sup>+</sup>	250.0 ml 0.2 M/lt a pH 6.8
MgCl	0.005 gr
AGAR BASE	15.0 gr
AFORAR CON AGUA A 1 LITRO	

CUADRO 10 "A". COLORANTE AZUL DE COOMASIE

COOMASIE BRILLIANT BLUE SIGMA CHEMICAL Co. 65 %	0.25 %
ETANOL	50.00 %
ACIDO ACETICO	7.00 %
AGUA DESTILADA	42.75 %











## CONTINUACION DE CUADRO 11 "A".

REP	CEPA	D I A S										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	B-0210	0	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2
2		0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
3		0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2
4		0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2
1	B-0211	0	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3
2		0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3		1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
4		0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	B-0212	2	3	3	3	4	4	4	4	4	7	7
2		1	1	2	2	2	2	3	3	3	7	7
3		0	0	1	1	1	2	2	3	3	6	6
4		1	3	3	4	4	4	4	4	4	7	7
1	B-0213	2	2	3	5	7	8	8	9	9	9	9
2		2	3	6	7	7	7	7	8	8	9	9
3		1	2	5	6	8	8	8	8	8	8	8
4		1	2	4	6	6	8	8	8	8	8	8
1	B-0214	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3
2		1	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3
3		1	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3
4		2	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
1	B-0215	2	3	5	7	7	10	10	10	10	10	10
2		3	4	5	8	9	9	9	9	9	9	9
3		2	5	7	7	8	10	10	10	10	10	10
4		2	4	6	9	10	10	10	10	10	10	10
1	B-0216	2	3	5	6	6	8	8	8	9	9	9
2		2	3	6	8	8	8	9	10	10	10	10
3		3	3	5	6	7	7	7	7	8	8	8
4		2	3	5	7	9	9	9	10	10	10	10
1	B-0217	1	3	5	5	5	5	6	6	7	7	7
2		0	1	2	2	4	6	6	7	8	8	8
3		1	2	3	3	3	4	5	6	8	8	8
4		1	2	2	2	3	4	4	5	6	6	6
1	B-0218	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2
2		1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3
3		0	2	3	3	4	4	4	4	4	4	4
4		0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	B-0219	1	2	3	3	3	3	3	3	4	4	4
2		0	0	1	1	2	3	3	3	4	4	4
3		0	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4
4		0	0	2	2	2	3	3	3	4	4	4
1	B-0220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2		0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	2
3		0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
4		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	B-0221	5	6	7	9	10	10	10	10	10	10	10
2		3	5	8	10	10	10	10	10	10	10	10
3		2	5	6	8	9	10	10	10	10	10	10
4		4	5	7	9	9	10	10	10	10	10	10



CUADRO 12 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
PRIMER RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	23.2715	0.38620	10.93	0.0001
ERROR	183	6.4662	0.03533		
TOTAL	243	29.6377			

C.V.=15.3614

CUADRO 13 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
SEGUNDO RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	38.1038	0.63510	11.38	0.0001
ERROR	183	10.2125	0.05580		
TOTAL	243	48.3162			

C.V.=17.7908

CUADRO 14 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
TERCER RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	64.1071	1.06840	20.40	0.0001
ERROR	183	9.5829	1.05240		
TOTAL	243	73.6900			

C.V.=16.0289

CUADRO 15 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
CUARTO RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	83.5061	1.39180	26.77	0.0001
ERROR	183	8.5223	0.04840		
TOTAL	243	92.3584			

C.V.=14.7892

CUADRO 16 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
QUINTO RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	91.2381	1.52060	29.37	0.0001
ERROR	183	9.4745	0.05180		
TOTAL	243	100.7126			

C.V.=14.8443

CUADRO 17 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
SEXTO RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	105.0274	1.75040	35.77	0.0001
ERROR	183	8.9553	0.04890		
TOTAL	243	113.9827			

C.V.=13.9111

CUADRO 18 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
SEPTIMO RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	108.1253	1.80210	39.07	0.0001
ERROR	183	8.4418	0.04610		
TOTAL	243	116.5671			

C.V.=13.4367

CUADRO 19 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
OCTAVO RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	113.1317	1.88550	39.97	0.0001
ERROR	183	8.6332	0.04720		
TOTAL	243	121.7649			

C.V.=13.4507

CUADRO 20 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL  
NOVENO RECUENTO DE MORTALIDAD  
ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	122.0805	2.03470	44.16	0.0001
ERROR	183	8.4313	0.04610		
TOTAL	243	130.5118			

C.V.=13.0859

CUADRO 21 "A". RESUMEN DE ANDEVA PARA EL DECIMO RECUENTO DE MORTALIDAD ICAITI - GUATEMALA - 1,993

F.V.	G.L.	S.C.	C. M.	VALOR F.	SIGNIF.
TRAT.	60	122.0805	2.03470	44.16	0.0001
ERROR	183	8.4313	0.04610		
TOTAL	243	130.5118			

C.V.=13.0859

CUADRO 22 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL PRIMER RECUENTO DE MORTALIDAD ICAITI - GUATEMALA - 1,993

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0181 (45.0).
AB	B-0221 (35.0).
ABC	B-0185 (30.0).
ABCD	B-0216 (22.5), B-0215 (22.5).
BCDE	B-0175 (17.5), B-0177 (17.5), B-0209 (17.5), B-0214 (15.0), B-0213 (15.0).
CDEF	B-0222 (12.5), B-0176 (12.5).
DEEF	B-0212 (10.0), B-0208 (10.0), B-0195 (10.0), B-0170 (07.5), B-0205 (07.5), B-0180 (07.5), B-0171 (07.5), B-0217 (07.5), B-0178 (07.5), B-0182 (07.5).
EF	B-0172 (05.0), B-0194 (05.0), B-0211 (02.5), B-0168 (02.5), B-0167 (02.5), B-0218 (02.5), B-0219 (02.5), B-0223 (02.5), B-0199 (02.5), B-0165 (02.5), B-0207 (02.5).
F	LAS CEPAS AGRUPADAS EN ESTA CATEGORIA AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO, NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0164, B-0166, B-0169, B-0173, B-0174, B-0179, B-0183, B-0184, B-0186, B-0187, B-0188, B-0189, B-0190, B-0191, B-0192, B-0193, B-0196, B-0197, B-0198, B-0200, B-0201, B-0202, B-0203, B-0204, B-0206, B-0210, B-0220.
MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	

CUADRO 23 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL SEGUNDO RECUENTO DEMORTALIDAD ICAITI - GUATEMALA - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0182 (52.5).
AB	B-0221 (50.0).
ABC	B-0185 (41.3).
ABCD	B-0215 (39.7).
ABCDE	B-0175 (34.9).
ABCDEF	B-0216 (30.0).
ABCDEFG	B-0213 (22.4).
BCDEFGH	B-0209 (21.9).
CDEFGH	B-0214 (19.6), B-0208 (19.6), B-0217 (19.6), B-0205 (19.6), B-0177 (19.6).
CDEFGHI	B-0212 (15.7).
DEFGHI	B-0171 (14.0), B-0176 (13.6).
EFGHI	B-0222 (11.6), B-0219 (10.5).
FGHI	B-0218 (09.3), B-0182 (09.3), B-0195 (09.3),
GHI	B-0223 (06.6), B-0221 (06.6), B-0196 (05.6), B-0172 (04.4), B-0194 (04.0).
HI	B-0168 (02.2), B-0167 (02.2), B-0186 (02.2), B-0203 (02.2), B-0188 (02.2), B-0165 (02.2), B-0210 (02.2), B-0199 (02.2), B-0201 (02.2), B-0207 (02.2), B-0189 (02.2), B-0183 (02.2), B-0191 (02.2).
I	LAS CEPAS AGRUPADAS EN ESTA CATEGORIA AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO, NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0200, B-0174, B-0204, B-0166, B-0192, B-0206, B-0193, B-0164, B-0197, B-0198, B-0184, B-0169, B-0202, B-0179, B-0220, B-0173, B-0190, B-0187.
MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	

CUADRO 24 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL TERCER RECUESTO DE MORTALIDAD  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0221 (70.0).
AB	B-0181 (62.3).
ABC	B-0215 (57.2).
ABCD	B-0216 (52.5).
ABCDE	B-0185 (46.7), B-0175 (44.4), B-0213 (44.4), B-0209 (43.8).
ABCDEF	B-0208 (36.8).
BCDEFG	B-0205 (32.1).
CDEFGH	B-0217 (29.1).
DEFGHI	B-0214 (24.5).
EFGHI	B-0212 (21.9), B-0219 (21.9), B-0177 (21.9).
FGHIJ	B-0176 (16.9), B-0222 (14.7), B-0195 (14.7), B-0171 (14.0), B-0218 (13.6), B-0182 (12.3), B-0211 (12.3).
GHIJ	B-0222 (09.3).
HIJ	B-0178 (08.7), B-0170 (07.2), B-0180 (07.2).
IJ	B-0194 (06.6), B-0210 (06.6), B-0196 (05.6), B-0172 (04.6).
J	B-0167 (02.2), B-0168 (02.2), B-0203 (02.2), B-0199 (02.2), B-0184 (02.2), B-0201 (02.2), B-0220 (02.2), B-0207 (02.2), B-0189 (02.2), B-0183 (02.2), B-0191 (02.2).
J	QUEDAN INCLUIDAS TAMBIEN EN ESTA CATEGORIA, LAS CEPAS QUE AL IGUAL QUE AL TRATAMIENTO TESTIGO NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0174, B-0166, B-0192, B-0206, B-0193, B-0164, B-0197, B-0198, B-0200, B-0169, B-0202, B-0179, B-0204, B-0173, B-0190, B-0187.
MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	



CUADRO 25 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL CUARTO RECUENTO DE MORTALIDAD I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0221 (90.0).
AB	B-0215 (77.3).
ABC	B-0216 (67.8), B-0181 (64.7), B-0213 (59.8).
ABCD	B-0209 (57.4).
BCDE	B-0185 (52.4).
BCDEF	B-0175 (49.8).
CDEFG	B-0208 (39.7).
CDEFGH	B-0205 (36.8).
DEFGHI	B-0217 (29.1).
EFGHIJ	B-0214 (27.0), B-0195 (24.8).
FGHIJK	B-0212 (24.1), B-0222 (22.4), B-0176 (22.4).
GHIJK	B-0219 (21.9), B-0177 (21.9).
GHIJKL	B-0171 (16.1).
HIJKL	B-0182 (14.7), B-0211 (14.7), B-0218 (13.6).
IJKL	B-0223 (11.6), B-0170 (09.3), B-0178 (08.6), B-0196 (08.3).
JKL	B-0180 (07.2), B-0194 (06.6), B-0210 (06.6).
KL	B-0172 (04.6), B-0183 (04.6).
L	B-0168 (02.2), B-0203 (02.2), B-0188 (02.2), B-0165 (02.2), B-0202 (02.2), B-0167 (02.2), B-0184 (02.2), B-0201 (02.2), B-0186 (02.2), B-0207 (02.2), B-0220 (02.2), B-0189 (02.2), B-0199 (02.2), B-0193 (02.2), B-0191 (02.2).
<p>L QUEDAN INCLUIDAS TAMBIEN EN ESTA CATEGORIA, LAS CEPAS QUE AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0174, B-0192, B-0166, B-0164, B-0197, B-0206, B-0200, B-0169, B-0198, B-0179, B-0204, B-0173, B-0190, B-0187.</p>	
<p>MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES</p>	

CUADRO 26 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL QUINTO RECUESTO DE MORTALIDAD  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0221 (95.0).
AB	B-0215 (84.7), B-0216 (74.6).
ABC	B-0181 (70.0), B-0213 (70.0), B-0209 (59.8).
BCD	B-0185 (54.5).
BCDE	B-0208 (49.6).
CDEF	B-0205 (39.7), B-0217 (37.1).
DEFG	B-0214 (27.0), B-0212 (26.3).
EFGH	B-0195 (24.8), B-0219 (24.8), B-0177 (24.8).
EFGHI	B-0222 (22.4), B-0176 (22.4).
FGHIJ	B-0171 (19.6).
FGHIJK	B-0218 (17.6), B-0182 (14.7), B-0211 (14.7).
GHIJK	B-0210 (11.6), B-0223 (11.6), B-0170 (09.3), B-0178 (08.6), B-0196 (08.3), B-0180 (07.2), B-0186 (07.2), B-0184 (06.6), B-0194 (06.6).
HIJK	B-0183 (04.6), B-0172 (04.6), B-0220 (04.6), B-0202 (04.6).
IJK	B-0188 (04.0).
JK	B-0202 (02.2), B-0165 (02.2), B-0167 (02.2), B-0201 (02.2), B-0207 (02.2), B-0168 (02.2), B-0173 (02.2), B-0190 (02.2), B-0199 (02.2), B-0193 (02.2), B-0191 (02.2), B-0197 (02.2), B-0189 (02.2).
K	LAS CEPAS AGRUPADAS EN ESTA CATEGORIA AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO, NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0192, B-0166, B-0164, B-0174, B-0200, B-0198, B-0179, B-0204, B-0169, B-0206, B-0187.
MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	

CUADRO 27 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL SEXTO RECUENTO DE MORTALIDAD  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0221 (100 ), B-0215 (97.5).
AB	B-0216 (80.0), B-0213 (77.4).
ABC	B-0181 (70.0), B-0208 (67.1).
ABCD	B-0209 (62.4).
BCDE	B-0185 (57.2), B-0205 (52.4).
BCDEF	B-0175 (49.8), B-0217 (47.2).
CDEFG	B-0195 (37.4).
DEFGH	B-0214 (32.4), B-0219 (32.4), B-0177 (32.4).
EFGHI	B-0212 (29.4).
FGHIJ	B-0222 (22.4), B-0176 (22.4).
GHIJK	B-0171 (19.6), B-0218 (17.6), B-0210 (17.3), B-0182 (17.3).
GHIJKL	B-0211 (16.9), B-0223 (14.0).
HIJKL	B-0170 (11.6).
IJKL	B-0184 (09.3), B-0186 (09.3), B-0178 (08.7), B-0196 (08.3).
JKL	B-0180 (07.2), B-0183 (07.2), B-0194 (06.6), B-0191 (06.6), B-0172 (04.6), B-0220 (04.6), B-0202 (04.6), B-0188 (04.6).
KL	B-0165 (02.2), B-0203 (02.2), B-0201 (02.2), B-0187 (02.2), B-0168 (02.2), B-0173 (02.2), B-0190 (02.2), B-0167 (02.2), B-0192 (02.2), B-0193 (02.2), B-0199 (02.2), B-0197 (02.2), B-0207 (02.2), B-0191 (02.2).
L	LAS CEPAS AGRUPADAS EN ESTA CATEGORIA AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO, NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0166, B-0164, B-0174, B-0200, B-0198, B-0204, B-0169, B-0206, B-0179.
MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	

CUADRO 28 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL SEPTIMO RECUENTO DE MORTALIDAD I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0221 (100 ), B-0215 (97.5).
AB	B-0216 (82.3), B-0213 (77.4), B-0208 (72.4), B-0181 (70.0).
ABC	B-0209 (62.4).
BCD	B-0185 (57.2), B-0205 (54.7), B-0175 (52.2), B-0217 (52.2).
CDE	B-0195 (37.4).
DEF	B-0214 (32.4), B-0219 (32.4), B-0177 (32.4), B-0212 (32.1).
EFG	B-0222 (22.4), B-0176 (22.4), B-0218 (21.2).
EFGH	B-0171 (19.6), B-0210 (17.3), B-0182 (17.3), B-0211 (16.9).
EFGHI	B-0223 (14.0).
FGHI	B-0170 (11.6).
GHI	B-0184 (09.3), B-0186 (09.3), B-0178 (08.6), B-0196 (08.3), B-0180 (07.2), B-0183 (07.2), B-0194 (06.6), B-0191 (06.6), B-0220 (06.6), B-0202 (06.6), B-0172 (04.6), B-0188 (04.0).
HI	B-0165 (02.2), B-0203 (02.2), B-0201 (02.2), B-0187 (02.2), B-0168 (02.2), B-0173 (02.2), B-0190 (02.2), B-0167 (02.2), B-0192 (02.2), B-0193 (02.2), B-0199 (02.2), B-0197 (02.2), B-0207 (02.2), B-0189 (02.2).
I	LAS CEPAS AGRUPADAS EN ESTA CATEGORIA AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO, NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0166, B-0164, B-0174, B-0200, B-0198, B-0204, B-0169, B-0206, B-0179.
MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	

CUADRO 29 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY  
 PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis  
 (Berliner) EN EL OCTAVO RECUENTO DE MORTALIDAD  
 I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0221 (100 ), B-0215 (97.5).
ABC	B-0216 (87.0), B-0213 (82.5).
ABCD	B-0208 (75.0), B-0181 (70.0).
ABCDE	B-0209 (65.0).
BCDEF	B-0217 (59.8), B-0185 (59.8).
CDEF	B-0205 (54.7), B-0175 (52.2).
DEFG	B-0195 (44.9).
EFGH	B-0212 (34.9).
FGHI	B-0214 (32.4), B-0219 (32.4), B-0177 (32.4).
GHIJ	B-0222 (22.4), B-0176 (22.4), B-0218 (21.2).
GHIJK	B-0182 (19.6), B-0171 (19.6).
HIJK	B-0210 (17.3), B-0211 (16.9).
HIJKL	B-0223 (16.1), B-0186 (12.3).
IJKL	B-0170 (11.6).
JKL	B-0184 (09.3), B-0178 (08.7), B-0196 (08.3), B-0180 (07.2), B-0183 (07.2), B-0220 (06.6), B-0191 (06.6), B-0194 (06.6), B-0172 (04.6), B-0202 (04.6), B-0188 (04.0).
KL	B-0165 (02.2), B-0203 (02.2), B-0201 (02.2), B-0187 (02.2), B-0168 (02.2), B-0173 (02.2), B-0190 (02.2), B-0167 (02.2), B-0192 (02.2), B-0193 (02.2), B-0199 (02.2), B-0197 (02.2), B-0207 (02.2), B-0189 (02.2).
L	LAS CEPAS AGRUPADAS EN ESTA CATEGORIA AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO, NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0166, B-0164, B-0174, B-0200, B-0198, B-0204, B-0169, B-0206, B-0179.
MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	

CUADRO 30 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL NOVENO RECUENTO DE MORTALIDAD  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0221 (100 ), B-0215 (97.5).
AB	B-0216 (92.3).
ABC	B-0213 (84.9).
ABCD	B-0208 (75.0), B-0217 (72.3).
ABCDE	B-0181 (70.0), B-0212 (67.4), B-0209 (67.4).
BCDEF	B-0185 (59.8).
CDEF	B-0205 (54.7), B-0175 (52.2).
DEFG	B-0195 (44.9).
EFGH	B-0219 (40.0).
FGHI	B-0214 (32.4), B-0177 (32.4).
GHIJ	B-0218 (24.0).
GHIJK	B-0222 (22.4), B-0176 (22.4), B-0171 (22.4).
GHIJKL	B-0182 (19.6).
HIJKL	B-0210 (17.3), B-0211 (16.9).
HIJKLM	B-0223 (16.1).
IJKLM	B-0186 (12.3), B-0170 (11.6), B-0183 (11.6).
JKLM	B-0184 (09.3), B-0178 (08.7), B-0196 (08.3), B-0180 (07.2), B-0220 (06.6), B-0191 (06.6).
KLM	B-0172 (04.6), B-0202 (04.6), B-0188 (04.0).
LM	B-0165 (02.2), B-0203 (02.2), B-0201 (02.2), B-0187 (02.2), B-0168 (02.2), B-0173 (02.2), B-0190 (02.2), B-0167 (02.2), B-0192 (02.2), B-0193 (02.2), B-0199 (02.2), B-0197 (02.2), B-0207 (02.2), B-0189 (02.2).
<p>M LAS CEPAS AGRUPADAS EN ESTA CATEGORIA AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO, NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0166, B-0164, B-0174, B-0200, B-0198, B-0204, B-0169, B-0206, B-0179.</p>	
<p>MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES</p>	

CUADRO 31 "A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA 60 CEPAS DE Bacillus thuringiensis (Berliner) EN EL DECIMO RECUENTO DE MORTALIDAD I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

TUKEY AL 5%	CEPAS Y (% DE MORTALIDAD ACUMULADA)
A	B-0221 (100 ), B-0215 (97.5).
AB	B-0216 (92.3).
ABC	B-0213 (84.9).
ABCD	B-0208 (75.0), B-0217 (72.3).
ABCDE	B-0181 (70.0), B-0212 (67.4), B-0209 (67.4).
BCDEF	B-0185 (59.8).
CDEF	B-0205 (54.7), B-0175 (52.2).
DEFG	B-0195 (44.9), EFGH B-0219 (40.0).
FGHI	B-0214 (32.4), B-0177 (32.4).
GHIJ	B-0218 (24.0).
GHIJK	B-0222 (22.4), B-0176 (22.4), B-0171 (22.4).
GHIJKL	B-0182 (19.6).
HIJKL	B-0210 (17.3), B-0211 (16.9).
HIJKLM	B-0223 (16.1).
IJKLM	B-0186 (12.3), B-0170 (11.6), B-0183 (11.6).
JKLM	B-0184 (09.3), B-0178 (08.7), B-0196 (08.3), B-0180 (07.2), B-0220 (06.6), B-0191 (06.6).
KLM	B-0172 (04.6), B-0202 (04.6), B-0188 (04.0).
LM	B-0165 (02.2), B-0203 (02.2), B-0201 (02.2), B-0187 (02.2), B-0168 (02.2), B-0173 (02.2), B-0190 (02.2), B-0167 (02.2), B-0192 (02.2), B-0193 (02.2), B-0199 (02.2), B-0197 (02.2), B-0207 (02.2), B-0189 (02.2).
<p>M LAS CEPAS AGRUPADAS EN ESTA CATEGORIA AL IGUAL QUE EL TRATAMIENTO TESTIGO, NO REGISTRARON MORTALIDAD Y SON LAS SIGUIENTES: B-0166, B-0164, B-0174, B-0200, B-0198, B-0204, B-0169, B-0206, B-0179.</p>	
<p>MEDIAS CON LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES</p>	

CUADRO 32 "A". PROBITS CORRESPONDIENTES A LOS DISTINTOS VALORES PARA LA FUNCION SUMA DE LA DISTRIBUCION NORMAL FUNCION SUMA I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

100 X										
FUNCION	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
SUMA										
0		1.91	2.12	2.25	2.35	2.42	2.49	2.54	2.50	2.63
1	2.67	2.71	2.74	2.77	2.80	2.83	2.86	2.88	2.90	2.93
2	2.95	2.97	2.99	3.01	3.02	3.04	3.06	3.07	3.09	3.10
3	3.12	3.13	3.15	3.16	3.18	3.19	3.20	3.21	3.23	3.24
4	3.25	3.26	3.27	3.28	3.29	3.31	3.32	3.33	3.34	3.35
5	3.36	3.37	3.37	3.38	3.39	3.40	3.41	3.42	3.43	3.44
6	3.45	3.45	3.46	3.47	3.48	3.49	3.49	3.50	3.51	3.52
7	3.52	3.53	3.54	3.55	3.55	3.56	3.57	3.57	3.58	3.59
8	3.60	3.60	3.61	3.62	3.62	3.63	3.63	3.64	3.65	3.65
9	3.66	3.67	3.67	3.68	3.68	3.69	3.70	3.70	3.71	3.71
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	3.72	3.77	3.83	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.09	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.62	4.64	4.67	4.70	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.93	4.95	4.98
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
90	6.28	6.29	6.29	6.30	6.31	6.31	6.32	6.32	6.33	6.34
91	6.34	6.35	6.35	6.36	6.37	6.37	6.38	6.39	6.39	6.40
92	6.41	6.41	6.42	6.43	6.43	6.44	6.45	6.45	6.46	6.47
93	6.48	6.48	6.49	6.50	6.51	6.51	6.52	6.53	6.54	6.55
94	6.56	6.56	6.57	6.58	6.59	6.60	6.61	6.62	6.63	6.64
95	6.65	6.66	6.67	6.68	6.69	6.70	6.71	6.72	6.73	6.74
96	6.75	6.76	6.77	6.79	6.80	6.81	6.83	6.84	6.85	6.87
97	6.88	6.90	6.91	6.93	6.94	6.96	6.96	7.00	7.01	7.03
98	7.05	7.08	7.10	7.12	7.14	7.17	7.20	7.23	7.26	7.29
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09



CUADRO 33 "A". RECUENTO POR REPETICION DE LA MORTALIDAD DE LARVAS DE Spodoptera frugiperda (Smith) PRODUCIDA POR LAS CEPAS B-0158 Y B-0221 AL DECIMO DIA DE APLICADA LA TOXINA  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3.

CEPA B-0158					CEPA B-0221				
TRATAMIENTO EN µg/ml	REPETICIONES				TRATAMIENTO EN µg/ml	REPETICIONES			
	1	2	3	4		1	2	3	4
500	0	1	1	0					
750	2	1	1	2					
1,000	2	2	1	3	62.5	1	0	0	1
1,250	3	1	2	3	125	2	1	2	2
1,500	4	3	2	4	250	2	3	2	2
1,750	3	4	4	4	375	4	3	4	2
2,000	6	5	5	6	500	6	6	5	5
2,250	6	7	6	6	750	7	7	6	6
2,500	7	8	8	6	1,000	7	6	8	7
2,750	7	8	8	8	1,250	9	9	10	9
3,000	9	9	9	8					
3,250	9	10	10	9					

CUADRO 35"A". RESUMEN DEL ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD PRODUCIDO POR LA CEPA B-0158 EN LARVAS DE Spodoptera frugiperda (Smith) AL DECIMO DIA DEL TRATAMIENTO, PARA LA DETERMINACION DE LA DL-50  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	SIGNIFICANCIA
TRATAMIENTOS	11	19.6721	1.7884	109.494	0.01**
ERROR	36	0.5880	0.0163		
TOTAL	47	20.2601			

C.V.=5.49%

CUADRO 36"A". RESUMEN DEL ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD PRODUCIDO POR LA CEPA B-0221 EN LARVAS DE Spodoptera frugiperda (Smith) AL DECIMO DIA DEL TRATAMIENTO, PARA LA DETERMINACION DE LA DL-50  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1, 9 9 3

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	SIGNIFICANCIA
TRATAMIENTOS	7	12.9952	1.8564	71.128	0.01**
ERROR	24	0.6266	0.0261		
TOTAL	31	23.6218			

C.V.=7.21%

CUADRO 37"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA LOS TRATAMIENTOS DE LA CEPA B-058, EN LA DETERMINACION DE LA DL-50 I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993

TRATAMIENTO µg/ml	PROMEDIO DE MORTALIDAD (%)	TUKEY AL 5%
3,250	95.0	A
3,000	87.5	A
2,750	77.5	A
2,500	72.2	A B
2,250	62.5	A B
2,000	55.0	B
1,750	37.5	C
1,500	32.5	C D
1,250	22.5	D
1,000	20.0	D
750	15.0	D
500	5.0	E

CUADRO 38"A". PRESENTACION DE MEDIAS DE LA PRUEBA DE TUKEY PARA LOS TRATAMIENTOS DE LA CEPA B-0221, EN LA DETERMINACION DE LA DL-50 I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993

TRATAMIENTO µg/ml	PROMEDIO DE MORTALIDAD (%)	TUKEY AL 5%
1,250	92.5	A
1,000	69.8	A B
750	64.9	B
500	54.9	B
375	32.1	C
250	22.4	C
125	17.3	C D
62.5	4.6	D

CUADRO 39"A". ANALISIS DE REGRESION LINEAL POR EL  
 METODO DE AJUSTE DE CURVAS DE  
 MINIMOS CUADRADOS PARA LA CEPA B-0158  
 I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993

DOSIS $\mu\text{g/ml}$ gr/dieta	% MORTALIDAD	X LOG DOSIS	Y PROBITS	X <sup>2</sup>	XY
500.0000	5.0000	2.6990	3.3600	7.2846	9.0686
750.0000	15.0000	2.8751	3.9600	8.2662	11.3854
1,000.0000	20.0000	3.0000	4.1600	9.0000	12.4800
1,250.0000	22.5000	3.0969	4.2450	9.5908	13.1463
1,500.0000	32.5000	3.1761	4.5450	10.0876	14.4354
1,750.0000	37.5000	3.2430	4.6850	10.5170	15.1935
2,000.0000	55.0000	3.3010	5.1300	10.8966	16.9341
2,250.0000	62.5000	3.3522	5.3200	11.2372	17.8337
2,500.0000	72.5000	3.3979	5.5950	11.5457	19.0112
2,750.0000	77.5000	3.4393	5.7550	11.8288	19.7932
3,000.0000	87.5000	3.4771	6.1550	12.0902	21.4015
3,250.0000	95.0000	3.5119	6.6500	12.3334	23.3541
	$\Sigma$	38.5695	59.5600	124.6783	194.0371

$$\bar{Y} = 4.9633$$

CUADRO 40"A". CALCULO DE LA DL-50 PARA LA CEPA B-0158  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993

$$\text{ECUACION DE LA RECTA: } Y = a_0 + a_1 X$$

$$\text{ECUACIONES NORMALES: } \Sigma Y = a_0 N + a_1 \Sigma X$$

$$\Sigma XY = a_0 \Sigma X + a_1 \Sigma X^2$$

SUSTITUYENDO VALORES EN LAS ECUACIONES NORMALES

$$\begin{array}{l} 1) 12.0000 a_0 + 38.5695 a_1 = 59.5600 \\ 2) 38.5695 a_0 + 124.6783 a_1 = 194.0371 \end{array} \quad \left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\} * -3.2141.25$$

RESOLVIENDO EL SISTEMA

$$\begin{array}{r} -38.5695 a_0 - 123.9672 a_1 = -191.4333 \\ 38.5695 a_0 + 124.6783 a_1 = 194.0371 \end{array}$$

$$0 + 0.7111 a_1 = 2.6038$$

$$2.6038$$

$$a_1 = \frac{2.6038}{0.7111}$$

$$a_1 = 3.6616$$

SUSTITUYENDO  $a_1$  en 1)

$$12 a_0 + 38.5695 (3.6616) = 59.5600$$

$$a_0 = \frac{59.5600 - 38.5695 (3.6616)}{12} \quad a_0 = -6.8055$$

SUSTITUYENDO LOS VALORES DE " $a_0$ " y " $a_1$ " EN LA ECUACION DE LA RECTA

$$Y = -6.8055 + 3.6616X$$

CALCULANDO LA DOSIS LETAL MEDIA. (  $DL_{50}$  )

Como el valor probit (Y) correspondiente al 50% de mortalidad es 5.0, se sustituye "Y" por este valor

$$5.0 = -6.8055 + 3.6616X$$

DESPEJANDO "X"

$$X = \frac{5.0 + 6.8055}{3.6616}, \quad X = 3.224136989 \longrightarrow \text{antilog.}$$

POR LO TANTO LA  $DL_{50}$  PARA LA CEPA B-0158 ES DE:

$$1,675.47 \text{ } \mu\text{g/ml/gr DE DIETA}$$

CUADRO 41"A". DATOS PARA EL CALCULO DEL VALOR TIPICO DE LA ESTIMA (SY.X) PARA LA CEPA B-0158, DE ACUERDO A LA ECUACION OBTENIDA POR REGRESION LINEAL  $Y = 6.8055 + 3.6616 X$   
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993.

X	Y	Yest.	Y-Yest.
2.6990	3.3600	3.0770	0.2830
2.8751	3.9600	3.7220	0.2380
3.0000	4.1600	4.1790	-0.0190
3.0969	4.2450	4.5340	-0.2890
3.1761	4.5450	4.8240	-0.2790
3.2430	4.6850	5.0690	-0.3840
3.3010	5.1300	5.2810	-0.1510
3.3522	5.3200	5.4690	-0.1490
3.3979	5.5950	5.6360	-0.0410
3.4393	5.7550	5.7880	-0.0330
3.4771	6.1550	5.9260	0.2290
3.5119	6.6500	6.0540	0.5960

CUADRO 42"A". CALCULO DEL VALOR TIPICO DE LA ESTIMA (SY.X),  
DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION (r) Y  
DETERMINACION (r<sup>2</sup>) PARA LA CEPA B-0158  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993

$$S^2 Y.X = \frac{\sum_{i=1}^N (Y - Y_{est.})^2}{N}$$

$$S^2 Y.X = \frac{(0.2830)^2 + (0.2380)^2 + \dots + (0.2290)^2 + (0.5960)^2}{12}$$

$$S^2 Y.X = \pm 0.07511175 \longrightarrow S Y.X = \pm \sqrt{S^2 Y.X}$$

$$S Y.X = \pm 0.2741$$

CALCULANDO EL COEFICIENTE DE CORRELACION (r)

$$r = \sqrt{\frac{\text{VARIACION EXPLICADA}}{\text{VARIACION TOTAL}}}$$

$$\text{VARIACION EXPLICADA} = \sum_{i=1}^N (Y_{est.} - \bar{Y})^2$$

$$\text{VARIACION EXP.} = (3.0770 - 4.9633)^2 + \dots + (6.0540 - 4.9633)^2$$

$$\text{VARIACION EXPLICADA} = 9.5347$$

$$\text{VARIACION TOTAL} = \sum_{i=1}^N (Y - \bar{Y})^2$$

$$\text{VARIACION TOTAL} = (3.360 - 4.9633)^2 + \dots + (6.6500 - 4.9633)^2$$

$$\text{VARIACION TOTAL} = 10.4368$$

$$r = \sqrt{\frac{9.5347}{10.4368}} \longrightarrow r = 0.9558$$

(r)<sup>2</sup> = COEFICIENTE DE DETERMINACION

$$(r)^2 = 0.9135$$

**CUADRO 43"A". ANALISIS DE REGRESION LINEAL POR EL METODO DE AJUSTE DE CURVAS DE MINIMOS CUADRADOS PARA LA CEPA B-0221. ICAITI - GUATEMALA - 1,993**

DOSIS $\mu\text{g/ml}$ gr/dieta	% MORTALIDAD	X LOG DOSIS	Y PROBITS	X <sup>2</sup>	XY
62.5000	5.0000	1.7959	3.3600	3.2252	6.0342
125.0000	17.0000	2.0969	4.0500	4.3970	8.4924
250.0000	22.5000	2.3979	4.2450	5.7500	10.1791
375.0000	32.5000	2.5740	4.5450	6.6255	11.6988
500.0000	55.0000	2.6990	5.1300	7.2846	13.8459
750.0000	65.0000	2.8751	5.3900	8.2662	15.4968
1,000.0000	70.0000	3.0000	5.5200	9.0000	16.5600
1,250.0000	92.5000	3.0970	6.4400	9.5914	19.9447
	$\Sigma$	20.5358	38.6800	54.1399	102.2500

$$Y = 4.8350$$



CUADRO 44 "A". CALCULO DE LA DL-50 PARA LA CEPA B-0221  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993

ECUACION DE LA RECTA:  $Y = a_0 + a_1 X$

ECUACIONES NORMALES:  $\Sigma Y = a_0 N + a_1 \Sigma X$   
 $\Sigma XY = a_0 \Sigma X + a_1 \Sigma X^2$

SUSTITUYENDO VALORES EN LAS ECUACIONES NORMALES

$$\begin{array}{l} 1) \quad 8.0000 a_0 + 20.5358 a_1 = 38.6800 \\ 2) \quad 20.5358 a_0 + 54.1399 a_1 = 102.2500 \end{array} \quad \begin{array}{l} \\ \end{array} \quad \begin{array}{l} \\ * -2.566975 \end{array}$$

RESOLVIENDO EL SISTEMA

$$\begin{array}{r} -20.5358 a_0 - 52.7149 a_1 = -99.2900 \\ 20.5358 a_0 + 54.1399 a_1 = 102.2500 \end{array}$$

$$0 + 1.4250 a_1 = 2.9600$$

$$a_1 = \frac{2.9600}{1.4250148}$$

$$a_1 = 2.07717$$

SUSTITUYENDO  $a_1$  en 1)

$$8 a_0 + 20.5358(2.07717) = 38.6800$$

$$a_0 = \frac{38.6800 - 20.5358(2.07717)}{8} \quad a_0 = -0.4970$$

SUSTITUYENDO LOS VALORES DE " $a_0$ " y " $a_1$ " EN LA  
ECUACION DE LA RECTA

$$Y = -0.4970 + 2.07717X$$

CALCULANDO LA DOSIS LETAL MEDIA. (  $DL_{50}$  )

Como el valor probit (Y) correspondiente al 50% de mortalidad es de 5.0, se sustituye "Y" por este valor.

DESPEJANDO "X"  $5 = -0.4970 + 2.07717X$

$$X = \frac{5 + 0.4970}{2.07717}, \quad X = 2.646389 \quad \longrightarrow \text{antilog.}$$

POR LO TANTO LA  $DL_{50}$  B-0221 ES DE:

$$442.98 \text{ } \mu\text{g/ml/gr DE DIETA}$$

CUADRO 45 "A". DATOS PARA EL CALCULO DEL VALOR TIPICO DE LA ESTIMA (SY.X) PARA LA CEPA B-0221, DE ACUERDO A LA ECUACION OBTENIDA POR REGRESION LINEAL  $Y = -0.4970 + 2.07717$  I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993.

X	Y	Yest.	Y-Yest.
1.7959	3.3600	3.2334	0.1266
2.0969	4.0500	3.8586	0.1914
2.3979	4.2450	4.4838	-0.2388
2.5740	4.5450	4.8496	-0.3046
2.6990	5.1300	5.1093	0.0207
2.8751	5.3900	5.4751	-0.0851
3.0000	5.5200	5.7345	-0.2145
3.0970	6.4400	5.9360	0.5040

CUADRO 46"A". CALCULO DEL VALOR TIPICO DE LA ESTIMA (SY.X),  
DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION (r) Y  
DETERMINACION (r<sup>2</sup>) PARA LA CEPA B-0221  
I C A I T I - G U A T E M A L A - 1,993

$$S^2 Y.X = \pm \frac{\sum_{i=1}^N (Y - Y_{est.})^2}{N}$$

$$S^2 Y.X = \frac{(0.1266)^2 + (0.1914)^2 + \dots + (-0.2145)^2 + (0.5040)^2}{8}$$

$$S^2 Y.X = \pm 0.06374$$

$$S Y.X = \pm \sqrt{S^2 Y.X}$$

$$S Y.X = \pm 0.2525$$

CALCULANDO EL COEFICIENTE DE CORRELACION (r)

$$r = \sqrt{\frac{\text{VARIACION EXPLICADA}}{\text{VARIACION TOTAL}}}$$

$$\text{VARIACION EXPLICADA} = \sum_{i=1}^N (Y_{est.} - \bar{Y})^2$$

$$\text{VARIACION EXP.} = (3.2334 - 4.8350)^2 + \dots + (5.9360 - 4.8350)^2$$

$$\text{VARIACION EXPLICADA} = 6.1483$$

$$\text{VARIACION TOTAL} = \sum_{i=1}^N (Y - \bar{Y})^2$$

$$\text{VARIACION TOTAL} = (3.3600 - 4.8350)^2 + \dots + (6.4400 - 4.8350)^2$$

$$\text{VARIACION TOTAL} = 6.6642$$

$$r = \sqrt{\frac{6.1483}{6.6642}}$$

$$r = 0.9605$$

(r)<sup>2</sup> = COEFICIENTE DE DETERMINACION

$$(r)^2 = 0.9226$$



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

Ref. Sem.024-96

LA TESIS TITULADA: "EVALUACION TOXICOLOGICA DE 60 CEPAS DE Bacillus Thuringiensis  
(Berliner) UTILIZANDO COMO INDICADOR LARVAS DE Spodoptera  
frugiperda (Smith)".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: FRANCISCO DAVID ALDANA CERNA

CARNET No: 8415406

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Salvador Sánchez  
Ing. Agr. Fernando Rodríguez  
Ing. Agr. Filadelfo Guevara  
Dr. José de Jesús Castro

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

Ing. M.Sc. Alvaro Hernández  
ASESOR

Ing. Agr. Rolando Aguilera  
ASESOR

Ing. Agr. Fernando Rodríguez  
DIRECTOR DEL IIA.



I M P R I M A S E

Ing. Agr. Rolando Lara Alecio  
DECANO



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

TELEFONO: 769794 • FAX: (5022) 769770